

**DISERTASI**

**HUBUNGAN EKSPRESI GEN NOD2, KADAR TNF- $\alpha$   
DAN IL-1 $\beta$  PADA TUBERKULOSIS PARU**

**RELATIONSHIP BETWEEN NOD2 GENE EXPRESSION, TNF $\alpha$   
LEVELS AND IL-1 $\beta$  IN PULMONARY TUBERCULOSIS**



**Oleh :**

**NURJANNAH LIHAWA**

**C013172008**

**PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2022**

**DISERTASI**

**HUBUNGAN EKSPRESI GEN NOD2, KADAR TNF- $\alpha$   
DAN IL-1 $\beta$  PADA TUBERKULOSIS PARU**


**RELATIONSHIP BETWEEN NOD2 GENE EXPRESSION, TNF- $\alpha$   
LEVELS AND IL-1 $\beta$  IN PULMONARY TUBERCULOSIS**

Disusun dan diajukan oleh

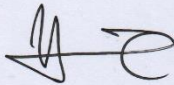
**Nurjannah Lihawa**  
**C013172008**

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 23 November 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui  
Promotor,

  
**Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D**  
**NIP 19570211 198601 1 001**

Co. Promotor



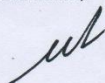
**Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)**  
**NIP 19720617 200012 2 001**

Co. Promotor



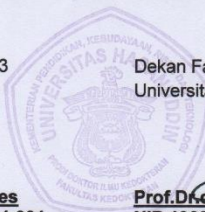
**dr. Arif Santoso, Sp.P(K), Ph.D., FAPSR**  
**NIP 19770715 200604 1 012**

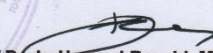
Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,



**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
**NIP 19671103 199802 1 001**

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,



  
**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK(K)**  
**NIP 19680530 199603 2 001**

## ABSTRACT

NURJANNAH LIHAWA. *The Relationship between NOD2 Gene Expression, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  Contents in Pulmonary Tuberculosis* (supervised by Irawan Yusuf, Irawaty Djaharuddin and Arif Santoso).

The research aims at analysing the NOD2 gene expression activity associated with TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  contents in the pulmonary tuberculosis before and after two months of the treatment. This was the observational research with the Cohort design. The research populations were the pulmonary TB patients who visited Makassar Pulmonary Health Centre ((BBKPM) and Palangga Health Centre, Gowa Regency, South Sulawesi. Samples were the research subjects meeting the inclusive and exclusive criteria. The samples were selected using the consecutive sampling technique until the number of the samples was fulfilled. There were 36 participants in the research comprising 25 (69.4%) males and 11 (30.6%) females. The average age of the participants was 44 years ( $44 \pm 10.8$ ). There were 25 people (69.4%) having the normal nutritional status based on the body mass index and the rest (30.6%) having the poor nutritional status at the start before the treatment. The research result indicates that the NOD2 gene expression after two months of the Oat treatment denotes to be 0.76 times lower than before the treatment, however, statistically it has not reached the significant value ( $p=0.561$ ). There are 20 samples undergoing the decrease in the TNF- $\alpha$  content and 16 samples experiencing the increase in the TNF- $\alpha$  content after two months of the OAT treatment. There are 19 samples experiencing the decrease in the IL-1 $\beta$  content and there 17 samples undergoing the increase in the IL-1 $\beta$  content after two months of the OAT treatment. There is no correlation between the NOD2 gene expression and TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  contents either before or after two months of the OAT treatment. There is the relationship between the NOD2 gene expression after the treatment using TNF- $\alpha$  after the treatment in two months, but there is no relationship with the IL-1 $\beta$  content.

Key words: NOD2 gene, TNF-Alfa content, IL-1Beta, pulmonary tuberculosis



## ABSTRAK

NURJANNAH LIHAWA. *Hubungan Ekspresi Gen NOD-2, Kadar Tnf-Alfa dan IL-1Beta pada Tuberkulosis Paru* (dibimbing oleh Irawan Yusuf, Irawaty Djaharuddin, dan Arif Santoso).

Penelitian ini bertujuan menganalisis aktivitas ekspresi gen NOD-2 dihubungkan dengan kadar TNF- $\alpha$  serta IL-1 $\beta$  pada TB Paru sebelum dan setelah pengobatan dua bulan. Metode Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain kohort prospektif. Populasi penelitian adalah penderita TB paru yang datang berkunjung ke Balai Besar Kesehatan Paru (BBKPM) Makassar dan Puskesmas Pallangga, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Sampel merupakan subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Pengumpulan sampel dilakukan menggunakan teknik penyampelan konsekutif sampai jumlah sampel terpenuhi. Partisipan dalam studi ini terdapat sebanyak 36 orang yang terdiri dari 25 orang (69,4%) laki-laki dan 11 (30,6%) orang lainnya perempuan. Rata-rata usia partisipan adalah 44 tahun ( $44 \pm 10,8$ ). Terdapat sebanyak 25 orang (69,4%) memiliki status gizi normal berdasarkan indeks massa tubuh dan selebihnya (30,6%) memiliki status gizi kurang pada saat awal sebelum pengobatan. Hasil Ekspresi gen NOD-2 setelah dua bulan pengobatan OAT didapatkan 0,76 kali lebih rendah dibandingkan sebelum pengobatan, namun secara statistik belum mencapai nilai signifikan ( $p=0,561$ ). Terdapat 20 sampel yang mengalami penurunan kadar TNF- $\alpha$  dan 16 sampel yang mengalami peningkatan kadar TNF- $\alpha$  setelah dua bulan pengobatan OAT. Terdapat 19 sampel yang mengalami penurunan kadar IL-1 $\beta$  dan terdapat 17 sampel yang mengalami peningkatan kadar IL-1 $\beta$  setelah dua bulan pengobatan OAT. Tidak didapatkan korelasi antara ekspresi gen NOD-2 dengan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  baik sebelum maupun setelah dua bulan pengobatan OAT. Didapatkan hubungan antara ekspresi gen NOD-2 setelah pengobatan dan kadar TNF- $\alpha$  setelah pengobatan dua bulan, namun tidak berhubungan dengan kadar IL-1 $\beta$ .

Kata kunci: Gen NOD-2, kadar TNF-Alfa, IL-1Beta, tuberkulosis paru





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297  
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

### SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : NURJANNAH LIHAWA  
NIM : C013172008  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

#### **HUBUNGAN EKSPRESI GEN NOD2, KADAR TNF- $\alpha$ DAN IL-1 $\beta$ PADA TUBERKULOSIS PARU**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 24 Januari 2023

Yang menyatakan,



NURJANNAH LIHAWA

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim,*

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

*Alhamdulillahirabbil'alamin* kami ucapkan atas kehadiran Allah SWT atas berkat limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya mampu menyelesaikan disertasi ini. Teriring shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW, beserta para keluarga, sahabat dan pengikutnya.

Saya sadar bahwa penyelesaian disertasi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu semoga Allah SWT melimpahkan rahmat, kesehatan dan membalas amal kebaikan semua pihak yang sangat membantu dalam penyusunan disertasi ini. Untuk itu dalam kesempatan ini saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada :

**Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, **Prof.Dr.dr.Haerani Rasyid,M.Kes, Sp.PD-KGH,Sp.GK(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan **Dr.dr.Irfan Idris,M.Kes** selaku ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada saya untuk melanjutkan jenjang pendidikan ke Program Pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin.

**Prof. dr.Irawan Yusuf,Ph.D** selaku promotor yang dengan sabar telah banyak memberikan bimbingan, arahan dan motivasi dalam penyelesaian disertasi ini.

**Dr.dr.Irawaty Djaharuddin,Sp.P(K)** dan **dr.Arif Santoso, Sp.P(K),Ph.D** selaku ko-promotor yang telah banyak memberikan bimbingan, ide dan saran untuk perbaikan disertasi ini.

**Prof.Dr.dr.Muh.Amin,Sp.P(K), Prof.dr.Muh Nasrum Massi,Ph.D,Sp.MK, Dr.dr.Nur Ahmad Tabri,Sp.PD-KP,Sp.P(K), dr.Agussalim**

**Bukhari,M.Md,Ph.D,Sp.GK(K), Dr.dr.Harun Iskandar,Sp.P(K),Sp.PD-KP, Dr.dr.Andi Alfian Zainuddin,MKM** atas kesediaannya memberikan bimbingan sekaligus sebagai tim penguji yang memberikan pemikiran positif, ide dan saran yang sangat membantu membangun substansi pada disertasi ini.

**Seluruh Staf dan tenaga kependidikan Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin** yang telah memberikan dukungan dan semangat untuk mengikuti pendidikan S3.

**Staf Program S3 Program Studi Ilmu Kedokteran Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin**, atas dukungan dan bantuannya untuk menyelesaikan pendidikan dan penyelesaian disertasi ini.

**dr.Aswan Usman,M.Kes** selaku Kepala BBKPM Makassar yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian ini pada lembaga yang beliau pimpin dan juga atas bantuan staf perawat poli TB : pak **Erik** dan pak **Madjid** serta staf laboratorium pak **Kus** dan bu **Marni**. Juga untuk perawat TB di Puskesmas Pallangga kab Gowa : bu **Fatma** atas bantuannya.

Untuk teman-teman yang telah meluangkan waktu dan pikirannya membantu saya dalam penelitian, penyusunan disertasi hingga publikasi : **dr.Yusfiana Madjid** dan **dr. A.Siti Kahfiah Mukhlis** semoga insya Allah dimudahkan dalam menggapai cita-cita melanjutkan pendidikan. Untuk **Nirmawati Angria,S.Si, M.Kes**, dan **Handayani Halik, S.Si, M.Kes** semoga dilancarkan dalam proses pendidikan S3 ini. Dan juga kepada senior **Prof.dr.M.Hatta,Ph.D, Sp.MK(K)**, **Dr.dr.Najdah Hidayah, M.Kes**, dan **Dr.dr.Jamaluddin M,Sp.P(K)** untuk koreksi dan bantuannya yang tak terhingga.

**Para pasien** yang telah berkenan menjadi sampel dan mengikuti penelitian ini, teriring doa semoga mereka diberikan kesehatan dan dalam perlindungan Allah SWT.

Dan kepada almarhum ayahanda tercinta **Drs. Thamrin Menu Lihawa,MA** dan ibunda tercinta **Olga Gobel** dan almarhum bapak mertua saya **H.Andi Baso Lolo** dan almarhumah ibu mertua saya **Hj. Andi Minnong** atas dukungan, kasih sayang dan doa yang tak putus-putus yang telah diberikan kepada saya sehingga saya bisa sampai pada titik ini. Tak lupa kepada saudara-saudara saya: **Abdul Azis Lihawa, ST,MT**, **Mohammad Taufiq Lihawa, ST** dan juga **Bachrun Lihawa,ST** yang senantiasa memberikan dukungan dan doanya untuk saya hingga dapat menyelesaikan pendidikan S3 ini.

Untuk suami tercinta **Andi Naharuddin,S.IP,M.Si** yang dengan setia memberikan semangat dan dukungan untuk bersama-sama saya dalam menyelesaikan pendidikan S3 ini, semoga studi S3 Ayah bisa berjalan dengan lancar pula. Juga untuk ketiga permata hati saya: **A. Nisrina Maliqa Naharuddin**, **A. Quranul Adeeva Naharuddin**, dan **A.Naira Shahana Naharuddin** yang dengan sabar mendoakan dan sangat penuh pengertian memberikan semangat sehingga bunda bisa sampai pada titik ini. Mohon maaf begitu banyak waktu berharga yang seharusnya untuk kalian yang telah tersita selama bunda mengikuti proses pendidikan ini. Semoga ini semua menjadikan suri tauladan untuk kalian dan menjadi motivasi untuk juga meraih cita-cita dan impian masa depan kalian.

Kepada pihak-pihak yang telah membantu penyelesaian Pendidikan Doktor dan penerbitan disertasi saya ini, yang mungkin tidak dapat saya sebutkan satu per satu, ijinkan saya dengan penuh kerendahan hati menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya, hanya Allah SWT yang insya Allah akan membalas semua kebaikan bapak,ibu, saudara dan saudari dengan nikmat pahala yang berlipat ganda.

Akhir kata saya ucapkan *alhamdulillah*, segala puji bagi Allah Yang Maha Esa. Semoga dengan izin-Nya akan membuat kita semua istiqomah dalam kebaikan dan juga semoga Allah SWT melindungi dan membimbing kita semua kepada jalan yang benar. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Makassar, 24 Januari 2023

Nurjannah Lihawa

## DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Definisi Tuberkulosis.....	7
2.2 Etiologi Tuberkulosis.....	7
2.3 Patogenesis Tuberkulosis.....	10
2.3.1 Tuberkulosis Paru Primer .....	10
2.3.2 Tuberkulosis Paru Sekunder .....	12
2.4 Immunopatogenesis Tuberkulosis.....	14
2.4.1 Imunitas Seluler <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	17
2.4.2 Imunitas Humoral <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	20
2.5 Diagnosis Tuberkulosis .....	21
2.5.1 Gejala Klinik .....	22



2.5.2 Pemeriksaan Fisik .....	23
2.5.3 Pemeriksaan Biakan Kuman.....	24
2.5.4 Pemeriksaan TCM.....	26
2.6 Penatalaksanaan Tuberkulosis .....	27
2.6.1 Obat Anti Tuberkulosis (OAT) .....	27
2.6.2 Dosis OAT.....	28
2.7 Gen NOD2 ( <i>Nucleotide binding Oligomerization Domain-2</i> ).....	29
2.7.1 Struktur NOD2 .....	34
2.7.2 Fungsi NOD2 .....	36
2.8 Sitokin.....	38
2.8.1 TNF ligand superfamily .....	39
2.8.1.1 <i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i> (TNF- $\alpha$ ) .....	40
2.8.2 IL-1 superfamily.....	60
2.8.2.1 IL-1 Beta (IL-1 $\beta$ ).....	62
2.9 Kerangka Teori .....	83
2.10 Hipotesis .....	84
2.11 Kerangka Konsep.....	84
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>85</b>
3.1 Rancangan penelitian .....	85
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	85
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian .....	85
3.3.1 Populasi .....	85
3.3.2 Sampel.....	85
3.4 Perkiraan Besar Sampel .....	86

3.5 Metode Pengumpulan Sampel .....	87
3.6 Alat dan Bahan.....	87
3.6.1 Alat .....	87
3.6.2 Bahan.....	87
3.7 Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif.....	87
3.8 Cara Kerja .....	88
3.8.1 Tahap-tahap Pengumpulan Sampel.....	89
3.8.2 Dekontaminasi sputum.....	89
3.8.3 Smear dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen .....	90
3.8.4 Pemeriksaan ELISA .....	90
3.8.5 Ekstraksi RNA Dari Sampel Darah.....	92
3.8.6 Amplifikasi complementary DNA (cDNA) dengan Reverse Transcriptase-PCR.....	94
3.8.7 Pemeriksaan ekspresi gen NOD2 dengan real time PCR...	94
3.8.8 Elektroforesis Gel Agarose 2% .....	95
3.9 Analisa Data .....	96
3.10 Alur penelitian .....	97
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>98</b>
4.1 Hasil.....	98
4.1.1 Karakteristik partisipan.....	98
4.1.2 Ekspresi gen <i>NOD2</i> pada pasien tuberkulosis paru sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	102
4.1.3 Perbedaan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	104

4.1.4 Korelasi antara ekspresi gen <i>NOD2</i> dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan .....	107
4.1.5 Hubungan ekspresi gen <i>NOD2</i> sebelum pengobatan dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ setelah pengobatan dua bulan.....	109
4.1.6 Hubungan ekspresi gen <i>NOD2</i> setelah pengobatan dua bulan dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ setelah pengobatan dua bulan .....	110
4.2 Pembahasan.....	112
4.2.1 Ekspresi Gen <i>NOD2</i> .....	114
4.2.2 Dinamika sitokin pro inflamasi sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan .....	117
4.2.3 Korelasi antara ekspresi gen <i>NOD2</i> dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan .....	122
4.3 Keterbatasan penelitian.....	123
<b>BAB V RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN.....</b>	<b>124</b>
5.1 Ringkasan.....	124
5.2 Kesimpulan;.....	125
5.3 Saran .....	126
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>126</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>136</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik partisipan.....	98
Tabel 2. Uji korelasi antara variable tergantung dan variable bebas .....	101
Tabel 3. Hasil pemeriksaan ekspresi gen NOD2 sebelum dan setelah dua bulan secara kuantitatif relatif dengan metode real-time PCR .....	103
Tabel 4. Kadar TNF- $\alpha$ dan IL1 $\beta$ pada pasien tuberkulosis sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	105
Tabel 5. Korelasi antara ekspresi gen NOD2 dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL- 1 $\beta$ sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	107
Tabel 6. Faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan kadar TNF-alfa dan IL-1 $\beta$ sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	109
Tabel 7. Hubungan ekspresi gen <i>NOD2</i> setelah pengobatan dua bulan dengan kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ setelah pengobatan dua bulan.....	111

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Patogenesis TB paru primer.....	11
Gambar 2. Skema perkembangan sarang tuberkulosis post primer dan perjalanan penyembuhannya.....	14
Gambar 3. TLR dan protein sitosol, Nod1 dan Nod2.....	34
Gambar 4. Struktur NLR.....	35
Gambar 5. Skema representatif dari jaringan imun bawaan makrofag sebagai respons terhadap infeksi M.tb.....	37
Gambar 6. Peran TNF- $\alpha$ dalam respons imun terhadap infeksi M.tb.....	42
Gambar 7. Diagram pita yang menunjukkan trimer TNF- $\alpha$ .....	44
Gambar 8. Transduksi sinyal seluler dari TNF- $\alpha$ .....	47
Gambar 9. Efek anti inflamasi anti-TNF $\alpha$ pada sistem kekebalan adaptif.....	54
Gambar 10. Struktur 3 dimensi IL-1 $\beta$ .....	64
Gambar 11. Proses signalling IL-1 $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ .....	68
Gambar 12. Peran IL-1 $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ dalam sistem pertahanan tubuh.....	72
Gambar 13. Ekspresi neutrophil elastase dan IL-1 $\beta$ pada jaringan granuloma kaseosa paru manusia.....	78
Gambar 14. Indeks Massa Tubuh Partisipan sebelum dan setelah dua bulan pengobatan.....	101
Gambar 15. Bar chart hasil pemeriksaan ekspresi gen NOD2 sebelum dan setelah dua bulan pengobatan secara kuantitatif relatif dengan metode real-time PCR. ....	103

Gambar 16. Bar chart hasil pemeriksaan ekspresi gen NOD2 terhadap penurunan berat badan partisipan sebelum pengobatan.....	104
Gambar 17. Kadar TNF- $\alpha$ sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	106
Gambar 18. Kadar IL-1 $\beta$ pada pasien tuberkulosis sebelum dan setelah pengobatan dua bulan .....	106

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb). Penyakit ini diketahui telah menginfeksi manusia sejak jaman sebelum masehi dan masih terus menjadi permasalahan kesehatan sampai saat ini.(1) Secara global diperkirakan seperempat dari penduduk dunia telah terinfeksi dan oleh karena itu kemungkinan menjadi sumber penularan sehingga penyebaran penyakit ini masih terus berlangsung.

