

**DISERTASI**

**ANALISA EKSPRESI microRNA-21 DAN microRNA-144-5p  
SERTA KADAR IL- $\beta$ , IL-6 DAN DRAM2 SEBAGAI  
BIOMARKER PASIEN TUBERCULOSIS (TB) PARU AKTIF  
Dan KONTAK SERUMAH**

**EXPRESSION ANALYSIS OF microRNA-21 And  
microRNA-144-5p AND LEVELS Of IL-1 $\beta$ , IL-6 AND DRAM2  
AS BIOMARKER OF ACTIVE TUBERCULOSIS (TB)  
PATIENTS AND HOUSEHOLD CONTACTS**



**PITUT APRILIA SAVITRI**

**C013191040**

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDIN**

**MAKASSAR**

**2023**



**DISERTASI**

**ANALISA EKSPRESI MICRORNA-21 DAN MICRORNA-144-5P  
SERTA KADAR IL-1 $\beta$ , IL-6 DAN DRAM2 SEBAGAI BIOMARKER PASIEN  
TUBERCULOSIS (TBC) PARU AKTIF DAN KONTAK SERUMAH**

**EXPRESSION ANALYSIS of microRNA-21 and microRNA-144-5p  
and levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and DRAM2 as BIOMARKER of ACTIVE  
TUBERCULOSIS (TB) PATIENTS and HOUSEHOLD CONTACTS**

Disusun dan diajukan  
Oleh

**Pitut Aprilia Savitri**  
C013191040

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 2 Februari 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui

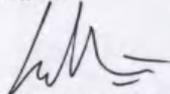
Promotor,



**Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp.MK(K)**

Nip.19670910 199603 1 001

Co. Promotor



**Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K)**

Nip. 19570416 198503 1 001

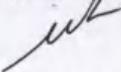
Co. Promotor



**dr. Arif Santoso, Ph.D., Sp.P(K), 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, FINASIM Sp.GK**

Nip.19680530 199603 2 001

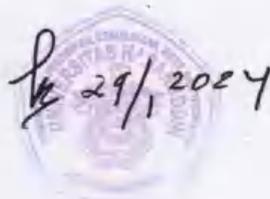


#### ABSTRAK

PITUT APRILIA SAVITRI. *Analisis Ekspresi Microrna 21 dan Microrna HSP serta Kadar IL-1 $\beta$ , 1L-6, dan DRAM2 sebagai Biomarker Pasien Tuberculosis (TBC) Paru Aktif dan Kontak Serumah* (dibimbing oleh Muh. Nasrum Massi Mochammad Hatta, dan Arif Santoso).

Penelitian ini bertujuan menganalisis studi ekspresi miRNA-21 dan miRNA 144-5p yang dipilih berdasarkan fungsi kedua gen tersebut untuk mendeteksi kelangsungan hidup mikrobakterium dalam tubuh manusia yang terpapar kuman tersebut. MicroRNA 21 berperan pada reaksi awal saat terjadinya respon imun alami dengan cara menurunkan regulasi Bel-2 dan TLR-4, menekan sitokin inflamasi, dan meningkatkan apoptosis dan kelangsungan hidup mikobakteri. Adapun micro RNA 144-5p berperan pada tahap respon imun adaptif dengan reaksi menargetkan DRAM2 mRNA untuk menghambat autophagy yang mendorong kelangsungan hidup bakteri. Metode yang digunakan ialah desain kasus kontrol yang melibatkan 20 orang pendenta TBC aktif, 22 orang kontak serumah dengan tes IGRA positif, dan 22 orang kontrol sehat Ekspresi MiRNA-21 dan miRNA 144-5p diperiksa menggunakan metode PCR kuantitatif waktu nyata, sedangkan kadar IL- $\beta$ , 1L-6, dan DRAM2 dengan ELISA. Data dianalisis menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan hasil pemeriksaan miRNA-21 pada tuberculosis aktif dan tuberculosis laten, kelompok kontrol pada penderita TBC paru aktif 37 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sehat. Adapun ekspresi miRNA-21, 14 kali lebih tinggi pada tuberculosis aktif dibandingkan dengan tuberculosis laten. Ekspresi miRNA-21 pada tuberculosis laten ditemukan 2 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sehat, sedangkan ekspresi miRNA-144-5p pada pasien TB paru aktif 35 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sehat. Dibandingkan dengan tuberculosis laten ekspresi miRNA-144-5p, 51 kali lebih tinggi pada tuberculosis aktif. Ekspresi MiRNA-144-5p pada tuberculosis laten ditemukan 0,6 kali lebih rendah dibandingkan pada kontrol sehat. Kadar IL-6 dan IL-1 $\beta$  pada kelompok TB aktif ditemukan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan TB laten. Begitu pula jika dibandingkan dengan kelompok sehat, DRAM2 pada kelompok TBC aktif cenderung memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok TBC laten.

Kata kunci: penderita tuberculosis (TB) paru aktif, kontak serumah, TB laten, miRNA-21, miRNA 144-5p

 29/1/2024



## ABSTRACT

PITUT APRILIA SAVITRI. *An Analysis of the Expression of Mirna-21 and Mirna-144-5p and the Level of IL-18, IL-6, and Dram2 as Biomarker of Active Tuberculosis (TBC) Patients and Household Contact* (supervised by Muh. Nasrum Massi, Mochammad Hatta, and Arif Santoso)

The aim of this study is to analyze the expression studies of miRNA-21 and miRNA-144-5p, selected based on the function of these two genes to detect the survival of mycobacteria in the human body exposed to these germs. MicroRNA 21 plays a role in the initial reaction during the natural immune response by downregulating Bcl-2 and TLR-4, suppressing inflammatory cytokines, and increasing apoptosis and survival of mycobacteria. Meanwhile, microRNA 144-5p plays a role in the adaptive immune response stage by targeting DRAM2 mRNA to inhibit autophagy, which promotes bacterial survival. This study used a case-control design involving 20 people with active tuberculosis, 22 household contacts with positive IGRA tests, and 22 healthy controls. MIRNA-21 and miRNA 144-5p expression were examined using a quantitative real-time PCR method, while the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and DRAM2 used ELISA. Data analysis was performed using ANOVA. Based on the results of miRNA-21 examination in active tuberculosis, and latent tuberculosis, the control group in active pulmonary TB patients is 37 times higher than the control healthy. Meanwhile, miRNA-21 expression is 14 times higher in active tuberculosis than in latent tuberculosis. The expression of miRNA-21 in latent tuberculosis is found to be 2 times higher than in healthy controls, whereas the miRNA-144-5p expression in active pulmonary TB patients is 35 times higher than in healthy controls. Compared to latent tuberculosis, the expression of miRNA-144-5p is 51 times higher in active tuberculosis. MiRNA-144-5p expression in latent tuberculosis is found to be 0.6 times lower than in healthy controls. IL-6 and IL-1 $\beta$  levels in the active TB group are found to be much higher than latent TB. Likewise, when compared with the healthy group, DRAM2 in the active TB group tends to have a higher level than the latent TB group.

Keywords: active pulmonary tuberculosis (TB) patients, household contacts, Laten TB, miRNA 21, miRNA 144-5p





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245  
Telp. ( 0411 ) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

### PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Pitut Aprilia Savitri**  
Nomor Pokok : C013191040  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Analisis Ekspresi microRNA-21 dan microRNA 144-5p serta kadar IL-1 $\beta$ , IL 6 dan DRAM2 sebagai biomarker pasien Tuberculosis (TBC) Paru aktif dan kontak serumah**

Adalah karya tulis 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 bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 13 Juni 2023

Yang menyatakan,



Pitut Aprilia Savitri



**ANALISA EKSPRESI microRNA-21 dan microRNA-144-5p  
serta kadar IL- $\beta$ , IL-6 DAN DRAM2 SEBAGAI BIOMARKER  
PASIEN TUBERCULOSIS (TB) PARU AKTIF dan KONTAK  
SERUMAH**

Disertasi  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi  
S3 Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**PITUT APRILIA SAVITRI  
C013191040**

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**



## TIM PENILAI DISERTASI

Promotor : Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK  
Co Promotor : 1. Prof.dr.Mochammad Hatta,Ph.D.Sp.MK(K)  
2. dr. Arif Santosa, Ph.D, Sp.P(K), FASR  
Penguji Eksternal : Dr. dr. Muhammad Fachri, Sp.P,FISR  
Penguji : Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)  
dr. Sitti Wahyuni M, Ph.D Sp.Park  
Dr. dr. Muh.Ilyas, Sp.PD, Sp.PK (K), FINASIM, FISR  
Dr. dr. Harun Iskandar, Sp.PD, Sp.P(K)  
Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes



## ABSTRAK

Mengingat peran sentral microRNA dalam perkembangan dan penyakit, para peneliti mengusulkan bahwa microRNA tertentu yang bersirkulasi mempengaruhi hasil akhir dari infeksi tuberkulosis, dan ini dapat diukur dengan kadar microRNA dalam darah. Dalam penelitian ini, studi ekspresi microRNA-21 dan microRNA-144-5p dipilih berdasarkan fungsi kedua gen tersebut untuk mendeteksi kelangsungan hidup mikobakterium dalam tubuh manusia yang terpapar kuman tersebut. microRNA 21 berperan pada reaksi awal saat terjadinya respon imun alami dengan cara menurunkan regulasi Bcl-2 dan TLR-4, menekan sitokin inflamasi, dan meningkatkan apoptosis dan kelangsungan hidup mikobakteri. Sedangkan micro RNA 144-5p berperan pada tahap respon imun adaptif dengan reaksi menargetkan DRAM2 untuk menghambat autophagy yang mendorong kelangsungan hidup bakteri.

Penelitian ini menggunakan desain kasus kontrol yang melibatkan 20 orang penderita TB aktif, 22 orang kontak serumah dengan tes IGRA positif, dan 22 orang kontrol sehat. Ekspresi MicroRNA-21 dan microRNA 144-5p diperiksa menggunakan metode PCR kuantitatif waktu nyata sedangkan kadar IL-1 $\beta$ , IL-6 dan DRAM2 dengan ELISA. Analisis data dilakukan dengan menggunakan ANOVA.

Berdasarkan hasil pemeriksaan microRNA-21 pada tuberkulosis aktif, dan tuberkulosis laten, kelompok kontrol pada penderita TB paru aktif 37 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat. Sedangkan ekspresi microRNA-21 14 kali lebih tinggi pada tuberkulosis aktif dibandingkan pada tuberkulosis laten.

Ekspresi microRNA-21 pada tuberkulosis laten ditemukan 2 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat, sedangkan ekspresi microRNA-144-5p pada pasien TB paru aktif 35 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat. Dibandingkan dengan tuberkulosis laten, ekspresi microRNA-144-5p 51 kali lebih tinggi pada tuberkulosis aktif. Ekspresi MicroRNA-144-5p pada tuberkulosis laten ditemukan 0,6 kali lebih rendah dibandingkan pada kontrol sehat. Kadar IL-6 dan IL-1 $\beta$  pada kelompok TB aktif ditemukan jauh lebih tinggi dibandingkan TB laten. Begitu pula jika dibandingkan dengan kelompok sehat, DRAM2 pada kelompok TB aktif cenderung memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan kelompok TB laten.

Dengan penelitian ini terdapat peningkatan yang signifikan pada ekspresi microRNA-21 dan microRNA 144-5p pada TB paru aktif dibandingkan dengan TB Laten dan juga microRNA-21 dan microRNA 144-5p dapat digunakan sebagai biomarker yang baik untuk diagnosis penyakit tuberkulosis karena dapat membedakan tuberkulosis aktif dengan tuberkulosis laten

**Kata Kunci : penderita tuberkulosis (TB) paru aktif, kontak serumah, TB Laten, microRNA 21, microRNA 144-5p**



## ABSTRACT

Considering the central role of microRNAs in development and disease, researchers propose that certain circulating microRNAs affect the outcome of tuberculosis infection, and this can be measured by blood levels of microRNAs. In this study, microRNA-21 and microRNA-144-5p expression studies were selected based on the function of these two genes to detect the survival of mycobacterium in the human body exposed to these germs. microRNA 21 plays a role in the initial reaction during the natural immune response by downregulating Bcl-2 and TLR-4, suppressing inflammatory cytokines, and increasing apoptosis and survival of mycobacteria. Meanwhile, micro RNA 144-5p plays a role in the adaptive immune response stage by targeting DRAM2 to inhibit autophagy which promotes bacterial survival.

This study used a case-control design involving 20 people with active tuberculosis, 22 household contacts with positive IGRA tests, and 22 healthy controls. MicroRNA-21 and microRNA 144-5p expression were examined using a quantitative real-time PCR method. while the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and DRAM2 by ELISA. Data analysis was performed using ANOVA.

Based on the results of microRNA-21 examination in active tuberculosis, and latent tuberculosis, the control group in active pulmonary TB patients is 37 times higher than the control healthy. Meanwhile, microRNA-21 expression was 14 times higher in active tuberculosis than in latent tuberculosis.

microRNA-21 expression in latent tuberculosis was found to be 2 times higher than in healthy controls, whereas the microRNA-144-5p expression in active pulmonary TB patients was 35 times higher than in healthy controls. Compared to latent tuberculosis, the expression of microRNA-144-5p was 51 times higher in active tuberculosis. MicroRNA-144-5p expression in latent tuberculosis was found to be 0.6 times lower than in healthy controls. IL-6 and IL-1 $\beta$  levels in the active TB group were found to be much higher than latent TB. Likewise, when compared with the healthy group, DRAM2 in the active TB group tends to have higher levels than the latent TB group.

By this study, there is a signifikan increase in the expression of microRNA-21 and microRNA 144-5p in active pulmonary TB compared to Latent TB and also microRNA-21 and microRNA 144-5p can be used as a good biomarker for the diagnosis of tuberculosis because it can distinguish active tuberculosis from latent TB

**Keywords : active pulmonary tuberculosis (TB) patients, household contacts, Laten TB, microRNA 21, microRNA 144-5p**



## PRAKATA

*Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji serta syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul Analisa Ekspresi Microna-21 dan Microna-144-5p serta kadar  $IL\ \beta$ , IL 6 dan DRAM2 sebagai Biomarker Pasien Tuberculosis (TB) Paru Aktif Dan Kontak Serumah. Disertasi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan disertasi ini masih terdapat kelemahan yang perlu diperkuat dan kekurangan yang perlu dilengkapi. Karena itu, dengan rendah hati penulis mengharapkan masukan, koreksi dan saran untuk memperbaiki dan melengkapi kekurangan tersebut.

Dengan tersusunnya disertasi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada **Universitas Muhammadiyah Jakarta** yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti program Beasiswa Pendidikan Pascasarjana. Penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK** selaku Ketua Tim Promotor, yang telah bersedia menerima penulis sebagai mahasiswa bimbingan pada Prodi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, memberikan ilmu, inspirasi dan motivasi serta senantiasa meluangkan waktu dan kesempatannya untuk membimbing selama masa studi terutama saat riset dan penyelesaian disertasi ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada **Prof.dr.Mochammad Hatta,Ph.D.Sp.MK(K)** dan **dr. Arif Santosa, Ph.D, Sp.P(K), FASR** selaku ko-promotor, yang berkenan memberi ilmu, arahan dan masukan serta meluangkan waktunya untuk membimbing selama masa studi penulis dan penyelesaian disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.** selaku Rektor Universitas Hasanuddin;  
**dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed** selaku Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin;



3. **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD.,Sp.GK** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin;
4. **dr. Irfan Idris, M.Kes.,Ph.D** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin;
5. Seluruh Tim penguji: **Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K), dr. Sitti Wahyuni M, Ph,D Sp.Park, Dr. dr. Muh.Ilyas, Sp.PD, Sp.PK (K), FINASIM, FISR, Dr. dr. Harun Iskandar, Sp.PD, Sp.P(K),Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes** atas waktu dan kesempatannya dalam menguji serta bimbingan dan masukannya agar disertasi ini menjadi baik.
6. **Dr. dr. Muhammad Fachri, Sp.P,FISR**, selaku penguji eksternal sekaligus Dekan Fakultas kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta dan Ibu **Dr.Fatimah, SST, M.KM selaku Wakil dekan II** Fakultas kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta atas dukungannya baik secara moril dan materiel kepada penulis.
7. Staf Laboratorium HUM-RC Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, **Ibu Handayani Halik, S.Si, M.Kes** dan tim peneliti lainnya **Dr. dr. Najda Hidayah dan Israini Wiyulanda Iskandar., M.Sc** atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
8. Staf Prodi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin (**BapakAkmal, S.Sos, MAP, Bapak Abdul Muin Amd.FT dan Bapak Rahmat**) atas bantuannya selama penulis menjalani masa studi.
9. Teman-teman dosen dan staf kependidikan di Fakultas Kedokteran Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta
10. Semua teman-teman seperjuangan terutama Angkatan 2019 di program studi S3 Ilmu Kedokteran, yang selalu memberikan motivasi, dorongan, dan informasi-informasi kepada peneliti sehingga peneliti dimudahkan selama masa studi.
11. Semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian, atas perhatian, perkenaan dan bantuan yang telah diberikan hingga tersusunnya disertasi ini. Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya untuk seluruh partisipan penelitian, yaitu kepada subjek penelitian yang telah berkenan untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.

terimakasih terkhusus untuk yang terkasih dan tersayang orang tua yang cintai, **Ibunda Prof.Dr. Hj. Sri Mulyani Soegiono M.SH dan besar ayahanda alm. Jon Soegiono M.SH** atas segala curahan kasih



sayangnya yang tak terbatas kepada penulis sehingga penulis bisa sampai di titik ini. Penulis mengucapkan terima kasih untuk bimbingan, inspirasi, motivasi, dukungan baik secara moril dan materiel dan doa yang tidak pernah putus senantiasa dipanjatkan kepada Allah SWT.

Untuk Suamiku tercinta, **Dedi Rihaldy Huspa** terimakasih atas cinta, kasih sayang, perhatian, motivasi dan doanya untuk penulis. Juga kepada putra putri tercinta, **Aufa Rais Rehaldy, Akmal Diva Rihaldi** dan **Alyssa Fadhillah Rihaldy** sumber kebahagiaan serta menjadi penyemangat jiwa penulis untuk menyelesaikan studi dengan baik dan sungguh-sungguh.

Ibunda (dari suami penulis), **ibunda Aliyah Nurdin dan seluruh keluarga besar ayahanda alm. Hoesbir Husein** atas doa yang senantiasa tercurahkan kepada penulis terutama selama masa studi.

Dengan memperhatikan dan mengikuti bimbingan, arahan dan perbaikan dari tim promotor dan penguji, penulis berharap disertasi ini dapat bermanfaat bagi semua yang pembacanya.

Makassar, Februari 2024

Pitut Aprilia Savitri



# DAFTAR ISI

Halaman

TIM PENILAI DISERTASI .....	ix
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT .....	xi
PRAKATA.....	xii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR.....	xx
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan Penelitian .....	7
1. Tujuan Umum.....	7
2. Tujuan Khusus .....	8
D. Manfaat Penelitian .....	8
1. Manfaat bagi pengembangan ilmu .....	8
2. Manfaat bagi Praktisi Kesehatan.....	8
E. Nilai Kebaharuan Penelitian (Novelty).....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
A. Beban Tuberkulosis di Dunia .....	10
B. Pengertian TB .....	11
C. Etiologi TB.....	12
D. Faktor Resiko TB (Kemenkes RI 2020).....	14
E. Patogenesis TB.....	14
F. Respon Imun terhadap Mycobacterium tuberculosis .....	16
G. Manifestasi Klinis (Kemenkes RI, 2022) .....	21
H. Klasifikasi dan tipe pasien TB (Kemenkes RI, 2022) .....	21
I. Diagnosis Tuberkulosis (Kemenkes RI,2022).....	23
J. Alur diagnosis TB Terduga TB .....	25
TB Laten .....	25
Diagnosis TB laten.....	27
Micro-RNA .....	28
1. Pengertian MikroRNA (microRNA).....	28



2.	Peran MicroRNA infeksi Mycobacterium tuberculosis.....	30
N.	microRNA-21 .....	37
O.	microRNA-144-5p .....	40
P.	Interleukin 6 (IL-6).....	43
Q.	Peranan Interleukin 6 (IL-6) pada infeksi mycobacterium tuberculosis.....	44
R.	Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ).....	47
S.	Peranan Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) pada Infeksi Mycobacterium Tuberculosis.....	48
T.	Damage Regulated Autophagy Modulator-2 (DRAM2) .....	51
U.	Peranan DRAM2 (DNA Damage-Regulated Autophagy Modulator 2) pada infeksi mycobacterium tuberculosis .....	52
V.	Kerangka Teori .....	53
W.	Kerangka KonsepKerangka Konsep.....	54
X.	Hipotesis .....	54
 BAB III METODE PENELITIAN.....		 55
A.	Rancangan Penelitian .....	55
B.	Tempat dan waktu.....	55
C.	Populasi dan Sampel Penelitian.....	55
D.	Kriteria Sampel Penelitian .....	56
1.	Kelompok Penderita Tuberkulosis Paru Aktif.....	56
2.	Kelompok Tuberkulosis Laten .....	56
3.	Kontak sehat .....	56
4.	Kriteria Eksklusi .....	56
E.	Definisi Operasional .....	57
F.	Prosedur Kerja Penelitian.....	58
1.	Langkah-langkah Pengumpulan sampel.....	58
2.	Pemeriksaan Sputum .....	58
3.	Dekontaminasi Sputum .....	58
4.	Smear dengan Pewarnaan Ziehl-Neelsen .....	59
5.	Kultur Pada Medium Cair MGIT960 ( <i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i> ) .....	59
6.	Pemeriksaan IGRA dengan Quanti FERON-TB GoldPlus (QFT-Plus).....	59
7.	Ekstaksi RNA dari sampel darah .....	60
8.	Amplifikasi complementaryDNA (cDNA) dengan Reverse Transcriptase-PCR.....	61
9.	Pemeriksaan Ekspresi microRNA menggunakan Real-time PCR .....	62
10.	Pemeriksaan Kadar IL-1 $\beta$ , IL-6 dan DRAM2.....	63



