

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) adalah salah satu penyakit menular yang paling mematikan di seluruh dunia. Perkiraan terakhir menunjukkan bahwa kira-kira seperempat dari semua orang di seluruh dunia telah terinfeksi oleh Mtb dan TB menyebabkan 1,4 juta kematian setiap tahun (Sinigaglia et al. 2020).

Berdasarkan laporan terbaru, pada tahun 2023 dunia mencatat 8,2 juta kasus baru tuberkulosis (TB), meningkat dari 7,5 juta kasus pada tahun sebelumnya. Diperkirakan pada terdapat **1,25 juta kematian akibat tuberkulosis (TB)** di seluruh dunia. India menjadi kontributor terbanyak dengan 26 % dari total kasus global, diikuti Indonesia sebesar 10 %, serta China, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh, dan Republik Demokratik Kongo sebagai negara dengan beban TB tertinggi (WHO 2024). Sementara itu, data per 2 Maret 2022 menunjukkan bahwa 49 % penderita TB telah memulai terapi, 86 % menjalani pengobatan hingga tuntas, dan 46 % kasus TB resisten obat telah teridentifikasi. Tercatat 8.296 kasus TB resisten rifampisin/MDR, di mana 5.125 kasus mendapatkan pengobatan, serta 38.707 kasus TB pada anak dan 8.344 kasus TB–HIV (WHO 2021).

Di Indonesia sendiri diperkirakan terdapat 1.090.000 kasus baru TB setiap tahun dengan sekitar 125.000 kematian—setara 14 kematian per jam. Untuk menuju eliminasi TB pada tahun 2030, pemerintah menargetkan pada 2025 tercapainya deteksi 90 % kasus dan inisiasi pengobatan 100 %, disertai upaya signifikan menurunkan insidens dan angka kematian TB (Laporan Kinerja KEMKES, 2023).

Pada tahun 2022, jumlah kasus tuberkulosis paru yang terkonfirmasi dengan hasil laboratorium positif basil tahan asam (BTA) di Sulawesi Selatan tercatat sebanyak 36.218 kasus. Berdasarkan data yang diperoleh dari Bidang Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular (P2PL) Dinas Kesehatan Kota Makassar, tingkat notifikasi kasus (*case notification rate*, CNR) untuk semua kasus tuberkulosis per 100.000 penduduk adalah 400. Selain itu, tingkat deteksi kasus (*case detection rate*, CDR) mencapai 87,7%.

Infeksi TB laten adalah kondisi di mana terdapat respons imun yang persisten terhadap stimulasi oleh antigen Mtb tanpa adanya manifestasi klinis yang jelas. Diperkirakan bahwa sepertiga dari populasi global terinfeksi oleh Mtb, sebagian besar individu tersebut tidak menunjukkan tanda atau gejala yang mengindikasikan adanya penyakit tuberkulosis (TB) dan tidak dalam keadaan menular. Individu dengan infeksi laten ini tetap berada dalam risiko untuk berkembang menjadi TB aktif dan berpotensi menularkan infeksi kepada orang lain.

Beberapa penelitian telah mengindikasikan bahwa antara 5%-10% dari individu yang terinfeksi Mtb akan mengalami perkembangan menjadi TB aktif, biasanya dalam kurun waktu lima tahun pertama setelah infeksi awal. Risiko untuk mengembangkan penyakit TB aktif setelah terjadinya infeksi dipengaruhi oleh berbagai faktor, di mana salah satu yang paling signifikan adalah status imunologi individu tersebut (WHO, 2018).

Meskipun angka kematian TB menurun sekitar 3% setiap tahun secara global, TB tetap menjadi penyebab kematian kesembilan di seluruh dunia dan penyebab utama kematian yang dikaitkan dengan agen infeksi tunggal (WHO 2021), infeksi TB laten telah menjadi masalah klinis yang signifikan. (Lin et al. 2019) Perlu mencari marker diagnostik untuk mendiagnosis TB aktif dan TB laten secara dini karena; Pengobatan TB laten merupakan intervensi kesehatan utama untuk pencegahan TB, khususnya penting untuk anak-anak berumur kurang dari 5 tahun yang kontak serumah dengan individu yang telah dikonfirmasi secara bakteriologis, TB paru atau HIV (Lin et al. 2019). Saat ini, belum ada tes yang tersedia untuk mendiagnosis TB laten dan juga tidak ada biomarker yang dapat diandalkan untuk mengetahui keberhasilan pengobatan. Tes yang saat ini digunakan untuk mendiagnosis TB laten termasuk *tuberkulin skin test* (TST) dan *interferon gamma release assays* (IGRAs). TST digunakan secara luas dan murah. Namun, kekhususan TST rendah pada populasi yang divaksinasi dengan basil *Calmette–Guérin* (BCG), dan sensitivitas TST buruk pada orang dengan *immunocompromised* dengan kedua faktor ini menjadi penyebab utama hasil positif palsu (Getahun et al. 2015).

