

**ANALISIS EKSPRESI GEN *MELANOCORTIN-3 (MC3R)* DAN KADAR
PROTEINNYA PADA PASIEN TUBERKULOSIS AKTIF DAN KONTAK
SERUMAH DI KOTA MAKASSAR**

***ANALYSIS OF MELANOCORTIN-3 (MC3R) GENE EXPRESSION AND
PROTEIN LEVELS IN ACTIVE TUBERCULOSIS PATIENTS AND
HOUSE CONTACTS IN MAKASSAR CITY***

ANDI TENRIOLA

C013171012



**PROGRAM STUDI S3 KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

**ANALISIS EKSPRESI GEN *MELANOCORTIN-3 (MC3R)* DAN KADAR
PROTEINNYA PADA PASIEN TUBERKULOSIS AKTIF DAN KONTAK
SERUMAH DI KOTA MAKASSAR**

Disertasi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor
Dalam Bidang Ilmu Kedokteran**

Disusun dan diajukan oleh

ANDI TENRIOLA

Kepada

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

DISERTASI

**ANALISIS EKSPRESI GEN *MELANOCORTIN-3 RECEPTOR (MC3R)* DAN
KADAR PROTEINNYA PADA PASIEN TUBERCULOSIS AKTIF
DAN KONTAK SERUMAH DI KOTA MAKASSAR**

Disusun dan diajukan oleh

ANDI TENRIOLA
C013171012

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 30 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor,

Prof. dr. Muh. Nasrullah Massi, Ph.D, Sp.MK
Nip. 19670910199603 1 001

Co. Promotor

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok
Nip. 19560416198503 1 001

Co. Promotor

Dr. dr. Irawaty Diharuddin, Sp.P(K)
Nip. 19680910199703 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhar, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 19661213 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Andi Tenriola

NIM : C013171012

Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang berjudul : **"Analisis Ekspresi Gen *Melanocortin-3 (MC3R)* dan Kadar Proteinnya pada Pasien Tuberkulosis Aktif dan Kontak Serumah di Kota Makassar"** adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain dan sepanjang pengetahuan saya di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan/ditulis/diterbitkan sebelumnya, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis/disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juli 2021

Yang menyatakan

ANDI TENRIOLA

DAFTAR TIM PENGUJI

Promotor : Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.Mk

Co Promotor : Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, M.Sc, Sp Biok

Co Promotor : Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)

Anggota :

1. Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P(K)
2. Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK(K)
3. Dr. Rosana Agus, M.Sc
4. Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D
5. Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes
6. Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK (K), FINS DV, FAADV

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah ladzi hadana lihadza wamakunna linahtadiya an laula an hadanallah. Puji-pujian hanya kepada Allah swt yang telah menerangi cahaya hati sehingga bisa menyelesaikan disertasi ini dengan judul "**Analisis Ekspresi Gen *Melanocortin-3 (MC3R)* dan Kadar Proteinnya pada Pasien Tuberkulosis Aktif dan Kontak Serumah di Kota Makassar**" Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan S3 di Universitas Hasanuddin, Program Studi Kedokteran.

Pada Kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat **Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.Mk** selaku promotor, **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, M.Sc, Sp Biok** dan **Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)** masing-masing selaku co-promotor yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dari pengembangan konsep permasalahan yang akan dikaji di dalam penelitian, pelaksanaan penelitian sampai penyelesaian disertasi ini.

Terimakasih juga kepada penguji eksternal, **Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P(K)** yang senantiasa memberikan masukan, saran dan motivasi, **Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK(K)** yang selalu menyemangati untuk bisa terus mengembangkan skill, **Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK (K)** yang selalu memberikan masukan,

saran, arahan, dan selalu mengingatkan agar bisa selesai study, **Dr. Rosana Agus, M.Sc** yang selalu memberikan masukan dan arahan, **Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D** yang memberikan saran agar riset ini bisa digunakan dimasyarakat, **Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes** yang telah memberikan masukan dan arahan di bidang statistic, dan terakhir kepada **Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK (K), FINSDV, FAADV** yang memberikan motivasi kepada penulis hingga penelitian ini selesai dilaksanakan.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sangat dalam sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada orang tua **Ayahanda Drs. H. Andi Mappasosory** dan **Ibunda tercinta Hj. Hasnawati** yang telah melahirkan, memelihara, membesarkan, mendidik dan berdoa dengan penuh kasih sayang dan selalu memberikan semangat, sehingga membentuk saya sebagaimana hari ini serta memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan mulai dari tingkat dasar sampai ke tingkat selanjutnya. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala memberikan rahmat, hidayah, taufik, keselamatan dan semoga kami dapat menjadi anak-anak yang berbakti baginya. Kepada kedua mertua saya **Muh. Asri Laba** dan **Nurlia Aman**, semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa menjaga dan memberikan kesehatan kepada beliau, aamiin ya Rabbal Alamin.

Kepada suami tercinta **Bripka Adryanto, S.Sos**, yang telah mendampingi dalam suka dan duka, serta memberikan restu kepada

penulis untuk melanjutkan pendidikan hingga ke jenjang ini, terima kasih tak terhingga atas segala kesabaran, semangat, motivasi, kesempatan, kepercayaan, dukungan moril dan spiritual, menjadi pendorong terbesar saya untuk melewati perjalanan panjang selama menjalani pendidikan S-3.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof . Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin
2. **Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dikti)** yang telah memberikan bantuan beasiswa pendidikan pascasarjana dalam negeri (BPPDN) selama penulis mengikuti pendidikan di Universitas Hasanuddin
3. **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.Med.Ed** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin
4. **Dr. Agussalim Bukhari, M. Clin, Ph.D, Sp. GK (K)** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan saran demi kelancaran penyelesaian disertasi

5. **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** yang telah banyak memberikan wejangan dan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.
6. Kepada Pengajar S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah membekali ilmu yang begitu bermanfaat bagi penulis terima kasih juga kepada pegawai administrasi Bapak **Akmal,S.Sos,MAP, Abdul Muin Amd.FT** dan **Rahmat** atas bantuan dan dukungan yang diberikan selama menjalani pendidikan program studi S3.
7. Kepada teman-teman seperjuangan **Tri Damayanti, Najdah Hidayah, Handayani Halik, Subair, Jafriati, Wahyuni, Harningsih Karim, Imelda Iskandar, Dahniar** dan teman-teman mahasiswa S3 angkatan 2017 terima kasih atas dukungan, kebersamaan, dan bantuannya selama pendidikan.
8. Teman-teman alumni S2 Fisiologi Unhas angkatan 2013 terima kasih atas dukungan dan bantuannya kepada penulis.

Semoga disertasi ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya didunia kesehatan, dan semoga seluruh bantuan dan doa mendapat balasan dan pahala yang berlipat dari Allah swt, Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Makassar, Juli 2021

Penulis

Andi Tenriola

ABSTRAK

ANDI TENRIOLA. *Analisis Ekspresi Gen Melanocortin-3 (MC3R) dan Kadar Proteinnya pada Pasien Tuberkulosis Aktif dan Kontak Serumah di Kota Makassar (dibimbing oleh Nasrum Massi, Rosdiana Natzir, dan Irawaty Djaharuddin).*

Penelitian bertujuan mengeksplorasi perbedaan ekspresi gen MC3R dan kadar proteinnya pada tuberkulosis aktif, kontak serumah, dan kontrol sehat, dan mencoba mencari tahu hubungan MC3R dengan variabel lainnya.

Sampel darah diambil dari 53 pasien TB aktif, 49 kontak serumah, dan 30 orang sehat sebagai kontrol. 132 sampel tersebut dilakukan pemeriksaan IGRA dan ELISA dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar MC3R pada semua kelompok. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal Wallis, One Way Anova, dan Post Hoc.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai ekspresi gen MC3R pada TB aktif meningkat 3 kali lipat dibandingkan dengan kelompok kontak serumah dan kontrol sehat dengan secara signifikan ($P = 0,007$). Kadar protein MC3R paling tinggi didapatkan pada kelompok TB aktif ($1259,55 \pm 2301,73$), disusul oleh kelompok kontak serumah ($535,15 \pm 725,43$) dan yang paling rendah pada kelompok kontrol sehat ($503,26 \pm 311,35$), nilai $P = 0,028$. Tingginya ekspresi gen dan kadar protein MC3R pada pasien TB aktif terkait dengan perannya sebagai pertahanan terhadap mikroba yang masuk ke dalam tubuh melalui proses imun untuk mencegah infeksi dan peradangan lebih lanjut.

Kata kunci: TB aktif, Tuberkulosis, MC3R, *Melanocortin-3*, Ekspresi Gen



ABSTRACT

ANDI TENRIOLA. *The Analysis of Melanocortin-3 (MC3R) Gene Expression and Protein Levels in Active Tuberculosis Patients and Household Contacts in Makassar City* (supervised by **Nasrum Massi, Rosdlana Natzir, and Irawaty Djaharuddin**)

The aims of this study are to explore differences in MC3R gene expression and protein levels in active tuberculosis patients, household contacts, and healthy controls and find out the correlation between MC3R and other variables.

This research used blood samples taken from 53 active TB patients, 49 household contacts, and 30 healthy people as controls. The 132 samples were examined by IGRA and ELISA to determine differences in MC3R levels in all groups. Statistical analysis used Kruskal Wallis test, One Way Anova, and multivariate analysis.

The expression value of the MC3R gene in active TB increases three times compared to the household contact group and healthy controls. The highest level of MC3R protein is found in the active TB group (1259.55 + 2301.73), while the lowest one is in healthy control group (503.26 311.35) with a P value = 0.072. The high gene expression and MC3R protein levels in active TB patients are related to their role as a defence against microbes that enter the body through immune process to prevent further infection and inflammation.

Keywords: active TB, tuberculosis, MC3R, melanocortin-3, gene, active expression





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp (0411)596910/10411596297
E-MAIL : skedokteranunhasi@gmail.com

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : ANDI TENRIOLA
NIM : C013171012
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Analisis Ekspresi Gen Melanocortin-3 Receptor (MC3R) dan Kadar Proteinnya pada Pasien Tuberculosis Aktif dan Kontak Serumah di Kota Makassar.