Pandemi Covid-19 telah menyebabkan penurunan pada penemuan kasus dan pengobatan TB di seluruh dunia. Secara global, diperkirakan terdapat sebanyak 10,6 juta orang yang menderita TB pada tahun 2021, dengan jumlah penemuan kasus baru hanya sekitar 6,4 juta kasus (berada pada level yang sama di tahun 2016-2017). Dalam daftar 30 negara dengan beban penyakit TB terbanyak di dunia, Indonesia menempati urutan ke-dua terbanyak yang menjadi penyumbang kasus setelah India.(2) Data di Indonesia, jumlah kasus TB yang diperoleh dari DITJEN P2P KEMENKES RI yaitu sebanyak 214 kasus per seratus ribu penduduk. Sementara propinsi Sulawesi Selatan menduduki peringkat ke-2 (setelah DKI Jakarta) dengan jumlah kasus 357 per seratus ribu penduduk.(3)

Dalam dekade terakhir ini, telah terdapat kemajuan dalam diagnosis dan pengobatan TB. Saat ini penggunaan tes cepat molekuler telah direkomendasikan penggunaannya untuk mempercepat diagnosis TB dan mengetahui status resistensi pasien. Penemuan obat-obatan terbaru dan juga variasi paduan pengobatan anti tuberkulosis terbaru diharapkan dapat meningkatkan angka kesembuhan pasien sehingga dapat mencapai angka 85%. Namunpun demikian, WHO tetap memperkirakan angka kematian sekitar 1,4 juta kasus (pada TB non HIV) selama tahun 2021.(2)

Diketahui bahwa kuman M.tb ini adalah patogen intrasel yang dapat menginfeksi dan bertahan hidup di dalam sel tubuh pejamu. Sehingga diperlukan koordinasi dan respons yang baik dari sistem pertahanan tubuh alamiah dan adaptif untuk dapat mengeliminasi M.tb dari dalam tubuh. Secara statistik, dari populasi yang terinfeksi M.tb, hanya sekitar 5-10 % yang kemudian berkembang menjadi TB aktif dengan berbagai manifestasinya. Hal ini disebabkan karena adanya keseimbangan mekanisme pertahanan tubuh pejamu dan bakteri.(4) Sehingga penulis memperkirakan bahwa salah satu masalah dalam eliminasi TB ini adalah beragamnya respons imun pada tiap-tiap individu.

Sistem imun alamiah berperan penting saat pertama kali kuman M.tb masuk ke dalam tubuh manusia. Masuknya kuman M.tb ini kemudian akan dikenali oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) yang dipresentasikan oleh



makrofag. Keadaan ini akan memicu mula terjadinya respons imun alamiah yang pada akhirnya akan mengaktifasi sistem imun adaptif tipe T-helper 1 (TH1), dan memainkan peranan penting dalam pertahanan pejamu melawan terjadinya penyakit TB.(4)

*Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2)*, sebelumnya dikenal sebagai *Caspase Recruitment Domain-containing protein 15 (CARD15)* adalah protein yang pada manusia disandi oleh gene NOD2 yang berlokasi pada kromosom 16. NOD2 ini adalah bagian dari *Pattern Recognition Receptors (PRR)* yang berperan pertama kali untuk mengenali invasi dari *M.tb* melalui NLRs (*NOD-like Receptors*). Peran yang lebih spesifik adalah respons terhadap fragmen dari dinding sel bakteri, yaitu *muramyl dipeptide (MDP)*.(5) Awalnya NOD2 dianggap hanya berperan dalam imunitas alamiah untuk melawan *M.tb*. Akan tetapi penelitian yang dilakukan Divangahi dkk memperlihatkan bahwa NOD2 juga berperan pada imunitas adaptif, yaitu pada tikus yang kekurangan NOD2 akan terlihat penurunan respons spesifik sel T-Ag mikobakterial.(6)

Penelitian oleh Ferwerda dkk memperlihatkan bahwa pensinyalan dari NOD2 dan TLR2 secara bersama-sama merupakan suatu mekanisme pengenalan untuk *M.tb* yang tidak kalah penting dalam menginduksi sitokin-sitokin pro inflamasi.(7) Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya yang memperlihatkan bahwa NOD2 bersama-sama dengan PRR lainnya akan

mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B yang selanjutnya akan mensekresi dan memproduksi mediator-mediator pro inflamasi terutama sitokin TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ .(8,9)

Dari berbagai sitokin yang telah diteliti dan berperan dalam infeksi M.tb, penulis berfokus pada sitokin TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Di mana seperti yang kita ketahui bahwa TNF- $\alpha$  adalah salah satu sitokin yang berperan penting dalam aktivasi makrofag dan perekrutan sel-sel imun pada granuloma sehingga mempertahankan granuloma tetap intak.(10) Sedangkan sitokin IL-1 $\beta$  juga memiliki peran untuk mengontrol infeksi M.tb. Berbagai penelitian yang telah dilakukan pada hewan coba memperlihatkan ketiadaan reseptor IL-1 (IL-1R) dan IL-1 $\beta$  ternyata membuat hewan coba menjadi lebih rentan terinfeksi M.tb dengan jumlah kuman yang banyak pada paru-paru dan meninggal saat awal infeksi.(11)

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat aktivitas gen NOD2 ini tetapi masih belum banyak yang menghubungkannya dengan efek pengobatan pada TB paru. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ekspresi gen NOD2 serta kadar sitokin pro inflamasi TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  pada pasien TB paru sebelum dan setelah 2 bulan pengobatan. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi tentang dinamika molekuler pejamu pada penderita TB di Indonesia, sehingga menambah wawasan sebagai alternatif sebelum terapi untuk melihat kepekaan dan proteksi terhadap TB.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, maka penulis menyusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah perubahan ekspresi gen NOD2 pada pasien TB paru?
2. Apakah ada perbedaan kadar TNF- $\alpha$  sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan?
3. Apakah ada perbedaan kadar IL-1 $\beta$  sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan?
4. Apakah ada korelasi antara ekspresi gen NOD2 dengan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk menganalisa aktivitas ekspresi gen NOD2 dihubungkan dengan kadar TNF- $\alpha$  serta IL-1 $\beta$  pada TB Paru sebelum pengobatan dan setelah 2 bulan pengobatan.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Menganalisis ekspresi gen NOD2 pasien TB paru sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan.

2. Membandingkan kadar TNF- $\alpha$  sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan.
3. Membandingkan kadar IL-1 $\beta$  sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan.
4. Menganalisis korelasi antara ekspresi Gen NOD2 dihubungkan dengan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan klinis pasien sebelum dan setelah pengobatan 2 bulan.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

a. Akademik

Menambah pengetahuan tentang ekspresi Gen NOD2 dan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  pada TB paru.

b. Klinik

Memberikan informasi ilmiah tentang aktivitas gen NOD2 pada pasien TB sehingga diharapkan dapat menjadi salah satu biomarker keberhasilan pengobatan pasien TB.

c. Masyarakat

Memberikan pemahaman kepada masyarakat tentang perkembangan terkini penyakit TB.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Definisi Tuberkulosis**

Tuberkulosis adalah suatu penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) yang dapat menyerang berbagai organ tubuh, terutama paru-paru.(3) Nama tuberkulosis berasal dari tuberkel yang berarti tonjolan kecil dan keras yang berbentuk sewaktu sistem kekebalan membentuk dinding mengelilingi bakteri dalam paru. Tuberkulosis paru ini bersifat menahun dan secara khas ditandai oleh pembentukan granuloma dan menimbulkan nekrosis jaringan.(12)

#### **2.2 Etiologi Tuberkulosis**

*Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) adalah mikrobakteri penyebab utama TB. Pada manusia M.tb sering disebut sebagai *tubercle bacillus*. Bakteri ini berbentuk batang, bersifat non motil (tidak dapat bergerak sendiri) dan dapat memiliki panjang 1 – 4  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,13 – 0,56  $\mu\text{m}$ .(13)

*Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) merupakan organisme *obligate aerob* yang berarti membutuhkan oksigen untuk tumbuh. Oleh karena itu, kompleks M.tb banyak ditemukan di lobus paru bagian atas yang dialiri udara dengan baik. Selain itu bakteri ini merupakan parasit intraseluler fakultatif, yaitu

patogen yang dapat hidup dengan memperbanyak diri di dalam sel hospes maupun di luar sel hospes (sel fagositik), khususnya makrofag dan monosit. Kemampuan *M.tb* dalam bertahan di makrofag hospes dikendalikan oleh proses kompleks dan terkoordinir. Sistem ini dikontrol dengan baik oleh ESX-1 sebagai sistem sekresi protein bakteri. Sistem sekresi protein adalah faktor keganasan utama dari bakteri patogen. Terdapat 5 jenis sistem sekresi pada *M.tb* yaitu ESX-1 hingga ESX-5.(14)

ESX-1 diperlukan untuk virulensi penuh dari *M.tb* karena ESX-1, sangat penting untuk translokasi dari fagosom ke dalam sitosol makrofag terinfeksi sehingga bakteri mungkin akan menetap pada lingkungan terlindung. ESX-1 mengeluarkan ESAT-6 dan CFP-10 yang merupakan protein kecil sangat imunogenik sebagai dasar diagnosis imunologi infeksi *M.tb* pada metode interferon-gamma release assay (IGRAs).(14)

*Interferon-gamma release assay* dapat digunakan untuk deteksi *M.tb* termasuk pada subyek yang sebelumnya telah menerima vaksin BCG, karena BCG kekurangan ESX-1 dan tidak mengekspresikan ESAT-6 dan CFP-10.(15,16)

*Mycobacterium Tuberculosis* (*M.tb*) tidak diklasifikasikan sebagai Gram positif maupun Gram negatif karena dinding sel bakteri ini tidak memiliki karakteristik membran luar bakteri Gram negatif. Namun, *M.tb* memiliki struktur peptidoklikan-arabinogalaktan-asam mikolat sebagai *acid-fast*. Jika

pewarnaan Gram dilakukan pada M.tb, warna Gram positif yang muncul sangat lemah atau tidak berwarna sama sekali.(13)

Pada penggunaan metode *Ziehl-Neelsen Stain* terhadap M.tb, bakteri ini akan menunjukkan warna merah muda. *Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) tumbuh lambat dengan kecepatan pembelahan 12 hingga 24 jam dan waktu kultur hingga 21 hari pada media pertumbuhan. Penyebab lambatnya pertumbuhan M.tb belum diketahui. Namun terbatasnya penyerapan nutrient akibat dinding sel yang permeabel dan lambatnya sintesis RNA diduga sebagai penyebab lambatnya pertumbuhan M.tb.(14)

Struktur dinding sel M.tb bersifat unik dibandingkan organisme prokariot lainnya karena memberikan barrier berupa kekedapan yang sangat kuat terhadap komponen berbahaya dan obat serta memainkan peran dasar dalam keganasan bakteri ini. Kelebihan tersebut diakibatkan kandungan lipid kompleks yang tinggi. Lebih dari 60% dinding sel mikroba adalah lipid.(15)

*Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) tidak mengandung fosfolipid pada membran luar. Dinding sel M.tb mengandung glikolipid dalam jumlah besar, khususnya asam mikolat, peptidoglikan, lipo-arabinomannan/LAM, fosfatidil inositol mannosida/FIM, *phthiocerol dymicocerate cord factor*, sulfolipid dan wax-D. Komponen unik ini mengganggu jalur pertahanan hospes dan menentukan pertahanan bakteri didalam fagosom.(13,17)

## 2.3 Patogenesis Tuberkulosis

*Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) ditularkan melalui udara bukan melalui kontak permukaan. Infeksi M.tb terjadi jika beberapa tuberkel basil beredar di udara dari pasien dengan TB paru aktif mencapai alveoli dari host. Bakteri ini akan berada didalam gelembung cairan bernama *droplet nuclei*. Partikel ini dapat bertahan di udara selama beberapa jam dan tidak dapat dilihat karena memiliki diameter sebesar 1 – 5  $\mu\text{m}$ .(12)

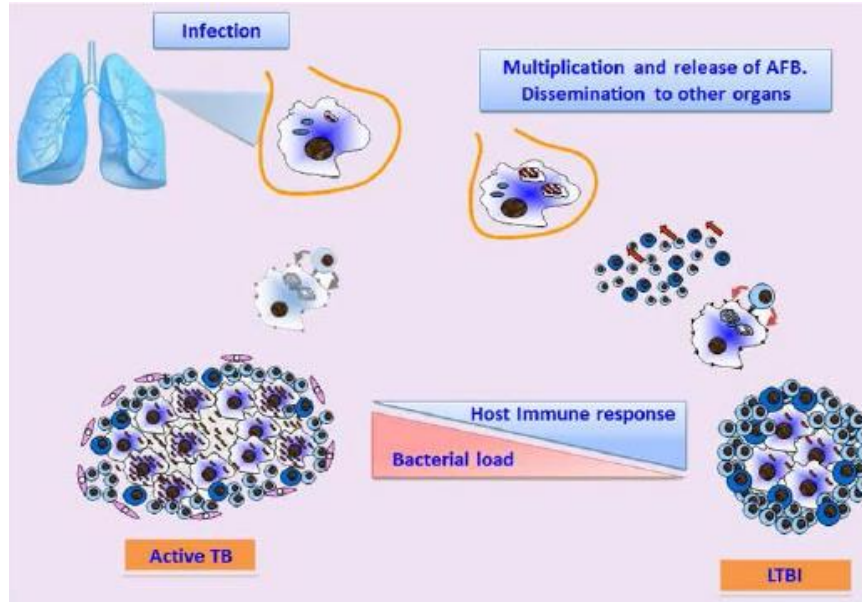
Tuberkulosis paru dapat diklasifikasikan menjadi TB paru primer dan TB paru sekunder.

### 2.3.1 Tuberkulosis Paru Primer

Tuberkulosis primer terjadi pada saat seseorang pertama kali terpapar terhadap basil TB. Basil TB ini masuk ke paru dengan cara inhalasi droplet, sampai di paru basil TB ini akan difagosit oleh makrofag dan akan mengalami dua kemungkinan. Pertama, basil TB akan mati difagosit oleh makrofag. Kedua, basil TB akan dapat bertahan hidup dan bermultiplikasi dalam makrofag sehingga basil TB akan dapat menyebar secara limfogen, perkontinuitatum, bronkogen, bahkan hematogen. Penyebaran basil TB ini pertama sekali secara limfogen menuju kelenjar limfe regional di hilus di mana penyebaran basil TB tersebut akan menimbulkan reaksi inflamasi di sepanjang saluran limfe (limfangitis) dan kelenjar limfe regional (limfadenitis). Pada orang



yang mempunyai imunitas baik, 3 – 4 minggu setelah infeksi akan terbentuk imunitas seluler. Imunitas seluler ini akan membatasi penyebaran basil TB dengan cara menginaktivasi basil TB dalam makrofag membentuk suatu sarang primer yang disebut juga dengan fokus *ghon*. Fokus *ghon* bersama-sama dengan limfangitis dan limfadenitis regional disebut dengan kompleks *ghon*. Terbentuknya fokus *ghon* mengimplikasikan dua hal penting. Pertama, fokus *ghon* berarti dalam tubuh seseorang sudah terdapat imunitas seluler yang spesifik terhadap basil TB. Kedua, fokus *ghon* merupakan suatu lesi penyembuhan yang di dalamnya berisi basil TB dalam keadaan laten yang dapat bertahan hidup dalam beberapa tahun dan bisa tereaktivasi kembali menimbulkan penyakit.(15,16) Adapun patogenesis TB pulmoner primer dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Patogenesis TB Paru Primer(16)

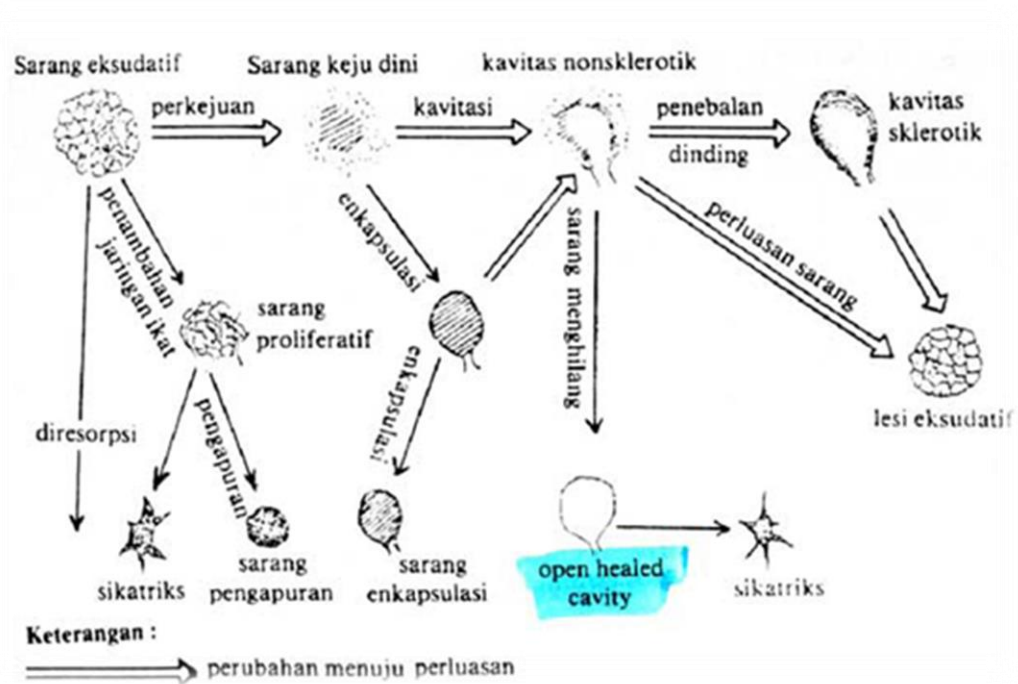
### 2.3.2 Tuberkulosis Paru Sekunder

Terjadinya reaktivasi atau reinfeksi basil TB pada orang yang sudah memiliki imunitas seluler, hal ini disebut dengan TB *post-primer*. Adanya imunitas seluler akan membatasi penyebaran basil TB lebih cepat daripada TB primer disertai dengan pembentukan jaringan keju (kaseosa). Sama seperti pada TB primer, basil TB pada TB *post-primer* dapat menyebar terutama melalui aliran limfe menuju kelenjar limfe lalu ke semua organ. Kelenjar limfe hilus, mediastinal dan paratrakeal merupakan tempat penyebaran pertama dari infeksi TB pada parenkim paru. Bentuk TB *post-primer* menjadi masalah kesehatan masyarakat yang utama karena dapat menjadi sumber penularan. Tuberkulosis *post-primer* dimulai dengan sarang dini yang umumnya terletak di segmen apikal dari lobus superior maupun

lobus inferior. Sarang dini ini awalnya berbentuk suatu sarang pneumonik kecil. Sarang pneumonik ini akan berkembang menjadi beberapa bentuk sebagai berikut: (12)

1. Diresopsi kembali dan sembuh kembali dengan tidak meninggalkan cacat.
2. Sarang tadi mula-mula meluas, tetapi segera terjadi proses penyembuhan dengan penyebukan jaringan fibrosis. Selanjutnya akan membungkus diri menjadi lebih keras, terjadi perkapuran dan akan sembuh dalam bentuk perkapuran. Sebaliknya dapat juga sarang tersebut menjadi aktif kembali membentuk jaringan keju (jaringan kaseosa) dan menimbulkan kavitas bila jaringan keju dibatukkan.
3. Sarang pneumonik meluas membentuk jaringan keju (jaringan kaseosa). Kaviti akan muncul dengan dibatukkannya jaringan keju keluar. Kaviti awalnya berdinding tipis, kemudian dindingnya akan menjadi tebal (kaviti sklerotik). Kaviti akan berkembang menjadi beberapa bentuk diantaranya :
  - Meluas kembali dan menimbulkan sarang pneumonik baru;
  - Dapat pula memadat dan membungkus diri (*encapsulated*) disebut tuberkuloma. Tuberkuloma dapat mengapur dan sembuh, tetapi mungkin pula aktif kembali mencair dan menjadi kaviti lagi;

- Kaviti bisa pula menjadi bersih dan sembuh yang disebut *open healed cavity* atau kaviti menyembuh dengan membungkus diri, akhirnya mengecil. Kemungkinan berakhir sebagai kaviti yang terbungkus dan mengkerut sehingga kelihatan seperti bintang (*stellate shaped*).