G. Analisis Data .....	64
H. Kurva Receiver operating characteristics (ROC) .....	64
I. Alur Penelitian .....	65

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 89

A. Hasil Penelitian .....	89
1. Karakteristik Sampel .....	89
2. Perbedaan Ekspresi microRNA-21 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	91
3. Perbedaan Ekspresi microRNA-144-5p pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	92
4. Perbedaan Kadar IL-6 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	93
5. Perbedaan Kadar IL-1 $\beta$ pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	94
6. Perbedaan Kadar DRAM2 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	96
7. Korelasi Ekspresi microRNA-21 terhadap Kadar IL-6 dan IL-1 $\beta$ .....	97
8. Korelasi Ekspresi microRNA-144-5p terhadap Kadar DRAM2 .....	98
9. Membedakan microRNA 21 pada Tuberkulosis Aktif dan Laten .....	99
10. Membedakan microRNA 144-5p pada Tuberkulosis Aktif dan Laten .....	100
B. Pembahasan .....	101
1. Perbedaan Ekspresi microRNA-21 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	102
2. Perbedaan Ekspresi microRNA-144-5p pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	104
3. Perbedaan Kadar IL-6 dan Kadar IL-1 $\beta$ pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	107
4. Perbedaan kadar DRAM2 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat .....	112
5. Korelasi Ekspresi microRNA-21 terhadap Kadar IL-6 dan IL-1 $\beta$ .....	113
6. Korelasi Ekspresi microRNA-144-5p terhadap Kadar DRAM2 .....	114
7. microRNA 21 dan microRNA-144-5p sebagai biomarker Infeksi pada TB Aktif dan TB Laten .....	114
8. Implikasi Penelitian untuk Masa Depan .....	116



9. Keterbatasan dalam Penelitian.....	117
BAB V PENUTUP .....	89
A. Kesimpulan .....	89
B. Saran .....	90
DAFTAR PUSTAKA.....	89



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perbedaan TST dan IGRA .....	28
Tabel 2.2 Perbedaan TB Laten dengan TB Aktif .....	28
Tabel 2.3 Peran Berbagai macam microRNA .....	33
Tabel 2.4 Jenis-jenis microRNA dan Fungsinya.....	34
Tabel 3.1 Definisi Operasional.....	57
Tabel 4.1 Karakteristik Subyek Penelitian pada Kelompok Tuberkulosis (TB) aktif, Laten dan Sehat .....	90
Tabel 4.2. Ekspresi microRNA-21 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat.....	91
Tabel 4.3 Ekspresi microRNA-144-5p pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat.....	92
Tabel 4.4 Perbedaan Kadar IL-6 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat.....	93
Tabel 4.5 Perbedaan Kadar IL-1 $\beta$ pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat.....	94
Tabel 4.6 Perbedaan Kadar DRAM2 pada Pasien Tuberkulosis Aktif, Tuberkulosis Laten dan Sehat.....	96
Tabel 4.7 Korelasi Ekspresi microRNA-21 terhadap Kadar IL-6 dan IL-1 $\beta$ ..	97
Tabel 4.8. Korelasi Ekspresi microRNA-144-5p terhadap Kadar DRAM2 ...	98
Tabel IV.9 Nilai cut-off point ekspresi microRNA-21 pada tuberkulosis aktif dan Laten.....	99
Tabel 4.10 Nilai cut-off point ekspresi microRNA-144-5p pada tuberkulosis aktif .....	100



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Patogenesis dan perkembangan tuberkulosis (Sinigaglia, A 2020).....	16
Gambar 2.2 Respon Imun Alamiah/bawaan pada penyakit TB .....	18
Gambar 2.3 Respon Imun Adaptif pada penyakit TB .....	19
Gambar 2.4 Alur diagnosis TB (Kemenkes RI) .....	25
Gambar 2.5 Alur resiko infeksi TB .....	27
Gambar 2.6 Biogenesis microRNA .....	29
Gambar 2.7 Granuloma TB Paru menunjukkan bagaimana sirkulasi mikroRNA spesifik (microRNA) dapat muncul selama proses infeksi.....	31
Gambar 2.8 Representasi grafis dari regulasi microRNA dari respon imun inang terhadap infeksi M tuberkulosis. MicroRNA yang diatur ke atas atau ke bawah selama infeksi M tuberkulosis ditunjukkan oleh panah merah dan independen.....	35
Gambar 2.9 Representasi grafis dari microRNA yang bersirkulasi, yang secara signifikan diregulasi ke atas (panah merah) atau regulasi ke bawah. (panah hijau) pada subjek dengan infeksi tuberkulosis (TB) laten, TB aktif, atau yang merespons terapi anti-TB .....	37
Gambar 2.10 Lokasi Gen microRNA-21.....	38
Gambar 2.11 Peran ganda microRNA-21 pada infeksi mikobakteri. (A) Ekspresi microRNA-21 meningkat pada makrofag manusia dan murine yang terinfeksi Mycobacterium tuberculosis, menurunkan regulasi Bcl-2 dan TLR-4, menekan sitokin inflamasi, dan meningkatkan apoptosis dan kelangsungan hidup mikobakteri. .	39
Gambar 2.12 Dalam monosit manusia yang terinfeksi Mycobacterium tuberculosis, microRNA-144-5p menargetkan DRAM2 mRNA untuk menghambat autophagy yang mendorong kelangsungan hidup mikobakteri.....	41
Gambar 2.13.....	43
Gambar 2.14 Kerangka Teori.....	53
Gambar 2.15.....	54
Gambar 3.1 Urutan primer untuk quantitative real-time PCR microRNA-21	62
3.2 Alur Penelitian.....	65
4.1 Perbedaan Kadar IL-6 pada kelompok TB aktif, TB laten, dan sehat.....	94



Gambar 4.2 Perbedaan Kadar IL-1 $\beta$ pada kelompok TB aktif, TB laten, dan sehat.....	95
Gambar 4.3 Perbedaan kadar DRAM2 pada kasus TB aktif, TB laten, dan sehat.....	96
Gambar 4.4 korelasi antara microRNA-21 dan kadar IL-6.....	97
Gambar 4.5 korelasi antara microRNA-21 dan kadar IL-1 $\beta$ .....	98
Gambar 4.6 korelasi antara microRNA-144 dengan DRAM2 .....	99
Gambar 4.7 Kurva ROC microRNA-21 dalam membedakan TB aktif dengan TB laten .....	100
Gambar 4.8 Kurva ROC microRNA-144-5p dalam membedakan TB AKTIF dengan TB LATEN.....	101



## DAFTAR SINGKATAN

Ago2	Argonaute
Bcl-2	B cell lymphoma-2
DRAM2	DNA Damage-Regulated Autophagy Modulator 2
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IL-6	Interleukin 6
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 $\beta$
IL-12	Interleukin 12
M.tb	Mycobacterium tuberculosis
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>
microRNA	micro RNA
MICRORNAISC	microRNA induced Silencing Complex
mRNA	Messenger RNA
NF-K $\beta$	Nuclear Factor k Beta
Pri-microRNA	Primary Micro RNA
Pre-microRNA	Prekursor micro RNA
RISC	RNA induced Silencing Complex
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
TB	Tuberculosis
TCM	Test Cepat Molekuler
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor alfa
TNFRSF-4	Tumor Necrosis Factor Reseptor Superfamily-4
TLR	Toll-like Receptor
3'UTR	3' Untranslated Region
XPOS5	Exportin 5



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

*WHO Global Tuberculosis Report (2023)* melaporkan bahwa estimasi jumlah orang terdiagnosis TB di Dunia setiap tahun mengalami peningkatan. dari 10 juta orang pada tahun 2020, menjadi 10,3 juta orang pada 2021, dan meningkat kembali menjadi 10,6 juta orang pada tahun 2022. Terdapat 6,4 juta (60,3%) orang yang telah dilaporkan dan menjalani pengobatan sedangkan 4,2 juta (39,7%) orang lainnya belum ditemukan/ didiagnosis dan dilaporkan. Jumlah kasus TB terbanyak menyerang kelompok usia produktif terutama pada usia 45 sampai 54 tahun. Kematian akibat TB secara keseluruhan juga terbilang sangat tinggi, sekitar 1,6 juta orang mati akibat TB, angka ini naik dari tahun sebelumnya yakni sekitar 1,3 juta orang. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, terutama yang menyerang paru-paru (TB Paru) merupakan penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global hingga saat ini dan TB masih menduduki peringkat kedua di dunia penyebab utama kematian akibat satu agen infeksi di 2022 setelah COVID-19. Orang yang baru didiagnosis dilaporkan dengan TB sebanyak 7,5 juta pada tahun 2022. Ini merupakan angka tertinggi di dunia dari sejumlah besar orang yang menderita TB pada tahun-tahun sebelumnya. (*Global Tuberculosis Report 2023*).

Indonesia seperti tahun sebelumnya masih berada pada posisi KEDUA (ke-2) dengan jumlah penderita TB terbanyak di dunia setelah India, diikuti oleh China, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh dan Republik Demokratik Kongo secara berurutan. Kasus TB di Indonesia diperkirakan sebanyak 1.060.000 kasus TB. Angka ini naik 10% dari tahun 2021, yaitu sebanyak 969.000 kasus. Kurang lebih sama dengan estimasi kasus 2022 sebanyak 1.060.000. Akibat pandemi Covid-19 sejak tahun 2020 diprediksi Angka kematian akibat TB di Indonesia mencapai 150.000 kasus (satu orang setiap 4 menit), naik 60% dari tahun 2020 sebanyak 93.000 kasus kematian akibat TB atau setara dengan 11 kematian per jam. Dengan tingkat kematian sebesar 55 per 100.000 penduduk (*Global TB Report 2023*). Dari total 1.060.000 estimasi kasus TB yang ada di Indonesia, yang ditemukan baru sebesar 816.297 (77%) kasus saja, sedangkan ada 243.703 (23%) kasus lainnya belum ditemukan dan dilaporkan. Pasien TBC yang terdiagnosis dapat menjadi sumber penularan TBC di masyarakat sehingga



hal ini menjadi tantangan besar bagi program penanggulangan TBC di Indonesia. (Kemenkes RI 2023)

Pada individu yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* sekitar 5 hingga 10% berkembang menjadi TB aktif pada tahap tertentu. Sisanya, 90% hingga 95% orang yang terinfeksi tetapi tanpa gejala, disebut infeksi TB laten yang hanya ditentukan oleh bukti sensitisasi imunologis terhadap protein mikobakteri tanpa adanya tanda-tanda klinis dan gejala penyakit aktif (Flynn and Chan., 2001). WHO memperkirakan bahwa hampir sepertiga dunia populasi dengan hasil *Mycobacterium tuberculosis* purified turunan protein positif. TB laten adalah sumber penyakit yang disebabkan oleh reaktivasi, terutama di negara berkembang dengan jumlah kasus TB yang besar dan tingkat kejadian TB yang tinggi. Risiko reaktivasi TB di antara orang-orang TB laten yang imunokompeten diperkirakan 10% seseorang dengan TB laten, resiko menjadi TB aktif lebih tinggi apabila terjadi perubahan secara klinis, epidemiologis atau gambaran radiologis. Diagnosis dan penatalaksanaan TB laten merupakan salah satu tantangan pemberantasan TB karena tidak ada bukti klinis dan mikrobiologis (Munoz *et al.*, 2015).

Untuk pengendalian TB, diperlukan modalitas yang akurat dan cepat untuk diagnosis awal. Masalah mendasar untuk diagnosis dan penatalaksanaan TB adalah ketepatan diagnosis, pengobatan yang tepat dan standar, pemantauan dan evaluasi pengobatan dan kesehatan masyarakat. Ketepatan diagnosis yang lebih baik akan meningkatkan keberhasilan pengobatan dan pengendalian TB sehingga mengurangi kejadian tuberkulosis (Tri A, *et al.*, 2018). Namun, metode standar untuk mendeteksi tuberkulosis melibatkan pertumbuhan mikroorganisme dalam media selektif yang membutuhkan waktu 3-12 minggu. Pemeriksaan smear juga digunakan untuk mendeteksi tuberkulosis, tetapi pemeriksaan dahak memiliki sensitivitas yang rendah (Geleta D.A *et al.*, 2015) Meskipun tes berbasis PCR dan imunologi evaluasi tuberkulosis adalah metode diagnostik cepat (Tang Y *et al.*, 2018), hasil positif palsu dan negatif membuat mereka tidak dapat diandalkan. Modalitas diagnosis lain yang dapat diandalkan termasuk menunjukkan peradangan granulomatosa pada organ yang terkena dan profil klinis-radiologis yang kompatibel (Mortaz E *et al.*, 2016). Berbagai modalitas pengambilan sampel jaringan pada TB intratoraks meliputi aspirasi jarum transbronkial yang dipandu

ografi endobronkial (EBUS-TBNA), lavage bronkoalveolar (BAL), biopsi sial (EBB), biopsi paru transbronkial (TBLB), atau modalitas pengambilan terkatan (Gupta N *et al.*, 2015) Ini adalah modalitas diagnostik invasif yang



membutuhkan fasilitas dan keahlian super-spesialisasi. Untuk meningkatkan diagnosis non-invasif dan dini, komunitas ilmiah global terus meneliti modalitas diagnostik baru. Saat ini, metode diagnostik tuberkulosis hanya mendeteksi penyakit TB aktif, sehingga tidak ada biomarker yang membedakan tuberkulosis laten dan tuberkulosis aktif untuk diagnosis yang lebih spesifik. Hasil infeksi dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti status gizi, koinfeksi, paparan mikroba lingkungan, dan vaksinasi sebelumnya. Faktor inang genetik juga berperan penting dalam mengendalikan kerentanan penyakit terhadap patogen intraseluler (Hatta M *et al.*, 2010)

Agen penyebab, *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb), memiliki kemampuan mapan untuk menghindari sistem kekebalan inang untuk kelangsungan hidup intraseluler jangka panjangnya. MicroRNA adalah pengatur respons imun pasca-transkripsi yang penting. Mereka bertindak dengan secara negatif mengatur tingkat ekspresi gen penting baik dalam kekebalan bawaan maupun adaptif. Telah ditetapkan dalam penelitian terbaru bahwa respon imun inang terhadap M.tb diatur oleh banyak microRNA, yang sebagian besar diinduksi oleh infeksi M.tb. Selain itu, ekspresi diferensial microRNA pada pasien tuberkulosis dapat membantu membedakan antara pasien TB dan individu sehat atau TB laten. (Yang, T. & Ge, B. 2018.) Beberapa studi menunjukkan bahwa sebagian besar respon imun yang dimediasi sel dikendalikan oleh microRNAs, dan modulasi ekspresi microRNA yang terkait dengan proses biologis ini adalah salah satu strategi penting untuk mencegah penyebaran infeksi (Yang T *et al.*, 2018); (Agarwal R.G *et al.*, 2019); (Rothchild A.C *et al.*, 2016) MicroRNA berukuran kecil, berantai tunggal, RNA non-coding yang berikatan dengan gen spesifik untuk memodulasi ekspresinya (Saliminejad K *et al.*, 2019). Ini melibatkan banyak proses seluler, seperti kontrol siklus sel, apoptosis, dan beberapa proses perkembangan dan fisiologis. Perubahan ekspresi microRNA dan ekspresi gen dikaitkan dengan patogenesis berbagai penyakit pernapasan (Pattnaik, B *et al.* 2022). Beberapa keunggulan yang menjadi ciri microRNA menjadikannya kandidat biomarker yang cocok. Molekul-molekul ini hadir dalam berbagai cairan tubuh dengan stabilitas tinggi meskipun berulang kali dibekukan dan dicairkan, dan tidak sulit untuk diekstrak (Chen *et al.*, 2008) sehingga banyak penelitian mengungkapkan profil microRNA

ekspresikan secara berbeda dalam berbagai penyakit, termasuk TB yang mempertimbangkan penggunaan microRNA sebagai biomarker diagnostik potensial selain itu juga berkembang dalam menggunakan



microRNA sebagai indikator yang tepat dari kemanjuran terapi (Barry, S.E *et al.*, 2018)

Untuk alasan ini, selama beberapa tahun telah dilakukan penelitian terkait microRNA pada penderita penyakit menular versus orang sehat sebagai kontrol, proses ini disebut "ekspresi diferensial" dan dievaluasi dengan real-time PCR (q-PCR), dengan mempertimbangkan normalisasi atau gen referensi. Molekul-molekul ini adalah micro-RNA dengan 18-24 nukleotida non-coding, diekspresikan secara endogen dan sangat terkonservasi, yang mengatur ekspresi gen pasca-transkripsi melalui ekspresi sub/over RNA dalam berbagai organisme dalam keadaan fisiologis dan patologis normal (Capristano and Guio., 2020). Beberapa studi mengungkapkan profil ekspresi gen berubah pada makrofag dan sel NK dari tuberkulosis aktif dan laten serta kontrol yang sehat. Perubahan komposisi seluler dan ekspresi gen terkait pada pasien tuberkulosis kemungkinan diatur oleh microRNA. Beberapa microRNA telah ditemukan untuk mengatur diferensiasi dan fungsi sel T. Selain itu, microRNA terbukti penting dalam mengatur fungsi imun bawaan yaitu makrofag, sel DC dan NK (Harapan *et al.*, 2013). microRNA dilaporkan berfungsi sebagai modulator potensial dari respon imun bawaan dan adaptif. microRNA serum tidak mudah terdegradasi oleh enzim, tidak terpengaruh oleh perubahan suhu dan waktu, serta tahan terhadap asam dan basa (Belver, L *et al.*, 2011). Selain itu, microRNA serum bersifat stabil, dan mengevaluasi profil microRNA serum adalah prosedur diagnostik yang layak di laboratorium klinis. Karena potensi diagnostiknya yang tinggi, microRNA serum telah dievaluasi sebagai biomarker dalam beberapa kondisi patologis termasuk TB, dengan beberapa penelitian mencapai akurasi 82% hingga 100% dalam mendiagnosis TB dengan mengevaluasi microRNA (Yi, Z *et al.*, 2012)

Penelitian lain melaporkan perbedaan kadar microRNA di antara pasien TB aktif, TB laten, dan kontrol yang sehat seperti yang dilakukan oleh Lyu, L pada tahun (2019) yang meneliti perbedaan profil microRNA pada 60 pasien TB aktif dan TB Laten. Sampel penelitian ini semuanya adalah orang dewasa dengan HIV-negatif ( $\geq 18$  tahun) dan tidak memiliki riwayat TB sebelumnya. Pasien TB diidentifikasi berdasarkan kultur M.TB positif dan hasil tes BTA. Pasien Laten TB diidentifikasi berdasarkan hasil tes kulit tuberkulin (TST) positif dan uji pelepasan gamma (IGRA), tetapi indikator lainnya sama dengan kontrol sehat. Individu sehat, mereka diidentifikasi dengan pemeriksaan radiologi normal, dan IGRA negatif. Hasil dari penelitian ini terdapat perbedaan ekspresi



microRNA pada pasien TB aktif dan TB laten sehingga bisa menjadi dasar penelitian selanjutnya mengenai microRNA yang lebih spesifik. (Lyu *et al.*, 2019) Peran microRNA dalam infeksi mikobakteri, khususnya pada tuberkulosis (TB), juga dilakukan pada beberapa penelitian lainnya (Qi, Y *et al.*, 2011) . Studi ini telah melaporkan bahwa microRNA spesifik diekspresikan secara berbeda dalam makrofag atau pasien yang terinfeksi *M. tuberculosis* dan bahwa beberapa dari microRNA ini berinteraksi dengan gen target serumpun mereka. Selain itu, penelitian tersebut menunjukkan bahwa microRNA terlibat dalam perkembangan TB dan profil serum microRNA dapat berguna sebagai biomarker diagnostik atau terapeutik potensial pada pasien TB (Wu *et al.*, 2014); (Latorre *et al.*, 2015); (Zhou M *et al.*, 2016); (Alipoor *et al.*, 2017)

Saat ini, lebih dari 2.600 urutan microRNA dewasa telah diidentifikasi dalam genom manusia dengan lebih dari 15.000 gen target dan lebih dari 380.000 microRNA-target interaksi (MTIs) diidentifikasi dan divalidasi oleh *Western blotting*, *luciferase assay*, *pulsed stable isotope labeling by/with amino acids in cell culture (pSILAC)*, *microarray*, and/or *NGS* (Ruiz-Tagle *et al.* 2020). Untuk memahami apakah microRNA berperan dalam mengatur respon imun terhadap infeksi *Mycobacterium Tuberculosis* pada manusia, profil ekspresi microRNA dilakukan pada *Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC)* dari pasien tuberkulosis paru dan kontrol yang sehat. Dari beberapa microRNA tersebut **microRNA 21** dan **microRNA 144-5p** memiliki peran penting dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi *Mycobacterium Tuberculosis*. Kedua jenis microRNA ini bekerja di tahapan reaksi imunologi yang berbeda. microRNA 21 berperan pada reaksi awal saat terjadinya respon imun alami dengan cara menurunkan regulasi Bcl-2 dan TLR-4, menekan sitokin pro-inflamasi (**IL-6 dan IL-1 $\beta$** ), dan meningkatkan apoptosis dan kelangsungan hidup mikobakteri.

interleukin-6 (IL-6), adalah salah satu sitokin pro inflamasi yang terlibat dalam proses infeksi TB, berperan penting dalam respons fase akut dan 3 transisi dari peradangan akut ke kronik. Disregulasi IL-6 adalah kontributor utama dalam patogenesis penyakit radang kronik, perubahan kadar sitokin dapat mencerminkan status suatu penyakit, sehingga memungkinkan untuk dijadikan sebagai pemeriksaan potensial untuk prognostik TB.(Seyedhosseini, 2019).

edangkan Sitokin proinflamasi IL-1 $\beta$  merupakan mediator utama dan berperan penting dalam resistensi inang terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Makrofag, sel inang utama mikobakteri, merespons



infeksi *M. tuberculosis* dengan meningkatkan regulasi berbagai sitokin termasuk TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  (Krisnan et al., 2013).