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

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

Makassar, 20 Agustus 2021

Yang menyatakan,


ANDI TENRIOLA

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
DAFTAR TIM PENGUJI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
PERNYATAAN NON PLAGIASI	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xvii
Tabel 1 Defenisi Operasional Variabel	xvii
Tabel 2 Karakteristik sampel	xvii
Table 3 Perbedaan ekspresi gen <i>MC3R</i> pada kelompok tuberkulosis aktif, kontak dan sehat.....	xvii
Tabel 4 Distribusi kadar protein <i>MC3R</i> pada kelompok TB aktif, kontak serumah, dan kontrol sehat.....	xvii
Tabel 5 Hasil Uji Post Hoc Untuk Mengetahui Perbedaan Kadar <i>MC3R</i> antara Dua Kelompok	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
Gambar 1. Sel <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	xviii
Gambar 2 Patogenesis Tuberkulosis	xviii
Gambar 3 Lokasi kromosom <i>MC3R</i>	xviii
Gambar 4 Cara Kerja Ekspresi Gen.....	xviii
Gambar 5 <i>Bar chart</i> nilai rerata hasil pengukuran ekspresi mRNA gen <i>MC3R</i>	xviii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4

C.	Tujuan Penelitian	5
1.	Tujuan Umum	5
2.	Tujuan Khusus.....	5
D.	Manfaat Penelitian	5
1.	Bidang akademik.....	5
2.	Bidang Klinik	6
3.	Bagi Masyarakat.....	6
BAB II		7
TINJAUAN PUSTAKA		7
A.	Tinjauan tentang Tuberkulosis Paru	7
1.	Defenisi	7
2.	Sejarah Perkembangan Tuberkulosis.....	7
3.	Etiologi	8
Gambar 1. Sel <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Bhat <i>et al.</i> , 2018)		10
4.	Patogenesis.....	10
5.	Manifestasi Klinis.....	15
6.	Diagnosis Tuberkulosis	17
B.	Tinjauan tentang <i>Melanocortin-3 (MC3R)</i>	21
1.	Tinjauan umum melanokortin.....	21
2.	Fungsi MC3R	23
3.	Nama lain MC3R	25
C.	Hubungan Tuberkulosis dan MC3R.....	27
D.	Tinjauan tentang Ekspresi Gen	31
E.	Tinjauan tentang <i>Real Time PCR</i>	33
F.	Kerangka Teori.....	36
G.	Hipotesis.....	37
H.	Kerangka Konseptual	37
BAB III		38
A.	Rancangan Penelitian	38
B.	Lokasi dan Jadwal Penelitian.....	38
C.	Populasi, sampel dan jumlah sampel	38

1. Populasi	38
2. Sampel	38
D. Kriteria Inklusi Dan Eksklusi Batasan Pemilihan Sampel.....	39
1. Kriteria Inklusi	39
2. Kriteria Eksklusi	40
E. Defenisi Operasional Variabel Penelitian.....	40
F. Cara Kerja	41
1. Langkah-langkah Pengumpulan Sampel	41
2. Pemeriksaan Sputum	42
a. Dekontaminasi Sputum	42
b. Kultur Pada Medium Cair MGIT 960 (<i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i>).....	43
3. Pemeriksaan Pemeriksaan QuantiFERON-TB Gold In-Tube	44
4. Ekstaksi RNA dari sampel darah	45
5. Amplifikasi <i>complementary</i> DNA (cDNA) dengan Reverse Transcriptase-PCR.....	47
6. Pemeriksaan ekspresi gen MC3R dengan <i>real time</i> PCR	48
G. Etika Penelitian.....	48
H. Analisa Data.....	49
Tingkat ekspresi gen diketahui melalui munculnya sinyal amplicon pada grafik. Sinyal yang terdeteksi pada jumlah siklus yang kecil menunjukkan tingkat ekspresi gen yang makin tinggi. Setelah proses amplifikasi diperoleh kurva disosiasi yang kemudian dianalisis ekspresi relatifnya dengan menggunakan metode yang membandingkan target Ct dengan nilai referensi yang dipilih, yaitu level ekspresi gen kontrol GAPDH (<i>housekeeping gene</i>), dengan perhitungan:	
I. Alur Penelitian	50
50	
50	
50	
BAB IV	51
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	51

A.	Hasil Penelitian.....	51
	1. Karakteristik Sampel.....	51
	<p>Karakteristik sampel pada penelitian ini meliputi jenis kelamin dan usia, index massa tubuh dan pemeriksaan IGRA. Dari 132 orang sampel, yang dipecah menjadi tiga kelompok, 53 orang penderita TB Aktif, 49 orang kontak serumah, dan 30 orang kontrol sehat. Terdapat 31 orang (58%) berjenis kelamin laki-laki dan 22 orang (42%) berjenis kelamin perempuan pada kelompok TB aktif. 17 orang (35%) berjenis kelamin laki-laki dan 32 orang (65%) berjenis kelamin perempuan pada kelompok kontak serumah. 10 orang (33%) berjenis kelamin laki-laki, dan 20 orang (67%) berjenis kelamin perempuan pada kelompok kontrol sehat.</p>	
	2. Distribusi Frekuensi.....	53
	3. Analisis.....	56
B.	Pembahasan.....	57
	BAB V	62
	KESIMPULAN DAN SARAN	62
A.	Kesimpulan	62
B.	Saran.....	62
	DAFTAR PUSTAKA.....	115
	MC3R Primer	159
•	forward (CAACACTGCCTAATGGCTCGGA)	160