Gambar 2. Skema perkembangan sarang tuberkulosis post primer dan perjalanan penyembuhannya(12)

## 2.4 Immunopatogenesis Tuberkulosis

Respons imun manusia terhadap TB merupakan suatu reaksi kompleks terhadap infeksi patogen yang kuat. Interaksi antara sistem imun seluler yang berada dalam lingkungan yang mengandung berbagai macam mediator

inflamasi dan berbagai faktor, memiliki dampak besar terhadap kemampuan tubuh untuk menjadi infeksi.

Dua bagian utama dari sel Th-CD4, Th1 dan Th2 memiliki pola produksi mediator-mediator yang berbeda, memiliki peran berbeda dalam respons imun. Sel Th1 ditandai oleh produksi TNF- $\alpha$ , IL- 2, IFN- $\gamma$  dan sel Th2 ditandai oleh pelepasan IL-4, IL-5 dan IL-13. Sitokin Th1 merangsang makrofag dan cell mediated reactions (CMR) penting dalam pertahanan terhadap infeksi patogen intraseluler dan sitotoksik serta reaksi hipersensitivitas tertunda (DTH).(18)

Sel Th2 melepaskan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13, sitokin Th2 merangsang produksi antibodi yang berbeda, umumnya ditemukan bersama respons antibodi yang penting dalam melawan infeksi organisme ekstraseluler.(18,19)

Sel Th1 dan Th2 saling bergantian menghambat satu sama lain, IL-10 suatu produk sel Th2, menghambat perkembangan sel Th1 melalui kerja pada *antigen presenting cells* (APC), sedangkan IFN- $\gamma$ , suatu produk sel dari sel Th1, efektor INF- $\alpha$  mengakibatkan kerentanan terhadap infeksi TB. *Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) awalnya menginfeksi sel-sel inflamasi terutama makrofag dan sel-sel dendritik. Dikelilingi oleh molekul bagian luar yang kaya lipid sebagai kapsul yang melindungi bakteri ini dari radikal toksik dan enzim hidrolitik yang diproduksi sebagai pertahanan oleh makrofag dan

sel-sel inflamasi. *Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) dapat menyebar ke makrofag sekitarnya yang sedang istirahat dan sel-sel lain untuk kemudian bereplikasi.(18)

Infeksi awal dari M.tb menyebabkan respons hipersensitivitas tertunda (DTH) yang ditandai oleh pembentukan lesi nekrotik kecil dengan perkejuan padat pada daerah tengah infeksi. Multiplikasi M.tb terbatas pada lesi granulomatosa yang berkapsul. Lesi granuloma terdiri dari limfosit T dan fagosit mononuklear dengan berbagai tingkat maturasi dan stimulasi. Setelah memulai reaksi hipersensitivitas tertunda dan pembentukan tuberkel, stimulasi makrofag oleh sel TCD4+ memungkinkan makrofag untuk membunuh basilus di dalam lesi tuberkel. Aktivasi makrofag tampaknya merupakan langkah utama dari pertahanan yang didapat melawan M.tb.(20) Aktivasi makrofag oleh limfosit T merupakan mediator utama dan respons imun *cell mediated* melawan M.tb. Sel TCD4+ adalah sel T-helper utama yang mensekresi tipe berbeda dari interleukin dalam aktivasi makrofag.(18)

Sel T-helper dibutuhkan untuk menerima dan mengaktivasi makrofag dan monosit yang baru. Seperti telah ditunjukkan sebelumnya, sel Th1 memproduksi sitokin IFN- $\gamma$  dan IL-2 yang penting untuk aktivasi dari kerja antimikroba dan penting untuk respons DTH. IFN- $\gamma$  secara spesifik mengaktivasi dan merangsang makrofag untuk menelan dan membunuh mikobakterium lebih efektif.(20)

Limfosit TCD8+ menambah aktivasi makrofag dengan memproduksi IFN- $\gamma$ . Sel TCD8+ juga berfungsi sebagai sitolitik yang memungkinkan untuk mengenali antigen mikobakterium yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas 1 pada permukaan makrofag yang terinfeksi. Limfosit T sitotoksik CD8+ (CTLs) juga dibutuhkan untuk melepaskan M.tb intraseluler yang berdiam dalam makrofag terinfeksi. Selain itu, M.tb juga mampu bertahan dalam makrofag, memberikan antigen metabolik untuk proses dalam presentasi dengan molekul kelas 1 pada permukaan makrofag.(20)

Sel natural killer (NK) juga berperan penting dalam respons imun host terhadap M.TB. Sel-sel ini dapat menyebabkan lisis sel host yang terinfeksi patogen M.tb, ini menunjukkan kesamaan fungsi dengan limfosit T sitolitik spesifik.(5)

Selanjutnya peranan dari sel Th17 dan IL-17. Data-data ini menunjukkan bahwa IL-23 penting untuk ekspresi respons sel Th17 dan IL-17 terhadap infeksi TB. Peranan spesifik IL-23 dibutuhkan untuk respons Th17 terhadap infeksi mikobakterium pada manusia. Tampaknya IL-17 dikenali sebagai sitokin inflamasi yang sanggup menginduksi kemotaksis dan memulai inflamasi, terutama dalam paru, IL-17 dan IL-23 menginduksi influx neutrofil dan hemostasis dalam paru yang terinfeksi M.tb. Tampak jelas bahwa IL-23 dan IL-17 bekerja dalam cara kompleks mengontrol inflamasi yang diinduksi oleh TB. Tidak mengherankan IL-17 dapat bekerja sebagai mediator dalam

akumulasi makrofag dan memperantarai induksi kemokin CXCL yang berisi IL-17.(18,20)

#### **2.4.1 Imunitas Seluler *Mycobacterium tuberculosis***

##### **a. Makrofag dan monosit**

Makrofag merupakan sel efektor penting dalam imunitas terhadap bakteri intraseluler tetapi pada saat bersamaan dimanfaatkan sebagai sel *host* oleh sejumlah mikroorganisme seperti M.tb. Kematian sel makrofag berperan penting dalam patogenesis TB. Agar M.tb dapat menimbulkan infeksi, kuman tersebut harus masuk dalam makrofag alveoli setelah inhalasi aerosol. Makrofag dapat menelan bakteri tersebut melalui berbagai reseptor fagositik. Sejumlah reseptor fagositik lain terlibat dalam masuknya M.tb ke makrofag adalah *complement toll-like* dan reseptor mannose.(20)

Setelah fagositosis, M.tb non patogenik di degradasi dengan keasaman fagosomal yang mengandung hidrolase yang aktif pada pH rendah. Kunci dari virulensi M.tb adalah kemampuannya untuk mencegah penggabungan ATP/pompa proton ke dalam membran fagosom dan membatasi perlekatan vakuola dengan lisosom dalam makrofag yang istirahat, M.tb menghalangi pematangan fagosom untuk menjamin replikasi dan kelangsungan hidup intraseluler.(18) Pada makrofag yang diaktifkan oleh IFN- $\gamma$ , pematangan fagosom



dihambat, kemungkinan melalui induksi dan penyilangan jalur autofagik. Dalam fagolisosom, M.tb kehilangan nutrisi penting seperti zat besi dan terpapar efektor mikrobisidal yang disebabkan oleh makrofag yang teraktivasi IFN- $\gamma$  seperti *antimicrobial peptides* (AMPs) dan oksigen atau nitrogen reaktif, produk dari NADPH oksidase dan *nitric oxide synthase* (NOS2).(18)

b. *Polymorphonuclear Cells* (PMN)

Neutrofil adalah sel yang dengan cepat direkrut pada infeksi M.tb, di mana basil di fagosit dengan efektif. Neutrofil merupakan sel fagosit profesional yang berperan penting dalam banyak infeksi dan peningkatan neutrofil diobservasi dalam cairan BAL pasien TB paru.

c. Respons Sel Dendritik / *Dendritic Cell Response* (DCs)

Peranan penting DCs dalam patogenesis M.tb telah dijelaskan secara luas. *Dendritic cells response subset* lain merupakan APCs dari sistem imun bawaan paling poten yang memiliki kemampuan untuk merangsang limfosit T memori atau naive. *Dendritic cell response* terdapat dalam berbagai tingkat perkembangan, aktivasi dan maturasi yang ditentukan oleh modalitas fungsional dan fenotip berbeda. Setelah inhalasi, M.TB difagositosis oleh makrofag alveoli dan DCs yang terdapat dalam ruang alveoli paru, DCs mampu

melewati limfonodus lokal dan berhasil mempresentasikan antigen terhadap sel T yang menyebabkan CMI menjadi efektif.(18,19)

Translokasi M.tb ke limfonodus melalui DCs yang terinfeksi merupakan prekursor penting untuk aktivasi sel T. Setelah paparan DCs terhadap M.TB, IL-12 p70 dan IL-23 yang diinduksi berperan penting dalam patogenesis TB. Selain itu DCs mengalami kematian sel setelah infeksi M.TB diperlihatkan in vitro, seperti halnya makrofag, ini merupakan cara proteksi host melawan TB.(18)

#### **2.4.2 Imunitas Humoral *Mycobacterium tuberculosis***

Seperti telah dijelaskan sebelumnya, IFN- $\gamma$  suatu sitokin inflamasi merangsang aktivitas mikroba makrofag dan mengatur presentasi antigennya melalui molekul MHC klas II dengan up-regulasi ekspresi protein dan mRNA-nya. IFN- $\gamma$  juga dapat menginduksi autofag yaitu suatu mekanisme yang berperan penting dalam imunitas bawaan melawan mikroorganisme intraseluler. Sel TCD4+ - MHC tipe II, sel TCD8+ MHC klas I dan makrofag penting dalam proteksi imun terhadap M.tb di mana berkurangnya jumlah atau fungsi dari sel-sel ini menyebabkan reaktivasi infeksi dan sel Th1 berperan penting dalam melindungi respons imun terhadap TB.(20)

*Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) merupakan patogen intraseluler, obligat aerobik, predileksi pada jaringan paru yang kaya suplai oksigen.

*Mycobacterium tuberculosis* masuk ke tubuh melalui sistem pernapasan. Basil menyebar dari tempat awal infeksi di paru dan kelenjar limfe regional.(20)

Permulaan respons imun bawaan dimulai dengan pengenalan pola struktur yang disebut *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs). Pengenalan PAMPs dilakukan oleh reseptor yang mengkode kuman pada sel imun dinamakan *patterns recognition receptor* (PRRS) dectin dan TLR4 berperan dalam induksi IL-17 oleh TB, sitokin IL-10 yang disekresi oleh sel Th2 memengaruhi makrofag dengan menekan produksi sitokin dan menurunkan aktivitas dan proliferasi sel Th1 dan ada penelitian memperkirakan bahwa IL-10 berperan penting dalam meningkatkan ketahanan hidup *M.tb* dalam makrofag.(18)

Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa limfosit T sitolitik dan IFN- $\gamma$  yang mengaktivasi makrofag diperlukan untuk memberikan perlindungan imun terhadap *M.tb*. IFN- $\gamma$  adalah sitokin penting untuk proteksi imun tetapi kalau berlebihan merupakan juga mediator utama imunopatologi. Aktivasi masif makrofag dalam tuberkel oleh IFN- $\gamma$  menyebabkan pelepasan konsentrasi enzim litik. Enzim ini menghancurkan sel-sel sekitarnya yang sehat dan membentuk bagian sirkular dari jaringan nekrotik.(20)

## **2.5 Diagnosis Tuberkulosis**

Diagnosis tuberkulosis dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinik, pemeriksaan fisik/jasmani, pemeriksaan bakteriologik, radiologik dan pemeriksaan penunjang lainnya.(21)

### **2.5.1 Gejala Klinik**

Gejala klinik TB dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu gejala respiratorik (atau gejala organ yang terlibat) dan gejala sistemik.(12)

#### **a. Gejala respiratorik**

- batuk  $\geq$  3 minggu
- batuk darah
- sesak napas
- nyeri dada

Gejala respiratorik ini sangat bervariasi, dari mulai tidak ada gejala sampai gejala yang cukup berat tergantung dari luas lesi. Kadang penderita terdiagnosis pada saat medical check-up. Bila bronkus belum terlibat dalam proses penyakit, maka penderita mungkin tidak ada gejala batuk. Batuk yang pertama terjadi karena iritasi bronkus, dan selanjutnya batuk diperlukan untuk membuang dahak ke luar.(12)

Gejala TB ekstra paru tergantung dari organ yang terlibat, misalnya pada limfadenitis tuberkulosa akan terjadi pembesaran yang lambat dan tidak

nyeri dari kelenjar getah bening, pada meningitis tuberkulosa akan terlihat gejala meningitis, sementara pada pleuritis tuberkulosa terdapat gejala sesak napas dan kadang nyeri dada pada sisi yang rongga pleuranya terdapat cairan.(12)

b. Gejala sistemik

- demam
- gejala sistemik lain : malaise, keringat malam, anoreksia, berat badan menurun.(12)

### **2.5.2 Pemeriksaan Fisik**

Pada pemeriksaan jasmani kelainan yang akan dijumpai tergantung dari organ yang terlibat. Pada TB paru, kelainan yang didapat tergantung luas kelainan struktur paru. Pada permulaan (awal) perkembangan penyakit umumnya tidak (atau sulit sekali) menemukan kelainan. Kelainan paru pada umumnya terletak di daerah lobus superior terutama daerah *apex* dan segmen posterior, serta daerah *apex* lobus inferior. Pada pemeriksaan jasmani dapat ditemukan antara lain suara napas bronkial, amforik, suara napas melemah, ronki basah, tanda-tanda penarikan paru, diafragma & mediastinum.(12)

Pada pleuritis tuberkulosa, kelainan pemeriksaan fisik tergantung dari banyaknya cairan di rongga pleura. Pada perkusi ditemukan pekak, pada auskultasi suara napas yang melemah sampai tidak terdengar pada sisi yang terdapat cairan.(12)

Pada limfadenitis tuberkulosa, terlihat pembesaran kelenjar getah bening, tersering di daerah leher (pikirkan kemungkinan metastasis tumor), kadang-kadang di daerah ketiak. Pembesaran kelenjar tersebut dapat menjadi *cold abscess*.(12)

### **2.5.3 Pemeriksaan Biakan Kuman**

Pemeriksaan biakan M.TB dengan metode konvensional ialah dengan cara:

- *Egg base media* (Lowenstein-Jensen, Ogawa, Kudoh)
- Agar base media : *Middle brook*

Melakukan biakan dimaksudkan untuk mendapatkan diagnosis pasti, dan dapat mendeteksi M.tb dan juga *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT). Untuk mendeteksi MOTT dapat digunakan beberapa cara, baik dengan melihat cepatnya pertumbuhan, menggunakan uji nikotinamid, uji niasin maupun pencampuran dengan *cyanogen bromide* serta melihat pigmen yang timbul.(12)

Pada tahun 2007, WHO merekomendasikan penggunaan metode biakan cair untuk biakan dan uji kepekaan obat sebagai standar diagnosis dan

manajemen kasus tuberkulosis (TB).(22) Hal ini dikarenakan berdasarkan waktu deteksi dan pengujian kepekaan obat, didapatkan bahwa media biakan cair jauh lebih unggul daripada media biakan padat. Dilaporkan pula bahwa terdapat spesies mikobakteri tertentu yang hanya tumbuh dalam media cair dan gagal dideteksi pada media padat.(23)

MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) terdiri dari *liquid broth medium* yang dikenal menghasilkan pemulihan yang lebih baik dan pertumbuhan mikobakteri yang lebih cepat. MGIT mengandung 7,0 ml *Middlebrook 7H9 broth base* yang dimodifikasi. Media ini disterilisasi dengan autoklaf kemudian ditambahkan MGIT OADC (Asam oleat, Albumin, Dekstrosa dan Katalase) atau Suplemen Pertumbuhan MGIT 960 untuk melengkapi media biakan cair ini. Suplemen Pertumbuhan ini sangat penting untuk pertumbuhan banyak mikobakteri, terutama yang termasuk ke dalam kompleks *M. tuberculosis*. Penambahan MGIT PANTA juga diperlukan untuk menekan kontaminasi.(23)

Selain media cair *Middlebrook 7H9*, MGIT juga berisi *oxygen-quenched fluorochrome*, tris 4, 7-diphenyl-1, 10-phenanthroline ruthenium chloride pentahydrate yang tertanam dalam silikon di bagian bawah tabung. Selama pertumbuhan bakteri di dalam tabung, oksigen bebas digunakan dan diganti dengan karbon dioksida sehingga semakin lama kadar oksigen bebas akan menipis dan fluorokrom tidak lagi dihambat yang kemudian akan

menghasilkan fluoresensi dalam tabung MGIT ketika divisualisasikan di bawah sinar UV. Intensitas fluoresensi ini berbanding lurus dengan tingkat penipisan oksigen.(23)

Tabung MGIT dapat diinkubasi pada suhu 37°C dan dibaca secara manual di bawah sinar UV atau dimasukkan ke dalam instrumen MGIT 960 di mana tabung tersebut diinkubasi dan dipantau peningkatan fluoresensinya setiap 60 menit. Pertumbuhan mikobakteri ini meningkatkan fluoresensi tersebut dan saat tes dinyatakan positif terdapat sekitar  $10^5 - 10^6$  unit *colony-forming units* (CFU) per ml media. Instrumen menyatakan tabung negatif jika tetap negatif selama enam minggu (42 hari). Deteksi pertumbuhan juga dapat diamati secara visual dengan adanya kekeruhan ringan yang tidak homogen atau penampakan granular/serpihan kecil dalam medium.(23)

#### **2.5.4 Tes Cepat Molekuler (TCM)**

Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert merupakan pemeriksaan molekuler secara otomatis dan terintegrasi semua langkah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) berdasarkan uji *deoxyribonucleic acid* (DNA) untuk mendiagnosis TB Paru yang dikembangkan dalam kemitraan antara Cepheid, Inc., *Foundation for Innovative New Diagnostics* (FIND), *University of Medicine and Dentistry of New Jersey* (UMDNJ), dan Institut



Kesehatan Nasional (NIH). Secara simultan dapat mendeteksi DNA kompleks *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) dan mutasi yang terkait dengan rifampisin.(24) Pemeriksaan ini diklaim hanya memerlukan waktu 2 jam dengan *disposable cartridge* sejak sampel dimasukkan ke dalam mesin hingga hasil pemeriksaan keluar dan tercetak.(25)

Tes ini dapat secara efektif digunakan dalam pengaturan sumber daya rendah untuk menyederhanakan akses pasien ke diagnosis dini dan akurat, sehingga berpotensi menurunkan morbiditas yang terkait dengan keterlambatan diagnostik, *lost to follow up* dan pengobatan yang salah.(26)

## **2.6 Penatalaksanaan Tuberkulosis(21)**

Pengobatan tuberkulosis terbagi menjadi 2 fase yaitu fase intensif selama 2 bulan dan fase lanjutan 4 bulan. Paduan obat yang digunakan terdiri dari paduan obat utama dan tambahan.