Sebagai pengatur utama respon stres oksidatif seluler, microRNA 144-5p secara langsung menargetkan faktor nuklir yang berhubungan dengan eritroid 2 untuk memodulasi respon stres oksidatif. Kadar microRNA 144-5p, meningkat secara signifikan dalam darah pasien TBC, dan molekul ini mengatur produksi sitokin oleh sel T (Sangokoya et al., 2010). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa microRNA 144-5p mungkin mengatur respons imun anti-TB dengan menghalangi produksi TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  dan menghambat proliferasi sel T manusia (Liu et al., 2011). Namun, belum ada penelitian yang menjelaskan mekanisme spesifik microRNA 144-5p yang menghambat proliferasi sel T. Efek microRNA 144-5p pada proliferasi sel T memerlukan penelitian lebih lanjut

*M.tb* secara signifikan menginduksi ekspresi microRNA144-5p, yang menargetkan wilayah DRAM2 3' yang tidak diterjemahkan (modulator autophagy yang diatur kerusakan DNA 2) pada monosit dan makrofag manusia. Infeksi *M.tb* menurunkan regulasi, sedangkan aktivator autophagy meningkatkan regulasi, ekspresi DRAM2 pada monosit dan makrofag manusia dengan mengaktifkan protein kinase yang diaktifkan AMP. Selain itu, ekspresi berlebih microRNA144-5p menurunkan ekspresi DRAM2 dan pembentukan autofagosom pada monosit manusia, sedangkan penghambatan microRNA144-5p memiliki efek sebaliknya. Selain itu, kadar microRNA144-5p meningkat, sedangkan kadar DRAM2 menurun, pada sel dan jaringan darah tepi manusia pada pasien TB, yang menunjukkan signifikansi klinis microRNA144-5p dan DRAM2 pada TB manusia

Mempertimbangkan peran sentral microRNA dalam perkembangan dan penyakit, peneliti mengusulkan bahwa microRNA yang bersirkulasi tertentu memengaruhi hasil infeksi TB, dan ini dapat diukur dengan kadar microRNA dalam darah. MicroRNA endogen ada dalam serum dan resisten terhadap aktivitas RNase. Meskipun demikian, microRNA bebas sel dalam serum belum dipelajari pada infeksi TB paru. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi panel microRNA serum yang diekspresikan secara berbeda pada pasien dengan TB paru aktif dibandingkan dengan ekspresi pada kontak erat serumah (laten TB dan Sehat). Pemilihan penelitian terhadap ekspresi microRNA-

microRNA-144-5p didasarkan kepada fungsi dari kedua gen tersebut untuk infeksi mycobacterium survival yang ada di dalam tubuh manusia yang kuman tersebut. Begitupula korelasinya dengan kadar IL-6, IL 1 $\beta$  dan



DRAM2. Dalam tinjauan saat ini, peneliti akan merangkum kemajuan terbaru dalam pemahaman tentang ekspresi diferensial microRNA dan perannya dalam TB, dan potensinya untuk digunakan sebagai biomarker penyakit ini.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut maka penulis merumuskan bagaimana ekspresi microRNA-21 dan microRNA-144-5p sebagai biomarker dan korelasinya dengan kadar IL-1 $\beta$ , IL – 6 dan DRAM2 pada pasien Tuberculosis (TB) paru aktif dan kontak serumah ? Dengan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan ekspresi microRNA-21 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)?
2. Apakah ada perbedaan ekspresi microRNA-144-5p pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)?
3. Apakah ada perbedaan kadar IL1 $\beta$ , IL – 6 dan DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)?
4. Apakah ada korelasi antara kenaikan atau penurunan ekspresi microRNA-21 dengan kadar IL1 $\beta$  dan IL – 6 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)?
5. Apakah ada korelasi antara kenaikan atau penurunan ekspresi microRNA-144-5p dengan kadar DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)?
6. Apakah microRNA-21 dan microRNA-144-5p berpotensi sebagai biomarker Tuberculosis paru aktif dan Tuberculosis laten?

## C. Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa ekspresi microRNA-21 dan microRNA-144-5p sebagai biomarker serta kadar IL-1 $\beta$  dan IL – 6 pada Tuberculosis (TB) Aktif dan kontak serumah (latent TB dan Sehat)



## 2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui ekspresi microRNA-21 pada Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)
- b. Mengetahui ekspresi microRNA-144-5p pada Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)
- c. Mengetahui kadar IL1 $\beta$ , IL – 6 dan DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)
- d. Mengetahui korelasi antara ekspresi microRNA-21 dengan kadar IL1 $\beta$  dan IL – 6 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)
- e. Mengetahui korelasi antara ekspresi microRNA-144-5p dengan kadar DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dengan kontak serumah (latent TB dan Sehat)
- f. Mengetahui dan menentukan potensi microRNA-21 dan microRNA-144-5p sebagai biomarker Tuberkulosis paru aktif dan Tuberkulosis laten

## D. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat bagi pengembangan ilmu

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan memberikan gambaran informasi tentang peran microRNA-21 dan microRNA-144-5p pada Tuberculosis (TB) aktif dan Laten TB

### 2. Manfaat bagi Praktisi Kesehatan

Dari hasil penelitian ini peneliti berharap agar peran microRNA-21 dan microRNA-144-5p pada TB aktif dan Laten TB dapat sebagai bahan pertimbangan untuk dapat dijadikan sebagai salah satu *biomarker* untuk menunjang diagnosis TB di Indonesia.



### E. Nilai Kebaharuan Penelitian (Novelty)

Penelitian terkait ekspresi *microRNA* (microRNA) pada penderita Tuberkulosis belum pernah dilakukan dan belum ada penelitian serupa pada populasi orang Indonesia. Pada penelitian ini, ada dua jenis *microRNA* yang dipilih dari beberapa *microRNA* dalam darah yaitu *microRNA-21* dan *microRNA-144-5p*. hal ini dilakukan untuk membedakan TB aktif dari kontak erat serumah



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Beban Tuberkulosis di Dunia

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu 10 penyebab kematian tertinggi di seluruh dunia dan penyebab utama kematian dari agen infeksius. Secara global diperkirakan 10.6 juta (range 9,8-11,3 juta) orang sakit TBC; 1,4 juta (range 1,3-1,5 juta) kematian akibat TBC termasuk HIV-negatif dan 187.000 kematian (range 158.000–218.000) termasuk HIV-positif. Secara geografis kasus TBC terbanyak di Southeast Asia (45,6%), Afrika (23,3%) dan Western Pacific (17,8%), dan yang terkecil di Eastern Mediterranean (8,1%), The Americas (2,9%) dan Eropa (2,2%). Terdapat 10 negara menyumbang dua sepertiga dari total kasus TBC; India (27,9%), Indonesia (9,2%), China (7,4%), Philippines (7,0%), Pakistan (5,8%), Nigeria (4,4%), Bangladesh (3,6%), Democratic Republic of the Congo (2,9%), South Africa (2,9%) dan Myanmar (1,8%). Target global dan milestone untuk penurunan insiden TBC dan kematian TBC telah ditetapkan sebagai bagian dari SDGs dan End TB Strategi TBC pada akhir tahun 2030; yaitu penurunan 90% kematian TBC dan 80% penurunan insiden TBC (kasus baru dan kambuh per 100.000 penduduk per tahun) antara 2015 dan 2030. Saat ini terdapat negara-negara dengan beban TBC yang tinggi belum mencapai End TB Strategi; secara global terdapat penurunan insiden TBC antara 2015 dan 2021 adalah 4,6% sedangkan berdasarkan region, terdapat 3 region yang mengalami penurunan yaitu Africa, Europe dan Southeast Asia sedangkan untuk angka kematian TBC secara global terdapat peningkatan kematian TBC sebesar 3,2% dan berdasarkan region, terdapat region yang mengalami penurunan yaitu Africa, East Mediterranean dan Eropa. (Laporan kemenkes RI 2023)

*WHO Global Tuberculosis Report (2023)* melaporkan bahwa estimasi jumlah orang terdiagnosis TB di Dunia setiap tahun mengalami peningkatan. dari 10 juta orang pada tahun 2020, menjadi 10,3 juta orang pada 2021, dan meningkat menjadi 10,6 juta orang pada tahun 2022. Terdapat 6,4 juta (60,3%) orang yang dilaporkan dan menjalani pengobatan sedangkan 4,2 juta (39,7%) lainnya belum ditemukan/ didiagnosis dan dilaporkan. Jumlah kasus TB



terbanyak menyerang kelompok usia produktif terutama pada usia 45 sampai 54 tahun. Kematian akibat TB secara keseluruhan juga terbilang sangat tinggi, sekitar 1,6 juta orang mati akibat TB, angka ini naik dari tahun sebelumnya yakni sekitar 1,3 juta orang. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, terutama yang menyerang paru-paru (TB Paru) merupakan penyakit yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global hingga saat ini dan TB masih menduduki peringkat kedua di dunia penyebab utama kematian akibat satu agen infeksi di 2022, setelah COVID-19. Sedangkan orang yang baru didiagnosis dilaporkan dengan TB sebanyak 7,5 juta pada tahun 2022. Ini merupakan angka tertinggi di dunia dari sejumlah besar orang yang menderita TB pada tahun-tahun sebelumnya. (*Global Tuberculosis Report 2023*).

Saat ini Indonesia seperti tahun sebelumnya masih berada pada posisi KEDUA (ke-2) dengan jumlah penderita TB terbanyak di dunia setelah India, diikuti oleh China, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh dan Republik Demokratik Kongo secara berurutan. Kasus TB di Indonesia diperkirakan sebanyak 969.000 kasus TB (satu orang setiap 33 detik). Angka ini naik 17% dari tahun 2020, yaitu sebanyak 824.000 kasus. Akibat pandemi Covid-19 sejak tahun 2020 diprediksi Angka kematian akibat TB di Indonesia mencapai 150.000 kasus (satu orang setiap 4 menit), naik 60% dari tahun 2020 sebanyak 93.000 kasus kematian akibat TB atau setara dengan 11 kematian per jam. Dengan tingkat kematian sebesar 55 per 100.000 penduduk (*Global TB Report, 2023*). Dari total 969.000 estimasi kasus TB yang ada di Indonesia, kasus yang ditemukan hanya sebesar 443.235 (45,7%) kasus saja, sedangkan ada 525.765 (54,3%) kasus lainnya belum ditemukan dan dilaporkan

## B. Pengertian TB

Berdasarkan pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana tuberkulosis yang dikeluarkan oleh kementerian kesehatan pada tahun 2020, Tuberkulosis adalah suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA). Sebagian besar kuman yang ditemukan menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan TB paru, bakteri ini juga memiliki kemampuan menginfeksi organ tubuh lainnya (TB ekstra paru) seperti pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya.



### C. Etiologi TB

Tuberkulosis biasanya menular dari manusia ke manusia lain lewat udara melalui percik renik atau droplet nucleus yang keluar ketika seorang yang terinfeksi TB paru atau TB laring batuk, bersin, atau bicara. Percik renik juga dapat dikeluarkan saat pasien TB paru melalui prosedur pemeriksaan yang menghasilkan produk aerosol seperti saat dilakukannya induksi sputum, bronkoskopi dan juga saat dilakukannya manipulasi terhadap lesi atau pengolahan jaringan di laboratorium. Percik renik, yang merupakan partikel dapat menampung 1-5 basilli, dan bersifat sangat infeksius, dan dapat bertahan di dalam udara sampai 4 jam. Karena ukurannya yang sangat kecil, percik renik ini memiliki kemampuan mencapai ruang alveolar dalam paru, dimana bakteri kemudian melakukan replikasi.

Agen infeksius utama, *M. tuberculosis* adalah batang aerobik tahan asam yang tumbuh dengan lambat dan sensitive terhadap panas dan sinar matahari. *M. bovis* dan *M. avium* adalah kejadian yang jarang berkaitan dengan terjadinya infeksi tuberkulosis. *M. tuberculosis* termasuk family Mycobacteriaceae yang mempunyai berbagai genus, salah satunya adalah Mycobacterium dan salah satu spesiesnya adalah *M. tuberculosis*. Bakteri ini berbahaya bagi manusia dan mempunyai dinding sel lipoid sehingga tahan asam. Bakteri ini memerlukan waktu untuk mitosis 12 – 24 jam. *M. tuberculosis* sangat rentan terhadap sinar matahari dan sinar ultraviolet sehingga dalam beberapa menit akan mati. Bakteri ini juga rentan terhadap panas – basah sehingga dalam waktu 2 menit yang berada dalam lingkungan basah sudah mati bila terkena air bersuhu 100°C. Bakteri ini juga akan mati dalam beberapa menit bila terkena alkohol 70% atau Lysol 5% (Danusantoso, 2017).

Basil tuberkulosis dapat hidup dan tetap virulen beberapa minggu dalam keadaan kering, tetapi dalam cairan mati dalam suhu 60°C dalam 15-20 menit. Fraksi protein basil tuberkulosis menyebabkan nekrosis jaringan, sedangkan lemaknya menyebabkan sifat tahan asam dan merupakan factor terjadinya fibrosis dan terbentuknya sel epiteloid dan tuberkel. Basil ini tidak berspora sehingga mudah dibasmi dengan pemanasan sinar matahari dan sinar ultraviolet. Ada dua

mycobakterium tuberkulosis yaitu tipe human dan tipe bovin. Basil tipe ini ada dalam susu sapi yang menderita mastitis tuberkulosis. Basil tipe ini juga ada di bercak ludah (droplet) di udara yang berasal dari penderita TB paru dan orang yang rentan terinfeksi TB ini bila menghirup bercak ini.



Tuberkulosis biasanya menular dari manusia ke manusia lain lewat udara melalui percik renik atau *droplet nucleus* (<5 microns) yang keluar ketika seorang yang terinfeksi TB paru atau TB laring batuk, bersin, atau bicara. Percik renik juga dapat dikeluarkan saat pasien TB paru melalui prosedur pemeriksaan yang menghasilkan produk aerosol seperti saat dilakukannya induksi sputum, bronkoskopi dan juga saat dilakukannya manipulasi terhadap lesi atau pengolahan jaringan di laboratorium. Percik renik, yang merupakan partikel k dapat menampung 1-5 basilli, dan bersifat sangat infeksius, dan dapat bertahan di dalam udara sampai 4 jam. Karena ukurannya yang sangat kecil, percik renik ini memiliki kemampuan mencapai ruang alveolar dalam paru, dimana bakteri kemudian melakukan replikasi. (Panduan tatalaksana TB Nasional 2020)

Sumber penularan adalah penderita tuberkulosis BTA positif pada waktu batuk atau bersin. Penderita menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk droplet (percikan dahak). Droplet yang mengandung kuman dapat bertahan di udara pada suhu kamar selama beberapa jam. Orang dapat terinfeksi kalau droplet tersebut terhirup ke dalam saluran pernafasan. Setelah kuman tuberkulosis masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernafasan, kuman tuberkulosis tersebut dapat menyebar dari paru kebagian tubuh lainnya melalui sistem peredaran darah, saluran nafas, atau penyebaran langsung ke bagian-bagian tubuh lainnya. Daya penularan dari seorang penderita ditentukan oleh banyaknya kuman yang dikeluarkan dari parunya. Makin tinggi derajat positif hasil pemeriksaan dahak, makin menular penderita tersebut. Bila hasil pemeriksaan dahak negatif (tidak terlihat kuman), maka penderita tersebut dianggap tidak menular. Seseorang terinfeksi tuberkulosis ditentukan oleh konsentrasi droplet dalam udara dan lamanya menghirup udara tersebut

Orang dengan kondisi imun buruk lebih rentan mengalami penyakit TB aktif dibanding orang dengan kondisi sistem imun yang normal. 50- 60% orang dengan HIV-positif yang terinfeksi TB akan mengalami penyakit TB yang aktif. Hal ini juga dapat terjadi pada kondisi medis lain di mana sistem imun mengalami penekanan seperti pada kasus silikosis, diabetes melitus, dan penggunaan kortikosteroid atau obat-obat immunosupresan lain dalam jangka panjang.



#### D. Faktor Resiko TB (Kemenkes RI 2020)

Terdapat beberapa kelompok orang yang memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami penyakit TB, kelompok tersebut adalah :

1. Orang dengan HIV positif dan penyakit imunokompromais lain.
2. Orang yang mengonsumsi obat immunosupresan dalam jangka waktu panjang.
3. Perokok
4. Konsumsi alkohol tinggi
5. Anak usia <5 tahun dan lansia
6. Memiliki kontak erat dengan orang dengan penyakit TB aktif yang infeksius.
7. Berada di tempat dengan risiko tinggi terinfeksi tuberkulosis (contoh: lembaga permasyarakatan, fasilitas perawatan jangka panjang)
8. Petugas kesehatan

#### E. Patogenesis TB

Infeksi diawali karena seseorang menghirup basil *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri menyebar melalui jalan napas menuju alveoli lalu berkembang biak dan terlihat bertumpuk. Perkembangan *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat menjangkau sampai ke area lain dari paru (lobus atas). Basil juga menyebar melalui system limfe dan aliran darah ke bagian tubuh lain (ginjal, tulang dan korteks serebri) dan area lain dari paru (lobus atas). Selanjutnya system kekebalan tubuh memberikan respons dengan melakukan reaksi inflamasi. Neutrofil dan makrofag melakukan aksi fagositosis (menelan bakteri), sementara limfosit spesifik-tuberkulosis menghancurkan (melisiskan) basil dan jaringan normal. (Somantri 2008)

Infeksi awal biasanya timbul dalam waktu 2-10 minggu setelah terpapar bakteri. Interaksi antara *Mycobacterium tuberculosis* dan system kekebalan tubuh pada masa awal infeksi membentuk sebuah massa jaringan baru yang disebut granuloma. Granuloma terdiri atas gumpalan basil hidup dan mati yang dikelilingi oleh makrofag seperti dinding. Granuloma selanjutnya berubah bentuk menjadi massa jaringan fibrosa. Bagian tengah dari massa tersebut disebut ghon tubercle.

ang terdiri atas makrofag dan bakteri yang menjadi nekrotik yang  
ya membentuk materi yang berbentuk sepertikeju (necrotizing  
.Hal ini akan menjadi klasifikasi dan akhirnya membentuk jaringan



kolagen, kemudian bakteri menjadi nonaktif. Tuberkel bakteri akan tumbuh perlahan dan membelah setiap 23- 32 jam sekali di dalam makrofag. *Mycobacterium* tidak memiliki endotoksin ataupun eksotoksin, sehingga tidak terjadi reaksi imun segera pada host yang terinfeksi. Bakteri kemudian akan terus tumbuh dalam 2-12 minggu dan jumlahnya akan mencapai 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup>, yang merupakan jumlah yang cukup untuk menimbulkan sebuah respon imun seluler yang dapat dideteksi dalam reaksi pada uji tuberkulin *skin test*. Bakteri kemudian akan merusak makrofag dan mengeluarkan produk berupa tuberkel basilus dan kemokin yang kemudian akan menstimulasi respon imun. (Kemenkes RI, 2020)

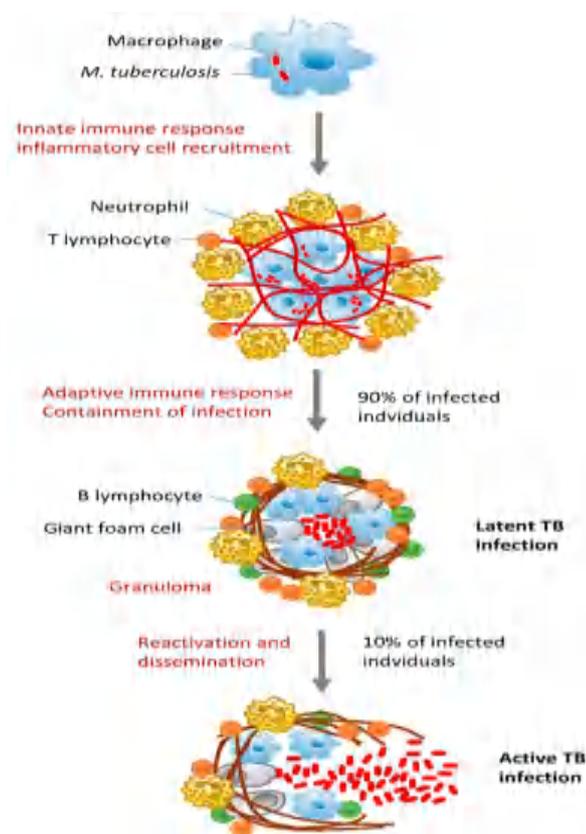
Terlepas dari apakah infeksi terkontrol atau menjadi progresif, perkembangan awal akan melibatkan produksi enzim proteolitik dan sitokin oleh makrofag dalam upaya untuk menghilangkan bakteri (van Crevel *et al.*, 2002); (Nicod LP., 2007). Sitokin yang dikeluarkan akan menarik limfosit T ketempat infeksi, sel-sel ini merupakan bagian dari imunitas seluler. Makrofag kemudian mempresentasikan antigen mikobakterium permukaan selnya ke sel limfosit T (Van Crevel *et al.*, 2002 ). Lesi pada orang dengan sistem imunitas tubuh baik secara umum akan menjadi fibrosis dan kalsifikasi, keberhasilan mengendalikan infeksi yang menjadikan basil menjadi dorman, dan lesi hilang . Orang dengan kekebalan tubuh yang kurang efektif, akan menjadi tuberkulosis progresif primer (Frieden TR.,2003); (Dheda K.,2005). Orang dengan imunokompeten, pembentukan granuloma dimulai, namun akhirnya tidak berhasil membendung basil tuberkulosis. Jaringan nekrotik mengalami pencairan, dan hilangnya integritas struktur dinding fibrous. Bahan nekrotik semicair kemudian mengalir ke dalam bronkus atau pembuluh darah di dekatnya, meninggalkan rongga/ cavitas berisi udara di tempat asal. Pada pasien yang terinfeksi dengan M.TB, droplet dapat dibatukkan dari bronkus dan menginfeksi orang lain. Jika cairan masuk ke pembuluh darah dapat terjadi tuberkulosis ekstrapulmoner. Basil juga dapat masuk ke sistem limfatik dan berkumpul di kelenjar getah bening trakeobronkial yang mempengaruhi paru-paru, di mana organisme dapat membentuk granuloma caseous baru (Dheda K.,2005).