Homo sapiens melanocortin 3 receptor (MC3R), mRNA

Sequence ID: [NM_019888.3](#) Length: 1084 Number of Matches: 1

Range 1: 147 to 168 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
44.1 bits(22)	0.013	22/22(100%)	0/22(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  CAACACTGCCTAATGGCTCGGA 22
          |||
Sbjct 147 CAACACTGCCTAATGGCTCGGA 168

```

160

•	reverse (GTTTTCCAGCAGACTGACGATGC).....	160
---	--	-----

Homo sapiens melanocortin 3 receptor (MC3R), mRNA

Sequence ID: [NM_019888.3](#) Length: 1084 Number of Matches: 1

Range 1: 258 to 280 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
46.1 bits(23)	0.005	23/23(100%)	0/23(0%)	Plus/Minus

Query 1 GTTTTCCAGCAGACTGACGATGC 23
 Sbjct 280 GTTTTCCAGCAGACTGACGATGC 258

..... 160
 panjang target : 134 bp (147-280) 160

Homo sapiens melanocortin 3 receptor (MC3R), mRNA 160

164

GAPDH Primer: 165

- forward (CCTGCACCACCAACTGCTTA) 165

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 1, mRNA

Sequence ID: [NM_002046.7](#) Length: 1285 Number of Matches: 1

Range 1: 528 to 544 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
34.2 bits(17)	0.15	17/17(100%)	0/17(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCTGCACCACCAACTGC 17
 Sbjct 528 CCTGCACCACCAACTGC 544

165

- reverse (GGCCATCCACAGTCTTCTGAG) 165

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 1, mRNA

Sequence ID: [NM_002046.7](#) Length: 1285 Number of Matches: 1

Range 1: 629 to 647 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
38.2 bits(19)	0.010	19/19(100%)	0/19(0%)	Plus/Minus

Query 1 GGCCATCCACAGTCTTCTG 19
 Sbjct 647 GGCCATCCACAGTCTTCTG 629

165

panjang target : 124 bp (528-647) 165

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 1, mRNA 165

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Defenisi Operasional Variabel.....	40
Tabel 2	Karakteristik sampel.....	51
Table 3	Perbedaan ekspresi gen <i>MC3R</i> pada kelompok tuberkulosis aktif, kontak dan sehat	54
Tabel 4	Distribusi kadar protein <i>MC3R</i> pada kelompok TB aktif, kontak serumah, dan kontrol sehat.....	55
Tabel 5	Hasil Uji Post Hoc Untuk Mengetahui Perbedaan Kadar <i>MC3R</i> antara Dua Kelompok	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Sel <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	10
Gambar 2 Patogenesis Tuberkulosis	11
Gambar 3 Lokasi kromosom <i>MC3R</i>	25
Gambar 4 Cara Kerja Ekspresi Gen	33
Gambar 5 <i>Bar chart</i> nilai rerata hasil pengukuran ekspresi mRNA gen <i>MC3R</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 : Informed consent penelitian
- Lampiran 2 : Kuisioner kontak serumah dan kontrol sehat
- Lampiran 3 : Kuisioner penderita TB aktif
- Lampiran 4 : Form isian pemeriksaan Kesehatan
- Lampiran 5 : Dokumentasi penelitian
- Lampiran 6 : Hasil analisis ekspresi gen
- Lampiran 7 : Primer MC3R
- Lampiran 8 : Primer GADPH
- Lampiran 9 : Hasil uji statistic
- Lampiran 10 : Data sampel

DAFTAR SINGKATAN

BTA	: Basil Tahan Asam
TB	: Tuberkulosis
WHO	: <i>World Health Organisation</i>
TBC	: Tuberkulosis
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
IGRA	: <i>Interferon Gamma Release Assays</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RT-PCR	: <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
IFN- μ	: <i>Interferon Gamma</i>
IL	: Interleukin
MSH	: Melanocortin Stimulating Hormone
α -MSH	: Alfa Melanocortin Stimulating Hormone
CFR	: Case Fatality Rate

CTSZ	: Cathepsin Z
MC	: Melanocortin
MCR	: Melanocortin receptor
MC1R	: Melanocortin 1 receptor
MC2R	: Melanocortin 2 receptor
MC3R	: Melanocortin 3 receptor
MC4R	: Melanocortin 4 receptor
MC5R	: Melanocortin 5 receptor
Mtb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
BCG	: Bacillus Calmette Guerin
DTH	: Delayed type hipersensitivity
MHC-II	: Major Histocompatibility Complex type II
SPS	: Sewaktu – pagi – sewaktu
AGRP	: Agouti-related peptide
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophospate
cDNA	: Complementary DNA
POMC	: Pro-opiomelanocortin
ACTH	: Adrenokortikotropik
NTS	: Nucleus Traktus Soliter
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor-Alfa
mRNA	: messenger RNA
tRNA	: transfer RNA
rRNA	: ribosomal RNA

IMT	: Index massa tubuh
BBKPM	: Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat
Medium LJ	: Medium Lowenstein Jensen
Medium NA	: Medium nutrient agar
NaOH	: Natrium hidroksida
Na sitrat	: Natrium sitrat
HCl	: Asam klorida
MGIT	: Mycobacteria Growth Indicator Tube
OADC	: Oleic Acid Dextrose Catalase
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
RNA	: Ribonucleic acid
H ₂ O	: Dihidrogen monoksida
qPCR	: Quantitative polymerase chain reaction
GADPH	: Gliseraldehida 3-fosfat dehidrogen
ACTH	: Adrenocorticotropic hormone
MC ₃	: Melanocortin 3

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) tidak lagi menjadi penyakit yang asing di telinga masyarakat dunia, tuberkulosis adalah penyakit global, ditemukan di setiap negara di dunia. Pada tahun 2019, 87% kasus baru tuberkulosis terjadi di 30 negara dengan beban tuberkulosis tinggi (World Health Organization, 2019). Delapan negara menyumbang dua pertiga dari kasus tuberkulosis baru, termasuk Indonesia yang berada di urutan kedua setelah India (Chakaya *et al.*, 2021). *World Health Organization* (WHO) memperkirakan kurang lebih 10 juta orang terserang tuberkulosis di seluruh dunia dari berbagai kelompok usia dan jenis kelamin, dengan perkiraan 5,6 juta laki-laki, 3,2 juta perempuan dan 1,2 juta anak-anak (World Health Organization, 2018). Jumlah penderita tuberkulosis yang hidup pada tahun 2020 lebih dari sepuluh kali perkiraan kejadian tuberkulosis tahunan. Wilayah WHO di Asia Tenggara (44%), Afrika (25%), dan Pasifik Barat (18%) memiliki penderita tuberkulosis terbanyak. Delapan negara menyumbang dua pertiga dari total global: India (26%), Indonesia (8,5%), Cina (8,4%), Filipina (6,0%), Pakistan

(5,7%), Nigeria (4,4%), Bangladesh (3,6%) dan Afrika Selatan (3,6%) (World Health Organization, 2020).

Tuberkulosis adalah salah satu penyakit manusia yang telah ada di zaman kuno dan paling mematikan, masih menimbulkan beban kesehatan, sosial dan ekonomi yang besar pada tingkat global dan terutama di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Tuberkulosis telah berevolusi bersama dengan manusia selama ribuan tahun atau mungkin selama beberapa juta tahun (Brites & Gagneux, 2015).

Tuberkulosis disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang terutama menyerang paru dan menyebabkan penyakit pulmonal (Adigun & Singh, 2020). Tuberkulosis terjadi di setiap bagian dunia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan kasus TB di Indonesia hingga saat ini mencapai 842.000 kasus dan memiliki *Case Fatality Rate* atau meninggal karena penyakit adalah sebesar 16%. Lebih dari 95% kematian tuberkulosis terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Jumlah terbesar kasus tuberkulosis baru terjadi di Asia, dengan 45% kasus baru, diikuti oleh Afrika, dengan 25% kasus baru. Penderita tuberkulosis di Indonesia berjumlah 842.000 jiwa pada tahun 2017, penderita tuberkulosis tersebut terdiri atas 492.000 laki-laki, 349.000 perempuan, dan 49.000 anak-anak (World Health Organization, 2018).

Tuberkulosis selalu menjadi beban kesehatan yang besar dalam beberapa tahun terakhir karena sifatnya yang menular, respon imunologis yang kompleks yang ditimbulkan, serta perkembangannya yang pesat dan