### **2.6.1 Obat Anti Tuberkulosis (OAT)**

Obat yang dipakai(12,21)

a. Jenis obat utama (lini 1) yang digunakan adalah:

- Rifampisin
- INH
- Pirazinamid
- Streptomisin
- Etambutol

b. Kombinasi dosis tetap (*fixed dose combination*) terdiri dari :

- Empat OAT dalam satu tablet, yaitu rifampisin 150 mg, isoniazid 75 mg, pirazinamid 400 mg dan etambutol 275 mg.
- Tiga OAT dalam satu tablet, yaitu rifampisin 150 mg, isoniazid 75 mg dan pirazinamid. 400 mg.

c. Jenis obat tambahan lainnya (lini 2) :

- Kanamisin
- Kuinolon
- Obat lain masih dalam penelitian ; makrolid, amoksilin + asam klavulanat
- Derivat rifampisin dan INH

### **2.6.2 Dosis OAT(12,21)**

Kombinasi dosis tetap rekomendasi WHO 1999 untuk kombinasi dosis tetap, penderita hanya minum obat 3 – 4 tablet sehari selama fase intensif, sedangkan fase lanjutan dapat menggunakan kombinasi dosis 2 obat antituberkulosis seperti yang selama ini telah digunakan sesuai dengan pedoman pengobatan.

Pada kasus yang mendapat obat kombinasi dosis tetap tersebut, bila mengalami efek samping serius harus dirujuk ke rumah sakit / fasilitas yang mampu menanganinya.

## 2.7 Gen NOD2 (*Nucleotide binding Oligomerization Domain-2*)

*Nucleotide oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs)* adalah kelompok khusus protein intraseluler yang memainkan peran penting dalam regulasi respons imun bawaan.(27) Sistem kekebalan bawaan, yang merupakan garis pertahanan pertama, berkaitan dengan deteksi awal dan eliminasi mikroba berbahaya. Tidak seperti reaksi imun yang diinduksi melalui sistem imun adaptif, respons imun bawaan diaktifkan dalam beberapa menit setelah paparan patogen dan mulai menghasilkan respons inflamasi protektif. Selain itu, sistem kekebalan bawaan memainkan peran sentral dalam mengaktifkan respons imun adaptif berikutnya.(28,29) Pengetahuan tentang bagaimana sistem kekebalan bawaan mengenali mikroba patogen telah berkembang pesat dalam beberapa dekade terakhir. Kemajuan konseptual utama adalah penemuan *Pathogen recognition receptors (PRRs)* dikodekan germline yang dapat mengenali struktur mikroba.(28)

PRR dapat ditemukan di ruang ekstraseluler, terintegrasi dalam membran seluler atau di sitosol. Sebagian besar pengetahuan kita tentang PRR berasal dari studi *Toll-like receptor (TLR)*, kelas pertama PRR seluler yang diidentifikasi. Reseptor tol pertama kali ditentukan dalam dan terlokalisasi baik di permukaan sel atau di dalam endosom.(27,30) PRR mengaktifkan jalur pensinyalan yang mengarah pada induksi respons imun bawaan dengan memproduksi sitokin inflamasi, seperti interferon tipe I (IFN), dan mediator

lainnya. Proses-proses ini tidak hanya memicu respons pertahanan langsung seperti peradangan, tetapi juga memicu dan mengatur respons imun adaptif spesifik antigen. Respons ini sangat penting untuk pembersihan mikroba yang menginfeksi serta penting untuk instruksi konsekuensi dari respons imun adaptif spesifik antigen.(28,31)

Mamalia memiliki beberapa kelas PRR yang berbeda termasuk reseptor seperti TLR, *retinoid acid-inducible gene-I(RIG-I)-like receptors* (RLRs), reseptor seperti *Nod-like* (NLR), reseptor seperti AIM2 (ALR), reseptor lektin tipe-C (CLR), dan sensor DNA intraseluler seperti cGAS. TLR melokalisasi ke permukaan sel atau ke kompartemen intraseluler seperti ER, endosom, lisosom, atau endolisosom, dan mereka mengenali PAMP yang berbeda atau tumpang tindih seperti lipid, lipoprotein, protein, dan asam nukleat.(31–33) Sebaliknya, NLR dan *retinoid acid-inducible gene-I(RIG-I)-like receptors* (RLRs) adalah sensor sitosol intraseluler. RLR adalah heliks yang mendeteksi virus. (27,30,34,35)

Ulasan ini berfokus pada NLR, yang terutama terlibat dalam pengenalan bakteri. Temuan penting adalah penemuan bahwa disregulasi imun yang terkait dengan variasi genetik pada gen NLR menyebabkan penyakit atau dikaitkan dengan peningkatan kerentanan terhadap beberapa penyakit inflamasi.(27,30) NLR bertindak sebagai protein perancah yang merakit platform sinyal yang memicu faktor nuklir- $\kappa$ Band mitogen- mengaktifkan

jalur pensinyalan protein kinase dan mengontrol aktivasi kaspase inflamasi.(27) NLR merupakan salah satu dari PPR yang akan mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) ataupun *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) pada sistem imun bawaan. NLRs disini berperan sebagai reseptor intraseluler yang mengenali PAMPs.(7,36) PAMPs ini sering memainkan fungsi kritis dalam kehidupan mikroba dan termasuk lipopolisakarida (LPS), komponen utama dari lapisan luar bakteri Gram-negatif, peptidoglikan (PGN), komponen utama dinding sel bakteri Gram-positif, flagelin, dan asam nukleat mikroba.(27)

Penemuan penting terkait disregulasi imun yang berkaitan dengan variasi genetik pada gen NLR menjadi penyebab penyakit atau dihubungkan dengan meningkatnya kerentanan terhadap beberapa penyakit inflamasi. Terdapat 23 famili dari NLR pada manusia yang diekspresikan pada berbagai tipe sel termasuk sel-sel imun dan sel *epithelial*, walaupun beberapa NLR tertentu diekspresikan secara primer pada sel fagosit termasuk makrofag dan neutrofil.(27,30) Karakteristik utama NLR adalah domain NOD (atau NACHT) pusat, diperlukan untuk oligomerisasi, domain interaksi protein-protein homotipik terminal-N dan rangkaian terminal-C dari *Leucine-rich repeats* (LRR) terlibat dalam penginderaan agonis atau pengikatan ligan.(37)

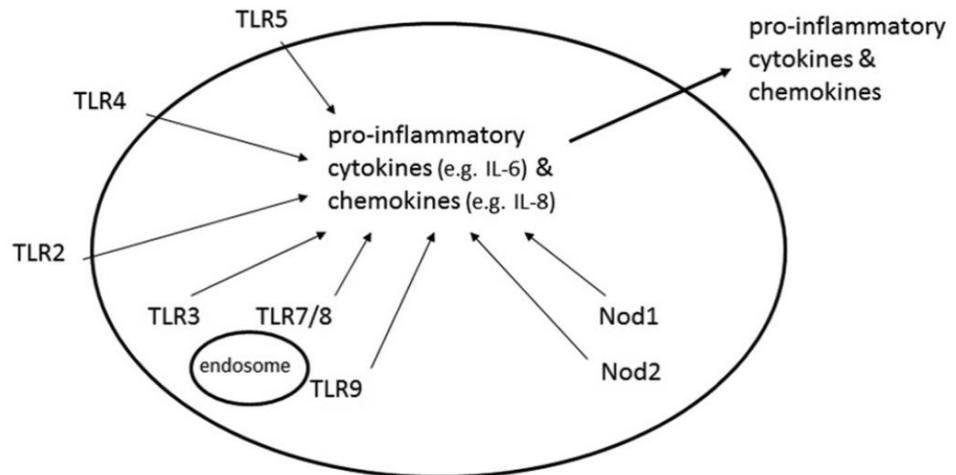
NLR mamalia dibagi menjadi empat subfamili berdasarkan variasi dalam domain terminal-N mereka: NLRA atau transaktivator Kelas II (CIITA)

mengandung domain transaktivasi asam, NLRB atau protein penghambat apoptosis neuron (NAIP) memiliki penghambat *baculovirus* dari *Apoptosis Protein Repeat* (BIR), NLRCs memiliki *Caspase-recruitment Domain* (CARD), dan NLRPs memiliki *Pyrin Domain* (PYD). NLRX1 berisi domain efektor X terkait CARD. Setelah pengikatan ligan, LRR *auto-inhibitor* mengalami perubahan konformasi, yang memperlihatkan domain terminal-N yang memungkinkan interaksi dengan adaptor atau efektor pensinyalan hilir dan pembentukan kompleks oligomer.(37,38) Platform NLR yang merekrut dan mengaktifkan protease inflamasi caspase-1 disebut sebagai *inflammasome*. Caspase-1 diperlukan untuk pemrosesan dan pematangan sitokin inflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 dan induksi bentuk inflamasi kematian sel yang disebut piroptosis.(39,40) Di antara NLR, NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12, NLRC4, dan NAIP telah dilaporkan beroperasi melalui *inflammasomes*. NLR lain seperti NOD1, NOD2, NLRP10, NLRX1, NLRC5, dan CIITA tidak secara langsung melibatkan *caspase* inflamasi, tetapi mengaktifkan *Nuclear Factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B), *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs), dan interferon (IFN).(37)

Pada manusia, terdapat dua gen NOD, yaitu NOD1 dan NOD2. Kedua gen ini dapat mendeteksi peptidoglikan, yang merupakan bagian dari struktur penting dinding sel bakteri. Kekhususan bagi gen NOD2 adalah dapat mendeteksi *muramyl dipeptide* (MDP) yang merupakan komponen umum

dinding sel pada bakteri gram negatif, gram positif dan mikobakterium.(7,41,42)

NOD1 dan 2 masing-masing dikodekan oleh gen CARD4 dan CARD15, dan sebagai NLRC, keduanya mengandung domain NOD dan LRR bersama selain CARD terminal amino. Terlepas dari kesamaan yang kuat antara kedua reseptor, ada perbedaan; NOD1 berisi satu domain CARD, sedangkan NOD2 berisi dua dan ekspresi NOD1 terdeteksi dalam berbagai jenis sel, sedangkan ekspresi NOD2 terbatas pada sel myeloid, keratinosit, usus, paru, dan sel epitel mulut.(43–48) Aktivasi NOD1 dan 2 mengikuti pengenalan sitosolik ligan peptidoglikan yang memicu oligomerisasi reseptor melalui domain NOD mereka dan perekrutan mediator yang diperlukan untuk membentuk kompleks sinyal yang disebut sebagai nodosome. Nodosom diarahkan ke titik masuknya bakteri pada membran plasma sel epitel terpolarisasi oleh protein pengatur FRMBP2. NOD1 dan 2 keduanya berinteraksi dengan RIPK2, melalui interaksi homotip CARD-CARD. Asosiasi ini menghasilkan perekrutan sejumlah ligase ubiquitin E3, termasuk faktor terkait reseptor TNF (TRAFs).(37)



Gambar 3. TLR dan protein sitosol, Nod1 dan Nod2, adalah “*Pattern Recognition Receptor*” (PRR) yang mengenali produk mikroba yang disebut “*Pathogen-associated molecular patterns*“ (PAMPs). Sebagai hasil dari ligasi PRR oleh PAMP, sitokin dan kemokin proinflamasi disintesis dan disekresikan.(38)

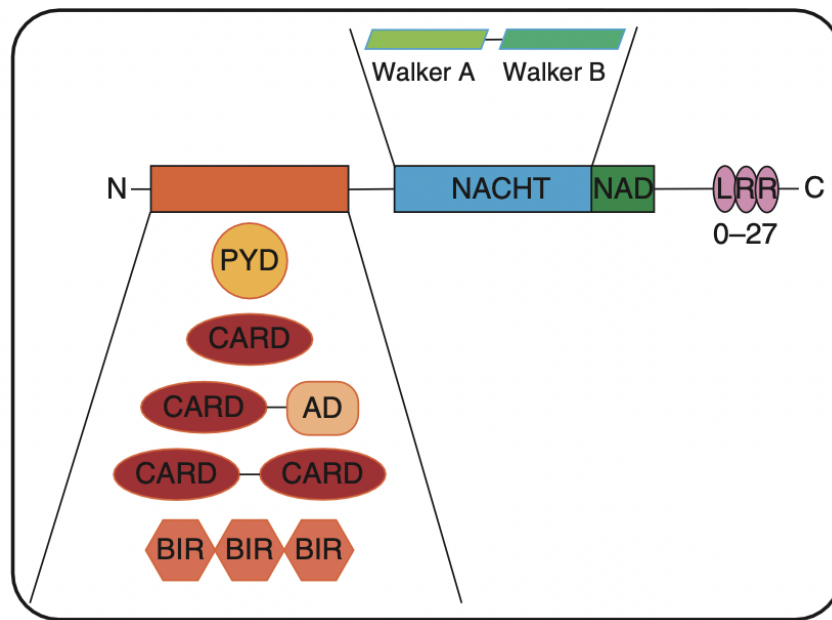
### 2.7.1 Struktur NOD2

*Nucleotide-binding and oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs)* secara struktural merupakan suatu multi-domain protein yang sangat besar. NLR berbagi arsitektur domain tripartit yang dilestarikan, terdiri dari domain NACHT pusat, domain pengulangan kaya leusin C-terminal (LRR) dan domain terminal-N variabel, yang biasanya terdiri dari *death domain-fold*. Domain NTPase pusat dari NLR tumbuhan dan hewan berevolusi dari nenek moyang prokariotik, karena kedua varian hadir dalam jamur. Pada manusia, domain ini dinamai



protein yang awalnya diidentifikasi memiliki struktur ini: NAIP, CIITA, HET-E, TEPI (NACHT) (Gambar 4).(49,50)

Domain N-terminal memediasi sinyal melalui interkasinya dengan faktor-faktor *downstream*. Domain CARD dan PYD termasuk dalam *the death domain-fold superfamily*, yang terlibat dalam beberapa proses seluler termasuk apoptosis dan inflamasi. Kedua domain ini pula memediasi interaksi homofilik dengan CARD dan PYD-containing proteins lainnya.(27)



Gambar 4. Struktur NLR. NLR berbagi NACHT pusat (modul oligomerisasi, hadir dalam domain NAIP, CIITA, HET-E, TP-1), sejumlah variabel LRR terminal-C (pengulangan kaya leusin) dan domain terminal-N variabel: a BIR (*baculovirus IAP [inhibitor of apoptosis] repeat*) domain, satu atau dua CARD (*caspase-activating and recruitment*

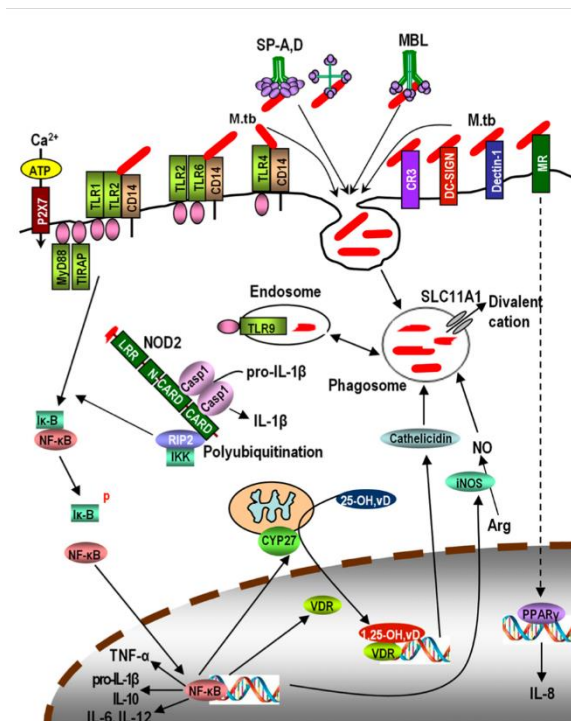
*domain*), CARD-AD (*CARD-transkripsional activation domain*) atau PYD (*pyrin domain*). Domain pusat NACHT menampung motif Walker A dan B, diikuti oleh domain terkait NACHT (NAD), yang berisi misalnya motif heliks bersayap. NLR memiliki jumlah variabel C-terminal LRR, mulai dari tidak ada (NLRP10) hingga 27 (NLRC5)(50)

### **2.7.2 Fungsi NOD2**

PRR makrofag dan reseptor fagositik yang berkontribusi terhadap penyakit mikobakteri, terutama TB, telah dibahas dalam beberapa tinjauan baru-baru ini termasuk reseptor terikat membran sel, seperti reseptor mannose (MR, CD206), sel dendritik spesifik ICAM-3-*grabbing nonintegrin* (DC-SIGN) (CD209), Dectin-1, TLRs, dan reseptor komplemen 3 (CR3, CD11b/CD18), dan reseptor sitosol intraseluler, seperti domain oligomerisasi nukleotida 1 (NOD1) dan NOD2.(51)

Protein NOD terlibat dalam berbagai penyakit inflamasi, termasuk penyakit Crohn sementara kontribusi untuk penyakit mikobakteri juga muncul. Telah ditemukan bahwa NOD2 mengatur respons proinflamasi dan kelangsungan hidup intramakrofag *M.tb* dalam makrofag manusia. NOD1 dan NOD2 (masing-masing juga dikenal sebagai CARD4 dan CARD15), anggota prototipe dari keluarga reseptor mirip NOD, adalah protein sensor sitoplasma. Kuman *M.tb* mengandung *N-glycolyl*