Sebuah fitur kunci patogen dari M. tuberculosis adalah kemampuannya untuk bertahan hidup untuk waktu yang lama di host manusia, di dalam makrofag

oma tuberkel (Pai,M *et al.*, 2010) Makrofag merupakan komponen kunci  
 pon imun bawaan pejamu terhadap M. tuberculosis yang dapat  
 inasi mikobakteri melalui mekanisme yang berbeda, seperti induksi



apoptosis, respon imun inflamasi, dan aktivitas fagositosis (Simmons, J.D *et al.*, 2006) Namun, patogen dapat melawan mekanisme antimikroba inang untuk memastikan kelangsungan hidup dan persistensi. Pada sebagian besar infeksi *M. tuberculosis*, respon imun pejamu mampu menghentikan pertumbuhan bakteri dan membersihkan mikroorganisme atau menginduksi status infeksi tuberkulosis laten (ILTb). Namun, sekitar 5-15% ILTB berkembang menjadi TB aktif dengan keterlibatan paru dan/atau ekstra paru (Dutta, N. K *et al.*, 2014) TB aktif umumnya bermanifestasi segera setelah infeksi, tetapi, dalam beberapa kasus, dapat terjadi bahkan bertahun-tahun setelah infeksi primer, karena penurunan respon imun, sehingga menunjukkan pentingnya imunitas bawaan dan adaptif dalam pengendalian *M. tuberculosis*



Gambar II.1 Patogenesis dan perkembangan tuberkulosis (Sinigaglia, A 2020)

## F. Respon Imun terhadap *Mycobacterium tuberculosis*



Optimization Software:  
www.balesio.com

reseptor utama dalam makrofag yang digunakan untuk mengenali *Mycobacterium tuberculosis* dan dapat mengaktifkan faktor transkripsi (NF- $\kappa$ B) yang menginduksi pelepasan sitokin pro inflamasi adalah Toll-Like Receptors

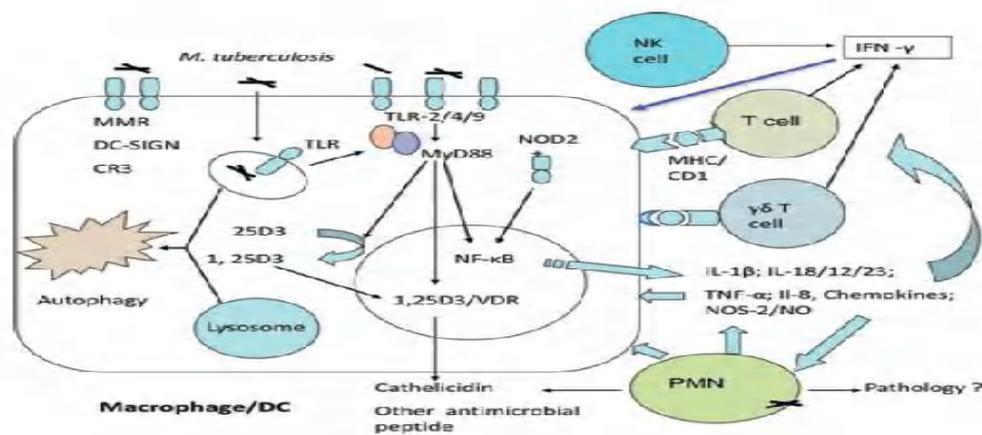
(TLR). Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) dan Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) adalah pusat sitokin pro-inflamasi utama untuk perlindungan terhadap infeksi tuberkulosis. TNF- $\alpha$  memainkan peran penting dalam pengendalian *Mycobacterium tuberculosis* pertumbuhan makrofag melalui beberapa mekanisme dan memiliki peran sentral dalam pembentukan dan pemeliharaan tuberkulosis laten. IFN- $\gamma$  sangat penting untuk system imun bawaan dan adaptif terhadap infeksi, terutama infeksi bakteri intraseluler. *Mycobacterium tuberculosis* akan menghambat produksi sitokin pro- inflamasi sebagai mekanisme bertahan hidup. Selain itu, kemampuan *Mycobacterium tuberculosis* untuk tinggal dan bereplikasi dalam fagosit memungkinkan *Mycobacterium tuberculosis* untuk bertahan hidup di dalam sel. Mekanisme ini menghindari respon imun sehingga *Mycobacterium tuberculosis* berhasil menginvasi makrofag dengan menghambat fusi fagolisosom dan menetralkan lingkungan asam dari kompartemen fagolisosom. Dengan lingkungan asam yang dinetralkan, sel T tidak merespon antigen (Harapan *et al.*, 2012).

Respon imun seluler merupakan pertahanan utama terhadap patogen intraseluler seperti M.TB, tentunya dengan berbagai macam sel yang menjadi 'efektor'. Pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, CD4+ dan CD8+ dari populasi sel T, serta makrofag alveolar dan sel dendrit, adalah jenis sel efektor imun utama. CD4+, CD8+, dan Subset Sel T lainnya sebagai pathogen intraseluler, M.TB 'tinggal' di dalam vakuola makrofag dari host; selT CD4+ dan sel T CD8+ adalah hal terpenting pada perlindungan host terhadap M.TB. Sel T CD4+ terlibat dalam perlawanan utama terhadap M.TB dengan memproduksi IFN- $\gamma$  dan sitokin lain untuk mengaktifkan makrofag yang sangat penting dalam mengendalikan dan mengeliminasi M.TB. Hal ini dibuktikan dengan beberapa penelitian pada hewan coba yang menunjukkan aktivasi sel T CD4+ begitu terpajan bakteri M.TB. Yang menarik, beberapa penelitian menunjukkan adanya delay pada respons CD4+ begitu bakteri M.TB masuk ke dalam tubuh (Dheda K *et al.*, 2010)

Respon Imun Alamiah pada infeksi Mikobakterium Tuberkulosis (*Innate Immune Respose*). *Mycobacterium tuberculosis* difagositosis oleh makrofag dan sel dendritik melalui reseptor terikat membran seperti CR3, scavenger receptor, MMR, TLR, NOD2 dan DC-SIGN. Ini menyebabkan aktivasi jalur pensinyalan (NF- $\kappa$ B), menyebabkan sekresi sitokin pro-inflamasi, kemokin, dan antimikroba, dan aktivasi VDR, yang menginduksi ekspresi peptida cathelicidin dan  $\beta$ -defensin. Selain itu, induksi autophagy memediasi



aktivitas antimikroba. Sel PMN mengenali dan menelan *M. tuberculosis* dan mengeluarkan peptida antimikroba untuk membunuh bakteri. Sel NK, sel T  $\gamma\delta$  dan sel T yang dibatasi CD1 juga diaktifkan oleh ligan dan sitokin spesifik, melepaskan faktor sitotoksik dan mengeluarkan IFN- $\gamma$ , yang mengaktifkan makrofag. CR3, reseptor komplemen 3; DC-SIGN, non-integrin interselular-adhesi-molekul-3-pemegang non-integrin khusus sel dendritik; INF, interferon; MMR, reseptor manosa makrofag; NK, pembunuh alami; PMN, neutrofil polimorfonuklear; TLR, reseptor seperti tol; TNF, faktor nekrosis tumor; VDR, reseptor vitamin D.



Gambar II.2 Respon Imun Alamiah/bawaan pada penyakit TB

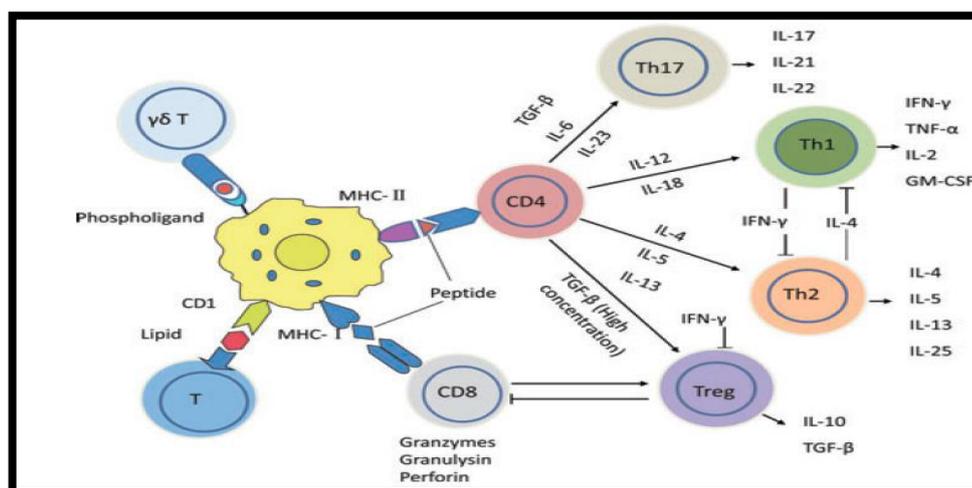
Imunitas adaptif terhadap infeksi tuberkulosis. Makrofag yang terinfeksi dan sel dendritik mengeluarkan sitokin yang meliputi IL-12, IL-23, IL-7, IL-15 dan TNF- $\alpha$ , dan menyajikan antigen ke beberapa populasi sel T termasuk CD4<sup>+</sup> sel T (MHC kelas II), CD8<sup>+</sup> Sel T (MHC kelas I), sel T yang dibatasi CD1 (antigen glikolipid) dan sel T  $\gamma\delta$  (fosfoligan). Sel T ini menghasilkan sitokin efektor IFN- $\gamma$ , yang mengaktifkan makrofag bersama dengan TNF- $\alpha$  untuk membunuh mikobakteri intraseluler melalui oksigen reaktif dan intermediet nitrogen. Selain itu, sel T sitotoksik CD8<sup>+</sup> dapat membunuh mikobakteri intraseluler melalui jalur yang dimediasi granulysin dan perforin. Namun, sel Th2 CD4<sup>+</sup> menghasilkan sitokin immunosupresif seperti IL-4, dan sel T (Treg) regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> menghasilkan IL-10 dan TGF- $\beta$  yang dapat menekan mekanisme efektor mycobactericidal.<sup>41</sup> Sebuah subset baru dari sel T helper disebut Sel-sel Th17

produksi dengan adanya IL-23, dan ditandai dengan produksi IL-17, dan modulator penting dari peradangan dan mengingat respon memori. Sel dapat merekrut neutrofil dan monosit, dan sel T CD4<sup>+</sup> penghasil IFN- $\gamma$ , dan



merangsang ekspresi kemokin. Namun, IFN- $\gamma$  pada gilirannya dapat menekan sel Th17 yang memproduksi IL-17. Dengan demikian, tampaknya ada regulasi silang yang lebih kompleks dari respons sel Th1, Th2, Th17 dan Treg, daripada yang diketahui sebelumnya dan peran respons individu yang tepat dalam imunitas protektif masih kontroversial. GM-CSF, faktor perangsang koloni granulosit-makrofag; IFN, interferon; TGF, mengubah faktor pertumbuhan; TNF, faktor nekrosis tumor.

Onset dari sel imun adaptif pada TB diketahui memang lebih terlambat dibandingkan pada infeksi lainnya. Pada keadaan normal, sel T CD4+ akan aktif 3-5 hari setelah infeksi awal, puncak aktivitas adalah 7-8 jam pascainfeksi. Penelitian pada hewan coba menunjukkan respons sel T yang muncul justru 9-11 hari pascainfeksi. Penyebab pastinya masih belum diketahui, namun hal ini seakanakan memberikan waktu bagi bakteri untuk memastikan proses infeksi terjadi. Pendapat awal yang menjelaskan adanya delay pada respons imun adaptif terhadap TB adalah penemuan bahwa setelah infeksi melalui udara, bakteri hidup harus diantarkan menuju lung draining (juga disebut 'mediastinal', 'pulmonal' dan 'torakal') Lymph node (LDLN) sebelum proses priming sel T dapat muncul, sehingga membutuhkan waktu lebih lama. Faktor host juga diyakini berpengaruh pada respons sel T tersebut. Selain itu, terdapat pula pendapat yang menyatakan bahwa M.TB ini bersembunyi di tempat yang bersifat aman atau *immuneprivileged* pada fase awal infeksi (Andersen, Urdahl KB 2015)



Gambar II.3 Respon Imun Adaptif pada penyakit TB



Dalam hal ini, bukti yang berkembang menunjukkan bahwa pertahanan inang terhadap *M.tb* membutuhkan respons seluler yang biasanya dimediasi oleh sel T helper (Th) tipe 1 (Th1)/Th 17 (Th17). Telah dibuktikan untuk waktu yang lama bahwa subkelompok limfosit T yang berpusat pada reaksi imun telah diidentifikasi sebagai Th1/Th 2, yang menawarkan dasar untuk mengetahui bagaimana sistem kekebalan manusia merespons berbagai patogen (Mortaz *et al.*, 2012). Dua subkelompok utama limfosit Th CD4, Th1 dan Th2, memiliki profil perkembangan mediator yang terpisah dan melakukan fungsi yang berbeda dalam fungsi kekebalan (Mortaz *et al.* 2012). Th1 ditentukan oleh perkembangan interleukin-2 (IL-2), tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), dan sel Th2 oleh Interleukin-4 (IL-4), interleukin-13 (IL-13), dan pembentukan interleukin-5 (IL-5). Sitokin Th1 mempromosikan makrofag dan respons yang dimediasi sel yang sangat penting untuk kekebalan terhadap patogen intraseluler serta *delayed-type hypersensitivity* (DTH) dan aktivitas sitotoksik. Sel Th2 menghasilkan Interleukin-6 (IL-6), IL-4, IL-5, Interleukin-10 (IL-10), dan IL-13 yang merangsang perkembangan antibodi yang bervariasi dan dengan demikian sering diketahui berkorelasi dengan respon antibodi, yang mana sangat penting dalam pertempuran melawan patogen ekstraseluler. Sel Th1 dan Th2 sangat menekan; IL-10, hasil dari sel Th2, menekan perkembangan Th1 dengan bekerja pada APC (antigen-presenting cells), sedangkan perluasan sel Th2 dihambat oleh IFN- $\gamma$ , yang diproduksi oleh sel Th1. Dalam urutan yang disebutkan di atas, juga telah ditetapkan bahwa kekurangan dalam pembentukan efektor IFN- $\gamma$  Th1 telah mengakibatkan kerentanan terhadap infeksi TB. *M.tb* secara instan dapat menginfeksi sel inflamasi, terutama macrophages dan sel dendritik (DC). Molekul eksternal yang kaya lipid membungkus patogen ini sebagai selubung yang melindunginya dari radikal toksik dan hidrolase yang dihasilkan sebagai perlindungan terhadap sel inflamasi serta makrofag (Niederweis *et al.*, 2010). *M.tb* dapat memasuki makrofag di sekitarnya serta sel lain yang diperlukan untuk proliferasi (Niederweis *et al.*, 2010). makrofag, yang dipicu oleh kontak dengan benda-benda yang mengandung aerosol, memiliki aksi mikrobisidal yang kuat yang dapat menghancurkan basil dan menghindari penyakit TB, tetapi biasanya tidak mampu memberantasnya (Ahmad 2011). Proses kekebalan antimikroba lainnya melibatkan penghancuran sel yang terinfeksi melalui sel T (Brighenti dan Andersson 2010).



## G. Manifestasi Klinis (Kemenkes RI, 2022)

Tanda dan gejala tuberculosis adalah:

1. Batuk > 2 minggu
2. Batuk berdahak
3. Batuk berdahak dapat bercampur darah
4. Dapat disertai nyeri dada
5. Sesak napas

Dengan gejala lain meliputi :

1. Malaise
2. Penurunan berat badan
3. Menurunnya nafsu makan
4. Menggigil
5. Demam
6. Berkeringat di malam hari

## H. Klasifikasi dan tipe pasien TB (Kemenkes RI, 2022)

Terduga (*presumptive*) pasien TB adalah seseorang yang mempunyai keluhan atau gejala klinis mendukung TB (sebelumnya dikenal sebagai terduga TB). Pasien TB yang terkonfirmasi bakteriologis adalah pasien TB yang terbukti positif bakteriologi pada hasil pemeriksaan (contoh uji bakteriologi adalah sputum, cairan tubuh dan jaringan) melalui pemeriksaan mikroskopis langsung, TCM TB, atau biakan. Termasuk dalam kelompok pasien ini adalah :

1. Pasien TB paru BTA positif
2. Pasien TB paru hasil biakan M.TB positif
3. Pasien TB paru hasil tes cepat M.TB positif
4. Pasien TB ekstra paru terkonfirmasi secara bakteriologis, baik dengan BTA, biakan maupun tes cepat dari contoh uji jaringan yang terkena.
5. TB anak yang terdiagnosis dengan pemeriksaan bakteriol

Pasien TB yang terdiagnosis secara klinis dan kemudian terkonfirmasi bakteriologis positif (baik sebelum maupun setelah memulai pengobatan) harus diulangi pemeriksaan ulang sebagai pasien TB terkonfirmasi bakteriologis. Guna menghindari terjadinya *over diagnosis* dan situasi yang merugikan pasien,



pemberian pengobatan TB berdasarkan diagnosis klinis hanya dianjurkan pada pasien dengan pertimbangan sebagai berikut :

1. Keluhan, gejala dan kondisi klinis sangat kuat mendukung diagnosis TB
2. Kondisi pasien perlu segera diberikan pengobatan misal: pada kasus meningitis TB, TB milier, pasien dengan HIV positif, perikarditis TB dan TB adrenal.

Diagnosis TB dengan konfirmasi bakteriologis atau klinis dapat diklasifikasikan berdasarkan :

1. Klasifikasi berdasarkan lokasi anatomis :
  - a. TB paru adalah kasus TB yang melibatkan parenkim paru atau trakeobronkial. TB milier diklasifikasikan sebagai TB paru karena terdapat lesi di paru. Pasien yang mengalami TB paru dan ekstra paru harus diklasifikasikan sebagai kasus TB paru.
  - b. TB ekstra paru adalah kasus TB yang melibatkan organ di luar parenkim paru seperti pleura, kelenjar getah bening, abdomen, saluran genitorurinaria, kulit, sendi dan tulang, selaput otak. Kasus TB ekstra paru dapat ditegakkan secara klinis atau histologis setelah diupayakan semaksimal mungkin dengan konfirmasi bakteriologis.
2. Berdasarkan hasil uji kepekaan, klasifikasi TB terdiri dari :
  - a. Monoresisten: resistensi terhadap salah satu jenis OAT lini pertama.
  - b. Poliresisten: resistensi terhadap lebih dari satu jenis OAT lini pertama selain isoniazid (H) dan rifampisin (R) secara bersamaan.
  - c. *Multidrug resistant* (TB MDR) : minimal resistan terhadap isoniazid (H) dan rifampisin (R) secara bersamaan.
  - d. *Extensive drug resistant* (TB XDR) : TB-MDR yang juga resistan terhadap salah satu OAT golongan fluorokuinolon dan salah satu dari OAT lini kedua jenis suntikan (kanamisin, kapreomisin, dan amikasin).
  - e. *Rifampicin resistant* (TB RR) : terbukti resistan terhadap Rifampisin baik menggunakan metode genotip (tes cepat) atau metode fenotip (konvensional), dengan atau tanpa resistensi terhadap OAT lain yang terdeteksi. Termasuk dalam kelompok TB RR adalah semua bentuk TB MR, TB PR, TB MDR dan TB XDR yang terbukti resistan terhadap rifampisin.



## I. Diagnosis Tuberkulosis (Kemenkes RI,2022)

Semua pasien terduga TB harus menjalani pemeriksaan pada pemeriksaan apusan dari sediaan biologis (dahak atau spesimen lain), pemeriksaan biakan dan identifikasi *M. tuberculosis* atau metode diagnostik cepat yang telah mendapat rekomendasi WHO.

Pada wilayah dengan laboratorium yang terpantau mutunya melalui sistem pemantauan mutu eksternal, kasus TB Paru BTA positif ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan BTA positif, minimal dari satu spesimen. Pada daerah dengan laboratorium yang tidak terpantau mutunya, maka definisi kasus TB BTA positif bila paling sedikit terdapat dua spesimen dengan BTA positif.

WHO merekomendasikan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan minimal terhadap rifampisin dan isoniazid pada kelompok pasien berikut:

1. Semua pasien dengan riwayat pengobatan OAT. Hal ini dikarenakan TB resistan obat banyak ditemukan terutama pada pasien yang memiliki riwayat gagal pengobatan sebelumnya.
2. Semua pasien dengan HIV yang didiagnosis TB aktif. Khususnya mereka yang tinggal di daerah dengan prevalensi TB resistan obat yang tinggi.
3. Pasien dengan TB aktif yang terpajan dengan pasien TB resistan obat.
4. Semua pasien baru di daerah dengan kasus TB resistan obat primer >3%.
5. Pasien baru atau riwayat OAT dengan sputum BTA tetap positif pada akhir fase intensif. Sebaiknya dilakukan pemeriksaan sputum BTA pada bulan berikutnya.

Pemeriksaan biakan dan uji kepekaan dapat dilakukan dengan 2 metode :

1. Metode konvensional uji kepekaan obat

Pemeriksaan biakan M.TB dapat dilakukan menggunakan 2 macam medium padat (*Lowenstein Jensen /LJ* atau *Ogawa*) dan media cair *MGIT* (*Mycobacterium growth indicator tube*). Biakan M.TB pada media cair memerlukan waktu yang singkat minimal 2 minggu, lebih cepat dibandingkan biakan pada medium padat yang memerlukan waktu 28-42 hari.