mebutuhankan pengobatan jangka panjang (Thomas, 2017). Jumlah kasus tuberkulosis paru BTA positif di Sulawesi Selatan pada tahun 2017 sebanyak 7.062 jiwa. Berdasarkan data dari seluruh kabupaten/ kota se-Sulawesi Selatan, Kota Makassar menduduki peringkat pertama dengan jumlah penderita tuberkulosis paru BTA positif sebanyak 1.951 kasus, menyusul Kabupaten Wajo sebanyak 606 kasus (Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, 2018). Data tahun 2016 yang diperoleh dari Bidang Bina P2PL Dinas Kesehatan Kota Makassar, kasus baru penderita tuberkulosis Paru BTA (+) di puskesmas dan rumah sakit tahun 2016 yaitu sebanyak 1.874 penderita dari 2.373 perkiraan sasaran sehingga diperoleh angka penemuan kasus baru tuberkulosis BTA (+) yaitu 78,97%. Angka ini meningkat dibandingkan tahun 2015 yaitu 1.928 penderita dari 2600 perkiraan sasaran sehingga didapatkan angka penemuan kasus baru tuberkulosis BTA (+) yaitu 74,15%. Pada tahun 2014 Angka Penemuan Baru tuberkulosis BTA (+) yaitu 73,76% ditemukan 1.918 penderita dari 2.600 sasaran. Prevalensi (seluruh kasus) penyakit tuberkulosis per 100.000 penduduk selama 3 tahun terakhir juga meningkat yaitu tahun 2016 sebanyak 271/100.000 penduduk meningkat dari tahun 2015 yaitu 249/100.000 penduduk dan pada tahun 2014 yaitu 247/100.000 penduduk.

TB aktif adalah suatu kondisi di mana *Mycobacterium tuberculosis* menyebabkan infeksi (Jilani *et al.*, 2021). *MC3R* adalah gen yang berpartisipasi dalam pengaturan ritme sirkadian aktivitas yang terkait

dengan perilaku makan dan proses anti-inflamasi. Penelitian telah menunjukkan bahwa *MC3R* mungkin terlibat dalam perkembangan penyakit inflamasi, seperti tuberkulosis paru dan radang sendi. Kondisi kesehatan yang terkait pada perubahan genetik *MC3R* bersifat kuantitatif dan menyebabkan kerentanan terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Beberapa penelitian sebelumnya pada beberapa populasi membuktikan bahwa factor genetik berkontribusi terhadap tuberkulosis, dengan perkiraan heritabilitas mulai dari 36% hingga 80%. Pada jurnal *Association of CTSZ rs34069356 and MC3R rs6127698 Gene Polymorphisms with Pulmonary Tuberculosis* dikatakan bahwa *MC3R* adalah reseptor yang banyak diekspresikan di otak dan di berbagai jaringan perifer, dan telah terbukti berkontribusi banyak di system biologis termasuk inflamasi dan infeksi (Hashemi *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian di atas penulis ingin mengetahui analisis ekspresi gen *Melanocortin-3 (MC3R)* dan kadar proteinnya pada pasien tuberkulosis, kontak serumah dan kontrol sehat di Kota Makassar, beserta korelasinya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada perbedaan ekspresi gen *MC3R* antara TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat?

2. Apakah ada perbedaan kadar protein MC3R antara penderita TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat?
3. Apakah ada hubungan antara ekspresi gen *MC3R* dan kadar protein MC3R dengan TB aktif?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melihat analisis ekspresi gen *MC3R* dan kadar proteinnya pada TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat.

2. Tujuan Khusus

- a. Membandingkan ekspresi gen *MC3R* antara penderita TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat.
- b. Membandingkan kadar protein MC3R antara penderita TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat.
- c. Menganalisis hubungan antara kadar protein MC3R dengan TB aktif.

D. Manfaat Penelitian

1. Bidang akademik

Memberi informasi tentang perbedaan kadar protein dan ekspresi gen *MC3R* pada penderita TB aktif, kontak serumah, dan kontrol sehat.

2. Bidang Klinik

Menyumbangkan informasi ilmiah tentang analisis kadar protein dan ekspresi gen *MC3R* pada penderita TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat, serta dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai penemuan biomarker baru dalam diagnosis tuberkulosis.

3. Bagi Masyarakat

Sebagai informasi kepada masyarakat tentang perkembangan penyakit TB dan penularannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan tentang Tuberkulosis Paru

1. Defenisi

Tuberkulosis paru adalah penyakit infeksi kronis yang dapat menyerang manusia yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Secara umum tuberkulosis merupakan penyakit yang menyerang sistem pernafasan, namun dapat juga menyerang sistem pencernaan, dan organ lainnya seperti tulang, ginjal, testis, ovarium dan otak (Jilani *et al.*, 2021).

2. Sejarah Perkembangan Tuberkulosis

Tuberkulosis disebabkan oleh anggota kompleks *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)*, yang meliputi: *Mycobacterium tuberculosis*, agen etiologi tuberkulosis pada manusia; *Mycobacterium africanum*, yang menyebabkan tuberkulosis pada manusia hanya di wilayah tertentu di Afrika; *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae* dan *Mycobacterium pinnipedii*, menyebabkan tuberkulosis pada mamalia liar dan peliharaan; *Mycobacterium microti*, yang menyebabkan tuberkulosis hanya pada tikus (Delogu *et al.*, 2013). *Mtb* muncul sebagai patogen manusia di Afrika sekitar 70.000 tahun

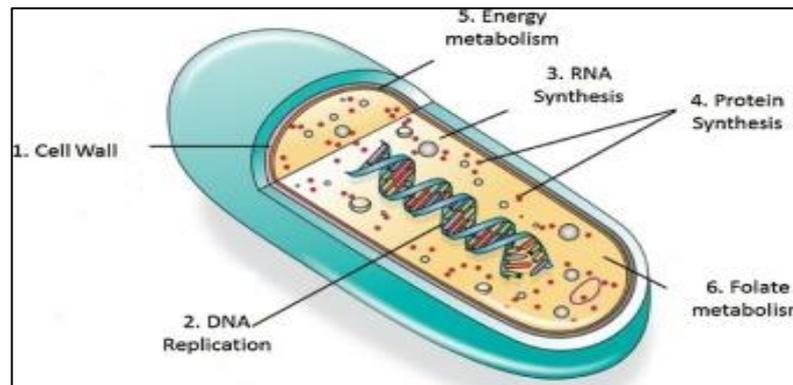
yang lalu dan kemudian menyebar ke luar benua setelah migrasi manusia (Wirth, 2018).

Kemajuan pengendalian tuberkulosis di dunia pada awalnya terkesan lambat. Pada tahun 1882 Robert Koch berhasil mengidentifikasi *Mtb*. Pada 1906 vaksin BCG berhasil ditemukan. Pada 1943 Streptomisin ditetapkan sebagai anti tuberkulosis pertama yang efektif. Pada 1951 Isoniazid ditemukan, diikuti dengan penemuan Piranizamid dan Cyloserine pada tahun 1952, Ethionamide pada tahun 1956, Rifampin pada 1957, dan Ethambutol pada 1962. Namun kemajuan pengobatan tuberkulosis mendapat tantangan dengan bermunculannya strain *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap OAT (Dawson, 2017). Epidemio HIV AIDS yang terjadi sejak tahun 1980-an semakin memperberat kondisi epidemi tuberkulosis. Pada akhir tahun 1980-an dan awal 1990-an mulai dilaporkan adanya resistensi terhadap OAT (Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Selatan, 2016).

3. Etiologi

Mtb menyebabkan penyakit tuberkulosis. *The Bacillus Mycobacterium tuberculosis* adalah *mycobacteria* yang tumbuh lambat dengan waktu penggandaan 12-24 jam dalam kondisi optimal. Ciri utama dari *Mycobacterium tuberculosis* adalah struktur dinding sel yang khas, yang menyediakan penghalang kedap yang sangat kuat untuk senyawa berbahaya dan obat-obatan dan yang memainkan

peran mendasar dalam virulensi (Delogu *et al.*, 2013). Pandangan klasik struktur dinding sel mikobakteri telah direvisi berkat pengenalan teknik mikroskopi elektron baru, tomografi elektron-elektron pada bagian vitreous, yang mempertahankan organisasi dinding sel dengan menghindari dehidrasi sampel (Hoffman, 2008). Berkat kemajuan ini ditunjukkan bahwa *mycobacteria* memiliki membran luar, secara fungsional mirip dengan apa yang terlihat pada bakteri gram-negatif, yang terdiri dalam bilayer lipid asimetris yang terbuat dari asam lemak panjang dalam selebaran batin (asam mycolic) dan glikolipid dan komponen lilin di lapisan luar (Zuber *et al.*, 2008). Membran luar dan dalam membentuk ruang periplasmik, dengan adanya lapisan tipis peptidoglikan pada sisi terdalam yang secara kovalen terhubung dengan *arabinogalactan* dan *lipoarabinomannan* yang pada gilirannya terikat dengan asam *mycolic*. Isoniazid dan etambutol, dua obat anti-tuberkulosis yang paling efektif, menargetkan sintesis asam *mycolic* dan *arabinogalactan*, masing-masing, menyoroiti pentingnya dinding sel *mycobacterial* di *Mycobacterium tuberculosis* biologi (North *et al.*, 2014).

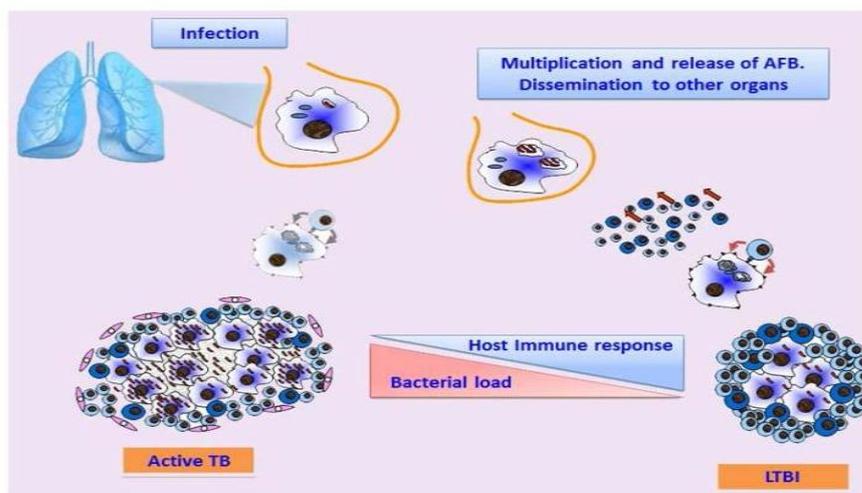


Gambar 1. Sel *Mycobacterium tuberculosis* (Bhat *et al.*, 2018)

4. Patogenesis

Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* terjadi ketika beberapa basil tuberkel yang tersebar di udara dari pasien dengan tuberkulosis paru aktif mencapai alveoli inang. Di sini, *Mycobacterium tuberculosis* cepat fagositosis oleh makrofag alveolar profesional yang paling sering dapat membunuh bakteri yang masuk berkat respon imun bawaan (Bussi & Gutierrez, 2019). Jika basil dapat bertahan di awal pertahanan, basil mulai aktif bereplikasi di makrofag, difus ke sel-sel di dekatnya termasuk epitel dan sel endotel (Wolf *et al.*, 2008). Selama proses awal infeksi ini, *Mycobacterium tuberculosis* dapat berdifusi ke organ lain melalui limfatik dan dengan penyebaran hematogen di mana ia dapat menginfeksi sel lain (Delogu *et al.*, 2013). Setelah itu, setelah respon imun adaptif dimulai, migrasi ke tempat infeksi primer neutrofil, limfosit dan sel imun lainnya membentuk infiltrasi seluler yang kemudian mengasumsikan struktur khas granuloma (Ottenhoff & Kaufmann, 2012). Komponen fibrotik menutupi granuloma yang