*muramyl dipeptide* (MDP) yang unik dalam peptidoglikan dinding selnya yang merupakan ligan NOD2 yang sangat kuat.(51,52)



Gambar 5. Skema representatif dari jaringan imun bawaan makrofag sebagai respons terhadap infeksi M.tb (51)

Berbagai penelitian dilakukan untuk melihat peranan NOD2 dalam pertahanan melawan invasi M.tb. Salah satunya memperlihatkan bahwa NOD2 diperlukan untuk memproduksi sitokin proinflamasi.(6) Penelitian lain memperlihatkan bahwa terjadi penurunan produksi TNF- $\alpha$  pada mencit dengan NOD2 -/- bila dibandingkan dengan mencit *wild-*

*type*. Secara konsisten, penelitian ini telah menunjukkan bahwa cacat pada sinyal NOD2 menyebabkan gangguan pengenalan mikobakteri in vitro oleh makrofag yang diturunkan dari manusia atau *murine*. Selanjutnya, Gandotra dan rekan melaporkan bahwa tikus yang kekurangan NOD2 menunjukkan penurunan kekebalan antimikobakteri bawaan setelah infeksi *M.tb*; namun, beban bakteri pada bulan-bulan pertama setelah tantangan tidak berbeda sebagai fungsi dari status NOD2.(53) Selanjutnya, pada penelitian lain oleh Brook dkk memperlihatkan bahwa lebih banyak *M.tb* yang dapat bertahan hidup pada makrofag NOD2  $-/-$  dibandingkan kontrol. Sehingga dapat disimpulkan bahwa NOD2 berperan penting dalam mengontrol dan mengenali infeksi *M.tb*. NOD2 mengenali bakteri melalui LRR kemudian melakukan oligomerisasi melalui domain NOD dan melibatkan *receptor interacting protein-2* (RIP2) melalui interaksi elektrostatik dari domain CARD pada tiap protein. Hal ini mengantarkan kepada *signaling cascade* di mana terjadi aktivasi dan translokasi dari *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF-  $\kappa$ B) ke dalam nukleus untuk menimbulkan transkrip sitokin proinflamasi.(54,55)

## 2.8 Sitokin

Sitokin adalah berbagai grup protein yang memiliki efek plieotropik, yaitu kemampuannya untuk mengaktifkan sel-sel lain, menginduksi

diferensiasi, meningkatkan aktivitas bakterisidal, efek regulasi dan berperan pada sistem pertahanan tubuh juga pada proses inflamasi dan perbaikan jaringan. Sitokin merupakan molekul yang memediasi komunikasi intraseluler pada sistem imun, diproduksi oleh berbagai tipe sel yang berbeda, pada umumnya dilepaskan oleh sistem imun sebagai respons terhadap PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) dan DAMPs (*Danger-Associated Molecular Patterns*).<sup>(56,57)</sup>

Secara garis besar, sitokin diklasifikasikan ke dalam lima keluarga besar yaitu interleukin, interferon, TNF ligands, *growth factor*, dan kemokin. Keluarga interleukin merupakan sitokin dalam jumlah terbesar, yang telah berhasil diidentifikasi hingga saat ini mulai dari IL-1 hingga IL-35. Interleukin ini diklasifikasikan pula ke dalam beberapa keluarga yang lebih kecil bergantung pada kemiripan struktur ataupun berbagi properti pengikat reseptor (*receptor binding property*), yaitu superfamili IL-1, keluarga IL-6, keluarga IL-10, keluarga IL-12, dan keluarga rantai- $\gamma$ .<sup>(58)</sup>

### **2.8.1 TNF ligand superfamily**

Anggota dari TNF *ligand superfamily* termasuk sitokin TNF (TNF- $\alpha$ ), limfotoksin (TNF- $\beta$ ) dan *B-cell activating factor* (BAFF atau BCAF). TNF- $\alpha$  diproduksi oleh berbagai sel imun sebagai respons terhadap stimulasi mikroba, sebagai contoh pada stimulasi oleh lipopolisakarida (LPS).<sup>(58,59)</sup>

### **2.8.1.1 *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* (TNF- $\alpha$ )**

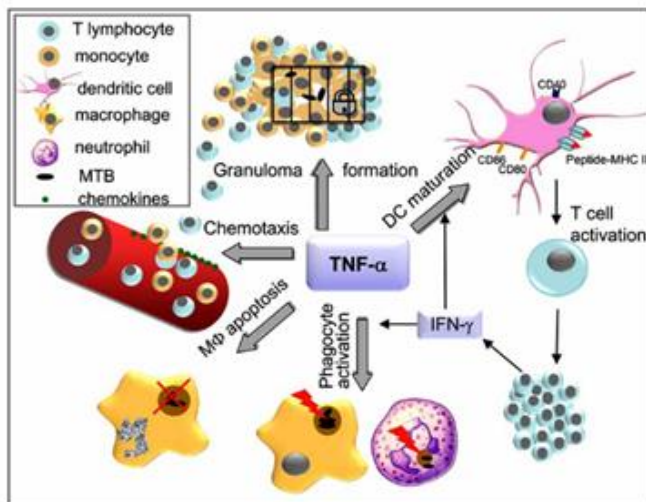
TNF- $\alpha$  adalah sitokin yang terutama diproduksi oleh monosit/makrofag dan juga dapat diproduksi oleh sel lain seperti neutrofil, sel mast, sel endotelial, fibroblast, sel NK, jaringan saraf dan sel limfoid seperti limfosit T dan B. Fungsi utama sitokin ini adalah sebagai imunomodulator dan inisiasi inflamasi. TNF- $\alpha$  termasuk agen piogenik kuat yang timbul selama reaksi inflamasi karena dapat melewati sawar darah otak sehingga merangsang hipotalamus dan menimbulkan kenaikan temperatur tubuh. Oleh karena itu, TNF- $\alpha$  sering dihubungkan dengan keadaan infeksi berat seperti demam, keringat dan kakeksia.(58,59)

- a. TNF- $\alpha$  merupakan sitokin multipotent yang selain memiliki aktivitas tumorisidal, juga berperan dalam apoptosis, aktivasi, rekrutmen dan diferensiasi sel. Bentuk terlarut TNF- $\alpha$  dilepaskan sebagai respons terhadap lipopolisakarida (endotoksin), produk bakteri lain dan juga sitokin interleukin-1. TNF- $\alpha$  merupakan salah satu sitokin yang terlibat dalam merangsang respons fase akut. Namun, konsentrasi TNF- $\alpha$  yang berbeda menghasilkan respons fisiologis yang berbeda. Konsentrasi TNF- $\alpha$  yang tinggi menimbulkan gejala seperti syok, sedangkan konsentrasi rendah yang berkepanjangan dapat menyebabkan *wasting syndrome/cachexia*. Mekanisme kompleks ini terjadi bukan hanya

disebabkan karena jumlah TNF- $\alpha$  yang diproduksi tetapi juga karena berbagai bentuk sitokin yang dihasilkan.(59)

- b. Pada fase inflamasi, monosit yang teraktivasi dapat dengan cepat mensintesis TNF- $\alpha$  di tempat terjadinya inflamasi dan menginduksi kematian sel target baik melalui kontak antar sel ataupun pelepasan lokal dari TNF- $\alpha$  dalam bentuk sekretorik terlarut. Namun, pada kasus syok septik dan *cachexia*, adanya kemungkinan aktivasi sistemik akut atau kronis dari monosit yang mengakibatkan pelepasan luas bentuk sekretorik TNF- $\alpha$  ke dalam sirkulasi individu yang terkena. TNF- $\alpha$  yang disekresikan berinteraksi utamanya dengan reseptor TNFRp55 (TNF-R1), yang mengaktifkan jalur transduksi sinyal untuk menginduksi apoptosis dan proliferasi sel inflamasi. Selain itu, telah banyak dilaporkan bahwa TNF- $\alpha$  memainkan peran yang sangat signifikan dalam respons imun terhadap infeksi M.tb.(59)
- c. TNF- $\alpha$  yang dilepaskan oleh makrofag terhadap infeksi M.tb dapat bertindak seperti pedang bermata dua di mana sitokin ini dapat mengaktifkan aktivitas anti-mikobakteria, tetapi juga dapat berkontribusi dalam membunuh sel inang. Selain itu, banyak tanda dan gejala patologis infeksi M.tb yang berkaitan dengan efek patologis dari TNF- $\alpha$  seperti demam, penurunan berat badan, anoreksia, kerusakan jaringan, serta efek sistemik dari pelepasan sitokin inflamasi yang berlebihan dalam sirkulasi.

Istilah pedang bermata dua ini mengacu pada peran TNF- $\alpha$  dalam infeksi M.tb yang dapat membantu sekaligus menghambat respons imun terhadap M.tb. Inhibisi TNF- $\alpha$  dapat menurunkan kemampuan untuk menahan pertumbuhan basil sehingga dapat mempertahankan keadaan dormansi infeksi M.tb pada manusia. TNF- $\alpha$  juga terbukti secara langsung memiliki aktivitas anti-mikobakteria yang efektif pada sel-sel fagosit mononuklear manusia. Namun, sitokin ini dapat memiliki dampak negatif melalui kontribusi pada banyak keadaan patologis pada TB dan secara langsung mendorong pertumbuhan M.tb pada monosit manusia di mana TNF- $\alpha$  ini meningkatkan ekspresi mRNA M.tb dalam monosit yang baru terinfeksi.(59)



Gambar 6. Peran TNF- $\alpha$  dalam respons imun terhadap infeksi M.tb(59)

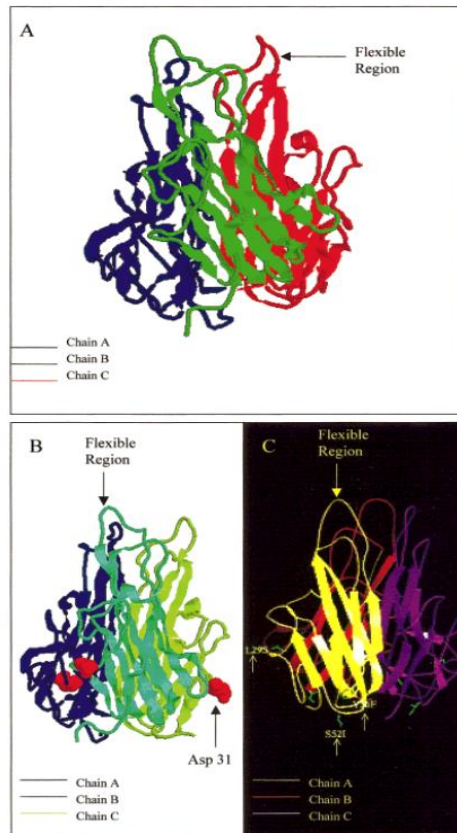


#### a. Struktur TNF- $\alpha$

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin yang memiliki efek pleiotropik pada berbagai jenis sel. Telah diidentifikasi sebagai pengatur utama respons inflamasi dan diketahui terlibat dalam patogenesis beberapa penyakit inflamasi dan autoimun. Secara struktural, TNF- $\alpha$  merupakan protein homotrimer yang terdiri dari 157 asam amino, terutama dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi, limfosit T, dan sel *natural killer*. Secara fungsional diketahui memicu serangkaian berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin lainnya. TNF- $\alpha$  ada dalam bentuk larut dan transmembran. TNF- $\alpha$  *transmembran* (tmTNF- $\alpha$ ) adalah bentuk prekursor yang awalnya disintesis dan diperlukan untuk diproses oleh *disintegrin metalloproteinase* yang terikat membran yakni TNF- $\alpha$ -*converting enzyme* (TACE) untuk dilepaskan sebagai TNF- $\alpha$  terlarut (sTNF- $\alpha$ ).<sup>(60)</sup>

TNF- $\alpha$  merupakan molekul trimer yang berbentuk seperti kerucut segitiga, di mana setiap monomernya saling berinteraksi dengan dua monomer lainnya. Setiap monomer terdiri dari dua  $\beta$ -*pleated sheets* yang masing-masing terdiri dari delapan anti-paralel  $\beta$ -*strands* yang disusun dalam topologi  $\beta$ -*jellyroll* dengan insersi N-terminal yang berisi tiga  $\beta$ -*strands* tambahan. Monomer ini

memiliki panjang sekitar 60Å dan lebar 30Å. Lembaran luar kaya akan residu hidrofilik, sedangkan lembaran dalam bersifat hidrofobik dan mengandung segmen C-terminal yang terletak dekat dengan sumbu tengah trimer. *Jellyroll* berbentuk baji dengan dasar yang lebar dan puncak yang meruncing mirip seperti protein pada kapsid virus.(61)



Gambar 7. Diagram pita yang menunjukkan trimer TNF- $\alpha$  yang berbentuk kerucut dan dua mutannya. Residu yang bermutasi ditandai dengan panah.(61)

## **b. Produksi TNF- $\alpha$**

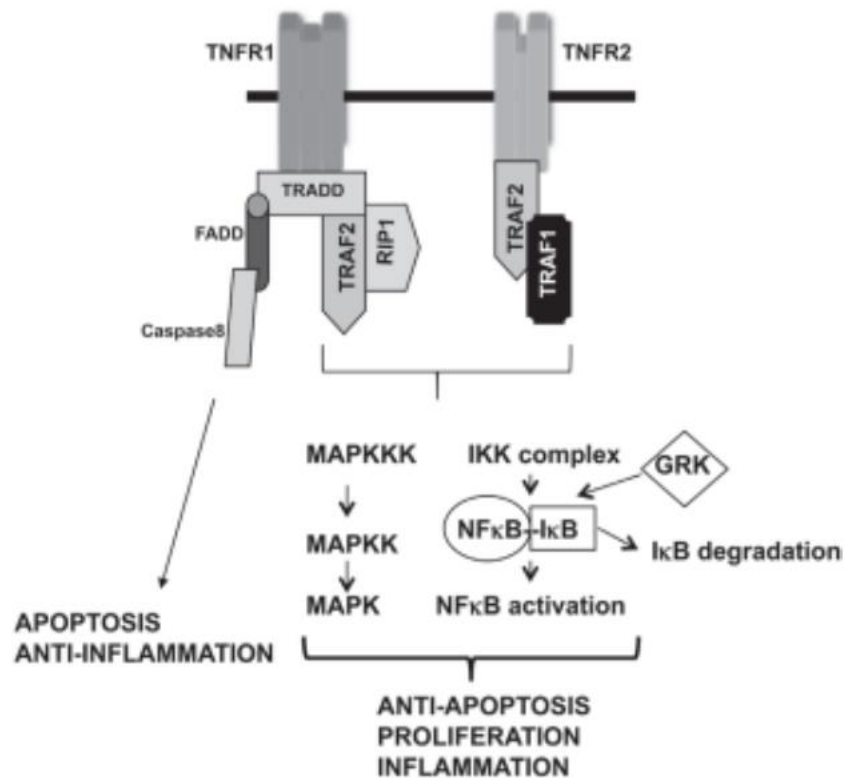
Gen TNF- $\alpha$  merupakan gen salinan tunggal pada kromosom 6 manusia. Gen ini terdiri dari empat ekson dan tiga intron di mana lebih dari 80% urutan TNF- $\alpha$  matang dikodekan dalam ekson keempat. Ekson I dan II utamanya mengandung *leader peptide sequence*. Messenger RNA untuk TNF- $\alpha$  diekspresikan dalam berbagai sel, termasuk monosit dan makrofag. Ekspresi gen TNF- $\alpha$  diatur pada tingkat transkripsi oleh beberapa faktor, termasuk *Nuclear Factor kappa B* (NF $\kappa$ B) dan *Nuclear Factor Activated T cells* (NF-AT). Produksi TNF- $\alpha$  juga diatur pada tingkat translasi melalui *UA-rich sequence* di daerah 3' *untranslated region* dari mRNA TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  diekspresikan sebagai protein 27-kDa (233 asam amino) yang kemudian secara proteolitik dibelah menjadi molekul 17-kDa (157 asam amino). 76-asam amino *presequence* dalam protein 27-kDa terkonservasi dan berfungsi untuk mengikat protein prekursor ke membran. Membran 27-kDa TNF- $\alpha$  (mTNF- $\alpha$ ) yang terintegrasi ini mengalami pembelahan proteolitik oleh *TNF $\alpha$ -converting enzyme* (TACE) yang kemudian menghasilkan 17-kDa TNF- $\alpha$  terlarut atau sTNF- $\alpha$ . Protomer 17-KDa TNF- $\alpha$  terdiri dari dua antiparalel  $\beta$ -*pleated sheets* dan antiparalel  $\beta$ -*strands*, yang

membentuk struktur *jelly-roll*. Diyakini bahwa mTNF- $\alpha$  dan sTNF- $\alpha$  masing-masing mengatur respons biologis pada tingkat autokrin/parakrin dan endokrin.(62)

**c. Reseptor dan transduksi sinyal TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$  bekerja melalui dua reseptor transmembran yakni reseptor TNF 1 (TNFR1), juga dikenal sebagai p55 atau p60, dan reseptor TNF 2 (TNFR2), juga dikenal sebagai p75 atau p80. TNFR1 dan TNFR2 mengandung empat pengulangan *cysteine-rich* dalam domain ekstraselulernya yang memanjang dan berinteraksi dengan alur lateral trimer TNF- $\alpha$  yang terbentuk di antara dua dari tiga protomernya. TNFR1 diekspresikan oleh semua jaringan manusia dan merupakan reseptor sinyal kunci untuk TNF- $\alpha$ . TNFR2 umumnya diekspresikan dalam sel imun dan memfasilitasi respons biologis yang terbatas. Secara umum, TNF- $\alpha$  berikatan dengan reseptornya terutama TNFR1 dan TNFR2 yang kemudian mentransmisikan sinyal molekuler untuk fungsi biologis seperti peradangan dan kematian sel. Pengikatan TNF- $\alpha$  ke TNFR1 merupakan mekanisme irreversible, sedangkan pengikatan TNF- $\alpha$  ke TNFR2 memiliki kinetika *on-off* yang cepat. Oleh karena itu, TNFR2 diduga mungkin bertindak sebagai "*ligand passer*" ke TNFR1 di beberapa sel sehingga menyebabkan terjadinya

peningkatkan konsentrasi lokal TNF- $\alpha$  pada permukaan sel melalui pengikatan dan disosiasi ligan yang cepat.(60,62)



Gambar 8. Transduksi sinyal seluler dari TNF- $\alpha$ (62)

TNF- $\alpha$  mengikat TNFR1 dan TNFR2 dengan afinitas tinggi. Terdapat perbedaan unik antara TNFR1 dan TNFR2, misalnya pada bagian sitoplasma TNFR1 mengandung *death domain* tetapi tidak pada TNFR2. Selain itu, TNFR2 dapat sepenuhnya diaktifkan hanya oleh mTNF $\alpha$  dan tidak oleh sTNF $\alpha$ . Baik TNFR1 dan