2. Metode cepat uji kepekaan obat (uji diagnostik molekular cepat) Pemeriksaan molekular untuk mendeteksi DNA M.TB saat ini merupakan metode pemeriksaan tercepat yang sudah dapat dilakukan di Indonesia. Metode molekular dapat mendeteksi M.TB dan membedakannya dengan *Non-tuberculous Mycobacteria* (NTM). Selain itu metode molekular dapat



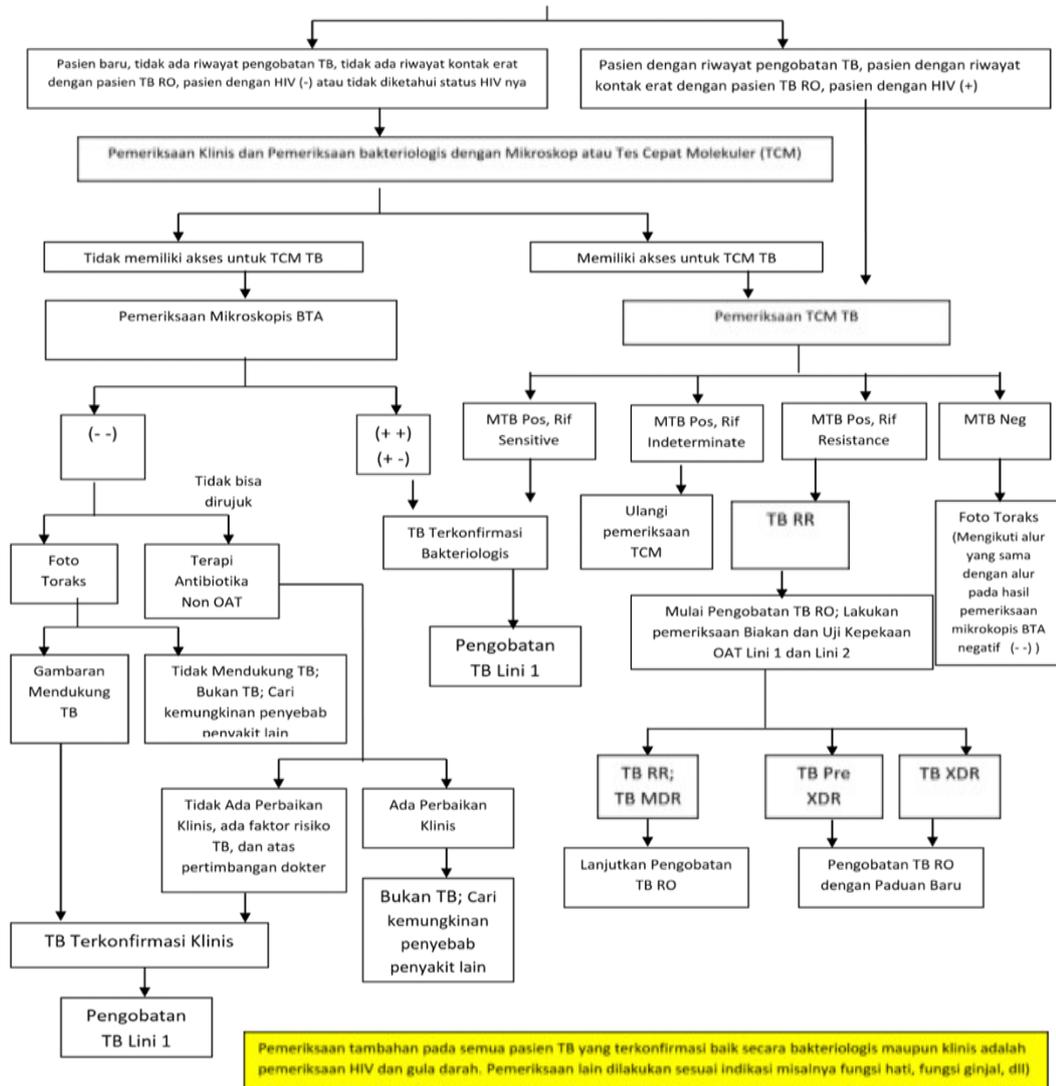
mendeteksi mutasi pada gen yang berperan dalam mekanisme kerja obat antituberkulosis lini 1 dan lini 2. WHO merekomendasikan penggunaan Xpert M.TB/RIF untuk deteksi resisten rifampisin. Resistan obat antituberkulosis lini 2 direkomendasikan untuk menggunakan *second line line probe assay* (SL-LPA) yang dapat mendeteksi resistensi terhadap obat antituberkulosis injeksi dan obat antituberkulosis golongan fluorokuinolon. Pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi gen pengkode resistensi OAT lainnya saat ini dapat dilakukan dengan metode sekuensing, yang tidak dapat diterapkan secara rutin karena memerlukan peralatan mahal dan keahlian khusus dalam menganalisisnya. WHO telah merekomendasi pemeriksaan molekuler *line probe assay* (LPA) dan TCM, langsung pada spesimen sputum.

Pemeriksaan dengan TCM dapat mendeteksi *M. tuberculosis* dan gen pengkode resisten rifampisin (*rpoB*) pada sputum kurang lebih dalam waktu 2 (dua) jam. Konfirmasi hasil uji kepekaan OAT menggunakan metode konvensional masih digunakan sebagai baku emas (*gold standard*). Penggunaan TCM tidak dapat menyingkirkan metode biakan dan uji kepekaan konvensional yang diperlukan untuk menegakkan diagnosis definitif TB, terutama pada pasien dengan pemeriksaan mikroskopis apusan BTA negatif, dan uji kepekaan OAT untuk mengetahui resistensi OAT selain rifampisin.

Pada kondisi tidak berhasil mendapatkan sputum secara ekspektorasi spontan maka dapat dilakukan tindakan induksi sputum atau prosedur invasif seperti bronkoskopi atau torakoskopi. Pemeriksaan tambahan pada semua pasien TB yang terkonfirmasi bakteriologis maupun terdiagnosis klinis adalah pemeriksaan HIV dan gula darah. Pemeriksaan lain dilakukan sesuai indikasi misalnya fungsi hati, fungsi ginjal, dan lain-lain.



### J. Alur diagnosis TB Terduga TB



Gambar II.4 Alur diagnosis TB (Kemenkes RI)

### K. TB Laten

Tuberkulosis laten adalah seseorang yang terinfeksi kuman M.TB tetapi tidak menimbulkan tanda dan gejala klinik serta gambaran foto toraks normal dengan hasil uji imunologik seperti uji tuberkulin atau Interferon Gamma Release Assay (IGRA) positif . Identifikasi TB laten diutamakan dilakukan pada kelompok

terutama terdapat kontak dengan pasien TB menular. (pedoman nasional dan kedokteran tata laksana tuberkulosis yang dikeluarkan oleh kementerian kesehatan pada tahun 2020).

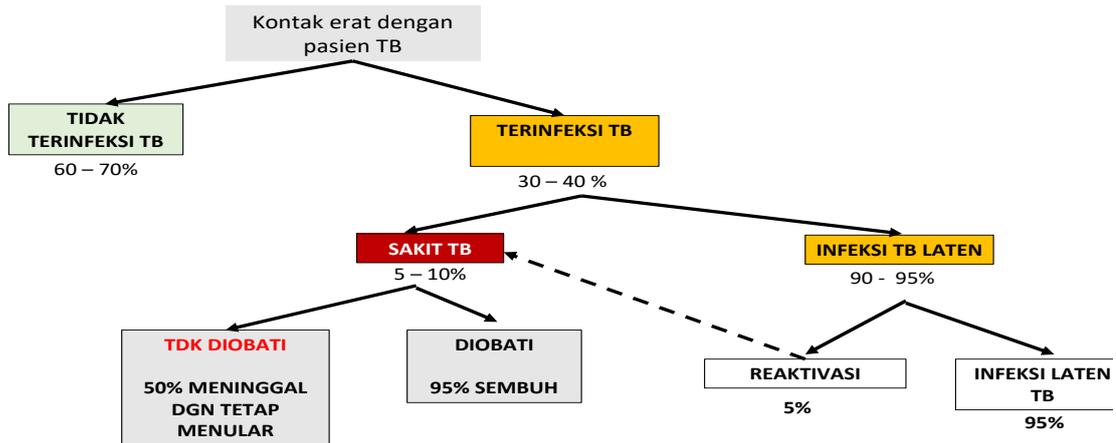
kelompok berisiko TB untuk negara berkembang menurut WHO adalah :



1. Kontak erat dengan pasien TB aktif atau terduga TB
2. Berada pada tempat dengan risiko tinggi untuk terinfeksi tuberkulosis (misalnya, lembaga pemasyarakatan, fasilitas perawatan jangka panjang, dan tempat penampungan tunawisma)
3. Kelompok berisiko tinggi diantaranya HIV, kanker dalam kemoterapi, pasien dengan steroid jangka panjang, pasien diabetes melitus, pasien dengan immunosupresan lain, pasien yang menjalani hemodialisa, pasien yang menjalani transplantasi organ, pasien yang mendapat anti Tumor Necrosis Factor Alfa
4. Petugas kesehatan yang melayani pasien tuberkulosis.
5. Bayi, anak-anak, dan dewasa muda terpajan orang dewasa yang berisiko tinggi terinfeksi TB aktif.

Data menunjukkan hanya 10% TB laten menjadi TB aktif disebut juga proses reaktivasi. Proses reaktivasi TB laten menjadi penyakit TB lebih berisiko terjadi pada kelompok berikut: 1. Infeksi HIV 2. Bayi dan anak usia < 5 tahun 3. Pasien yang mendapat pengobatan immunoterapi misal antagonis Tumor Necrosis Factor-alfa kortikosteroid sistemik, terapi immunosupresi pada transplantasi organ 4. Pasien dengan riwayat terinfeksi tuberkulosis pada 2 tahun terakhir 5. Pasien dengan riwayat TB aktif tidak berobat atau berobat tidak adekuat termasuk pasien yang pada foto toraks terlihat fibrotik 6. Kelompok berisiko tinggi ( diantaranya HIV, kanker dalam kemoterapi, pasien dengan steroid jangka panjang, pasien diabetes melitus, pasien dengan immunosupresan lain, pasien yang menjalani hemodialisa, pasien yang menjalani transplantasi organ) 7. Pasien yang telah dilakukan operasi gastrektomi atau *bypass* usus halus 8. Pasien dengan berat badan < 90% berat ideal 9. Tuna wisma, perokok, peminum alkohol atau penyalahgunaan obat 10. Warga binaan lapas 11. Petugas kesehatan





Gambar II.5 Alur resiko infeksi TB

## L. Diagnosis TB laten

Diagnosis TB laten dilakukan menggunakan uji tuberkulin atau IGRA. Diagnosis TB laten juga harus diikuti upaya membuktikan tidak terdapat TB aktif melalui anamnesis riwayat pengobatan, foto toraks, pemeriksaan fisis dan bila diperlukan pemeriksaan sputum mikrobiologi, selain uji tuberkulin (TST) atau IGRA. (Ahmad S. 2011) Uji tuberkulin dilakukan dengan menyuntikan intradermal 0,1 ml PPD 5 TU dengan teknik Mantoux selanjutnya pembacaan hasil uji tuberkulin dilakukan dalam 48-72 jam oleh tenaga kesehatan terlatih. Pemeriksaan IGRA yang dapat digunakan saat ini adalah 2 jenis pemeriksaan IGRA yaitu: quantiFERON®-TB Gold-in-Tube test (QFT-GIT) dan T-SPOT®



Tabel II.1 Perbedaan TST dan IGRA

Kriteria	TST	IGRA
Sensitivitas	68 – 71,5 %	80 – 84,5 %
Spesifisitas	86 – 88,7 %	99 – 99,4 %
Pengaruh vaksinasi BCG terhadap hasil	Ada	Tidak ada
Pembacaan hasil	48-72 jam (2x kunjungan)	Sekitar 2 hari (48 jam) (1x kunjungan)
Tempat pemeriksaan	Bisa di poli, Puskesmas, dll	Di Laboratorium/ RS rujukan dengan fasilitas hematologi, <i>centrifuge</i> , dan <i>CO<sub>2</sub> incubator</i>
Listrik	Tidak perlu	Perlu untuk <i>centrifuge</i>
E-katalog	Sudah ada	Masih proses pendaftaran
Izin edar	Ada	Ada
Biaya	Relatif lebih murah (Disediakan program, alur permintaan pada modul logistik)	Relatif lebih mahal 800.000-1.000.000

Tabel II.2 Perbedaan TB Laten dengan TB Aktif

TBC laten	TBC aktif
Tidak ada gejala	Memiliki salah satu gejala berikut: demam, batuk, nyeri dada, berat badan turun, keringat malam, hemoptisis, lemah, dan penurunan nafsu makan
Uji tuberculin atau IGRA positif	Uji tuberculin atau IGRA positif
Foto toraks normal	Foto toraks abnormal tetapi bisa normal pada orang imunokompromis atau TBC ekstraparu
Hasil pemeriksaan mikrobiologi negative (BTA, kultur, dan TCM)	Hasil pemeriksaan mikrobiologi dapat positif ataupun negatif, termasuk pada kasus TBC ekstraparu
Tidak dapat menularkan	Dapat menularkan kuman TBC ke orang lain
Perlu terapi pencegahan pada kondisi tertentu	Perlu pengobatan sesuai standar terapi TBC

## M. Micro-RNA

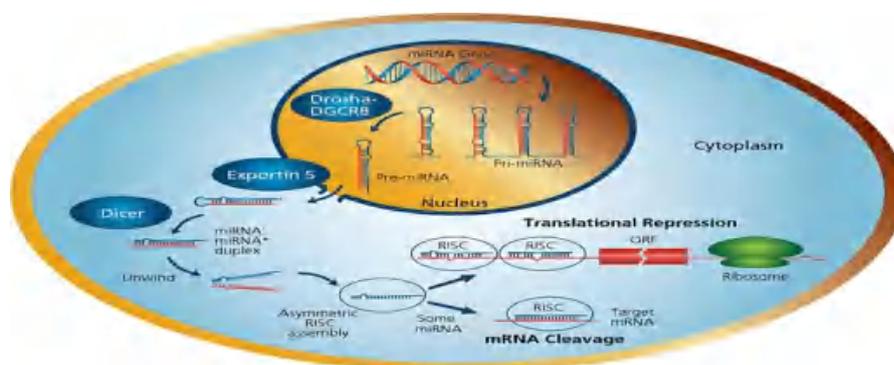
### 1. Pengertian MikroRNA (microRNA)

MikroRNA (microRNA) merupakan keluarga RNA yang tidak menyandi (non-coding RNA) yang berfungsi mengatur ekspresi gen pada jalur transduksi sinyal seluler. Ia dapat bersifat onkogen atau gen supresor tumor, tergantung fungsinya dan berfungsi sebagai modulator translasi dan stabilitas mRNA. MikroRNA berpotensi mempengaruhi berbagai jalur proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis sel. Kelainan pada microRNA, baik ekspresi berlebihan maupun delesi, dapat berpengaruh pada berbagai proses seluler di atas dan berakibat



transformasi ganas. Dalam beberapa tahun terakhir, berbagai jenis microRNA yang berperan pada keganasan telah dapat diidentifikasi, bahkan selain dalam jaringan tumor juga dapat diidentifikasi dan diukur kadarnya dalam serum dan cairan tubuh lain sebagai *circulating microRNA*, sehingga di kemudian hari dapat digunakan sebagai biomarker non-invasif untuk diagnosis maupun prognosis dan pemantauan kanker.

microRNA sangat penting dan juga terlibat dalam berbagai proses biologis. Selain itu, ekspresi microRNAs dikaitkan dengan banyaknya penyakit pada manusia dan microRNA disekresikan menjadi cairan ekstraseluler. microRNA ekstraseluler telah banyak dilaporkan sebagai biomarker potensial untuk berbagai penyakit dan juga berfungsi sebagai molekul pemberi sinyal untuk menengahi komunikasi sel yang berlangsung (O'Brien *et al.*, 2018).



Gambar II.6 Biogenesis microRNA

Gen yang mengkode microRNA jauh lebih panjang daripada molekul microRNA matang yang diproses. Banyak microRNA diketahui berada di intron gen inang *pre-mRNA* mereka dan berbagi elemen pengatur, transkrip primer, dan memiliki profil ekspresi yang serupa. Untuk sisa gen microRNA yang ditranskripsi dari promotornya sendiri, beberapa transkrip primer telah diidentifikasi sepenuhnya. MicroRNA ditranskripsi oleh RNA polimerase II sebagai prekursor RNA besar yang disebut *pri-microRNAs* dan terdiri dari tutup 5' dan ekor poli-A (Lee *et al.*, 2004). *Pri-microRNA* diproses dalam nukleus oleh kompleks mikroprosesor, yang terdiri dari enzim RNase III Drosha (Han jee *et al.*, 2004), dan protein pengikat RNA untai ganda, Pasha/DGCR8 (Denli *et al.*, 2014). *Pri-microRNA* yang dihasilkan memiliki panjang sekitar 70 nukleotida dan dilipat ke struktur loop batang yang tidak sempurna. *Pri-microRNA* kemudian diekspor ke sitoplasma oleh karioferin exportin 5 (Exp5) dan kompleks Ran-GTP.



Ran (protein nuklir terkait ras) adalah protein pengikat GTP kecil milik superfamili RAS yang penting untuk translokasi RNA dan protein melalui kompleks pori inti. Ran GTPase mengikat Exp5 dan membentuk heterotrimer nuklir dengan pre-microRNAs (Lund *et al.*, 2004). Begitu berada di sitoplasma, pra-microRNA menjalani langkah pemrosesan tambahan oleh enzim RNase III Dicer (Barry, S.E 2018) yang menghasilkan microRNA, RNA untai ganda dengan panjang sekitar 22 nukleotida. Dicer juga memulai pembentukan RNA-induced silencing complex (RISC) (Hammond *et al.*, 2005) RISC bertanggung jawab atas pembungkaman gen yang diamati karena ekspresi microRNA dan interferensi RNA

MicroRNA bekerja pada target mRNA secara spesifik, melalui interaksi komplementer antisense di daerah 3' UTR (untranslated regions) (Bartel *et al.*, 2004). Satu microRNA dapat meregulasi beberapa mRNA, dan satu mRNA dapat menjadi target beberapa microRNA yang berbeda-beda (Fu *et al.*, 2011). Satu microRNA dapat memiliki sejumlah besar target sehingga mempengaruhi ratusan ekspresi protein. MicroRNA terlibat di berbagai proses selular, antara lain perkembangan, proliferasi sel, diferensiasi sel, dan apoptosis (Esquela and Slack, 2006). MicroRNA juga memiliki peran pada siklus sel, baik dalam hal represi maupun aktivasi, melalui: (a.) Di saat sel berproliferasi, microRNA menekan translasi, (b.) Pada saat sel istirahat, microRNA memperantarai aktivasi . MicroRNA berperan sebagai regulator ekspresi gen melalui targetnya pada mRNA dengan menekan translasi atau degradasi mRNA. Agar dapat berfungsi, microRNA harus dikode- ekspresikan dengan targetnya yaitu mRNA. Satu microRNA dapat meregulasi beberapa mRNA, dan satu mRNA dapat menjadi target beberapa microRNA yang berbeda-beda. MicroRNA memiliki banyak target mRNA sehingga mempengaruhi ratusan ekspresi protein. MicroRNA terlibat di berbagai proses selular yaitu perkembangan, proliferasi sel, diferensiasi sel, apoptosis, dan respon terhadap stress (Calin and Croce, 2006)

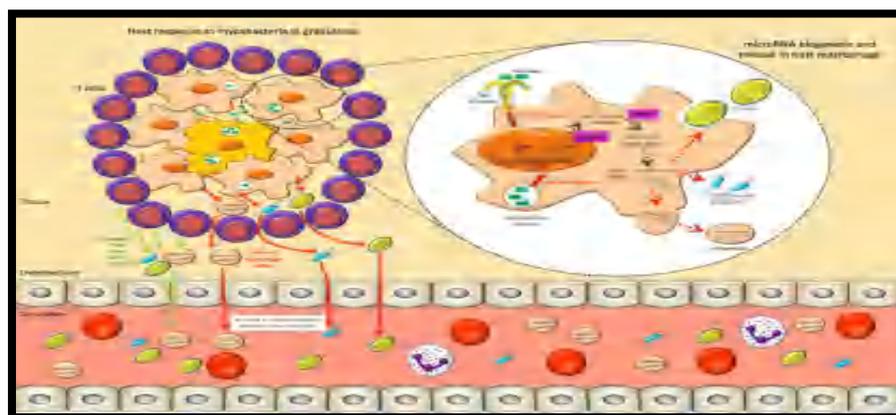
## 2. Peran MicroRNA infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

*M.tuberculosis* merupakan organisme purba yang telah terkoordinasi dengan inang manusianya, sehingga telah beradaptasi dengan makrofag dalam untuk kelangsungan hidupnya (Catalanotto, C *et al.*, 2016) Sampai saat ini yang diketahui tentang bagaimana respon imun makrofag berubah infeksi tuberculosis oleh microRNA inang, yang merupakan respon imun pertama di lingkungan mikro paru relatif terhadap *M. tuberculosis* . Untuk



memastikan kelangsungan hidup dan proliferasi, bakteri patogen memanipulasi berbagai jalur dan fungsi seluler inang (Bhavsar AP 2007). Regulasi ekspresi microRNA oleh infeksi karena bakteri patogen, segera setelah infeksi terjadi, adalah sebagai bagian penting dari respon inang terhadap infeksi, serta strategi molekuler baru untuk mengatur jalur sel inang oleh bakteri. Sedangkan makrofag adalah sel target untuk infeksi *Mycobacterium* tetapi tidak terpengaruh oleh microRNA, selama infeksi. Titik kritis dari respon imun yang melekat dan didapat adalah sel dendritik yang dapat mengaktifkan dan mempolarisasi respon sel T topikal, diatur oleh microRNA (Henriksen, M *et al.*, 2014). microRNA memainkan peran penting dalam mengatur fungsi utama makrofag, sel dendritik, dan Natural Killer Cells (NKC) (Beznan NA 2010) Banyak penelitian menunjukkan perubahan ekspresi gen dalam makrofag dan NKC, karena TB laten dan aktif, dan juga pada individu yang sehat, dibandingkan dengan mereka yang menderita TB (Maertzdorf J *et al.*, 2011) microRNA mengatur perubahan ekspresi gen dan variasi dalam komposisi seluler. Beberapa microRNA mengatur diferensiasi sel T dan fungsinya (Lui YL *et al.*, 2010) menunjukkan bahwa jalur aktivasi makrofag intrinsik dapat mengubah regulasi, melalui beberapa microRNA .

Studi yang berbeda mengkonfirmasi bahwa banyak microRNA bertindak sebagai regulator penting dalam mengembangkan strategi untuk kelangsungan hidup *Mycobacterium Tuberculosis* di sel inang. Di sisi lain, respon imun bawaan adalah salah satu aspek penting dari pertahanan host terhadap *Mycobacterium*.



Gambar II.7 Granuloma TB Paru menunjukkan bagaimana sirkulasi mikroRNA spesifik (microRNA) dapat muncul selama proses infeksi.