menjadi kalsifikasi sehingga bacilli tetap terkapsul di dalam dan dilindungi oleh respons imun *host*. Lesi primer ini, secara klasik disebut kompleks Ghon, dianggap "tempat keramat" dari *Mycobacterium tuberculosis* selama infeksi laten, dengan bacilli bertahan dalam keadaan aktif, non-metabolik aktif, selama bertahun-tahun, dekade, atau paling sering untuk seumur hidup. Dalam skenario ini, selama infeksi laten, untuk alasan yang tidak diketahui, bacilli akan mulai bereplikasi di dalam lesi primer ini, penyakit aktif akan terjadi (Manabe & Bishai, 2000). Sebuah konsekuensi utama dari hipotesis ini, dengan implikasi patofisiologi dan klinis yang relevan, adalah bahwa reaktivasi tuberkulosis berasal dari lokasi infeksi primer ini. Hipotesis ini ditentang sejak awal abad ke-20, ketika ditunjukkan bahwa bacilli yang layak dan infeksius ditemukan di bagian jaringan paru babi percobaan yang terinfeksi atau nekropsis manusia, bukan dari inti sentral lesi tuberkulosis (Hunter, 2018).



Gambar 2 Patogenesis Tuberkulosis (Hunter, 2018)

Tuberkel bacilli dihirup dalam tetesan aerosol dan masuk ke paru ketika pertahanan imun bawaan gagal untuk menghilangkan bakteri. *Mycobacterium tuberculosis* mulai berkembang biak di dalam makrofag alveolar dan kemudian menyebar ke jaringan dan organ lain melalui aliran darah dan limfatik. Setelah respon imun berperantara sel dimulai, replikasi bakteri biasanya dikendalikan dan dalam 90-95% kasus tidak terlihat tanda dan gejala penyakit tidak jelas (tuberkulosis laten). Selama infeksi laten, keseimbangan dinamis antara respon imun bacilli dan *host* ditetapkan dan setiap kejadian yang memperlemah imunitas mediasi sel dapat menyebabkan replikasi bakteri aktif, kerusakan jaringan dan penyakit terjadi (tuberkulosis aktif) (Jilani *et al.*, 2021).

Studi yang dilakukan pada model tuberkulosis primate non-manusia lebih lanjut menguatkan temuan ini yang menunjukkan bahwa selama infeksi laten, *mycobacterium tuberculosis* aktif secara metabolik dan bereplikasi di jaringan inang meskipun tidak ada tanda klinis atau gejala penyakit (Dutta & Karakousis, 2014). Menariknya, pada seekor monyet dengan tuberkulosis aktif adalah ditemukan banyak jenis yang berbeda dari lesi, mulai dari gigi, lesi hipoksia nekrotik atau caseous, lesi steril (Barry *et al.*, 2009). Skenario serupa diamati pada pasien dengan tuberkulosis paru, di mana berbagai lesi diamati secara bersamaan dan lesi merespon secara berbeda terhadap kemoterapi, menunjukkan bahwa mereka mewakili himpunan

bagian *Mycobacterium tuberculosis* yang berbeda dalam lingkungan mikro yang berbeda (Lenaerts *et al.*, 2015).

Prognosis penyakit tuberkulosis bersifat menahun, sifat penyakit menyebabkan penderita tidak berangsur-angsur memburuk secara teratur, tetapi terjadi secara “melompat-lompat”. Serangan pertama menyerupai influenza akan segera mereda dan keadaan akan pulih kembali. Berbulan-bulan kemudian akan timbul kembali serangan influenza. Tergantung dari daya tahan tubuh, jumlah dan virulensi basil, serangan kedua bisa terjadi setelah 3 bulan, 6 bulan, 9 bulan dan seterusnya. Dikatakan sebagai multiplikasi 3 bulan. Serangan kedua akan bertahan lebih lama dari yang pertama sebelum orang sakit sembuh kembali. Pada serangan ketiga serangan sakit akan lebih lama dibandingkan serangan kedua. Sebaliknya masa tidak sakit menjadi lebih pendek dari masa antara serangan pertama dan kedua. Seterusnya masa aktif influenza makin lama makin panjang, sedangkan masa bebas influenza makin pendek. Salah satu keluhan pertama penderita tuberkulosis paru adalah sering mendapatkan serangan influenza. Setiap kali mendapat serangan, penderita akan merasakan demam dengan suhu mencapai 40°C – 41°C (El-Radhi, 2018).

Riwayat terjadinya tuberkulosis dapat dibagi menjadi 2 tahap yaitu tahap infeksi primer dan pasca primer. Infeksi primer terjadi saat seseorang terpapar pertama kali dengan *Mycobacterium tuberculosis*.

Droplet yang terhirup sangat kecil ukurannya sehingga dapat melewati sistem pertahanan mukosa bronkus, dan terus berjalan hingga sampai di alveolus dan menetap di sana. Infeksi dimulai saat *Mycobacterium tuberculosis* berhasil berkembang biak dengan cara pembelahan diri di paru yang mengakibatkan peradangan di dalam paru, saluran limfe akan membawa *Mycobacterium tuberculosis* ke kelenjar limfe di sekitar hilus paru, dan ini disebut sebagai kompleks primer (Marais & Schaaf, 2014). Waktu antara terjadinya infeksi sampai pembentukan kompleks primer adalah 4-6 minggu. Adanya infeksi dapat dibuktikan dengan terjadinya perubahan reaksi tuberkulin dari negatif menjadi positif diperkirakan sekitar 6 bulan (Pahal, 2021). Pada tuberkulosis primer penyebaran hematogen ke bagian tubuh lain dapat terjadi pada saat dini, bahkan dapat terjadi sebelum timbulnya hipersensivitas terhadap tuberkulin. Tuberkulosis pasca primer ini prosesnya terbatas pada paru dan penyebarannya secara bronkogen. Berdasarkan keadaan tersebut di atas, tuberkulosis primer merupakan suatu penyakit yang berbahaya dan memerlukan pengenalan atau diagnosa sedini mungkin (Hunter, 2018). Tahap kedua yaitu tuberkulosis pasca primer (Post Primary Tuberkulosis) biasanya terjadi setelah beberapa bulan atau tahun sesudah infeksi primer, misalnya karena daya tahan tubuh menurun akibat infeksi HIV atau status gizi yang buruk. Reaksi tubuh terhadap tuberkulosis paru pasca primer dapat terjadi dalam 2 bentuk, yaitu (Hunter, 2011):

- a. Peradangan endogen yaitu berasal dari fokus lama (*dormant*) di dalam paru yang mengalami kekambuhan
- b. Peradangan eksogen yaitu karena infeksi paru yang berasal dari luar.

Ciri khas dari tuberkulosis pasca primer adalah kerusakan paru yang luas dengan terjadinya kavitas atau efusi pleura. Penderita penyakit tuberkulosis kalau tidak dikendalikan dapat juga mengakibatkan terjadinya komplikasi, dimana komplikasi ini sering terjadi pada penderita stadium lanjut.

5. Manifestasi Klinis

Loddenkemper (2016) menyatakan gejala yang dirasakan oleh penderita tuberkulosis paru adalah sebagai berikut:

- a. Demam lama (≥ 2 minggu) dan/ atau berulang tanpa sebab yang jelas, dapat disertai keringat malam. Demam pada umumnya tidak tinggi
- b. Batuk lama lebih dari 3 minggu, dan batuk darah

Mycobacterium tuberculosis mulai berkembang biak dalam jaringan paru. Selama bronkus belum terlibat dalam proses penyakit, orang sakit tidak akan batuk. Batuk pertama terjadi karena iritasi bronkus, dan selanjutnya batuk diperlukan untuk membuang produk-produk ekskresi dari peradangan. Batuk darah akan terjadi bila ada pembuluh

darah yang terkena dan kemudian pecah tergantung dari besarnya pembuluh darah yang pecah maka akan terjadi batuk darah ringan, sedang, atau berat tergantung dari berbagai faktor. Satu hal yang harus diingat adalah tidak semua batuk darah dengan disertai gambaran lesi di paru secara radiologis adalah tuberkulosis paru. Batuk darah juga terjadi pada berbagai penyakit paru lain seperti penyakit bronkiektasis, kanker paru dan penyakit paru lainnya. Tidak semua penderita tuberkulosis paru punya semua gejala di atas, kadang-kadang hanya satu atau 2 gejala saja. Berat ringannya masing-masing gejala juga sangat bervariasi.

c. Nafsu makan berkurang, berat badan menurun atau sulit naik setelah penanganan gizi adekuat

d. Malaise

Peradangan bersifat sangat kronik, akan diikuti tanda-tanda malaise: anoreksi, badan makin kurus, sakit kepala, badan terasa pegal-pegal, demam subfebril yang diikuti oleh berkeringat malam dan sebagainya.

e. Kejang, kesadaran menurun, atau defisit neurologis (pada meningitis).

6. Diagnosis Tuberkulosis

Apabila dicurigai seseorang tertular penyakit tuberkulosis, maka ada beberapa hal yang perlu dilakukan untuk menegakkan diagnosis yaitu: (Asti, 2002)