TNFR2 dapat dipecah dari permukaan sel oleh enzim matriks metaloproteinase sebagai respons terhadap sinyal inflamasi. Menariknya, domain ekstraseluler reseptor TNF yang terbelah ini mempertahankan kemampuan untuk mengikat TNF- $\alpha$ , sehingga dapat berfungsi sebagai inhibitor TNF- $\alpha$  endogen.(62)

**d. Peranan TNF- $\alpha$  pada sistem pertahanan *innate***

Makrofag adalah sel imun bawaan yang membentuk garis pertahanan pertama melawan patogen yang menyerang. Selain itu, sel-sel ini juga memainkan peran penting dalam homeostasis jaringan, koordinasi respons imun adaptif, peradangan, dan perbaikan. Elie Metchnikoff pertama kali menciptakan istilah "makrofag" untuk menggambarkan sel fagosit mononuklear besar. Selain itu, beberapa protozoa juga memiliki ciri-ciri tertentu yang mirip dengan makrofag mamalia. Di antara sistem fagosit mononuklear, makrofag adalah tipe sel utama yang berdiferensiasi. Makrofag juga menunjukkan heterogenitas struktural dan fungsional yang signifikan dan didistribusikan ke seluruh tubuh yang berpartisipasi dalam berbagai proses fisiologis dan patofisiologis. Makrofag merupakan sistem pertahanan utama terhadap invasi inang oleh berbagai mikroorganisme termasuk bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Makrofag terlibat dalam

pengenalan, fagositosis, dan penghancuran organisme. Selain itu, makrofag juga terlibat dalam presentasi antigen dan sekresi berbagai produk, termasuk enzim, penghambat enzim, sitokin, kemokin, komponen komplemen, faktor koagulasi, dan intermediet asam arakidonat. Selain sekresi repertoar sitokin/kemokin, makrofag juga menanggapi produk ini secara autokrin/parakrin, sehingga menonjolkan respons inflamasi.(62)

TNF- $\alpha$  adalah agen pro-inflamasi yang kuat yang mengatur banyak aspek fungsi makrofag. Sitokin ini dilepaskan dengan cepat setelah trauma, infeksi, atau paparan LPS yang berasal dari bakteri dan telah terbukti menjadi salah satu mediator awal yang paling banyak di jaringan yang meradang dan memiliki peran penting dalam mengatur cascade produksi sitokin proinflamasi. Sehingga TNF- $\alpha$  dianggap sebagai “*master regulator*” dalam produksi sitokin proinflamasi. Selain sitokin proinflamasi, TNF- $\alpha$  juga meningkatkan mediator transduksi sinyal lipid seperti prostaglandin dan faktor pengaktif trombosit. Berdasarkan peran ini, TNF- $\alpha$  telah diusulkan sebagai pemain sentral dalam aktivasi serta rekrutmen sel inflamasi dan diduga memainkan peran penting dalam pengembangan banyak penyakit inflamasi kronis.(62)

*Toll-like receptor* menginduksi produksi TNF $\alpha$  dari makrofag. Penambahan TNF- $\alpha$  eksogen dapat mengaktivasi makrofag hanya setelah *priming* dengan interferon gamma (IFN $\gamma$ ). TNF $\alpha$  dan IFN $\gamma$  menunjukkan *cross-talk* pada TNFR1 untuk menginduksi aktivasi makrofag. Telah diketahui sebelumnya bahwa TNF- $\alpha$  menginduksi aktivasi NF $\kappa$ B lebih kuat dengan adanya IFN- $\gamma$ . Pensinyalan IFN- $\gamma$  menyebabkan lokalisasi nuklear STAT1 $\alpha$  yang menghalanginya untuk direkrut pada TNFR1 dan menyebabkan terjadinya peningkatan aktivasi NF $\kappa$ B yang diinduksi TNF- $\alpha$ . Makrofag yang diaktifkan dapat bermigrasi ke tempat peradangan di mana makrofag ini dapat bertemu dengan patogen dan kemudian melisiskannya. Hal ini dapat terjadi dengan cara meningkatkan produksi spesies oksigen beracun melalui induksi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) untuk memproduksi *nitric oxide* (NO).<sup>(62)</sup>

Studi tentang pensinyalan TNF- $\alpha$  dalam makrofag sebagian besar berfokus pada aktivasi akut dan transien jalur transduksi sinyal dan faktor transkripsi seperti NF $\kappa$ B. Namun, terdapat penelitian yang menyelidiki respons makrofag primer selama 2 hari setelah stimulasi TNF- $\alpha$ . Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa TNF menginduksi *loop* autokrin yang ditandai dengan produksi IFN- $\beta$  yang rendah dan berkelanjutan.



IFN- $\beta$  ditemukan bekerja secara sinergis dengan sinyal TNF- $\alpha$  kanonik untuk menginduksi *sustained expression* dari gen yang mengkode molekul inflamasi dan *delayed expression* dari gen yang mengkode molekul respons interferon. Molekul-molekul ini kemudian dianggap sebagai makrofag utama untuk meningkatkan respons terhadap tantangan berikutnya terhadap produk mikroba atau sitokin. *Feed-forward loop* ini memainkan peran penting dalam mempertahankan reaksi inflamasi.(62)

**e. Peranan TNF- $\alpha$  pada sistem pertahanan adaptif**

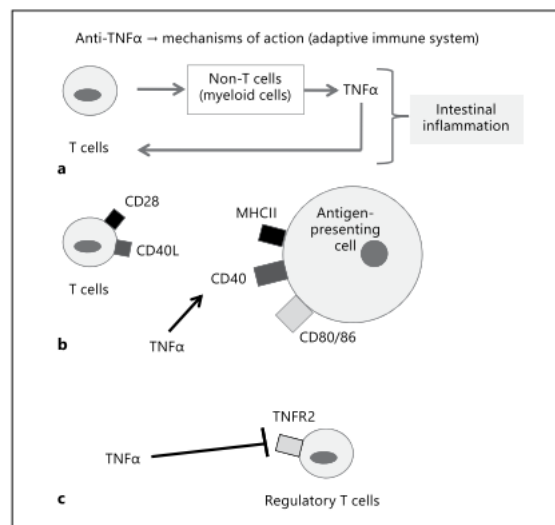
TNF- $\alpha$  tidak hanya penting untuk pemeliharaan kondisi inflamasi tetapi juga sangat diperlukan untuk pengembangan struktural sistem kekebalan mukosa. Organ limfoid sekunder menyediakan lingkungan mikro yang unik untuk menghasilkan respons imun. *B-cell-derived* TNF- $\alpha$  mengendalikan perkembangan sel dendritik folikel dan folikel sel B di *Peyer's patches*. Di kelenjar limfe, kerja sama antara TNF- $\alpha$  yang diekspresikan oleh sel B dan TNF- $\alpha$  yang diekspresikan oleh sel T diperlukan untuk menghasilkan dan mempertahankan respons imun humoral yang efisien. Dengan demikian, pekerjaan ini menunjukkan bahwa pemeliharaan setiap jenis organ limfoid

sekunder diatur oleh kontribusi berbeda dari mTNF- $\alpha$  dan sTNF- $\alpha$  yang diproduksi oleh limfosit B dan T.(63)

Bukti awal bahwa TNF- $\alpha$  memainkan peran penting dalam sistem kekebalan adaptif berasal dari penelitian awal pada model transfer kolitis. Dalam model ini, awalnya dijelaskan oleh Fiona Powrie, kolitis diinduksi dengan mentransfer sel T *naïve* ke tikus *Scid* atau *Rag2*<sup>-/-</sup> yang imunodefisiensi. Tingkat keparahan peradangan usus dapat dikurangi dengan netralisasi TNF- $\alpha$  secara terus menerus, menunjukkan bahwa netralisasi TNF- $\alpha$  secara langsung memengaruhi aktivasi sel T ataupun menghalangi aktivasi sekunder yang dimediasi oleh sel T. Sebuah studi selanjutnya memberikan bukti yang mendukung bahwa transfer pada *naïve TNF $\alpha$ -deficient* ataupun *wildtype* sel T menghasilkan tingkat keparahan kolitis yang sebanding. Sebaliknya, transfer sel T *naïve* ke tikus TNF- $\alpha$ <sup>-/-</sup> *Rag2*<sup>-/-</sup> gagal menginduksi kolitis di mana hal ini menunjukkan bahwa aktivasi sel non-T yang dimediasi sel T memiliki peran yang sangat penting untuk efek proinflamasi oleh TNF- $\alpha$ . Data ini menunjukkan interaksi yang diatur secara ketat antara sistem imun bawaan dan adaptif. Pada manusia, sel T kolon yang dikultur secara *in vitro* menunjukkan tingkat IFN $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  yang lebih tinggi dalam sel yang berasal

dari pasien penyakit Crohn bila dibandingkan dengan kontrol. Netralisasi TNF- $\alpha$  dengan koinkubasi menggunakan *infliximab* mengakibatkan penghambatan ekspresi IFN. Hal ini menunjukkan langsung dari *infliximab* pada sekresi sitokin pro-inflamasi oleh sel T usus.(63)

Bukti tidak langsung bahwa TNF $\alpha$  sangat mempengaruhi respons sel T helper berasal dari komplikasi utama terapi anti-TNF $\alpha$ , yaitu, reaktivasi tuberkulosis laten. Data awal dari bidang penelitian tuberkulosis menunjukkan bahwa respons sel T helper tipe 1 yang tepat sangat diperlukan untuk pengembangan respons imun yang tepat, termasuk pembentukan granuloma. Dengan tidak adanya TNF- $\alpha$ , tikus tidak dapat mengontrol infeksi tuberkulosis.(63)



Gambar 9. Efek anti inflamasi anti-TNF $\alpha$  pada sistem kekebalan adaptif. A. Sel T yang teraktivasi merangsang sel non-T (sel myeloid, sel epitel) untuk menghasilkan TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  mengaktifkan sel T (diperlukan untuk infeksi yang berbeda seperti tuberkulosis) dan, secara paralel, mendorong proses inflamasi. Anti-TNF $\alpha$  dapat menghalangi lingkaran proses ini. B. TNF- $\alpha$  mengatur molekul ko-stimulatori pada sel penyaji antigen sehingga mengakibatkan pemeliharaan dan bahkan memperburuk proses inflamasi. Netralisasi TNF- $\alpha$  dapat menekan proses ini. C. TNF- $\alpha$  menghambat fungsi sel T regulator melalui TNFR2. Strategi anti-TNF $\alpha$  tidak hanya menghasilkan sel T regulator yang fungsional tetapi juga meningkatkan frekuensi sel-sel ini.(63)

**f. Peranan TNF- $\alpha$  pada Infeksi Tuberkulosis Paru**

TNF- $\alpha$  diproduksi oleh makrofag, limfosit, neutrofil, dan beberapa sel endotel dan mengkoordinasikan respons inflamasi melalui induksi sitokin lain (IL-1 dan IL-6) serta perekrutan sel imun dan inflamasi melalui induksi kemokin dan supraregulasi adhesi molekul. Model eksperimental telah menunjukkan bahwa TNF- $\alpha$  memainkan peran penting tidak hanya dalam respons *host* terhadap M.tb tetapi juga dalam imunopatologi tuberkulosis.(57)

TNF- $\alpha$  meningkatkan kapasitas makrofag untuk memfagositosis dan membunuh *mycobacterium* serta merangsang apoptosis makrofag, menghilangkan basil dari sel inang dan menyebabkan kematian hingga sel dendritik dapat mempresentasikan antigen *mycobacterium*. *In vivo* TNF- $\alpha$  diperlukan untuk pembentukan dan pemeliharaan granuloma. Netralisasi TNF- $\alpha$  yang dihasilkan pada tikus yang terinfeksi kronis dengan antibodi monoklonal spesifik M.tb mengganggu integritas granuloma, memperburuk infeksi, dan meningkatkan mortalitas.(57)

M.tb berevolusi dan telah mengembangkan mekanisme yang berinteraksi dan memodulasi respons imun pejamu. *Mycobacterium* mengekspresikan antigen permukaan yang dapat menginduksi produksi IL-10 dan IL-4, yang biasanya memiliki efek anti inflamasi. Ekspresi tinggi IL-4 berperan sebagai faktor virulensi baik untuk kemampuan anti inflamasi maupun untuk mempromosikan kerusakan jaringan dalam hubungannya dengan TNF- $\alpha$ . Beberapa studi menunjukkan bahwa IL-4 (sendiri atau bersama-sama dengan TNF- $\alpha$ ) diduga memainkan peran dalam penghancuran jaringan dan/atau kematian sel selama infeksi oleh M.tb. TNF- $\alpha$  adalah salah satu faktor pengontrol yang paling kuat

untuk perekrutan monosit dan merupakan penginduksi ampuh kematian sel melalui mekanisme apoptosis. Nekrosis dikaitkan dengan lisis sel yang terinfeksi sehingga terjadi pelepasan M.tb dan kerusakan jaringan di sekitarnya.(57)

**g. TNF- $\alpha$  pada Tuberkulosis Aktif dan Laten**

TNF dan reseptor TNF memainkan peran kunci dalam memediasi respons imun pada peradangan akut dan kronis. Selama beberapa dekade terakhir, antagonis TNF dalam bentuk antibodi monoklonal anti-TNF atau protein fusi TNF telah menjadi terapi terhadap penyakit inflamasi kronis, seperti *rheumatoid arthritis*, psoriasis dan *psoriatic arthritis*, *ankylosing spondylitis*, *juvenile idiopathic arthritis* dan penyakit radang usus.(10)

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit granulomatososa yang disebabkan oleh infeksi M.tb di mana sebagian besar individu yang diduga terinfeksi dapat tidak berkembang menjadi penyakit TB karena adanya kontrol yang dilakukan oleh sistem kekebalan pejamu. Salah satu sitokin kunci dalam respons imun terhadap infeksi M.tb adalah TNF dan juga memiliki peran penting dalam pembentukan granuloma. Risiko berkembangnya TB ini meningkat pada individu yang sedang mendapat terapi anti-TNF. Sebagian besar kasus TB yang terkait dengan terapi antagonis TNF terjadi

dalam waktu yang dekat dari waktu dimulainya pengobatan dengan dan reaktivasi infeksi laten dengan *M.tb* menunjukkan perkembangan yang cepat secara khas.(10)

TNF- $\alpha$  adalah sitokin proinflamasi yang memberikan beberapa efek biologis. Ekspresi TNF- $\alpha$  dikontrol secara ketat, karena superproduksinya dapat memediasi efek merusak yang ditemukan pada syok septik seperti hipotensi arteri, koagulasi vaskular diseminata, dan hipoglikemia yang mematikan. Dalam proses pengendalian infeksi *mycobacterium*, TNF- $\alpha$  tampaknya memiliki peran primordial yang bekerja pada berbagai sel. Sel penghasil utamanya adalah makrofag teraktivasi, limfosit T, dan sel dendritik. Sitokin ini bekerja sinergi dengan IFN- $\gamma$  dalam merangsang produksi *reactive nitrogen intermediates* (RNI) sehingga memediasi fungsi tuberkulostatik makrofag. TNF- $\alpha$  juga merangsang migrasi sel imun ke tempat infeksi, berkontribusi pada pembentukan granuloma, yang mampu mengendalikan perkembangan penyakit. Penelitian yang dilakukan oleh Deveci F, dkk menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  serum meningkat pada pasien *active pulmonary tuberculosis* (APTb) dibandingkan dengan pasien *inactive pulmonary tuberculosis* (IPTb) dan kontrol.(64)

TB laten didefinisikan sebagai infeksi M.tb yang tetap berada di dalam makrofag tanpa bereplikasi, tetapi tetap memiliki kemampuan untuk menyebabkan penyakit aktif ketika ada gangguan pada respons imun protektif. Reaktivasi infeksi laten membutuhkan aktivasi basil yang diam. Beberapa faktor dapat memicu perkembangan penyakit aktif dari reaktivasi infeksi laten di mana biasanya melibatkan penurunan respons imun. Infeksi HIV merupakan faktor risiko terpenting untuk berkembang menjadi penyakit aktif karena penipisan sel T CD4+. Usia lanjut, malnutrisi, dan kondisi medis yang membahayakan sistem kekebalan juga merupakan faktor risiko terjadinya reaktivasi.(57)

Pemblokiran TNF- $\alpha$  memiliki efek terhadap perkembangan tuberkulosis pada model eksperimental. Netralisasi TNF- $\alpha$  pada murine menyebabkan perburukan atau reaktivasi tuberkulosis. Eksisi gen TNF- $\alpha$  atau reseptornya menghasilkan granuloma yang menyimpang atau tuberkulosis akut fulminan. Studi juga mengungkapkan bahwa TNF- $\alpha$  diekspresikan dalam jaringan yang terinfeksi M.TB selama seluruh fase laten infeksi di mana hal ini menunjukkan kontribusi TNF- $\alpha$  bersama dengan sitokin lain seperti IFN- $\gamma$  dalam kontrol multiplikasi basil.(57)



#### **h. TNF- $\alpha$ setelah pengobatan obat anti tuberkulosis (OAT)**

Sitokin tipe 1, khususnya TNF- $\alpha$ , sangat penting untuk perlindungan terhadap infeksi M.tb. Selain itu, TNF- $\alpha$  penting untuk menahan infeksi persisten dan pencegahan reaktivasi. Namun, TNF- $\alpha$  juga telah terbukti menjadi agen yang penting dalam patogenesis dan perkembangan penyakit. Kadar TNF- $\alpha$  yang tinggi sebenarnya dapat mendorong penyebaran granuloma, perkembangan infeksi dan peningkatan patologi. Sementara itu, data lain menunjukkan bahwa peningkatan kadar TNF- $\alpha$  merupakan akibat sekunder dari keparahan penyakit, yang menunjukkan hubungan penting antara TNF- $\alpha$  dan derajat patologi TB serta luasnya penyakit.(65)

Kadar serum TNF- $\alpha$  pada pasien TB berguna dalam mengevaluasi aktivitas penyakit TB selama terapi dengan tidak menggantikan parameter klinis aktivitas penyakit pada TB, seperti gejala, *rontgen* dada, dan hasil kultur dan apusan. TNF- $\alpha$  dapat digunakan sebagai parameter konvensional tambahan dan sebagai penanda keparahan TB.(66) Banyak penelitian telah dilakukan untuk memantau efikasi sitokin pada terapi anti-TB. Metode yang paling banyak digunakan adalah memantau penurunan progresif sebelum dan setelah pengobatan. Penurunan yang signifikan

mungkin saja dapat digunakan sebagai bukti biomarker potensial untuk memantau pengobatan TB. Contohnya pada salah satu penelitian yang dilakukan oleh Nie W, dkk didapatkan bahwa kadar serum TNF- $\alpha$  menurun secara signifikan setelah 6 bulan pengobatan dibandingkan dengan kadar serum TNF- $\alpha$  pada bulan 0 untuk kasus yang mencapai keberhasilan pengobatan ( $P = 0,002$ ).<sup>(65)</sup>