Granuloma paru-paru tuberkulosis menunjukkan bagaimana microRNA (microRNA) yang bersirkulasi spesifik dapat muncul selama proses infeksi. Pola

molekul terkait patogen mikobakteri dikenali oleh reseptor seperti toll (TLR) dan reseptor pengenalan pola lainnya, yang menghasilkan peningkatan regulasi microRNA primer dalam makrofag. Transkrip ini kemudian dibelah dalam nukleus dan sitoplasma oleh Drosha dan Dicer, masing-masing, menghasilkan 21-25 nukleotida microRNA matang yang bertindak untuk menyempurnakan proses imun intraseluler. Jalur dan komponen spesifik dari respon imun dapat diatur oleh subset microRNA yang berbeda. Secara bersamaan, limfosit T di sekitarnya yang terlibat dalam pembentukan/pemeliharaan granuloma meningkatkan regulasi microRNA subset spesifik sel T sebagai sarana untuk memodulasi jenis respons imun adaptif. MicroRNA matang yang dihasilkan dalam makrofag dan sel T juga dapat dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler dalam eksosom, mikrovesikel heterogen, atau dalam hubungannya dengan high-density lipoprotein, LDL, atau kompleks protein lainnya. Selanjutnya, dengan cara yang belum sepenuhnya dipahami, microRNA ekstraseluler ini berpindah dari tempat infeksi lokal ke sistem peredaran darah. Oleh karena itu, proses ini dapat menimbulkan tanda tangan ekspresi microRNA sirkulasi spesifik infeksi yang dapat dengan mudah diakses dari berbagai cairan biologis (misalnya, serum, plasma, atau dahak). (Correia, *et al.*, 2017)

Beberapa penelitian menyoroti perubahan tingkat microRNA yang bersirkulasi pada pasien dengan TB dan mengidentifikasi tanda tangan microRNA yang dapat membedakan antara pasien dengan TB aktif dan pasien dengan ILTB. Pengembangan biomarker diagnostik dan prognostik baru akan sangat berguna untuk skrining infeksi dan penyakit *M. tuberculosis*, yang metodenya saat ini masih belum memuaskan. Faktanya, diagnosis langsung infeksi *M. tuberculosis* dengan uji molekuler dan kultur bakteri masing-masing memiliki sensitivitas yang rendah dan waktu penyelesaian yang lama, sedangkan diagnosis tidak langsung dengan uji kulit tuberkulin atau uji pelepasan interferon gamma (IFN $\gamma$ ) (IGRA) tidak dapat membedakan LTBI dari TB aktif atau untuk mengidentifikasi pasien pada risiko perkembangan penyakit (Sinigaglia, A *et al.*, 2020)

Artikel review terbaru menyoroti peran yang relevan dari microRNA inang dalam respon imun terhadap infeksi *M. tuberculosis*, potensi mereka sebagai biomarker TB (Yang, T. *et al.*, 2018) (Behrouzi, A *et al.*, 2018) dan sebagai target untuk intervensi terapeutik (Sabir, N. *et al.*, 2018). Namun, variabilitas genetik dan rintangan teknis dalam pembuatan profil microRNA mewakili



batasan penting untuk perbandingan hasil di antara penelitian, seperti yang didiskusikan dengan baik oleh Ruiz-Tangle dan rekan (Ruiz-Tagle, *et al.*, 2020).

Tabel II.3 Peran Berbagai macam microRNA

MicroRNAs	Peran
MicroRNA-29	Penghambatan interferon gamma (IFN $\gamma$ )
<b>MicroRNA-21</b>	Pengurangan ekspresi IL-1B Penghambatan IL-12P3 IL-10 meningkatkan sitokin penghambatan
MicroRNA-99b	Target TNF- mRNA transkrip
MicroRNA-125	Target TNF- $\alpha$ mRNA transkrip Kurangi respons inflamasi
MicroRNA-155	Target TNF- $\alpha$ mRNA transkrip Penghambatan interferon gamma
<b>MicroRNA-144</b>	Penghambatan interferon gamma dan TNF- $\alpha$
MicroRNA-223	Penghambatan Interleukin 6
MicroRNA-26a	Polarisasi induksi anti-inflamasi

Beberapa penelitian melaporkan perubahan profil ekspresi microRNA yang bersirkulasi dan seluler pada pasien dengan TB aktif vs mereka dengan LTBI atau kontrol yang sehat (Dai R *et al.*, 2011) . microRNA yang diekspresikan secara berbeda diselidiki lebih lanjut untuk mengidentifikasi peran mereka dalam respon imun bawaan selama infeksi M. tuberculosis. Eksperimen in vitro dan in vivo mengkonfirmasi keterlibatan microRNA dalam memodulasi ekspresi gen dalam sel target utama M. tuberculosis, seperti makrofag, DC, pembunuh alami (NK) dan sel T (Mostoufi-Afshar *et al.*, 2018). M. tuberculosis dapat menginduksi atau menghambat ekspresi microRNA untuk menghindari respon imun. Memicu jalur apoptosis, induksi autophagy, stimulasi IFN $\gamma$  dan sekresi tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) adalah beberapa mekanisme yang diadopsi oleh sel inang selama infeksi bakteri. Misalnya, di antara microRNA yang diregulasi pada pasien TB, microRNA-146a-5p, microRNA-21-5p, microRNA-99b-5p, dan microRNA-132-5p

negatif mengatur jalur inflamasi inang yang dipicu oleh pensinyalan Toll-reseptor (TLR) dalam sel myeloid, sehingga meningkatkan kelangsungan tuberkulosis (Tribolet, L *et al.*, 2020). MicroRNA lain yang diregulasi makrofag yang terinfeksi M. tuberculosis, seperti microRNA-27a-5p,



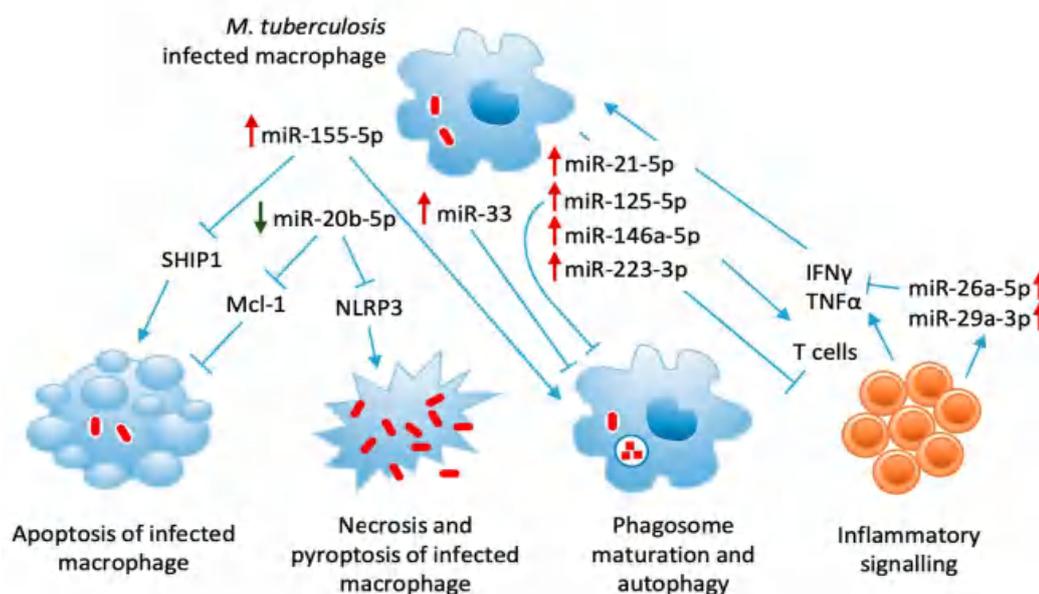
microRNA-33, microRNA-125-5p dan microRNA-144-5p, menghambat pembentukan autophagosome dan pembunuhan M. tuberculosis oleh makrofag (Bartel *et al.*, 2004). MicroRNA-29a-3p dan microRNA-125-5p, keduanya diregulasi dalam makrofag yang terinfeksi, secara langsung menargetkan IFN $\gamma$  dan TNF $\alpha$ , sehingga menekan respon imun terhadap M. tuberculosis intraseluler (Mendell *et al.*, 2012). Apoptosis sel dan induksi inflammasome adalah mekanisme pertahanan lain terhadap patogen intraseluler, yang diatur oleh microRNA inang termodulasi M. tuberculosis, seperti microRNA-325-3p dan microRNA-20b-5p (Steiner DF *et al.*, 2011). Di sisi lain, beberapa microRNA, seperti microRNA-155-5p dan let-7f, yang dimodulasi dalam perjalanan infeksi M. tuberculosis, memainkan peran kunci dalam aktivasi host bawaan dan imunitas adaptif dan pembersihan bakteri (Sabir N *et al.*, 2018)

Berikut microRNA yang paling banyak dipelajari yang terlibat dalam patogenesis TB seperti yang dirangkum dalam Tabel dibawah ini

Tabel II.4 Jenis-jenis microRNA dan Fungsinya

Function	Upregulated in TB	Dowregulated in TB
Inhibition of innate immunity	microRNA-26-5p, microRNA-132-3p, microRNA-155-5p	microRNA-29-3p
Suppression of inflammation	microRNA-21-5p, microRNA-27b-3p, microRNA-99b-5p, microRNA-125-5p, microRNA-146a-5p, microRNA-223-3p	let-7f, microRNA-20b-5p, microRNA-142-3p
Inhibition of phagosome maturation and autophagy	microRNA-33 locus, microRNA-27a-5p, <b>microRNA-144-5p</b> , microRNA-889-5p	
Apoptosis inhibition	microRNA-155-5p, microRNA-325-3p	





Gambar II.8 Representasi grafis dari regulasi microRNA dari respon imun inang terhadap infeksi *M. tuberculosis*. MicroRNA yang diatur ke atas atau ke bawah selama infeksi *M. tuberculosis* ditunjukkan oleh panah merah dan independen.

Langkah awal dalam definisi microRNA sebagai biomarker yang efektif dalam diagnosis TB adalah penetapan tanda yang konsisten dari ekspresi microRNA diferensial dalam sampel dari kasus TB aktif dibandingkan dengan kontrol yang sehat. Selama dekade terakhir, beberapa penelitian dengan desain ini telah dilakukan untuk mengidentifikasi tanda tangan microRNA terkait TB dalam serum/plasma dan sel darah. Meskipun serum dan plasma biasanya lebih disukai sebagai bahan awal untuk skrining diagnostik, banyak peneliti menggunakan sel (PBMC atau himpunan bagian sel tertentu) untuk studi penemuan ekspresi microRNA. Studi yang melakukan profil microRNA dengan metode spektrum luas yang tidak bias, seperti analisis microarray microRNA atau pengurutan RNA kecil dengan teknik pengurutan generasi berikutnya, harus menghasilkan hasil yang lebih andal daripada studi berdasarkan penyelidikan panel kandidat microRNA. Namun, penyaringan dengan pengurutan RNA kecil atau mikroarray microRNA umumnya diterapkan pada kelompok subjek yang relatif kecil (biasanya kurang dari 10 subjek), dan kemudian kandidat yang diidentifikasi divalidasi dengan pengujian yang ditargetkan, seperti qRT-PCR, dalam kelompok subjek yang lebih

pendekatan ini mungkin menghadirkan keterbatasan untuk kekokohan dan tefitas hasil.

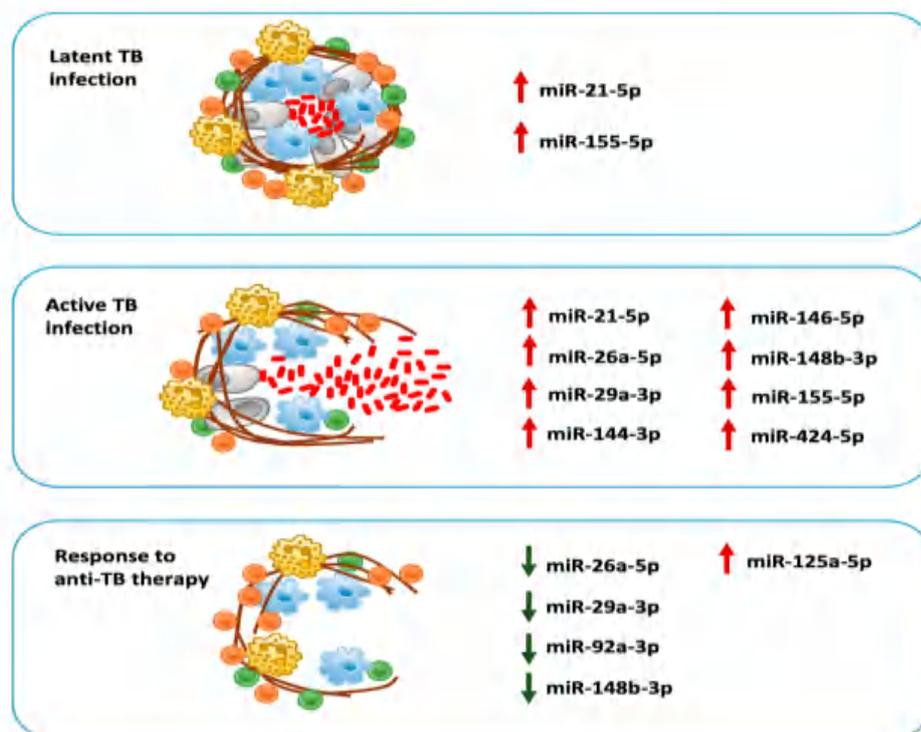
Sebaliknya, beberapa penelitian lain hanya melakukan qRT-PCR untuk validasi kandidat biomarker microRNA yang diidentifikasi dari kumpulan data



yang tersedia atau berdasarkan peran kandidat microRNA dalam patogenesis TB (Van Rensburg, I.C *et al.*, 2018) (Wang, J.X. *et al.*, 2015). Sayangnya, konsensus yang buruk muncul dari hasil penyaringan ini, karena sangat sedikit microRNA yang ada dalam tanda tangan yang diusulkan dari dua atau lebih penelitian. Mungkin ini karena metode penyaringan yang berbeda (berbagai RNA-sequencing dan platform microarrays) atau heterogenitas kohort (termasuk ukuran dan etnis). Metode isolasi RNA juga dapat sangat mempengaruhi hasil, seperti kasus studi yang dilakukan dengan protokol yang secara khusus memulihkan RNA dari vesikel eksosom darah (Chakrabarty, S *et al.*, 2019). Karena banyak microRNA yang berlimpah dalam eksosom, pendekatan ini dapat menjadi perhatian khusus, meskipun hasil yang diperoleh dari dua penelitian tentang microRNA terkait vesikel eksosom tidak sesuai (Chakrabarty, S *et al.*, 2019). Meskipun demikian, terlepas dari heterogenitas hasil, beberapa microRNA telah berulang kali diidentifikasi sebagai kandidat biomarker TB di lebih dari satu penelitian. Di antara kandidat microRNA ini, microRNA-26a-5p, dan microRNA-29a-3p diidentifikasi oleh penelitian yang berbeda sebagai diekspresikan secara signifikan pada pasien dengan TB aktif vs. kontrol yang sehat (Ndzi, E.N. *et al.*, 2019); (Barry, S.E. *et al.*, 2018); (Fu, Y *et al.*, 2011); (Zhou, M *et al.*, 2016). Ini adalah microRNA yang relevan dalam patogenesis TB, karena, seperti yang dibahas sebelumnya, baik secara langsung maupun tidak langsung menargetkan IFN $\gamma$ , sehingga menekan respons imun bawaan dan adaptif inang terhadap patogen intraseluler. MicroRNA anti-inflamasi lainnya, microRNA-21-5p, dan microRNA-146a-5p, yang diekspresikan secara berlebihan pada pasien TB aktif, menjanjikan biomarker diagnostik untuk membedakan antara TB aktif dan infeksi laten atau kondisi sehat.

Beberapa penelitian dalam beberapa tahun terakhir telah berfokus pada pemilihan microRNA yang ekspresinya secara konsisten terkait dengan perkembangan TB aktif atau respons yang berbeda terhadap terapi. Tujuan bersama mereka adalah memperkenalkan tes skrining rutin diagnostik dengan kekuatan prediksi yang signifikan, meningkatkan keakuratan tes yang saat ini digunakan terutama berdasarkan tes kulit tuberkulin IGRA. Di sisi lain, banyak kelompok penelitian bekerja untuk membangun hubungan fungsional antara ekspresi microRNA dalam kondisi berbeda dan efek biologis aktualnya, untuk mengidentifikasi target biologis dan memahami peran mereka dalam patogenesis TB



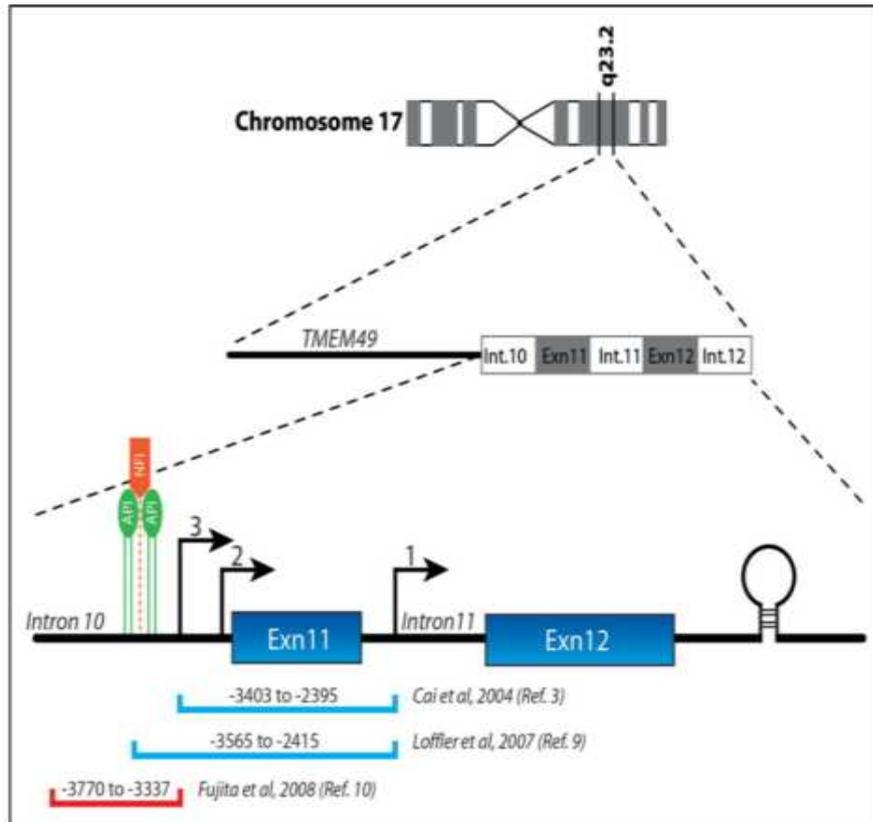


Gambar II.9 Representasi grafis dari microRNA yang bersirkulasi, yang secara signifikan diregulasi ke atas (panah merah) atau regulasi ke bawah. (panah hijau) pada subjek dengan infeksi tuberkulosis (TB) laten, TB aktif, atau yang merespons terapi anti-TB

## N. microRNA-21

microRNA-21 merupakan salah satu dari beberapa microRNA yang pertama sekali ditemukan, dan termasuk microRNA intron (gen coding microRNA-21 berada di daerah intron). Gen yang mengkode microRNA-21 berada di kromosom 17q23.2, overlapping dengan gen yang mengkode protein TMEM49 (VMP-1) (Kumarswamy *et al.*, 2011). Lokasi gen microRNA-21 dapat dilihat pada gambar 2.4 berikut ini:





Gambar II.10 Lokasi Gen microRNA-21

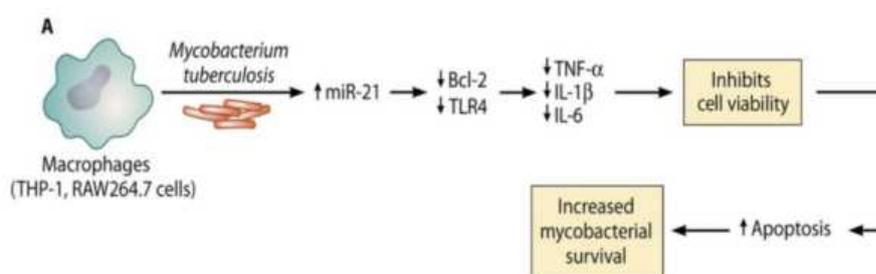
Mycobacterium adalah penginduksi ekspresi microRNA-21, yang menyebabkan melemahnya aktivasi makrofag dan imunitas yang bergantung pada Th1 (Zhai, W *et al.*, 2019) Meskipun mekanisme yang tepat untuk mengatur ekspresi Bcl2 oleh microRNA-21 tidak diketahui, penghambatan microRNA-21 menginduksi produksi IL-12 dan menginduksi respons anti-mikobakteri, dan microRNA-21 dapat dianggap sebagai strategi efektif bagi mikobakteri untuk melarikan diri dari inang, respon imun dan membangun infeksi kronis (Najafi-Shoushtari, S.H *et al.*, 2010).

Peran microRNA-21 dalam patogenesis TB kurang dipelajari; namun, ekspresi yang lebih rendah ditemukan pada sel T CD4+ dan plasma dari pasien dengan TB aktif dibandingkan dari subjek dengan LTBI (Yang T *et al.*, 2018); (Kleinstaub K, *et al.*, 2013) tetapi tidak ada perbedaan antara subjek dengan LTBI dan sukarelawan sehat (Kleinstaub K, *et al.*, 2013). Sebaliknya, ekspresi

A-21 diregulasi dalam makrofag yang terinfeksi *M. tuberculosis* dibandingkan dengan makrofag yang tidak terinfeksi dan makrofag yang terinfeksi *M. bovis* atau *M. bovis* BCG (Elizabeth MC, *et al.*, 2016). Hal yang sama ditemukan pada sel RAW264.7 dan THP-1 di mana microRNA-21 meningkatkan



kelangsungan hidup dan apoptosis *M. tuberculosis* dan melemahkan sekresi sitokin inflamasi (IL-1 $\beta$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$ ) dengan menargetkan sel B limfoma-2 (Bcl-2) dan Toll-like receptor 4 (TLR4) (Gbr. 11) (Zhao Z *et al.*, 2016). Akhirnya, level microRNA-21 juga meningkat dalam sel RAW264.7 yang distimulasi PPD-MPT64 berbeda dengan sel yang distimulasi PPD, menunjukkan bahwa protein imunogenik *M. tuberculosis* MPT64 meningkatkan regulasi microRNA-21 karena peningkatan ekspresi NF- $\kappa$ B, yang mengarah ke upregulasi dari Bcl-2, protein antiapoptosis, sehingga menurunkan kematian sel (Wang Q *et al.*, 2011). Penjelasan yang mungkin untuk perbedaan yang terkait dengan peningkatan atau penurunan apoptosis mungkin disebabkan oleh stimulus berbeda yang dilakukan (*M. tuberculosis* versus MPT64), yang memicu mekanisme berbeda yang mengarah pada penurunan atau peningkatan kadar Bcl-2 yang pada gilirannya berkorelasi dengan tingkat apoptosis .