a. Anamnesa penderita maupun keluarganya

Anamnesis tuberkulosis paru perlu dilakukan untuk menentukan diagnosis banding pada sesak dan batuk bersputum. Sehingga sangat penting untuk mengetahui gejala yang ada kaitannya dengan tuberkulosis seperti adanya demam, batuk, sesak nafas, nyeri dada dan malaise.

b. Pemeriksaan fisik

Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan tanda-tanda:

- 1) Tanda-tanda infiltrat (redup, bronchial, ronkhi basah)
- 2) Tanda-tanda penarikan paru, diafragma dan mediastinum
- 3) Sekret di saluran nafas dan ronkhi
- 4) Suara nafas amforik karena adanya kavitas yang berhubungan dengan bronchus.

c. Pemeriksaan dahak

Pemeriksaan dahak berfungsi untuk menegakkan diagnosis, menilai keberhasilan pengobatan dan menentukan potensi penularan.

Pemeriksaan dahak untuk penegakan diagnosis pada semua suspek tuberkulosis dilakukan dengan mengumpulkan 3 spesimen dahak yang dikumpulkan dalam dua hari kunjungan yang berurutan berupa dahak Sewaktu-Pagi-Sewaktu (SPS)

- 1) S (sewaktu) : dahak dikumpulkan pada saat suspek tuberkulosis datang berkunjung pertama kali. Pada saat pulang, suspek membawa sebuah pot dahak untuk mengumpulkan dahak pada pagi hari kedua.
- 2) P (pagi) : dahak dikumpulkan di rumah pada pagi hari kedua, segera setelah bangun tidur. Pot dibawa dan diserahkan sendiri kepada petugas.
- 3) S (sewaktu) : dahak dikumpulkan pada hari kedua, saat menyerahkan dahak pagi hari.

d. Pemeriksaan patologi anatomi

Biopsi merupakan salah satu cara pemeriksaan patologi anatomi yang dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis pasti suatu lesi khususnya yang dicurigai sebagai suatu keganasan. Interpretasi biopsi untuk diagnosis suatu neoplasma dapat dilakukan berdasarkan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

e. Rontgen dada (thorax photo)

Pada sebagian besar tuberkulosis paru, diagnosis terutama ditegakkan dengan pemeriksaan dahak secara mikroskopis dan tidak memerlukan foto toraks. Namun pada kondisi tertentu pemeriksaan foto toraks perlu dilakukan sesuai dengan indikasi sebagai berikut:

- 1) Hanya 1 dari 3 pasien spesimen dahak SPS hasilnya BTA positif. Pada kasus ini pemeriksaan foto toraks dada diperlukan untuk mendukung diagnosis tuberkulosis paru BTA positif.
- 2) Ketiga spesimen dahak hasilnya tetap negatif setelah 3 spesimen dahak SPS pada pemeriksaan sebelumnya hasilnya BTA negatif dan tidak ada perbaikan setelah pemberian antibiotika non OAT.
- 3) Pasien tersebut diduga mengalami komplikasi sesak nafas berat yang memerlukan penanganan khusus (seperti: pneumotorak, pleuritis eksudativa, efusi perikarditis atau efusi pleural) dan pasien yang mengalami hemoptisis berat (untuk menyingkirkan bronkiektasis atau aspergiloma)

f. Uji tuberkulin

Uji tuberkulin merupakan salah satu dasar bahwa infeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis* akan menyebabkan reaksi *delayed-type hypersensitivity* terhadap komponen antigen yang berasal dari ekstrak *Mycobacterium tuberculosis* atau tuberkulin (Kenyorini, 2006). Tuberkulin merupakan komponen protein kuman tuberkulosis yang

mempunyai sifat antigenik yang kuat. Uji tuberkulin merupakan alat diagnosis tuberkulosis yang sudah lama dikenal, tetapi hingga saat ini masih mempunyai nilai diagnostik yang tinggi. Uji ini dilakukan berdasar adanya hipersensitivitas tubuh akibat adanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* terutama pada anak dengan sensitivitas dan spesifitas di atas 90% (Sidhi, 2010).

Reaksi uji tuberkulin yang dilakukan secara intradermal akan menghasilkan hipersensitiviti tipe IV atau *delayed-type hypersensitivity* (DTH). Masuknya protein tuberkulosis saat injeksi akan menyebabkan sel T tersensitisasi dan menggerakkan limfosit ke tempat suntikan. Limfosit akan merangsang terbentuknya indurasi dan vasodilatasi lokal, edema, deposit fibrin dan penarikan sel inflamasi ke tempat suntikan (Kenyorini *et al.*, 2006).

Reaksi tuberkulin merupakan reaksi DTH. Protein tuberkulin yang disuntikkan di kulit, kemudian diproses dan dipresentasikan ke sel dendritik/ Langerhans ke sel T melalui molekul MHC-II. Sitokin yang diproduksi oleh sel T, akan membentuk molekul adhesi endotel. Monosit keluar dari pembuluh darah dan masuk ke tempat suntikan yang berkembang menjadi makrofag. Produk sel T dan makrofag menimbulkan edema dan bengkak. Test kulit positif maka akan tampak edema lokal atau infiltrat maksimal 48-72 jam setelah suntikan. Hasil uji tuberkulin negatif dapat diartikan sebagai seseorang tersebut tidak terinfeksi dengan basil tuberkulosis.

Sedangkan Hasil uji tuberkulin yang positif dapat diartikan sebagai seseorang tersebut sedang terinfeksi basil tuberkulosis. Jika hasil uji tuberkulin positif maka harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan foto toraks dan pemeriksaan dahak. Jika hasil foto toraks tersebut normal maka dapat dilakukan pemberian terapi tuberkulosis laten, tetapi jika hasil foto toraks terjadi kelainan dan menunjukkan ke arah tuberkulosis maka dapat dimasukkan dalam tuberkulosis aktif (Kenyorini *et al.*, 2006).

g. *Interferon Gamma Release Assay (IGRA)*

IGRA adalah uji laboratorium diagnostik *in vitro* cara *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* untuk mengukur reaksi pembentukan interferon- γ dalam darah pasien dengan infeksi Mtb. Salah satu uji IGRA adalah Quantiferon-Tb Gold.

B. Tinjauan tentang *Melanocortin-3 (MC3R)*

1. Tinjauan umum melanokortin

Secara umum system melanokortin terdiri dari peptide melanokortin yang berasal dari gen *Proopiomelanocortin (POMC)*, terdiri dari lima reseptor melanokortin, dua antagonis endogen, dan dua protein tambahan. Melanokortin terlibat dalam sejumlah fungsi fisiologis, termasuk pigmentasi, steroidogenesis, homeostasis energy, sekresi eksorin, fungsi seksual, analgesia, peradangan,

imunomodulasi, kontrol suhu, regulasi kardiovaskular, dan regenerasi neuromuscular.

Melanokortin adalah produk pascatranslasi dari proopiomelanocortin (POMC) prohormone. Ada lima reseptor melanokortin yang semuanya terkait dengan cAMP generasi melalui G protein stimulasi dan siklase adenilat, kelima MCR tersebut memiliki afinitas yang berbeda untuk melanokortin dan anatgonis endogen agouti dan AGRP (Gantz & Fong, 2003).

MC1R adalah reseptor MSH melanosit "klasik". Ini diekspresikan oleh melanosit kulit, di mana ia memiliki peran kunci dalam menentukan pigmentasi kulit dan rambut. Namun, jenis sel lain di kulit juga mengekspresikan *MC1R*, termasuk keratinosit, fibroblas, sel endotel, dan sel penyaji antigen. (TA *et al.*, 1999)

MC2R adalah reseptor ACTH adrenokortikal klasik. Ini diekspresikan di zona korteks adrenal retikularis dan zona fasikulata, di mana ia memediasi efek ACTH pada sekresi steroid. Khususnya, ini dibedakan secara farmakologis dari subtipe melanokortin lainnya karena hanya diaktifkan oleh ACTH. (C *et al.*, 1993)

Melanocortin-3 dan *melanocortin-4* reseptor (*MC3R* dan *MC4R*) adalah dua reseptor melanocortin neural yang termasuk keluarga reseptor G protein berpasangan. *MC3R* juga ditemukan dalam sistem saraf pusat terutama di nukleus arkuata, serta beberapa jaringan perifer seperti jantung dan makrofag peritonium (Renquist *et al.*,

2011). Studi pada manusia dan hewan pengerat telah mengkonfirmasi ekspresi *MC3R* di ginjal, dimana ia berpartisipasi dalam modulasi natriuresis (El-Radhi, 2018). *MC3R* telah ditemukan memainkan peran halus dalam mengatur homeostasis energi. Ada juga beberapa laporan tentang pengaruh alel varian *MC3R* pada obesitas manusia (Begrache *et al.*, 2013).

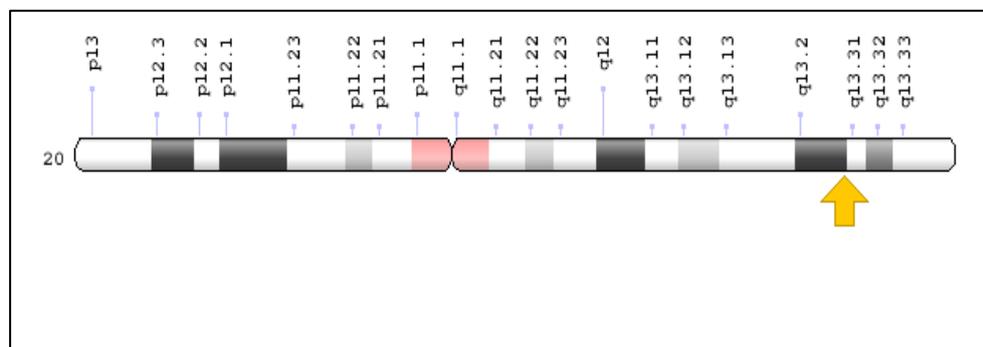