### **2.8.2 IL-1 superfamily**

Interleukin-1 (IL-1) merupakan kelompok protein yang terdiri dari 11 keluarga. 3 protein yang paling sering disebut adalah IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 *receptor antagonist* (IL-1ra atau IL-1 $\gamma$ ). IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dibentuk sebagai precursor yang kemudian berubah menjadi 31-kd dan 17-kd dalam bentuk aktifnya. Bentuk aktif dari IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  bukan hanya berperan sebagai agen potensial yang meningkatkan respons imun, namun juga menginduksi respons akut dan peradangan. Mereka berperan dalam imunitas, peradangan, dan sistem pertahanan tubuh. IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1ra memiliki afinitas yang sama terhadap 2 reseptor IL-1. Reseptor tipe I ditemukan pada sel T, fibroblast, sel endotel, hepatosit, dan beberapa jenis sel lain. Reseptor tipe II ditemukan pada sel B, neutrofil dan sum-sum tulang. Reseptor tipe I memiliki atribut

sitoplasma yang besar dan jika terjadi perlekatan ligan, akan memberikan efek biologi yang sesuai dengan IL-1. Hal ini berbanding terbalik dengan reseptor tipe II.(53)

Reseptor tipe II berikatan pada sel yang memiliki domain intraseluler. Pengikatan dan sekuesterasi IL-1 pada reseptor tipe II berperan sebagai anti inflamasi dan disebut juga sebagai *decoy receptors*. Reseptor tipe II ini dianggap sebagai prekursor untuk *soluble IL-1 binding factor*. Berperan sebagai antagonis IL-1 jika dilepaskan ke jaringan. IL-1ra berfungsi sebagai antagonis sitokin anti inflamasi. IL-1 umumnya diproduksi oleh sel-sel *mononuclear fagositik*, namun ia juga dapat diproduksi oleh sel endotel, keratinosit, sel sinovial, astrosit, osteoblast, neutrofil, sel glia, dan beberapa jenis sel lainnya. Produksi IL-1 di stimulasi oleh beberapa agen antara lain: endotoksin, sitokin, mikroorganism, dan beberapa antigen lainnya.(53)

Fungsi paling penting dari IL-1 adalah sebagai faktor aktivasi limfosit. Aktivasi sel T-helper membutuhkan interaksi *antigen-MHC complex* dengan reseptor sel T. Selain itu, juga dibutuhkan signal tambahan dari IL-1 untuk mencapai aktivasi dan proliferasi yang optimal. IL-1 meningkatkan produksi sitokin yang dikeluarkan oleh limfosit seperti IL-2 dan reseptornya. IL-2 nantinya akan meningkatkan proliferasi sel B dan pada akhirnya meningkatkan produksi

immunoglobulin. IL-1 bersinergi dengan berbagai *colony-stimulating factor* untuk menstimulasi proliferasi sel progenitor hemapoetik di sumsum tulang.(53)

IL-1 memiliki efek biologis yakni:

- a. Efek sistemik : Demam, syok, hipotensi, stimulasi axis HPA, neutrofilia, hipoferremia, hiperlipidemia, hipoalbuminuria
- b. Efek lokal : Angiogenesis, fibrosis, *neutrophil influx*, induksi kemokin
- c. Efek imunologis : Meningkatkan stimulasi sel B dan sel T, meningkatkan sintesis limfokin, meningkatkan produksi antibodi
- d. Efek inflamasi : Memediasi syok, artritis, kolitis, indulitis dan tiroiditis pada penyakit inflamasi. Meningkatkan adesi molekul pada endotel. Meningkatkan pelepasan produk *arachidonate*, prostanoid dan eicosanoid.(53)

#### **2.8.2.1 IL-1 Beta (IL-1 $\beta$ )**

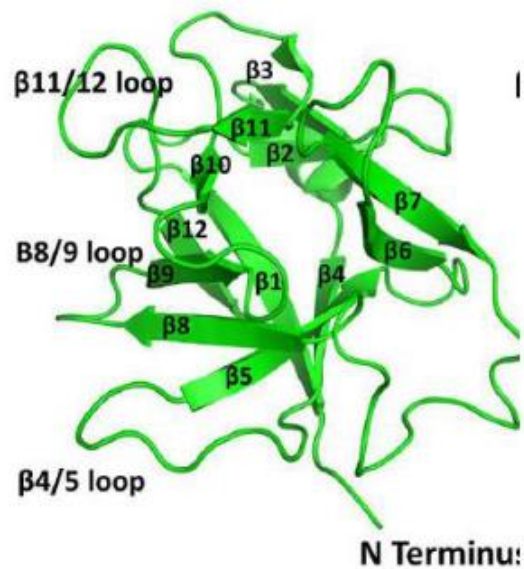
Interleukin 1-  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) adalah sitokin pro inflamasi yang poten dan krusial untuk perlindungan terhadap infeksi dan kerusakan jaringan. Ia merupakan salah satu satu sitokin yang paling banyak dipelajari dari semua keluarga IL-1. IL-1 $\beta$  diproduksi dan disekresikan

oleh berbagai jenis jaringan utamanya sel-sel imunitas *innate* seperti monosit dan makrofag. IL-1  $\beta$  diproduksi sebagai 31 kDa *precursor* atau disebut juga sebagai pro- IL-1 $\beta$  sebagai respons terhadap *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs). PAMPs bekerja melalui *pattern recognition receptors* (PRR's) yang terdapat pada makrofag sebagai jalur regulasi yang mengontrol ekspresi gen. Induksi pro- IL-1 $\beta$  merupakan langkah awal aktivasi IL-1 $\beta$ . Sel tersebut membutuhkan aktivasi PAMP atau DAMP (*Danger associated molecular pattern*) yang dikeluarkan oleh sel yang mati untuk menginduksi proses sekresi IL-1 $\beta$  yang aktif.(59)

#### **a. Struktur Interleukin-1 $\beta$**

Semua anggota keluarga IL-1 merupakan modulator inflamasi yang poten. Meskipun aktivitasnya teregulasi pada beberapa level, seperti transkripsi gen, ekspresi sebagai proform yang inaktif, sekresi dan pelekatan pada level reseptor. Hampir semua sitokin IL-1 terekspresi sebagai proforms dengan domain N-terminal yang bervariasi dari 100 asam amino (IL-33) hingga yang hanya terdiri atas satu asam amino (IL-36Ra). IL-1 $\beta$  memiliki struktur yang mirip dengan IL-1 $\alpha$  sehingga mereka dapat berikatan pada reseptor yang sama yaitu Interleukin-1 reseptor tipe 1 (IL-

1R). bentuk aktif IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  memiliki *sequence* yang identik 25%.(67)



Gambar 10. Struktur 3 dimensi IL-1 $\beta$ (67)

IL-1  $\beta$  diproduksi sebagai 31 kDa *precursor* atau disebut juga sebagai pro-IL-1  $\beta$  sebagai respons terhadap *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs). Bentuk ini nantinya akan diubah menjadi bentuk aktif IL-1 $\beta$  oleh *inflammasome* lalu di eksresikan ke jaringan. Molekul IL-1 $\beta$  terdiri atas 12 antiparalel  $\beta$ -strands. Molekul ini memiliki *internal pseudo threefold symmetry* dengan molekulnya merepresentasikan barel kerucut dengan dasar permukaan yang rendah yang terbuka pada satu sisi dan tertutup

pada sisi yang lain. Amino dan *carboxy terminus* terletak pada ujung terbuka dari barel dan berdekatan satu sama lain. Rantai 24 *hydrophobic* terletak pada bagian dalam permukaan barel dan residu polar terekspose pada kedua ujung barel.(67)

#### **b. Produksi Interleukin-1 $\beta$**

Pelepasan pro- IL-1 $\beta$  diperantarai oleh *pro-inflammatory protease caspase-1*. Aktivasi caspase-1 terjadi melalui perekrutan kompleks multiprotein yang disebut *inflammasome*. *Inflammasome* merupakan struktur protein yang terdiri dari molekul adaptor, *cytosolic pattern recognition receptor* dan *pro-caspase-1*. Pro-IL-1 $\beta$  kemudian di proses oleh *caspase-1* sehingga disekresikanlah IL-1 $\beta$  yang matang dari sel. Meskipun demikian, proses pelepasan IL-1 $\beta$  dari jaringan hingga saat ini belum jelas. Beberapa penelitian terakhir menyebutkan adanya beragam faktor yang berperan terhadap pelepasan tersebut.(68)

IL-1 $\beta$  diproduksi sebagai prekursor protein 269-AA dan di proses oleh *caspase-1* yang disebut juga sebagai *IL-1 $\beta$ -converting-enzyme* (ICE) untuk kemudian diaktivasi oleh *inflammasome* menjadi C-terminal 153 AA sebagai IL-1 $\beta$  yang matur. Prekursor IL-1 $\beta$  juga di proses oleh protease serine yang lain. Pada tikus coba yang tidak memiliki *caspase-1*, IL-1 $\beta$  di proses oleh elastase

sebagai respons terhadap stimulasi lipopolisakarida. *Protease neutrophil* seperti elastase, *chymases*, *granzyn A*, *cathepsin G*, *proteinase-3* memproses prekursor IL-1 $\beta$  menjadi bentuk aktif.(69)

**c. Distribusi IL-1 $\beta$  Dalam Tubuh**

IL-1 $\beta$  di ekspresikan oleh berbagai macam sel dan jaringan, terutama oleh makrofag pada organ limfoid seperti timus, limpa, kelenjar getah bening, *peyers patch* dan *bone marrow*. Pada organ non limfoid, IL-1 $\beta$  di ekspresikan oleh makrofag di paru, sistem saluran cerna dan hati. Ia juga di ekspresikan di sel epitel endometrium uterus, pada glomerulus, pada bagian luar korteks ginjal dan berbagai sel spesifik seperti neutrofil, keratinosit, sel epitel dan endotel, limfosit, sel otot polos dan fibroblast.(69)

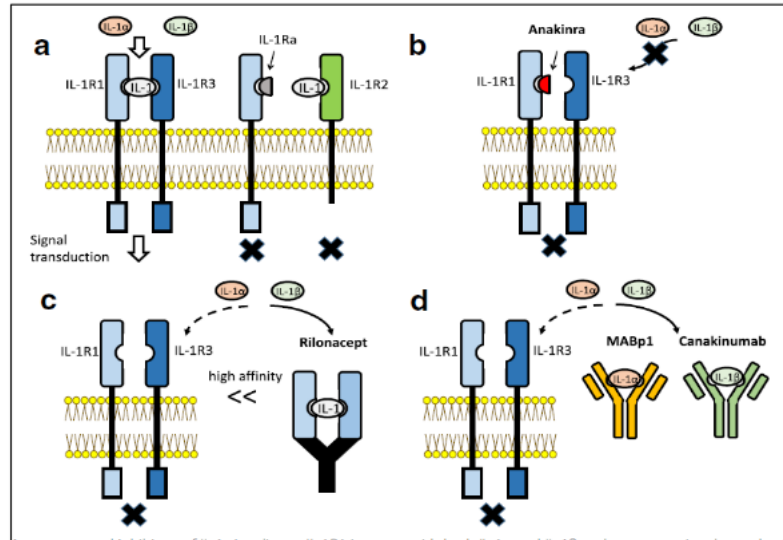
**d. Reseptor Interleukin-1 $\beta$  dan pensinyalan subseluler**

Interleukin 1 (IL-1) dalam hal ini IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  memiliki dua reseptor yaitu Interleukin 1 reseptor tipe 1(IL-1R1) dan Interleukin 1 reseptor tipe 2 (IL-1R2). IL-1R2 sering juga disebut sebagai reseptor *decoy*. Untuk dapat berikatan dengan reseptor IL-1R1, IL-1 $\beta$  membutuhkan ikatan heterodimer dengan reseptor IL-1 tipe 3 (IL-1R3) juga dikenal sebagai IL-1RAcP dan adaptor *interleukin-1 receptor-associated kinase* (IRAK) beserta *myeloid*



*differentiation primary response protein 88 (MyD88)*. IL-1R1 menginisiasi respons inflamasi ketika berikatan dengan ligand IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Respons ini diekspresikan oleh sel T, Limfosit, fibroblast, sel epitel dan endotel.(69)

Interleukin-1 reseptor tipe 3 (IL-1R3) adalah ko reseptor IL-1R1. Bertanggung jawab terhadap signalling setelah berikatan dengan ligand. IL-1R3 diekspresikan oleh semua sel yang mengekspresikan IL-1R1. Bentuk aktif dari IL-1 tidak dapat berfungsi hingga ia dikenali oleh reseptor permukaan sel. Kompleks ini memiliki aktivitas GTPase dan mengaktivasi protein dan protein kinase. Sebaliknya IL-1R2 menurunkan respons biologis terhadap IL-1. Kedekatan antara dua domain sitoplasma IL-1R1 dan IL1R3 menginisiasi transduksi melalui hidrolisis GTP. Dilanjutkan dengan *c-jun N-terminal kinase (JNK)* dan p38 MAP kinase. IRAK dan *tumour necrosis factor (TNF) receptor-associated factor (TRAF) 6* mengaktivasi NF- $\kappa$ B, p38, JNKs, *extracellular signal-regulated kinase (ERKs)* dan *mitogen-activated kinase (MAPKs)*. Jalur sinyal ini berperan penting dalam peradangan akut dan kronik pada berbagai penyakit.(69)



Gambar 11. Proses signalling IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ (69)

**e. Peranan IL-1 $\beta$  pada sistem pertahanan *innate***

Sistem imunologi merujuk pada sekelompok sel, zat kimia, dan proses yang berfungsi untuk melindungi kulit, jalur napas, traktus intestinal, dan area lain dari antigen asing seperti: mikroba (bakteri, jamur dan parasit), virus, sel kanker dan toksin. Sistem pertahanan tubuh terdiri dari dua lapis pertahanan yaitu sistem pertahanan *innate* dan adaptif. Sistem pertahanan *innate* merupakan sistem pertahanan lapis pertama terhadap patogen. Sistem pertahan *innate* merupakan sistem pertahanan yang dependen terhadap antigen, bereaksi secara cepat terhadap antigen dalam hitungan jam. Sistem pertahan ini tidak memiliki memori imunologis sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mengingat infeksi oleh patogen yang

sama. Dilain sisi, sistem pertahanan adaptif bersifat *antigen-dependent* dan antigen-spesifik. Oleh karena itu ada jeda antara paparan hingga muncul reaksi imun yang maksimal.(70)

Imunitas *innate* terdiri dari empat jenis pertahanan: anatomi (kulit dan membran mukosa), fisiologis (suhu, pH yang rendah dan mediator kimia), endositik dan fagositik, dan inflamasi. Respons imunitas *innate* bergantung pada *pattern receptor recognition* (PRRs) yang memungkinkan reaksi sejumlah sel imun untuk mendeteksi dan berespons terhadap berbagai macam struktur patogen yang dikenal sebagai *pathogen associated molecular pattern* (PAMPs). Beberapa contoh PAMPs antara lain: komponen dinding sel bakteri yang disebut *lipopolisacharides* (LPS) dan *double-stranded rubonucleid acid* (RNA) yang diproduksi oleh virus.(70)

IL-1 $\beta$  merupakan 1 dari 11 keluarga Interleukin- 1 (IL-1). Sitokin ini memiliki peranan yang besar dalam sistem pertahanan *innate*. Sebagian besar respons imunitas *innate* bermanifestasi dalam bentuk peradangan. Mekanisme ini berfungsi sebagai sistem pertahanan *host* namun dapat merugikan jika prosesnya berlebihan. IL-1 $\beta$  mempromosikan peradangan melalui *Toll like receptor* yang teraktivasi oleh mikroba seperti DAMP. Meskipun IL-1 $\beta$  lebih

banyak berperan pada imunitas *innate* namun ia juga memiliki peranan pada sistem imunitas adaptif.(71)

Sel-sel yang memiliki peranan besar pada sistem imunitas *innate* terhadap infeksi M.tb adalah makrofag, sel dendritik, neutrofil, sel *natural killer*. Beberapa sel yang bersifat *innate* juga berperan dalam pertahanan tubuh terhadap M.tb, antara lain: *mucosal associated invariant T cells* (MAIT), *CD1-restricted lymphocyte* dan sel NKT. Lebih jauh lagi, beberapa jenis sel lain seperti sel epitelial dan sel mast yang tidak diklasifikasikan sebagai sel imun juga turut berpartisipasi pada respons awal melawan infeksi M.tb. Selama infeksi, beberapa jenis sel memerankan peranan yang berbeda namun kadang juga tumpang tindih dengan sel lain.(72)

Makrofag memiliki peran sentral pada infeksi M.tb. yaitu dapat mengeliminasi M.tb melalui beragam cara, seperti: memproduksi komponen nitrogen, komponen oksigen dan sitokin, acidifikasi dan autofagi M.tb intraseluler. Makrofag alveolar adalah sel awal yang memfagositosis M.tb lalu merekrut jenis makrofag yang lain seperti *monocyt-derived macrophage*. Pengenalan PAMPs M.tb oleh PRRs makrofag menginduksi terjadinya serangkaian jalur pensinyalan

yang menghasilkan diferensiasi makrofag. Salah satu sitokin yang berperan dalam proses ini adalah IL-1  $\beta$ .(72)

Makrofag dan sel dendritik merupakan sel yang berperan sebagai pertahanan pertama pada infeksi M.tb. Selain memfagosit dan menghancurkan M.tb, mereka juga berperan dalam memperantarai respons imunitas adaptif. IL-1  $\beta$  berperan secara langsung meningkatkan sinyal TNF, up-regulasi sekresi TNF dan TNFR1 *cell surface expression* yang nantinya akan mengaktivasi *caspase-3*, apoptosis dan membunuh M.tb secara langsung. Dilaporkan juga bahwa M.tb dapat meloloskan diri dari host dengan menekan produksi IL-1 $\beta$  yang dilepaskan oleh makrofag dan sel dendritik melalui supresi IL-1 $\beta$  pada level transkripsi mRNA.(73)

Pada keadaan hipoksi jaringan ataupun kerusakan jaringan akibat infeksi, sel akan melepaskan interleukin-1 $\alpha$  yang akan berikatan dengan reseptor interleukin-1 tipe 1 (IL-1R1) pada permukaan makrofag. Makrofag kemudian akan melepaskan IL-1 $\beta$  setelah aktivasi *inflammosome* NLPR3 dan GM-CSF. IL-1 $\beta$  yang dan GM-CSF akan memasuki pembuluh darah hingga ke sum-sum tulang belakang. Disana IL-1 $\beta$  dan GM-CSF akan menginduksi pelepasan neutrofil dan monosit ke peredaran darah. Neutrofil yang dilepaskan ke pembuluh darah akan mencapai daerah infeksi



secara spesifik terhadap antigen asing dan membedakannya dengan antigen diri sendiri, melakukan reaksi imunologis yang spesifik terhadap patogen dan sel yang terinfeksi patogen, memunculkan sel imun memori yang akan bereaksi lebih cepat jika ada infeksi oleh patogen yang sudah pernah dikenali sebelumnya. Respons pertahanan adaptif merupakan dasar dari imunisasi terhadap penyakit infeksi. Beberapa sel yang termasuk sistem pertahanan adaptif adalah sel T yang teraktivasi oleh antigen yang presentasikan oleh *Antigen presenting cells* (APC) dan sel B yang berdiferensiasi menjadi sel plasma untuk memproduksi antibodi.(70)