Gambar II.11 Peran ganda microRNA-21 pada infeksi mikobakteri. (A) Ekspresi microRNA-21 meningkat pada makrofag manusia dan murine yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, menurunkan regulasi Bcl-2 dan TLR-4, menekan sitokin inflamasi, dan meningkatkan apoptosis dan kelangsungan hidup mikobakteri.

microRNA 21 mengatur glikolisis intraseluler dan membatasi pemrograman ulang metabolisme makrofag selama infeksi *M.tb*. Dalam penelitian sebelumnya, pengukuran laju pengasaman ekstraseluler menunjukkan bahwa anti-microRNA 21 secara substansial dapat meningkatkan kapasitas glikolisis dan glikolitik sel kardiomioblas tikus (Nasci *et al.*, 2019). Studi lain telah membuktikan bahwa microRNA 21 merusak respons antimikobakteri dengan menargetkan IL-12 dan limfoma/leukemia sel B/leukemia-2 (Bcl-2) (Wu *et al.*, 2012). Juga telah ditunjukkan bahwa *M.tb* menghambat fosfor-fruktokinase, otot (PFK-M) melalui A 21 untuk membatasi glikolisis dalam sel inang (Hackett *et al.*, 2020). Paru-paru tikus yang terinfeksi *M.tb* meningkatkan regulasi pri-microRNA 21 setelah infeksi dan mempertahankan tingkat pri-microRNA 21 yang



tinggi selama 53 hari. Ketika makrofag yang berasal dari sumsum tulang murine (BMDM) terinfeksi M.tb, microRNA 21 terus diregulasi selama 72 jam dan menargetkan PFK-M pada langkah kritis glikolisis untuk menghambat proses ini. Untuk inang, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), yang mendorong pertahanan inang terhadap M.tb, menghambat ekspresi microRNA 21, memaksa peralihan isoenzim di kompleks PFK dan mempertahankan ekspresi PFK-M setelah infeksi M.tb. Oleh karena itu, microRNA 21 menargetkan PFK-M untuk mengontrol fungsi imunometabolik makrofag

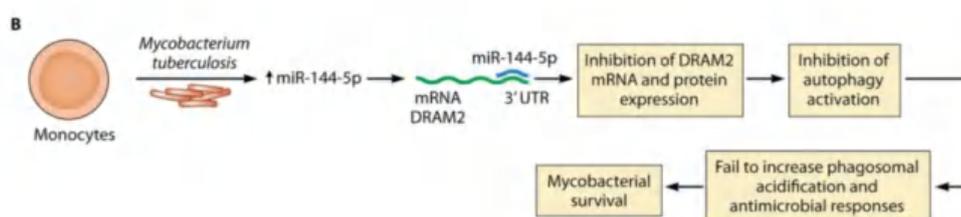
microRNA 21 mengatur glikolisis intraseluler dan membatasi pemrograman ulang metabolisme makrofag selama infeksi M.tb. Dalam penelitian sebelumnya, pengukuran laju pengasaman ekstraseluler menunjukkan bahwa anti-microRNA 21 secara substansial dapat meningkatkan kapasitas glikolisis dan glikolitik sel kardiomioblas tikus (Nasci et al., 2019). Studi lain telah membuktikan bahwa microRNA 21 merusak respons antimikobakteri dengan menargetkan IL-12 dan limfoma/leukemia sel B/leukemia-2 (Bcl-2) (Wu et al., 2012). Juga telah ditunjukkan bahwa M.tb menghambat fosfor-fruktokinase, otot (PFK-M) melalui microRNA 21 untuk membatasi glikolisis dalam sel inang (Hackett et al., 2020). Jaringan paru-paru tikus yang terinfeksi M.tb meningkatkan regulasi pri-microRNA 21 30 hari setelah infeksi dan mempertahankan tingkat pri-microRNA 21 yang tinggi selama 53 hari. Ketika makrofag yang berasal dari sumsum tulang murine (BMDM) terinfeksi M.tb, microRNA 21 terus diregulasi selama 72 jam dan menargetkan PFK-M pada langkah kritis glikolisis untuk menghambat proses ini. Untuk inang, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), yang mendorong pertahanan inang terhadap M.tb, menghambat ekspresi microRNA 21, memaksa peralihan isoenzim di kompleks PFK dan mempertahankan ekspresi PFK-M setelah infeksi M.tb. Oleh karena itu, microRNA 21 menargetkan PFK-M untuk mengontrol fungsi imunometabolik makrofag

## O. microRNA-144-5p

MicroRNA-144-5p diekspresikan secara berlebihan dalam darah, PBMC, dan sputum pasien TB aktif dan kadarnya menurun setelah terapi anti-tuberkulosis (Liu, Y. et al 2016) (Liu, Y. et al 2016). In vitro, diregulasi dalam makrofag yang berasal dari monosit manusia setelah infeksi M. tuberculosis (Kim, J.K. et al 2016). MicroRNA-144-3p secara langsung mengikat wilayah 3'UTR dari DRAM2



mRNA (DNA kerusakan diatur autophagy modulator 2), yang mengkodekan protein lisosom transmembran yang berinteraksi dengan komponen kunci dari mesin autophagy (Kim, J.K et al 2017). Pada PBMC pasien dengan TB aktif, microRNA-144-5p terutama diekspresikan oleh sel T. Ekspresi berlebih microRNA-144-5p dalam sel T menurunkan proliferasi sel dan mengurangi sekresi IFN $\gamma$  dan TNF $\alpha$  pada stimulasi TCR . Secara keseluruhan, data ini menunjukkan bahwa peningkatan regulasi microRNA-144-5p dalam makrofag dan sel T selama Infeksi M. tuberculosis merupakan mekanisme lain untuk menghindari kekebalan anti-tuberkulosis melalui penghambatan pematangan fagosom dan fungsi sel T.



Gambar II.12 Dalam monosit manusia yang terinfeksi Mycobacterium tuberculosis, microRNA-144-5p menargetkan DRAM2 mRNA untuk menghambat autophagy yang mendorong kelangsungan hidup mikobakteri.

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tingkat ekspresi microRNA-144-5p meningkat pada PBMC dari pasien TB aktif dibandingkan dengan sel yang sama dari kontrol sehat yang tidak terinfeksi (Liu Y et al 2011) (Kim JK et al 2017) (Spinelli SV et al 2013) namun, perlu dicatat bahwa ekspresi microRNA-144-5p mungkin berada di bawah jenis proses pengaturan yang berbeda secara kompartemen, karena sel mononuklear cairan pleura menunjukkan tingkat microRNA-144-5p yang lebih rendah daripada PBMC dari pasien dengan TB pleura Spinelli SV et al 2013). Bukti dari percobaan in vitro menggunakan sel T murni yang mengekspresikan microRNA-144-5p mengungkapkan bahwa microRNA ini menghambat laju proliferasi sel T dan produksi sitokin Th1 yang penting, seperti IFN- $\gamma$  dan tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), dalam menanggapi infeksi TB Liu Y et al 2011). Selain itu, microRNA-144-5p mampu menurunkan regulasi kerusakan DNA autophagy modulator 2 (DRAM2) dan lisosom terkait

protein 2 (LAMP2), mengurangi ekspresi mRNA mereka dalam monosit. Karena DRAM2 dan LAMP2 adalah protein penting dalam inisiasi autophagy dan autophagy yang dimediasi pendamping, masing-masing, temuan ini menunjukkan bahwa setelah infeksi, level microRNA-144-5p berkontribusi pada



penghambatan autophagy, memungkinkan *M. tuberculosis* untuk lolos dari sistem kekebalan ( Gambar 12 B) (Kim JK et al 2017)

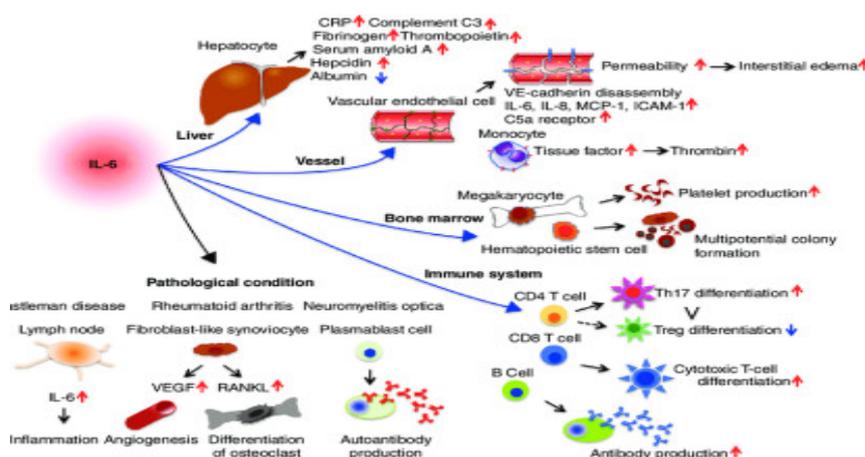
*M.tb* secara signifikan menginduksi ekspresi microRNA-144-5p, yang menargetkan wilayah DRAM2 3' yang tidak diterjemahkan (modulator autophagy yang diatur kerusakan DNA 2) pada monosit dan makrofag manusia. Infeksi *M.tb* menurunkan regulasi, sedangkan aktivator autophagy meningkatkan regulasi, ekspresi DRAM2 pada monosit dan makrofag manusia dengan mengaktifkan protein kinase yang diaktifkan AMP. Selain itu, ekspresi berlebih microRNA-144-5p menurunkan ekspresi DRAM2 dan pembentukan autofagosom pada monosit manusia, sedangkan penghambatan microRNA-144-5p memiliki efek sebaliknya. Selain itu, kadar microRNA-144-5p meningkat, sedangkan kadar DRAM2 menurun, pada sel dan jaringan darah tepi manusia pada pasien TB, yang menunjukkan signifikansi klinis microRNA144-5p dan DRAM2 pada TB manusia. microRNA144-5p dan DRAM2 sangat terlibat dalam pematangan fagosom dan meningkatkan efek antimikroba terhadap *M.tb*. Selain itu, DRAM2 adalah koordinator utama menunjukkan hubungan yang paling kuat dengan efek autophagy terkait DRAM2 (modulator autophagy yang diatur kerusakan DNA. microRNA144-5p menghambat autophagy yang disebabkan oleh infeksi *M.tb* dan oleh aktivator autophagy, seperti vitamin D3, 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR), sebuah aktivator AMPK/ Jalur protein kinase yang diaktifkan AMP, dan rapamycin, dengan menargetkan DRAM2.(Jin Kyung Kim, *et al.*, 2017) . Study sebelumnya terkait microRNA 144-5p yang dilakukan oleh Liu et al pada tahun 2011 hasilnya Analisis profil ekspresi menunjukkan bahwa ekspresi 30 microRNA diubah secara signifikan selama TB aktif dibandingkan dengan kontrol yang sehat, 28 microRNA diregulasi ke atas dan 2 microRNA diregulasi ke bawah. microRNA-144-5p adalah salah satu microRNA yang diekspresikan secara berlebihan pada pasien TB aktif. Analisis RT-PCR menunjukkan bahwa microRNA-144-5p terutama diekspresikan dalam sel T. Transfeksi sel T dengan prekursor microRNA-144-5p menunjukkan bahwa microRNA-144-5p dapat menghambat produksi TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  serta proliferasi sel T. Disimpulkan bahwa microRNA-144-5p mungkin terlibat dalam pengaturan kekebalan anti-TB melalui modifikasi produksi sitokin dan proliferasi sel sel T (Liu *et al.*, 2011)



## P. Interleukin 6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pleiotropik yang terlibat hampir pada setiap sistem organ, berfungsi dalam imunitas nonspesifik dan spesifik yang diproduksi fagosit mononuklear, sel endotel vaskular, fibroblas dan sel lain sebagai respons terhadap mikroba dan sitokin lain. Dalam imunitas nonspesifik, IL-6 merangsang hepatosit untuk memproduksi Acute Phase Protein (APP) dan bersama Colony Stimulating Factor (CSF) merangsang progenitor disussum tulang untuk memproduksi neutrofil. Dalam imunitas spesifik, IL-6 merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang memproduksi antibody. Selanjutnya IL-6 berperan dalam keseimbangan Th17 dan Treg, IL-6 menginduksi perkembangan sel Th17 dari sel T naif Bersama TGF- $\beta$ , sebaliknya IL-6 menghambat diferensiasi Treg yang diinduksi TGF- $\beta$  (Choy *et al*, 2017)

Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin yang tersusun dari 184 asam amino. IL-6 disekresikan oleh sel stroma dan sel imun yang teraktivasi, seperti sel T, monosit atau makrofag, sel endotelium, fibroblas, dan hepatosit. IL-6 akan terekspresi saat terjadi stres seluler, seperti inflamasi (peradangan), infeksi, luka, dan kanker. Kadar IL-6 dapat meningkat sampai ribuan kali lipat ketika mengalami stres seluler serta membantu dalam mengkoordinasikan respon terhadap disregulasi homeostasis jaringan (Choy dan Rose-Jhon, 2017).



Gambar II.13

Efek pleiotropik interleukin 6 (IL-6) (sitokin yang menampilkan aktivitas k). Ini menginduksi sintesis protein fase akut di hati seperti protein C- (CRP), komplemen C3, fibrinogen, trombopoietin, serum amiloid A, dan sedangkan ia menghambat produksi albumin. IL-6 juga memainkan



peran penting dalam respon imun didapat dengan menstimulasi produksi antibodi dan menginduksi diferensiasi sel T CD4+ yang naif menjadi sel T efektor. IL-6 mengaktifkan sel endotel vaskular untuk memproduksi IL-6, IL-8, monosit chemoattractant protein-1 (MCP-1), molekul adhesi antar sel (ICAM)-1, dan reseptor C5a, dan menginduksi pembongkaran cadherin endotel vaskular. Selain itu, IL-6 dapat mendorong diferensiasi atau proliferasi beberapa sel nonimun. Karena aktivitas pleiotropiknya, produksi IL-6 yang persisten atau berlebihan dan tidak teratur menyebabkan timbulnya atau berkembangnya berbagai penyakit. Produksi IL-6 yang berlebihan secara patologis terlibat dalam pembengkakan kelenjar getah bening pada penyakit Castleman, sedangkan IL-6 yang berlebihan dalam cairan sinovial menstimulasi sinoviosit microRNAip fibroblas untuk menghasilkan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan aktivator reseptor faktor nuklir  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) ligan (RANKL), yang meningkatkan angiogenesis dan osteoporosis pada pasien dengan rheumatoid arthritis. IL-6 mendukung kelangsungan hidup plasmablas, yang menghasilkan antibodi anti-aquaporin 4 pada pasien dengan neuromyelitis optica. Treg, Sel T Pengatur. (Tanaka *et al.*, 2017)

Peningkatan IL-6 dapat terjadi pada kondisi inflamasi akibat infeksi patogen seperti pada kasus infeksi bakteri, virus, jamur dan parasit. Saat adanya patogen eksogen masuk ke dalam tubuh, terjadi pengenalan PAMPs oleh PRR akan mendorong terjadinya pembentukan IL-6 sebagai respons imunitas terhadap pathogen eksogen melalui jalur persinyalan NF- $\kappa$ B. Kematian sel akan mengaktifkan jalur pensinyalan inflamasi yang dimediasi reseptor Damage-associated molecular patterns (DAMPs) dan / atau yang dimediasi TLR. DAMPs adalah molekul yang dilepaskan oleh sel-sel yang mengalami kerusakan atau kematian. Peristiwa ini selanjutnya menginduksi sitokin pro-inflamasi termasuk IL-6 melalui aktivasi NF $\kappa$ B (Tanaka .,2014)

### **Q. Peranan Interleukin 6 (IL-6) pada infeksi mycobacterium tuberculosis**

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam fase akut dan dalam proses transisi dari fase akut menuju menuju fase peradangan kronis (Choy and Rose-Jhon, 2017). IL-6 bersama dengan sitokin proinflamasi lain seperti IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12, dan IL-18 berfungsi



sebagai imunitas protektif terhadap patogen selama fase awal infeksi. IL-6 berfungsi untuk menstimulasi sekresi IFN- $\gamma$  dalam mengaktivasi makrofag selama terjadi infeksi M.tb (Joshi et al., 2015). Sekresi IFN- $\gamma$  oleh IL-6 merupakan bentuk respon imun protektif terhadap infeksi M.tb dan berperan penting sebagai pertahanan awal terhadap pertumbuhan bakteri di dalam paru-paru. Fungsi IL-6 pada tuberkulosis aktif umumnya bersifat negatif, seperti meningkatkan pertumbuhan M.tb di dalam sel monosit periferal serta menghambat produksi TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang dapat meningkatkan kemampuan intraseluler dalam membunuh M.tb dan perkembangan granuloma

*Mycobacterium tuberculosis* juga mengontrol produksi IL-6 di inang untuk menghambat pensinyalan interferon tipe I dan karenanya pada perkembangan penyakit, IL-6 terakumulasi dengan sitokin lain, termasuk IL-6, IL-1, dan TNF- $\alpha$ , yang merupakan penginduksi penting dari respons fase akut. IL-6 mempengaruhi hepatosit, endotelium, sumsum tulang, hipotalamus, otot, lemak, dan DC. Karena pengaruh respon sel T CD4+, IL-6 sangat penting dalam perlindungan terhadap infeksi murine M. tuberculosis (Dienz dan Rincon, 2009). Hewan defisien IL-6 yang terinfeksi M. tuberculosis mengungkapkan respons penolong tipe 1 T yang berubah dan meningkatkan beban bakteri, menunjukkan persyaratan IL-6 dalam resistensi inang terhadap infeksi M. tuberculosis (Saunders et al., 2000). Makrofag yang terinfeksi M. tuberculosis mengeluarkan IL-6 yang menekan respons makrofag yang tidak terinfeksi terhadap IFN- $\gamma$  (Nagabhushanam et al., 2003). Peningkatan konsentrasi IL-6 di paru-paru, serta peningkatan konsentrasi IL-1 $\beta$  dan IL-11, secara signifikan berkorelasi dengan perkembangan TB pada tikus yang rentan secara genetik (Lyadova et al., 2010). Secara bersama-sama, penelitian pada tikus ini menunjukkan bahwa IL-6 dapat memainkan beberapa peran dan berkontribusi baik secara positif maupun negatif terhadap pengendalian inang terhadap infeksi M. tuberculosis. Hal ini terkait dengan patogenesis banyak penyakit radang kronis, termasuk TB (Kishimoto et al., 2007). Varian genetik pada IL-6/IL-6R telah dikaitkan dengan kerentanan dan tingkat keparahan berbagai penyakit, termasuk TB. Ada hubungan yang signifikan antara rs1800796, variasi genetik langka pada gen IL-6, dan penyakit TB pada populasi Han China (Zhang et al., 2016). Ekspresi IL-6R yang rendah pada sel T CD4+ pada orang dengan TB

terdikaitkan dengan penurunan respons fenotip Th17. Ini menyiratkan bahwa ekspresi IL-6 dalam perkembangan TB pada manusia (Zhang et al., 2016). IL-6



sebagai biomarker kunci dari risiko TB, diagnosis dan prognosis (Seyedhosseini *et al.*, 2019) diproduksi sebagai respons terhadap rangsangan inflamasi.

Interaksi antara M.TB dan sel yang mempresentasikan antigen ini akhirnya mengaktifkan makrofag dan merangsang produksi sitokin dan kemokin, seperti TNF- $\alpha$ , IL-1B, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, dan IFN $\gamma$ . Sitokin ini lebih lanjut merangsang makrofag dan memainkan peran penting dalam respons inflamasi dan hasil infeksi mikobakteri. IL-6 yang diproduksi oleh fagosit setelah terinfeksi M.TB akan memainkan peran penting dalam timbulnya inflamasi dini. Sitokin ini mengatur infiltrasi neutrofil dan memediasi diferensiasi sel Th17, yang berkontribusi pada pembentukan respons inflamasi akut selama infeksi M.TB.(J Bee ., 2020)

IL-6 adalah sitokin kuat yang diinduksi oleh M.tb namun memiliki efek yang bervariasi tergantung pada sifat tantangannya. Pada model aerosol dosis rendah, ketidakhadirannya menyebabkan tertundanya ekspresi respons IFN- $\gamma$  di paru-paru dan sedikit peningkatan beban bakteri.(Saunders *et al.*, 2000) Memang benar bahwa respons sel T tampaknya memerlukan IL-6 untuk berkembang secara optimal selama infeksi mikobakteri. dan vaksinasi. MicroRNAip dengan kasus IL-17, infeksi aerosol dosis rendah tidak memerlukan pengendalian IL-6, sedangkan jika tidak ada IL-6, bakteri dalam dosis tinggi akan mematikan,(Cooper *et al.*, 2011) menunjukkan bahwa kemampuan IL-6 meningkatkan respons menjadi penting ketika beban bakteri tinggi. Ketergantungan dosis kerentanan yang serupa antara tikus IL-6 dan IL-17R KO menunjukkan bahwa penting untuk menentukan apakah tindakan utama IL-6 dalam model dosis tinggi adalah untuk mempromosikan Th17. Selain bertindak selama inisiasi respons, ekspresi IL-6 di tempat inflamasi dapat memodulasi pemeliharaan sel-sel yang memproduksi IL-17.74 Tingkat relatif IL-6 dan transformasi faktor pertumbuhan- $\beta$  juga dapat menentukan Treg/Th17. rasio dalam lokasi inflamasi, sehingga mempengaruhi hasil inflamasi dan perlindungan selama penyakit kronis.

Baik sinyal IL-6 dan IL-27 melalui reseptor gp130. Tidak adanya reseptor ini pada sel pengekspres LysM mengakibatkan peningkatan ekspresi sitokin inflamasi dan aktivasi fagosit, serta peningkatan respon Th17 namun tidak mengakibatkan peningkatan kontrol pertumbuhan bakteri atau (Sodenkamp *et al.*, 2011) Tidak adanya reseptor IL-27 ( IL-27R) akan kontrol yang lebih baik terhadap pertumbuhan bakteri di paru-paru, mekanisme dibalik hal ini masih belum jelas.(Cooper *et al.*, 2011) IL-27



meningkatkan IL-10 dan memusuhi respon IFN- $\gamma$  dan IL-17,78, 79 dan perubahan pada respon IFN- $\gamma$  dan IL-17. sitokin ini secara substansial akan mengubah perkembangan respon inflamasi dan ekspresi imunitas protektif. Penelitian terbaru juga mengidentifikasi peran subunit IL-27p28 saja sebagai antagonis sinyal gp130 yang mengurangi produksi IL-17 dan IL-10 yang diinduksi IL-6. (Cooper *et al.*, 2011) Menentukan bagaimana aktivitas IL-27R mengurangi perlindungan terhadap M.tb merupakan hal yang penting. tugasnya tidak hanya sebagai jalur untuk meningkatkan strategi vaksinasi tetapi juga karena jalur tersebut mencerminkan respons inang terhadap patogen kronis dan dapat menunjukkan jalur di mana inang menoleransi patogen tersebut untuk melindungi organ yang terinfeksi. Dalam hal ini, penting untuk dicatat bahwa meskipun beban bakteri berkurang tanpa adanya reseptor ini, tikus memiliki respons inflamasi yang lebih besar dan penurunan kelangsungan hidup

## R. Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) adalah sitokin proinflamasi poten yang sangat penting untuk respon pertahanan tubuh terhadap infeksi dan cedera (Lopes & Brough, 2011) Ia juga merupakan yang paling baik dikarakterisasi dan paling banyak dipelajari dari 11 anggota keluarga IL-1. Ini diproduksi dan disekresi oleh berbagai jenis sel meskipun sebagian besar penelitian berfokus pada produksinya di dalam sel sistem kekebalan bawaan, seperti monosit dan makrofag. Ini diproduksi sebagai prekursor 31 kDa yang tidak aktif, disebut pro-IL-1 $\beta$ , sebagai respons terhadap motif molekuler yang dibawa oleh patogen yang disebut 'pola molekuler terkait patogen' (PAMPs). PAMP bekerja melalui reseptor pengenalan pola (PRR) pada makrofag untuk mengatur jalur yang mengontrol ekspresi gen (Takeoci & Akira, 2010) Induksi ekspresi pro-IL-1 $\beta$  umumnya disebut sebagai langkah priming, dan merupakan stimulus sekresi yang tidak efisien. Sel prima sekarang harus menghadapi PAMP lebih lanjut, atau DAMP (pola molekul terkait bahaya, molekul endogen yang dilepaskan dari sel mati) untuk menginduksi pemrosesan dan sekresi molekul IL-1 $\beta$  aktif.