MC5R diekspresikan dalam banyak jaringan perifer manusia, termasuk kelenjar adrenal, adiposit, leukosit, dan banyak lainnya. Ini juga memiliki distribusi yang sangat terbatas di SSP. Satu-satunya fungsi *MC5R* yang mapan, yang ditemukan dengan penghapusan target reseptor itu, adalah partisipasinya dalam fungsi eksokrin, khususnya sekresi kelenjar sebacea. Meskipun peran melanokortin dalam fungsi kelenjar sebaceous telah dilaporkan sekitar 20 tahun sebelumnya, peran mereka dalam proses tersebut mendapat sedikit perhatian sampai penemuan baru-baru ini. Peran *MC5R* dalam sekresi eksokrin berpotensi dimanfaatkan untuk pengobatan kelainan kulit seperti jerawat dan dermatitis (Gantz & Fong, 2003).

2. Fungsi MC3R

Gen *Melanocortin-3 (MC3R)* gen *pleiotropic*, mempengaruhi komposisi tubuh, natriuresis, fungsi kekebalan tubuh, dan *entrainment* dari ritme sirkadian untuk asupan nutrisi. *MC3R* diekspresikan di daerah hipotalamus dan limbik otak dan di jaringan perifer (Begrache *et al.*, 2013).

Sistem melanokortin memainkan peran fisiologis yang penting dalam homeostasis energi (Ellacott & Cone, 2006). MC3R adalah reseptor spesifik untuk hormon perangsang melanosit (MSH) dan hormone adrenokortropik (ACTH) yang diekspresikan dalam jaringan selain korteks adrenal dan melanosit. MC3R yang diaktifkan oleh ACTH dan MSH dapat merangsang aktivasi protein G yang mengaktifkan adenilat siklase, menghasilkan peningkatan berikutnya dalam konsentrasi AMP siklik (cAMP) dan mengatur beragam respons sinyal seluler (Lisak & Benjamins, 2017). Studi telah menunjukkan bahwa MC3R mempengaruhi asupan energi dan pengeluaran energi. Diamati bahwa mutasi pada MC3R gen dikaitkan dengan risiko peningkatan adipositas selama masa kanak-kanak. MC3R dapat memainkan peran penting dalam regulasi homeostasis energi dan dapat bertindak sebagai target terapi potensial untuk obesitas. Selain itu, MC3R juga berpartisipasi dalam pengaturan ritme sirkadian aktivitas yang terkait dengan perilaku makan dan proses anti-inflamasi (Begrache *et al.*, 2013). Penelitian telah menunjukkan bahwa MC3R mungkin terlibat dalam perkembangan penyakit inflamasi, seperti tuberkulosis paru, radang sendi, radang sendi gigi dan radang sendi. Kondisi kesehatan yang terkait pada perubahan genetik MC3R yaitu lokus indeks massa tubuh bersifat kuantitatif dan menyebabkan kerentanan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (Adams *et al.*, 2011).

Lokasi sitogenik: 20q13.2, yang merupakan lengan panjang (q) kromosom 20 pada posisi 13.2. sedangkan pada lokasi molekul: pasangan basa 56.248.732 hingga 56.249.815 pada kromosom 20 (*Homo sapiens Annotation Release 109, GRCh38.p12*) (Demidowich *et al.*, 2017).



Gambar 3 lokasi kromosom MC3R (Demidowich *et al.*, 2017)

3. Nama lain MC3R

- a. *BMIQ9*
- b. *MC3*
- c. *MC3-R*
- d. *OB20*
- e. *OQTL*
- f. *Melanocortin receptor 3*

4. Ekspresi reseptor

- a. Ekspresi pusat

Reseptor melanokortin MC3 diekspresikan dalam inti hipotalamus, otak tengah, dan batang otak, namun kesamaan dalam ekspresi SSP berakhir di sana. Ekspresi mRNA *MC3R* juga ditemukan di area otak yang menerima persarafan langsung dari neuron immunoreaktif *proopiomelanocortin*, akan tetapi pada nucleus arkuata yang mengandung semua neuron pengeksresi *proopiomelanocortin MC3* bagian otak depan, hanya memeperlihatkan ekspresi mRNA *MC3R* tingkat sedang, sedangkan pada nukleus traktus soliter (NTS) tidak menampakkan ekspresi mRNA *MC3R* (Renquist et al., 2011).

b. Ekspresi perifer

Ekspresi di luar SSP telah menambah kompleksitas reseptor ini, analisis poli (A)+ RNA telah menetapkan adanya transkrip reseptor *melanocortin MC3* dengan ukuran yang sesuai di plasenta manusia, dan di beberapa jaringan usus manusia termasuk lambung, duodenum, dan pankreas menggunakan kombinasi RT-PCR dan teknik *Southern blotting*. Studi lain juga menganalisisi PCR jaringan manusia dan berhasil mendeteksi cDNA *MC3R* di jantung, sementara dengan teknik *southern blotting* dari cDNA yang diperkuat telah mendeteksi ekspresi *MC3R* di testis, ovarium, kelenjar susu, otot rangka, dan ginjal (Renquist et al., 2011). Studi lebih lanjut pada hewan pengerat telah mengkonfirmasi ekspresi *MC3R* di ginjal dan makrofag peritoneum, reseptor *MC3* di wilayah ini dapat berfungsi dalam memodulasi natriuresis dan fungsi kekebalan (Getting et al., 2003).

C. Hubungan Tuberkulosis dan MC3R

Beberapa penelitian hingga saat ini telah membuktikan bahwa faktor genetik berkontribusi terhadap hasil tuberkulosis, dengan perkiraan heritabilitas mulai dari 36% hingga 80%. Sebuah studi epidemiologi klasik tentang kematian dini orang yang diadopsi di Denmark menunjukkan bahwa kontribusi genetik untuk penyakit infeksi lebih besar daripada kanker atau penyakit kardiovaskular (Narasimhan *et al.*, 2013).

Penyakit tuberkulosis dalam keluarga tidak mengikuti pola mendelian dan bersifat poligenik dan multifaktorial. Studi kerentanan genetik dalam tuberkulosis juga rumit dengan adanya dua genom berbeda, bakteri dan inang, dan pengaruh interaksi mereka terhadap penyakit (Aravindan, 2019). Meskipun beberapa gen telah diidentifikasi sebagai gen kerentanan untuk tuberkulosis, perlu untuk diingat bahwa gen lain, lingkungan (termasuk kondisi sosial ekonomi) dan *Mycobacterium tuberculosis* itu sendiri memiliki pengaruh terhadap penyakit, ini menjadi alasan mengapa tidak ada satupun gen utama kerentanan telah diidentifikasi untuk tuberkulosis (McShane, 2003).

Sebelum penemuan *Mycobacterium tuberculosis*, diamati bahwa tuberkulosis sering terjadi pada beberapa anggota keluarga yang sama, muncul menjadi keturunan. Namun, penemuan bakteri memfokuskan perhatian pada pentingnya patogen, sementara genom tuan rumah sebagian besar diabaikan (Delogu *et al.*, 2013). Kerentanan mendelian terhadap infeksi mikobakterium adalah sindrom manusia yang jarang

terjadi di mana individu yang terkena sangat rentan terhadap mycobacteria non-patogenik, termasuk BCG, dan Salmonella . Penelitian Al-Muhsen & Casanova (2008) telah mengidentifikasi mutasi dalam kasus ini, sebagian besar pada gen yang penting untuk kekebalan terhadap patogen intraseluler di interleukin (IL) -12 / IL-23 / interferon (IFN) - γ sumbu. Keberadaan individu-individu ini menyiratkan bahwa genom manusia normal dapat berkontribusi terhadap kerentanan terhadap tuberkulosis dan temuan menyarankan gen kandidat untuk menyelidiki pada populasi umum (Gonzaga-Jauregui *et al.*, 2012).

Enam pemindaian *genome-wide link* telah dilakukan dalam genetika tuberkulosis manusia hingga saat ini, dan meskipun area hubungan putatif telah ditemukan, tidak ada puncak hubungan yang diidentifikasi oleh penelitian ini telah mencapai signifikansi genom. Hal pertama dari penelitian tuberkulosis ini dilakukan menggunakan *sibpairs* dari Gambia dan Afrika Selatan dan mengidentifikasi kromosom 15q dan Xq mengandung gen kerentanan yang mungkin berkaitan dengan tuberkulosis (Bellamy, 2006). Pemetaan halus kromosom 15q11-q13 menunjukkan bahwa ubiquitin protein ligase E3A (*human papilloma virus E6-associated protein, Angelman syndrome*) (*UBE3A*) atau gen di dekatnya mungkin terlibat dalam patogenesis tuberkulosis. Sebuah penelitian di Brasil, yang meneliti tuberkulosis dan keluarga kusta, menyarankan tiga wilayah (10q26.13, 11q12.3 dan 20p12.1) (Miller *et al.*, 2004). Penelitian Grant *et al.*, (2016) di Maroko mengenai pemindaian

genom untuk mengenali kromosom 8q12-q13 sebagai gen dominan tuberkulosis aktif yang dominan masih belum teridentifikasi, sedangkan studi keempat oleh Cooke *et al.*, (2008), menggunakan populasi Afrika Selatan dan Malawi mengidentifikasi area pada kromosom 6p21 – q23 dan 20q13.31–33 dan studi lanjutan yang melibatkan reseptor *cathepsin Z* (*CTSZ*) dan *Melanocortin-3* (*MC3R*) gen dalam kerentanan tuberkulosis. Protein MC3R diekspresikan dalam jaringan perifer seperti sel imun dan memainkan peran dalam beberapa sistem biologis, mengatur homeostasis energi, metabolisme lemak, sistem kardiovaskular dan peradangan (Getting *et al.*, 2008).