Respons imunitas adaptif terhadap infeksi M.tb ditandai dengan adanya *antigen-specific* CD4+ T cells yang mensekresikan interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) yang nantinya bertanggung jawab terhadap aktivasi makrofag untuk membunuh bakteri intraseluler. Selama fase kronis infeksi M.tb, sel T CD8+ juga memiliki peran penting dalam mengontrol infeksi bakteri. Infeksi kronis M.tb dikontrol melalui pembentukan struktur granuloma. Struktur ini menahan penyebaran M.tb namun tidak mengeliminasi infeksi M.tb. IL-1 $\beta$  menginduksi pelepasan GM-CSF yang nantinya akan mengaktivasi dan meningkatkan masa hidup monosit/makrofag. Ia

juga berperan meningkatkan kerja stress oksidatif. Selain itu IL-1 $\beta$  juga berperan menjaga dan memperpanjang reaksi radang.(18)

IL-1 $\beta$  disekresikan melalui aktivasi signal *inflammosome* yang dipicu oleh sinyal transduksi melalui *toll-like receptors* (TLRs) dan reseptor purinergik. *Apoptosis-associated speck-like protein*, sebuah bentuk yang mengandung *caspase recruit domain* (ASC) dan pro *caspase-1*, membentuk *multimeric cytosolic molecular complex* dikenal juga sebagai sitokin regulasi pro inflamasi NALP3 sangat krusial terhadap daya tahan infeksi M.tb. Pada percobaan tikus, ditemukan bahwa sitokin IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1R dan IL-18 memiliki peranan yang penting dalam membatasi beban akibat infeksi bakteri, meregulasi sitokin lain, produksi nitrit oksida, dan membentuk granuloma.(18)

**g. Peranan IL-1 $\beta$  terhadap infeksi bakteri**

Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) memiliki peranan yang penting sebagai bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi patogen. Salah satu fungsi dari IL-1 $\beta$  adalah berkolaborasi dengan IL-12p70 untuk mempromosikan produksi IFN- $\gamma$  yang berasal dari sel T dan sel NK. IL-1 $\beta$  memiliki efek proteksi terhadap beberapa bakteri, virus dan jamur. Penelitian pada manusia memperlihatkan bahwa



penghambatan fungsi IL-1 dengan menggunakan antagonis IL-1R atau disebut juga sebagai IL-1ra meningkatkan kerentanan *host* terhadap infeksi bakteri. IL-1 $\beta$  merupakan salah satu sitokin pro inflamasi yang kuat.(75)

Interleukin-1 $\beta$ , sebagai salah satu sitokin pro inflamasi memiliki pengaruh ke hampir seluruh organ. Sebagian besar reaksi pertahanan tubuh terhadap patogen utamanya di dorong oleh aktivitas IL-1 $\beta$ . Interleukin-1 $\beta$  bekerja melindungi tubuh dari patogen luar dengan cara mengaktivasi beberapa respons antara lain: melakukan rekrutmen neutrofil dengan cepat ke daerah radang, mengaktivasi molekul adesi endotel, menginduksi sitokin dan kemokin, menginduksi respons demam, dan menstimulasi respons spesifik imunitas adaptif seperti T helper-17 (Th-17).(75)

Respons inflamasi terhadap infeksi terdiri atas beberapa mekanisme efektor protektif yang harus teraktivasi dan berkerja bersama agar didapatkan fungsi eliminasi bakteri dan stimulasi sistem pertahanan adaptif yang baik sembari mengurangi efek kerusakan jaringan. Perubahan keseimbangan terhadap sistem ini dapat menyebabkan respons inflamasi yang berkepanjangan yang tak berkesudahan. Hal ini akan meningkatkan kecacatan dan kematian akibat infeksi. Rekrutmen PMN yang berlebihan dapat

menyebabkan kerusakan fungsi pada beberapa organ, terutama paru. Salah satu sitokin yang berpotensi terhadap kejadian ini adalah IL-1 $\beta$ .(75)

Aktivasi IL-1 $\beta$  yang berlebihan berdampak buruk bagi tubuh. Hal ini berpotensi menyebabkan kerusakan pada jaringan *host*. Beberapa mekanisme berperan untuk mencegah aktivasi berlebihan IL-1 $\beta$  yaitu melalui penghambatan signalling oleh IL-1ra dan reseptor IL-1 tipe 2 (*decoy receptors*). Aktivasi IL-1 $\beta$  yang berlebihan mengakibatkan rekrutmen neutrofil yang menyebabkan kerusakan jaringan seperti yang diperlihatkan pada hewan coba. Oleh karenanya tingkat aktivasi IL-1 $\beta$  haruslah bersesuaian dengan jenis infeksi yang dialami oleh *host*. Produksi IL-1 $\beta$  memiliki efek protektif pada beberapa infeksi dan bersifat merusak pada infeksi yang lain.(75,76)

#### **h. Peranan IL-1 $\beta$ pada Infeksi Tuberkulosis Paru**

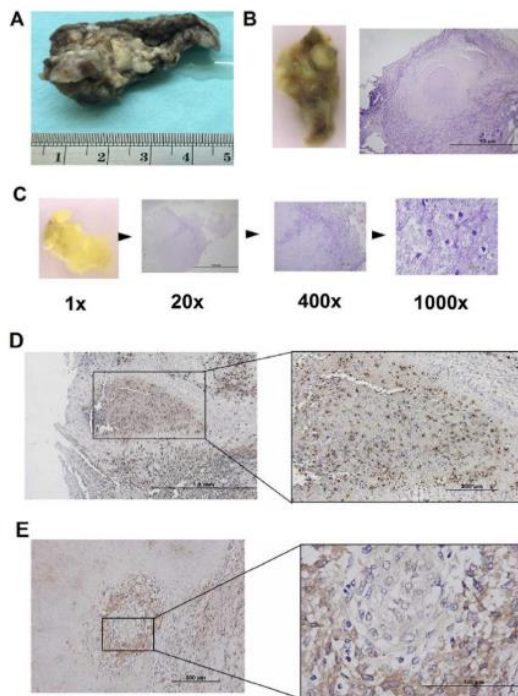
*Mycobacterium tuberculosis* merupakan patogen kompleks yang memiliki kemampuan menghindar dari respons imun dan menyebabkan infeksi persisten yang lama pada *host*. Pemahaman mendalam tentang hubungan patogen dan *host* pada infeksi TB masih penuh dengan tanda tanya. Makrofag, sebagai sel *host* pertama kuman TB berespons terhadap infeksi TB dengan

meningkatkan regulasi beberapa sitokin seperti TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-1 $\beta$ . Pada hewan coba, murin yang terinfeksi M.tb memperlihatkan pentingnya signal IL-1 $\beta$  terhadap resistensi infeksi TB. Tikus yang tidak memiliki reseptor IL-1 (IL-1R) dan IL-1 $\beta$  terbukti lebih rentan terhadap infeksi TB.(11)

Pada infeksi TB, proses transkripsi, Pengolahan dan pelepasan IL-1 $\beta$  dikontrol dengan ketat. Pengontrolan ekspresi gen di mediasi oleh beberapa proses, salah satunya melalui regulasi negatif IL-1 $\beta$  oleh interferon tipe 1 yang di induksi oleh M.tb. Bertemunya *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) dengan *pattern recognition receptors* (PRRs) melalui *toll-like receptors* (TLRs) bertindak sebagai sinyal utama sintesis 31-kDa pro-IL-1 $\beta$  di makrofag. Sinyal utama melalui TLRs tidak cukup untuk melepaskan bentuk aktif IL-1 $\beta$ . Diperlukan sinyal lain untuk melakukan hal ini.(11)

Pelepasan bentuk aktif IL-1 $\beta$  memerlukan aktivasi oleh *inflammasome* yang akan mengaktifkan *caspase-1* untuk mempromosikan dan memproses pelepasan sitokin pro inflamasi. *Inflammasome* menyediakan platform untuk konversi prekursor *caspase-1* menjadi bentuk aktifnya sebagai respons reseptor *nucleotide oligomerization domain* (NOD) dan DAMP. Aktivasi

*caspase-1* merubah pro-IL-1 $\beta$  menjadi bentuk aktif 17kDa yang kemudian disekresikan dari sel melalui proses yang belum diketahui sepenuhnya. Laporan terbaru memperlihatkan bahwa *nitric oxide* yang dikeluarkan oleh makrofag yang telah terstimulasi oleh IFN- $\gamma$  meregulasi pelepasan pro-IL-1 $\beta$  dengan berperan sebagai *inflammasome*. Laporan lain juga menyebutkan bahwa pada sel dendritik yang terinfeksi M.TB, ia dapat mengaktifkan *caspase-8 dependent inflammasome*.(11)



Gambar 13. Ekspresi neutrophil elastase dan IL-1 $\beta$  pada jaringan granuloma kaseosa paru manusia.(77)

Wen-cheng chao dkk, melakukan penelitian pada tikus yang diinfeksi dengan *Mycobacterium marinum* pada tahun 2017 untuk melihat hubungan ROS dan IL-1 $\beta$ . Penurunan ROS pada *host* dengan infeksi *mycobacterium*, menyebabkan rendahnya aktivasi *inflammasome* dan produksi IL-1 $\beta$ . Pada tikus dengan infeksi *M. marinum*, perubahan dari pro-IL-1 $\beta$  menjadi IL-1 $\beta$  dapat diaktivasi oleh *Neutrophil elastase* (NE) sehingga disimpulkan bahwa neutrofil yang ada di paru dapat melepaskan NE yang nantinya akan merubah pro-IL-1 $\beta$  menjadi IL-1 $\beta$  dalam bentuk aktif.(78)

Peneliti kemudian mencoba membuktikan keterlibatan NE terhadap IL-1 $\beta$  dengan melakukan pewarnaan *immune-histokimia* pada paru manusia yang terinfeksi TB. Dari pemeriksaan patologi tampak jaringan *granuloma caseosa* dengan sel *datia langhans* di dalamnya. Neutrofil dalam jumlah banyak juga tampak pada inti dari *granuloma* tersebut. Setelah dilakukan pewarnaan *immunohistokimia* dengan antibodi anti NE, ditemukan banyak sel dengan NE-positif pada area *kaseosa*. Ditemukan pula banyak IL-1 $\beta$  pada daerah *granuloma kaseosa*. Hal ini mendukung temuan sebelumnya tentang peranan NE dan IL-1 $\beta$  pada infeksi TB paru manusia.(78)

Baurigoult dan kawan-kawan melakukan percobaan pada tikus dengan menggunakan *M. bovis* untuk melihat peranan IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan TNF terhadap infeksi. Ia menemukan bahwa tikus yang tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dan yang tikus yang tidak memiliki reseptor IL-1 lebih rentan terhadap infeksi jika dibandingkan tikus yang dihilangkan salah satunya. Ini membuktikan bahwa IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  bekerja sinergis untuk melawan infeksi. Tampak pula bahwa pada tikus yang tidak memiliki kemampuan menghasilkan IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  secara bersamaan atau tidak mempunyai reseptor IL-1 memiliki lesi paru yang lebih luas jika dibandingkan jika kelompok tikus lain.(79)

**i. IL-1 $\beta$  pada Tuberkulosis Aktif dan Laten**

Makrofag adalah sel host primer yang bekerja melawan infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan bertanggung jawab terhadap pelepasan berbagai macam sitokin. Makrofag juga bertanggung terlibat dalam infeksi awal TB paru. M.TB dapat menginfeksi makrofag dan berkembang disana. Ia juga terlibat dalam proses terbentuknya granuloma. Makrofag juga merupakan sel yang mengekspresikan *inflammasome* yang berperan dalam pembentukan IL-1 $\beta$ . IL-1 $\beta$  yang terbentuk oleh aktivasi

*inflammasome* memiliki peran besar terhadap imunitas infeksi TB. Pada stimulasi *ex vivo* dengan infeksi TB berbagai derajat, ekspresi IL-1 $\beta$  tampak lebih tinggi pada TB laten dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi dan TB aktif. Ekspresi IL-1 $\beta$  akan menjadi lebih jelas jika stimulasi berlanjut 6-24 jam.(80)

Interleukin-1 $\beta$  dapat dianggap sebagai pisau bermata dua pada infeksi TB. Ia memiliki efek protektif pada awal infeksi, namun jika ekspresi memanjang dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Ekspresi IL-1 $\beta$  meningkat setelah paparan TB pada TB aktif dan TB laten. Peningkatan IL-1 $\beta$  lebih tinggi pada TB laten. Respons makrofag dengan meningkatkan ekspresi IL-1 $\beta$  pada pasien dengan TB laten dianggap sebagai bentuk aktivasi sistem imun untuk mencegah berkembangnya TB laten menjadi TB aktif. Respons yang rendah pada TB aktif dianggap sebagai akibat pelemahan respons imun oleh M.TB dan berkontribusi terhadap berkembangnya infeksi TB. Selain itu, rendahnya IL-1 $\beta$  pada pasien dengan TB aktif dianggap juga sebagai mekanisme pengaturan tubuh untuk mencegah ekspresi berlebihan dari IL-1 $\beta$  yang dapat berujung pada kerusakan jaringan. Peningkatan aktivitas IL-1 $\beta$  pada TB laten mungkin saja bisa mencegah perlangsungan TB menjadi TB aktif.(80)

**j. IL-1 $\beta$  setelah pengobatan obat anti tuberculosis (OAT)**

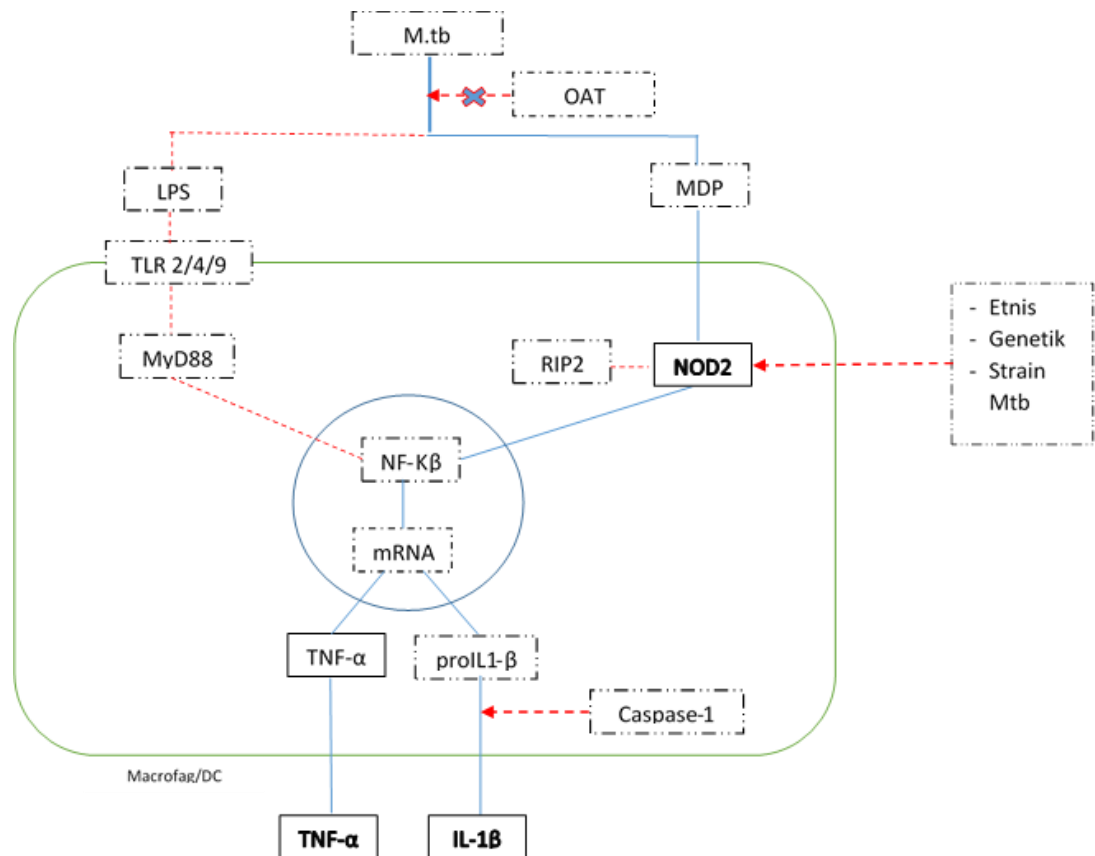
Salah satu laporan mengenai keadaan sitokin pada pasien yang mendapatkan terapi obat anti tuberculosis ditulis oleh Riou dkk. Ia melaporkan bahwa sitokin pro inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-15 dan TNF- $\alpha$  beserta IL-1Ra dan MCP-1 berfluktuatif selama pengobatan. Untuk sebagian besar individu, fluktuasi ini sering terjadi bersamaan dengan perubahan regimen dari fase intensif menuju fase lanjutan. Terutama saat penghentian terapi etambutol dan pirazinamid atau pada akhir dari pengobatan. Meskipun alasan perubahan ini belum diketahui, namun ia mengambil kesimpulan bahwa perubahan regimen (2 bulan dan 6 bulan pengobatan standar) menyebabkan perubahan pada regulasi beberapa mediator imun. Laporan ini di dukung oleh temuan yang melaporkan efek pengobatan pirazinamide terhadap produksi sitokin pada sel J774, sel makrofag dan sel dendritik sum-sum tulang belakang tikus coba.(81)

Su dkk melakukan penelitian pada pasien tuberculosis paru dengan mengukur kadar sitokin sebelum dan sesudah pengobatan tuberculosis. Ia mengukur konsentrasi sitokin sebelum pengobatan, selama pengobatan dan setelah pengobatan. Ia melaporkan bahwa kadar IL-1 $\beta$  lebih rendah pada pasien TB aktif dibandingkan



dengan TB laten, dan juga kadarnya lebih rendah pada pasien TB selama pengobatan dan kembali meningkat setelah pengobatan. Laporan ini menunjukkan bahwa ada supresi terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  selama infeksi M.tb. Pasien tuberkulosis paru dengan kadar IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  dan IL-6 yang lebih tinggi pada bilasan bronkus diasosiasikan dengan ukuran kavitas yang lebih besar.(77)

## 2.9 Kerangka Teori



Catatan :  : diteliti  
 : tidak diteliti

## 2.10 Hipotesis

1. Ada penurunan ekspresi Gen NOD2 setelah pengobatan OAT 2 bulan
2. Ada penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada penderita TB setelah pengobatan OAT 2 bulan.
3. Ada peningkatan kadar IL-1 $\beta$  pada penderita TB setelah pengobatan OAT 2 bulan.
4. Ada korelasi antara ekspresi Gen NOD2 dihubungkan dengan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  sebelum dan setelah pengobatan OAT 2 bulan

## 2.11 Kerangka Konsep