IL-1 $\beta$  diproduksi oleh beberapa jenis sel myeloid setelah distimulasi oleh molekul terkait patogen (PAMP; misalnya, LPS, endotoksin) dan pola terkait bahaya (DAMP; misalnya, kristal urea). IL-1 $\beta$  diproduksi sebagai prekursor asam amino 269, yang dipecah oleh platform molekuler yang



dikenal sebagai inflammasom yang berkumpul dalam kondisi pro-inflamasi, yang menyebabkan pelepasan ekstraseluler dari bentuk matang yang mengandung asam amino terminal-C 1533,4. Pengikatan IL-1 $\beta$  matang ke reseptor serumpunya IL-1R1 pada sel di dekatnya dan selanjutnya pembentukan kompleks pensinyalan terner dengan IL-1RAcP memicu respons proinflamasi dengan produksi mediator inflamasi, seperti IL-64. Karena peran sentralnya dalam proses inflamasi, IL-1 $\beta$  manusia telah dikaitkan dengan berbagai gangguan inflamasi, seperti rheumatoid arthritis, asam urat, demam berkala, dan peradangan saraf.

### S. Peranan Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) pada Infeksi Mycobacterium Tuberculosis

Sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  adalah mediator utama peradangan dan memainkan peran penting dalam resistensi pejamu terhadap infeksi Mycobacterium tuberculosis. Sampai saat ini, sebagian besar penelitian telah meneliti mekanisme sekresi IL-1 $\beta$  menggunakan strain laboratorium M. tuberculosis dan temuan tersebut mungkin tidak memiliki aplikasi luas untuk strain klinis kontemporer. Makrofag, sel inang utama untuk mikobakteri, merespons infeksi M. tuberculosis dengan mengatur berbagai sitokin termasuk TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-1 $\beta$ . Model Murine dari tuberkulosis memberikan bukti kuat tentang pentingnya pensinyalan IL-1 $\beta$  dalam resistensi pejamu terhadap infeksi M. tuberculosis. Tikus knock-out reseptor IL-1 (IL-1R) dan IL-1 $\beta$  lebih rentan terhadap infeksi M. tuberculosis, menunjukkan beban bakteri yang tinggi di paru-paru dan peningkatan kematian pada awal infeksi. Studi awal dengan tikus yang kekurangan IL-1 $\beta$  menunjukkan bahwa ketidakhadiran IL-1 $\beta$  menyebabkan pertumbuhan mikobakteri di paru-paru dan organ jauh, gangguan pembentukan granuloma, dan kurangnya respon imun yang dimediasi Th1 (Juffermans *et al.*, 2000).

Proses yang terlibat dalam transkripsi, pemrosesan, dan pelepasan IL-1 $\beta$  dari makrofag dikontrol dengan ketat. Kontrol ekspresi gen dimediasi oleh

proses termasuk regulasi negatif IL-1 $\beta$  oleh interferon tipe I, yang oleh M. tuberculosis (Novikov, A *et al.*, 2011). Keterlibatan *pathogen* *and molecular patterns* (PAMPs) dengan *pattern recognition receptors* seperti *toll-like receptor* (TLRs) bertindak sebagai sinyal primer yang



mengarah ke sintesis 31-kDa pro-IL-1 $\beta$  yang tidak aktif dalam makrofag (Takeuchi *et al.*, 2010) Pensinyalan primer melalui TLR tidak cukup untuk merangsang pelepasan IL-1 $\beta$  aktif. Sinyal bahaya mikroba tambahan diperlukan untuk pemrosesan dan pelepasan bentuk dewasa IL-1 $\beta$ . Pembelahan pro-IL-1 $\beta$  menjadi protein 17 kDa IL-1 $\beta$  yang aktif secara biologis membutuhkan aktivasi inflammasome, kompleks multi-protein yang merangsang aktivasi caspase-1 untuk mempromosikan pemrosesan dan sekresi sitokin pro-inflamasi. Inflammasome menyediakan platform untuk konversi prekursor caspase-1 menjadi bentuk aktifnya sebagai respons terhadap pensinyalan melalui reseptor domain oligomerisasi nukleotida (NOD) dan pola molekul terkait bahaya seperti ATP (Franchi *et al.*, 2009). Caspase-1 teraktivasi membelah pro-IL -1 $\beta$  menjadi bentuk dewasa 17 kDa yang aktif secara biologis yang kemudian dengan cepat dikeluarkan dari sel melalui mekanisme yang tidak sepenuhnya dipahami. Sebuah studi baru-baru ini secara elegan menunjukkan bahwa oksida nitrat yang diproduksi oleh makrofag yang distimulasi IFN- $\gamma$  mengatur pemrosesan pro-IL-1 $\beta$  dengan secara langsung bekerja pada inflammasome (Mishra *et al.*, 2013). Pada tipe sel lain seperti sel dendritik, mikobakteri dilaporkan mengaktifkan caspase-8 tergantung inflammasome (Gringhuis *et al.*, 2013). Kontrol pemrosesan dan sekresi IL-1 $\beta$  tampaknya merupakan proses kompleks yang bergantung pada banyak sensor dan efektor.

Sebuah studi klinis menunjukkan bahwa makrofag dengan respons spesifik IL-1 $\beta$  berbeda antara kasus LTBI dan pasien TB aktif. Ekspresi gen dan protein IL-1 $\beta$  mengalami penurunan pada pasien TB aktif bila dibandingkan dengan subjek LTBI yang menunjukkan adanya peran potensial IL-1 $\beta$  dalam mencegah reaktivasi TB (Lee *et al.*, 2019) . M.tb telah berevolusi dengan kemampuan adaptif untuk meningkatkan kelangsungan hidup. Sebuah studi baru-baru ini mencirikan mekanisme di mana garis keturunan M.tb modern menghasilkan lebih banyak IL-1 $\beta$  bila dibandingkan dengan isolat dari garis keturunan kuno, sehingga mendorong autophagy yang diinduksi IL-1 $\beta$ , yang secara paradoks dikaitkan dengan tingginya tingkat replikasi basil intraseluler (Romagnoli *et al.*, 2018)

Penelitian pada tikus yang kekurangan IL-1 $\beta$  juga ditemukan sangat rentan terhadap infeksi M.tb, dengan alasan bahwa IL-1 $\beta$  tidak hanya diperlukan untuk

inang namun juga bahwa IL-1 $\beta$  mempunyai fungsi non-redundan yang at dikompensasi oleh IL. - $\alpha$ , yang memberi sinyal melalui kompleks IL- g sama.(Cooper & Sher., 2011). IL-1 $\beta$  adalah sitokin pirogenik yang kuat



dan aktivitas biologisnya harus diatur secara ketat. Hal ini dicapai melalui berbagai mekanisme termasuk kontrol ekspresi gen, aktivasi sitokin pasca-transkripsional melalui pembelahan protein, dan melalui penghambatan pengikatan reseptor melalui interaksi dengan reseptor umpan dan antagonis IL-1R yang dapat larut. 42 Tahap pembelahan proteolitik dari yang tidak aktif (Sugawara *et al.*, 2003) kDa pro-form menjadi bentuk aktif 17 kDa IL-1 $\beta$  dimediasi oleh kompleks multiprotein yang dikenal sebagai inflammasome, yang memicu aktivasi caspase-1, enzim yang mengubah IL-1 $\beta$  yang belum matang menjadi IL-1 $\beta$  yang matang. (Dinarello 2009)

Makrofag yang berasal dari sumsum tulang dan sel dendritik yang terpapar M.tb secara in vitro menghasilkan IL-1 $\beta$  matang melalui keluarga reseptor seperti anggukan, domain pirin yang mengandung aktivasi caspase-1. (Waiter *et al.*, 2010) (TeKippe, *et al.* 2010) yang dimediasi inflamasi oleh 3 (NLRP3). menjadi tergantung pada keberadaan sistem sekresi mycobacterial ESAT-6 secret system 1 (ESX-1), yang memediasi pelepasan faktor virulensi utama yang dikodekan oleh wilayah perbedaan 1 (RD-1) dari genom M.tb44. Protein microRNAip titik terkait apoptosis yang mengandung domain rekrutmen caspase (ASC) adalah komponen penting dari inflamasi NLRP3 dan sebagai konsekuensinya, makrofag yang berasal dari sumsum tulang dan sel dendritik yang kekurangan ASC gagal menghasilkan IL-1 $\beta$  sebagai respons terhadap M.tb. paparan in vitro. (Katrin *et al.*, 2010) Yang penting, meskipun semua penelitian sepakat bahwa inflamasi NLRP3 melalui ASC dan caspase-1 sangat penting untuk induksi IL-1 $\beta$  in vitro, mereka juga menunjukkan bahwa tikus kekurangan caspase-1, ASC, dan NALP3 menunjukkan sedikit atau tidak ada fenotip setelah infeksi aerosol dosis rendah dengan M.tb. (Walter *et al.*, 2010) (Katrin *et al.*, 2010) Fakta bahwa tikus yang kekurangan IL-1 $\beta$  sangat rentan, sedangkan tikus yang kekurangan casapse-1-, ASC-, dan NLRP3 tidak menunjukkan fenotip yang sama. , berpendapat bahwa IL-1 $\beta$  dapat dibelah in vivo melalui mekanisme yang tidak bergantung pada inflamasi. Kandidat enzim pembelahan mencakup caspases, chymases, cathepsin, dan elastases lainnya. (Katrin *et al.*, 2010) Dua enzim terakhir ini diekspresikan dalam jumlah tinggi oleh neutrofil, yang sebelumnya telah terbukti memproduksi dan memproses IL-1 $\beta$  melalui jalur independen caspase-1. (Greten *et al.*, 2007)

si sumber seluler IL-1 $\beta$  yang diproduksi in vivo di paru-paru tikus yang diperlukan untuk mempelajari peran masing-masing jalur pembelahan dan kandidat jalur pembelahan IL-1 $\beta$  lainnya dan yang lebih penting untuk



menentukan fungsi efektor umum sitokin ini dalam respons seluler. ke M.tb. Menarik lebih lanjut bahwa selain tikus dengan defisiensi tunggal IL-1 $\beta$ , hewan yang hanya kekurangan IL-1 $\alpha$  juga sangat rentan terhadap infeksi M.tb (KMB dan AS, dalam persiapan), dan bahwa IL-1 $\alpha$  berbeda dengan IL-1 $\alpha$ . 1 $\beta$  tidak memerlukan aktivasi proteolitik dan juga dapat berfungsi sebagai faktor transkripsi nuklir. Dengan demikian, isu menarik lainnya adalah bagaimana kedua ligan sitokin bawaan untuk IL-1R1 bekerja sama dalam menginduksi resistensi inang terhadap M.tb.

## T. Damage Regulated Autophagy Modulator-2 (DRAM2)

Adalah protein transmembran yang diinduksi p53 baru, dan ekspresi DRAM diperlukan untuk apoptosis yang dimediasi p53 (Crington et al., 2006) (Kerley et al., 2007) Karena ekspresi p53 diinduksi oleh sejumlah tekanan seluler seperti stres genotoksik, DRAM dianggap sebagai molekul penting yang menghubungkan p53 dan autophagy (Crington et al., 2007) Selain itu, aktivasi c-Jun NH2Terminal Kinase (JNK) meningkatkan ekspresi DRAM untuk menginduksi autophagy dan apoptosis (Li & Johnson., 2017) (Lorin et al., 2010) Untuk meningkatkan pemahaman kita tentang protein DRAM, kami mencari protein terkait DRAM, dan selanjutnya mengidentifikasi DRAM2 sebagai homolog terdekat dari DRAM (O'Prey et al., 2009) Karena DRAM2 terkait erat dengan DRAM, DRAM dan DRAM2 memiliki fitur yang sama. Pertama, DRAM dan DRAM2 menampung enam domain transmembran yang diduga (Park et al., 2009) Kedua, ekspresi DRAM dan DRAM2 umumnya merupakan tumor yang diatur ke bawah (Park et al., 2009) Akhirnya, DRAM dan DRAM2 sebagian besar terlokalisasi di lisosom (O'Prey et al., 2009) (Park et al., 2009) Namun, aktivitas biologis DRAM2 belum diketahui secara jelas. Serupa dengan DRAM, DRAM2 terlibat dalam induksi autophagy. Ekspresi DRAM2 yang berlebihan menyebabkan pembentukan autofagosom di sitoplasma. Selain itu, pembungkaman DRAM2 endogen dengan siRNA mengganggu autophagy yang disebabkan oleh kelaparan. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa ekspresi DRAM2 berkontribusi terhadap induksi autophagy.

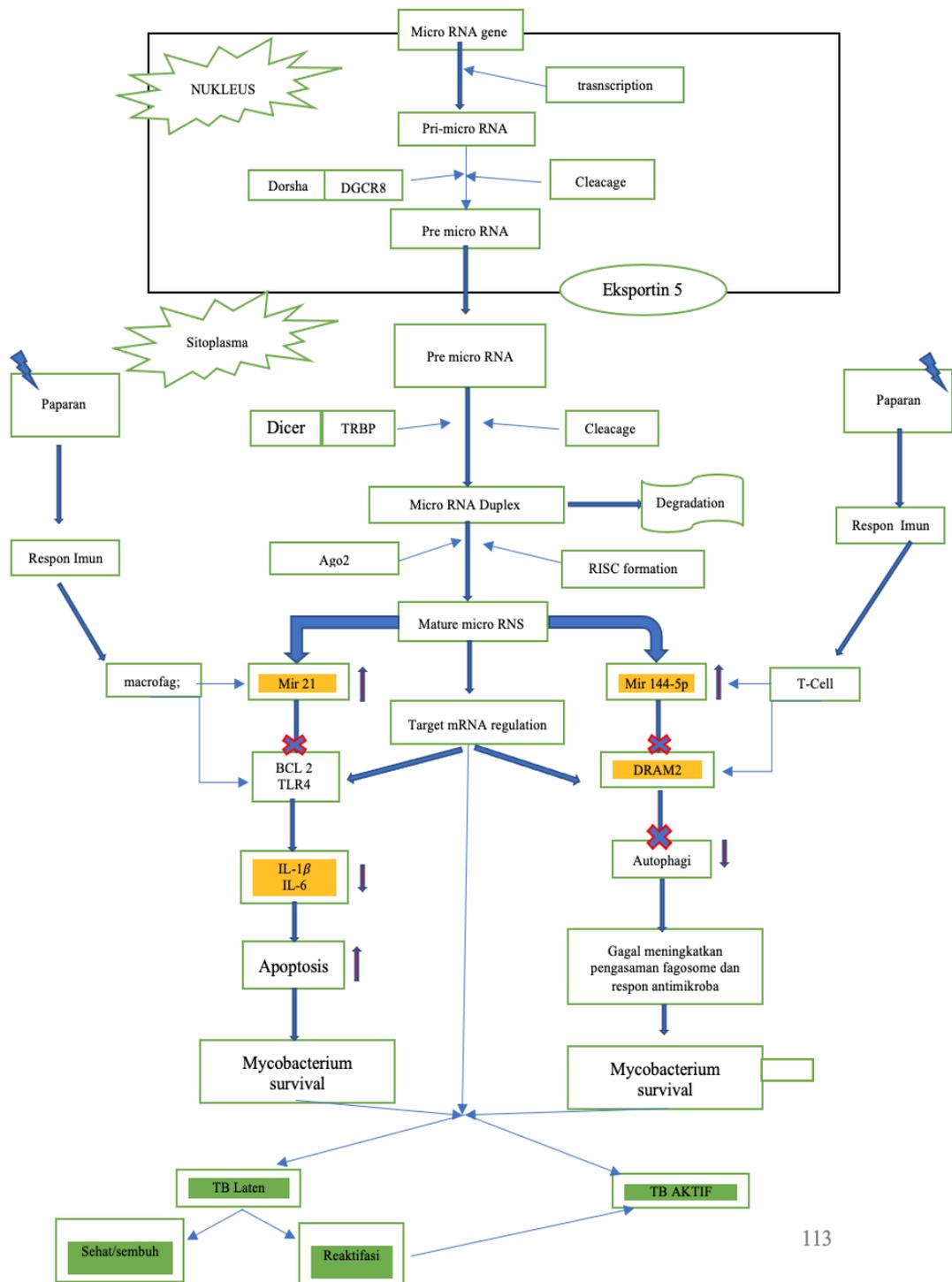


## U. Peranan DRAM2 (DNA Damage-Regulated Autophagy Modulator 2) pada infeksi *mycobacterium tuberculosis*

Autophagy adalah proses yang dilestarikan secara evolusioner dalam sel eukariotik di mana komponen intraseluler diangkut ke lisosom untuk degradasi dan daur ulang. Ini adalah proses inti untuk pemeliharaan homeostasis seluler dan organisme (Klionsky *et al.*, 2021). Terdapat bukti bahwa autophagy merupakan proses penting untuk mengendalikan infeksi TB, dan terapi yang diarahkan pada inang untuk mendorong autophagy menjadi lebih populer. (Lam *et al.*, 2017) Kemajuan terbaru termasuk menargetkan mamalia target sinyal rapamycin (mTOR) pada tikus (Tasneen *et al.*, 2021), hidrogen sulfida pada makrofag RAW 264.7 tikus (Iqbal *et al.*, 2021) atau faktor yang diinduksi hipoksia 1 (HIF-1) pada monosit U937 manusia (Li *et al.* 2020) untuk meningkatkan autophagy dan kontrol pertumbuhan *M.tb* pada sel yang terinfeksi. Hal ini juga menunjukkan bahwa peningkatan regulasi autophagy modulator 2 (DRAM2) yang diatur kerusakan DNA, yang diperkirakan berperan dalam inisiasi autophagy, menyebabkan penurunan pertumbuhan *M.tb* pada MDM manusia (Liu *et al.* 2020) Peningkatan regulasi microRNA microRNA-18a menurunkan ekspresi LC3-II, penanda pembentukan autofagosom, pada sel RAW 264,7, dan meningkatkan kelangsungan hidup *M.tb* (Yuan *et al.* 2020). Studi kolaboratif kami juga menunjukkan bahwa agonis reseptor lektin tipe C CLEC4E dan reseptor microRNAip Toll TLR4 meningkatkan autophagy dan menurunkan pertumbuhan *M.tb* pada makrofag yang diturunkan dari sumsum tulang tikus (BMDM) dan paru-paru (Pahari *et al.* 2020) Akhirnya, sirtuin 3 (SIRT3), sebuah deasetilase yang bergantung pada NAD<sup>+</sup>, terbukti penting untuk ekspresi PPAR $\alpha$ , sebuah aktivator autophagy pada BMDM tikus, dan *M.tb* tumbuh lebih signifikan pada SIRT3<sup>-/-</sup> BMDM (Kim *et al.*, 2019) Induksi autophagy masih menjanjikan sebagai cara untuk melakukan terapi langsung terhadap infeksi TBC.



V. Kerangka Teori

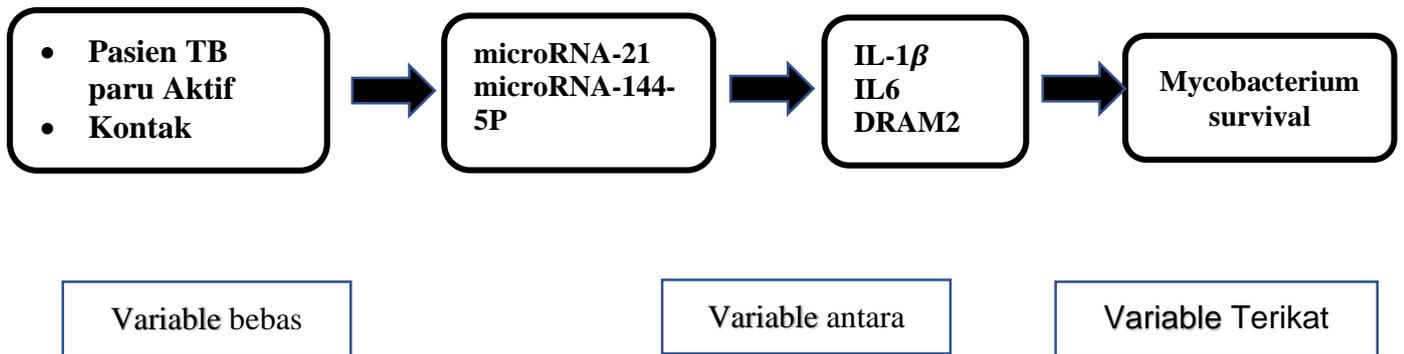


113

Gambar II.14 Kerangka Teori



### W. Kerangka Konsep



Gambar II.15

### X. Hipotesis

1. ekspresi microRNA-21 lebih tinggi pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dibandingkan dengan latent TB dan Sehat
2. ekspresi microRNA-144-5p lebih tinggi pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dibandingkan dengan latent TB dan Sehat
3. Penurunan kadar IL1 $\beta$ , IL – 6 dan DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif dibandingkan dengan latent TB dan Sehat
4. Ada korelasi antara ekspresi microRNA-21 dengan kadar IL1 $\beta$  dan IL – 6 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif, latent TB dan Sehat
5. Ada korelasi antara ekspresi microRNA-144-5p dengan kadar DRAM2 pada penderita Tuberculosis (TB) Aktif, latent TB dan Sehat
6. microRNA-21 dan microRNA-144-5p berpotensi sebagai biomarker Tuberculosis paru aktif dan Tuberculosis laten