Adams *et al.*, (2011) pada jurnalnya yang berjudul *Association of CTSZ rs34069356 and MC3R rs6127698 Gene Polymorphisms with Pulmonary Tuberculosis*, menyatakan bahwa *MC3R* adalah reseptor yang banyak diekspresikan di otak dan di berbagai jaringan perifer, dan telah terbukti berkontribusi pada banyak sistem biologis, termasuk pengaturan homeostasis energi dan metabolisme lemak serta peradangan. Faktor risiko genetik untuk tuberkulosis dapat berbeda antara populasi yang berbeda. Replikasi asosiasi genetik yang dilaporkan sebelumnya di populasi lain oleh, oleh karena itu diperlukan untuk menentukan asosiasi risiko genetik di setiap populasi. *MC3R* dan *CTSZ* teridentifikasi sebagai dua gen baru yang berkontribusi terhadap kerentanan tuberkulosis pada populasi Afrika. Mereka juga memberikan bukti bahwa variasi dalam dua gen ini berperan dalam patogenesis tuberkulosis (Cooke *et al.*, 2008).

Stein *et al.*, (2008) juga mereplikasi temuan Cooke, sehingga memberikan laporan replikasi pertama dari gen kandidat tuberkulosis yang baru dipublikasikan yaitu *CTSZ* dan *MC3R*, demikian pula pada populasi Iran penelitian menunjukkan bahwa variasi *MC3R* rs6127698 adalah faktor risiko kerentanan terhadap tuberkulosis. Adams *et al.*, (2011) juga menemukan bahwa *MC3R* polimorfisme secara bermakna terkait dengan tuberkulosis.

TB termasuk salah satu penyakit yang bermanifestasi dengan inflamasi dan infeksi. Peredaran leukosit dari pembuluh darah ke tempat infeksi merupakan ciri penyakit inflamasi dan terjadi setelah paparan allergen dan agen infeksi (Galli *et al.*, 2008). Respon ini terjadi segera dan perlu diatur secara terkontrol dan memastikan bahwa homeostasis dikembalikan ke jaringan dengan cara yang tergantung waktu. Respon host inflamasi didorong pula oleh mediator pro inflamasi, termasuk sitokin IL-1 β , TNF α dan IL-8 (Kany *et al.*, 2019). Peptida melanokortin (misalnya α -melanokortin merangsang hormon α -MSH) berasal dari molekul *precursor* yang lebih besar yang disebut gen *pro-opiomelanocortin* (*POMC*) dan mengerahkan efek biologisnya melalui aktivitas kelompok reseptor berpasangan G-protein, yang disebut reseptor melanokortin (MCRs) (Meroni *et al.*, 2019). Analisis *in vitro* mengidentifikasi adanya dua reseptor (*MC1* dan *MC3R*) pada makrofag alveolar dan menunjukkan bahwa *MC3R* aktif secara fungsional (Patel *et al.*, 2011).

Penelitian Getting *et al.*, (2008) membuktikan bahwa *MC3R* berperan dalam memodulasi peradangan paru, dimana peptida melanokortin menghambat akumulasi leukosit dalam peradangan alergi dan non-alergi pada tikus, dan efek perlindungan ini dikaitkan dengan aktivasi *MC3R*. Penghambatan akumulasi leukosit adalah melalui penghambatan $TNF-\alpha$ pada model inflamasi non-alergi tetapi tidak *IL-5* pada model alergi. Data ini telah menyoroti potensi agonis *MC3R* selektif sebagai terapi anti-inflamasi baru pada peradangan paru (Lipton *et al.*, 2000).

D. Tinjauan tentang Ekspresi Gen

Transkripsi, translasi, dan modifikasi protein berikutnya mewakili transfer informasi genetik dari salinan arsip DNA ke mRNA, dilanjutkan dengan produksi protein. Meskipun semua sel dalam suatu organisme mengandung DNA, jenis sel dan fungsi yang berbeda secara mendasar karena adanya perbedaan kualitatif dan kuantitatif dalam ekspresi gen mereka, dan kontrol ekspresi gen merupakan jantung dalam diferensiasi dan perkembangan (Gibney & Nolan, 2010).

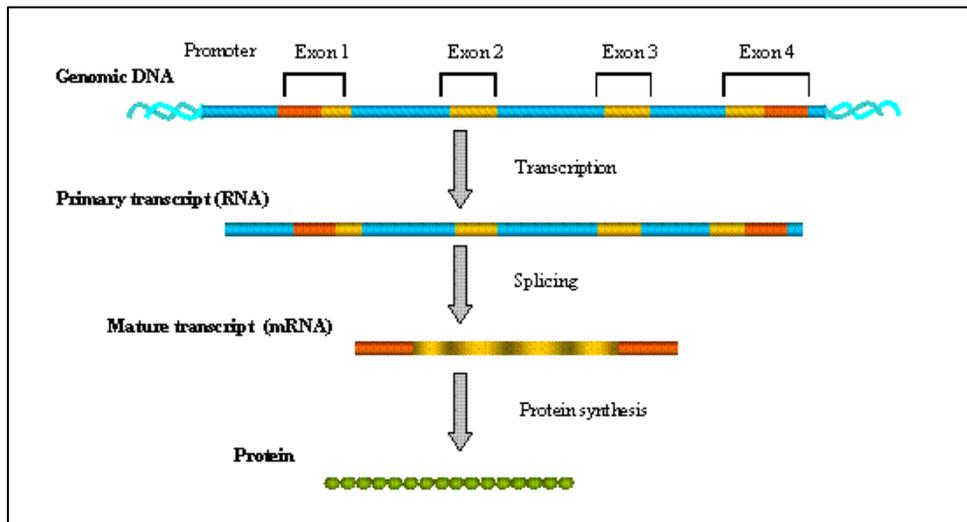
Ekspresi gen adalah proses penentuan sifat dari suatu organisme oleh gen. Suatu sifat yang dipunyai oleh suatu organisme merupakan hasil proses metabolisme yang terjadi di dalam sel. Proses metabolisme dapat berlangsung karena adanya enzim yang berfungsi sebagai katalisator proses-proses biokimia. Enzim dan protein lainnya diterjemahkan dari urutan nukleotida yang ada pada molekul mRNA, dan mRNA itu sendiri

disintesis berdasarkan utas cetakan DNA. Gen tersusun dari molekul DNA, sehingga gen menentukan sifat suatu organisme (Suharsono, 2005).

Ekspresi gen di dalam sel memerlukan dua proses yaitu transkripsi dan translasi. Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi RNA. Transkripsi adalah proses yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik. Urutan nukleotida pada salah satu untai molekul DNA digunakan sebagai cetakan (template) untuk sintesis molekul RNA. Molekul RNA yang disintesis adalah mRNA (messenger RNA), tRNA (transfer RNA) dan rRNA (ribosomal RNA). Molekul mRNA adalah RNA yang merupakan salinan kode-kode genetik pada DNA yang dalam proses selanjutnya (pada proses translasi) akan diterjemahkan menjadi urutan asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein tertentu. tRNA adalah RNA yang berperan membawa asam-asam amino spesifik yang akan digabungkan dalam sintesis protein (translasi). Molekul rRNA adalah RNA yang digunakan untuk menyusun ribosom, yaitu partikel sel yang digunakan sebagai tempat untuk sintesis protein (Lodish *et al.*, 2000).

Dalam transkripsi beberapa komponen utama yang terlibat adalah: (1) urutan DNA yang akan ditranskripsi, (2) enzim RNA polimerase, (3) faktor-faktor yang ditranskripsi dan (4) prekursor untuk sintesis RNA. Urutan DNA yang ditranskripsi adalah gen yang yang diekspresikan. Secara garis besar gen merupakan suatu urutan DNA yang mengkode urutan lengkap

asam amino suatu polipeptida atau molekul RNA tertentu (Alberts *et al.*, 2002).



Gambar 4 Cara Kerja Ekspresi Gen (Alberts *et al.*, 2002)

Secara sederhana dapat dijelaskan bahwa ketika gen diekspresikan, informasi genetik (urutan dasar) pada DNA pertama kali disalin ke molekul mRNA (transkripsi). Molekul mRNA kemudian meninggalkan inti sel dan memasuki sitoplasma, di mana mereka berpartisipasi dalam sintesis protein dengan menentukan asam amino tertentu yang membentuk protein individu (Alberts *et al.*, 2002).

E. Tinjauan tentang *Real Time PCR*

Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) adalah salah satu teknik yang paling banyak digunakan dalam biologi molekuler modern (Garibyan & Avashia, 2013). RT-PCR memiliki berbagai keunggulan, selain untuk amplifikasi atau perbanyakkan DNA fragmen yang dapat diamati secara cepat, teknik ini juga dapat digunakan untuk menentukan

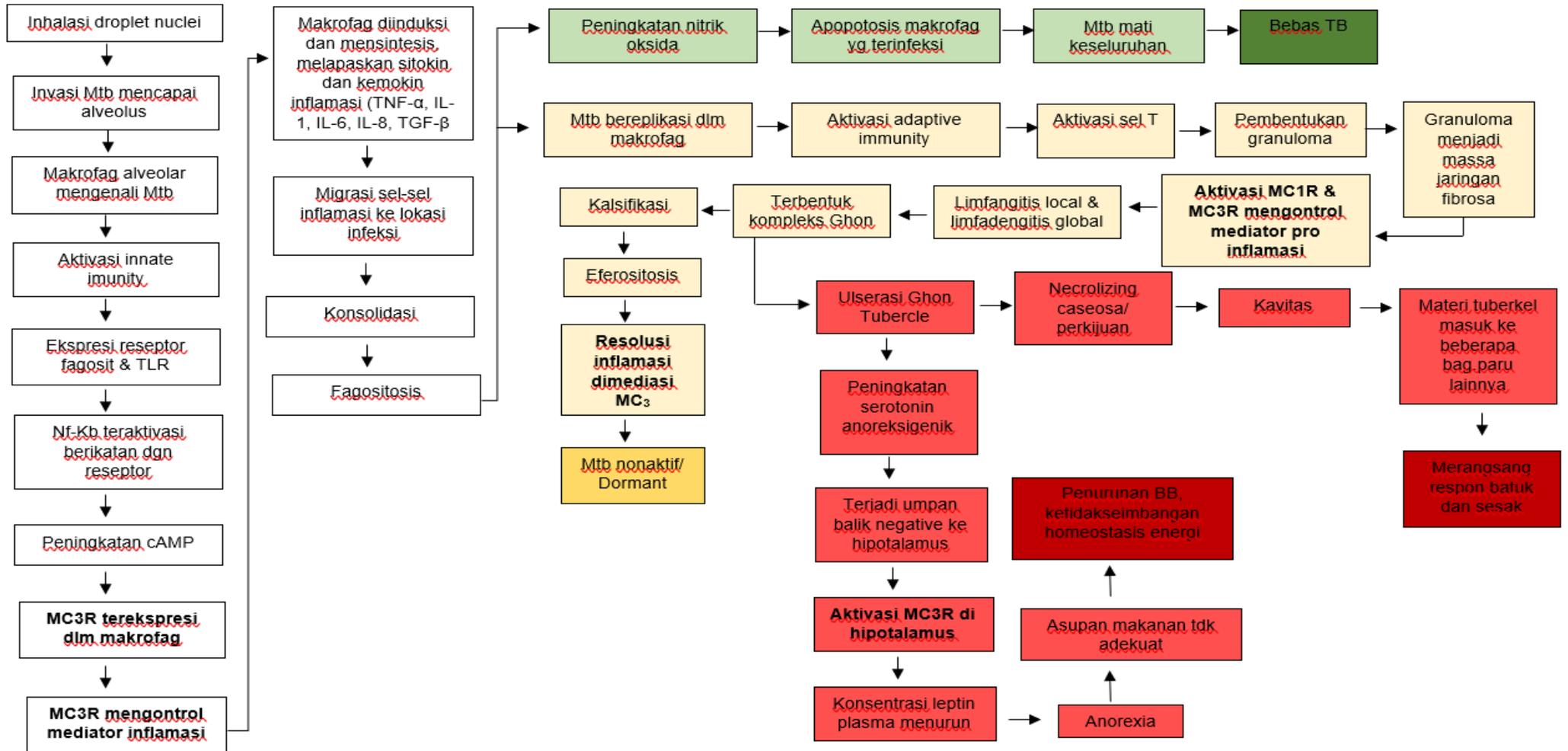
konsentrasi DNA yang terdapat dalam sampel. Maka teknik ini disebut *quantitative* PCR (qPCR) (Bleve *et al.*, 2003).

Prinsip proses amplifikasi menggunakan RT-PCR sama dengan proses amplifikasi pada PCR secara konvensional. Namun dalam RT-PCR terdapat tambahan komponen PCR yaitu probe. Dimana *probe* merupakan primer yang diberi label pewarna *dye* yang terdiri atas reporter dan peredam pewarna (*quencher*). Fluoresensi dari reporter hanya dilepaskan ketika dua pewarna secara fisik terpisah melalui hibridasi atau aktivitas *nuclease*. Standar posisi label *dye*, yaitu *quencher* berada pada 3' dan reporter pada 5' probe (Johansson, 2006).

Instrumen *real-time* PCR mendeteksi ampikon dengan cara mengukur peningkatan pewarna (*dye*) fluoresen yang berpendar ketika terikat dengan *double-stranded* DNA, karena sifat inilah maka pertumbuhan fragment DNA hasil amplifikasi dapat diikuti secara seketika, semakin banyak DNA yang terbentuk semakin tinggi pula intensitas fluoresensi yang dihasilkan PCR kuantitatif dimungkinkan dapat mendeteksi secara akurat konsentrasi DNA hingga hitungan picogram atau setara dengan sel tunggal karena sensitifitas *dye* yang sangat tinggi. Hasil peningkatan fluoresensi digambarkan melalui kurva amplifikasi yang menunjukkan tiga fasa yaitu fasa awal, fasa eksponensial atau puncak dan fasa *plateau* atau stabil (Vaerman *et al.*, 2004).

Tiga komponen utama dalam instrumen RT-PCR yaitu *thermal block cycler* sebagai akurasi data, *optical system* sebagai deteksi data, dan *software* sebagai analisis data. RT PCR juga dapat menganalisis banyak sampel dalam waktu bersamaan menggunakan *multiwell plates* (Rocha et al., 2015).

F. Kerangka Teori



G. Hipotesis

1. Ada perbedaan kenaikan ekspresi gen *MC3R* antara penderita TB aktif, kontak serumah, dan kontrol sehat
2. Ada perbedaan Kadar *MC3R* pada penderita TB aktif, kontak serumah dan kontrol sehat
3. Ada hubungan antara ekspresi gen *MC3R* dan kadar protein *MC3R* dengan TB aktif

H. Kerangka Konseptual