Interferon gamma release assays memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan TST. Secara khusus, IGRA seperti T-SPOT TB dan QuantiFERON-TB mengevaluasi respons *in vitro* sel T atau sel mononuklear darah perifer (PBMC) dengan mengukur pelepasan IFN- γ dari sel T CD4⁺ spesifik antigen Mtb setelah

stimulasi dengan antigen Mtb spesifik misalnya, target antigenik awal yang disekresikan 6 kDa [ESAT-6] dan protein filtrat kultur 10 [CFP-10]), dan dengan demikian menghindari hasil positif palsu karena vaksinasi BCG sebelumnya (Simmons et al. 2018). Hasil tes tidak sepenuhnya akurat, dan hanya menunjukkan apakah seseorang telah terpapar TB dan tidak memprediksi kemungkinan perkembangan TB aktif di masa depan.

Pengendalian TB dibutuhkan modalitas yang akurat dan cepat untuk diagnosis. Metode standar melibatkan pertumbuhan mikroorganisme dalam medium selektif membutuhkan waktu 3-12 minggu, pemeriksaan sediaan apus mempunyai sensitivitas yang rendah, *polymerase chain reaction* (PCR) dan pemeriksaan imunologi walaupun berlangsung cepat tetapi hasil dapat positif/negatif palsu sehingga kurang dapat diandalkan (Pattnaik et al. 2022).

Diagnosis TB dengan pemeriksaan mikroskopis dahak, kultur mikobakteri tetap menjadi standar emas untuk diagnosis TB, serta tes cepat molekuler seperti *geneXpert*, juga digunakan jika tersedia. Namun, penundaan yang lama dalam diagnosis merupakan masalah berkelanjutan dalam pengelolaan TB. Terapi TB dengan beberapa antibiotik membutuhkan waktu 6 bulan dengan pemantauan minum obat, yang mungkin menunjukkan kepatuhan yang buruk atau terjadi resistensi obat, merupakan persyaratan penting lainnya dalam pengelolaan TB. Saat ini, sputum negatif di periksa setelah 2 bulan merupakan penanda standar emas keberhasilan pengobatan, seringkali 3 bulan atau lebih dalam terapi sputum belum diperiksa, selama waktu itu mereka tetap menular. Biomarker baru yang membantu diagnosis dan identifikasi pengobatan awal, cepat dan murah akan sangat membantu dalam mengurangi beban infeksi TB (Barry et al. 2015).

Metode diagnostik TB yang invasif, seperti biopsi jaringan paru atau kelenjar getah bening, memerlukan fasilitas dan keahlian khusus serta berisiko menimbulkan komplikasi. Oleh karena itu, pencarian biomarker non-invasif yang sangat penting untuk meningkatkan diagnosis TB yang lebih cepat, mudah, dan dapat diakses luas (Pattnaik et al. 2022); (Chen et al. 2008). Selain itu, metode invasif umumnya sulit diterapkan pada kelompok pasien tertentu seperti anak-anak, pasien dengan kondisi lemah, atau pada kasus TB ekstra paru yang sulit dijangkau dengan teknik konvensional (Digambiro, 2025). Modalitas invasif juga seringkali tidak nyaman bagi pasien dan dapat menimbulkan trauma fisik maupun psikis.

Salah satu modalitas penanda biologis yang sedang diteliti untuk TB adalah microRNA (miRNA). miRNA telah diperkenalkan sebagai biodiagnostik terbaru yang terlibat dalam beberapa kasus seperti kanker, penyakit kardiovaskuler, diabetes, kehamilan dan penyakit penular. Bukti - bukti yang terkumpul menunjukkan bahwa sebagian besar respon imun sel di kendalikan oleh miRNA (Pattnaik et al. 2022).

miRNA adalah RNA non-coding kecil, dengan panjang 18-24 nukleotida, yang terlibat dalam regulasi ekspresi gen pada tingkat pasca-transkripsi dan mempengaruhi banyak biologis proses termasuk respon imun (Fu et al. 2011; Yang Lu et al. 2019). Bukti penelitian terbaru bahwa sebagian besar respon imun yang diperantarai oleh sel dikendalikan oleh miRNA dan modulasi ekspresi miRNA yang terkait proses biologi, ini adalah salah satu strategi mencegah penyebaran infeksi.

Bakteri *Mtb* telah mengembangkan berbagai strategi untuk menghindari sistem kekebalan tubuh dan bertahan dalam sel imun inang (*host*). *Mtb* dapat mengatur beberapa proses seluler seperti fusi fagosom-lisosom dalam makrofag, apoptosis, autofagi, peradangan, respons imun bawaan (*innate*), ekspresi *Major Hystocompatibility Complex* (MHC) kelas II, dan presentasi antigen oleh MHC kelas I pada sel dendritik. microRNA berperan dalam mengendalikan proses biologis ini (Sabir et al. 2018; Sinigaglia et al. 2020).

miRNA melibatkan beberapa proses seluler seperti kontrol siklus sel, apoptosis dan beberapa proses perkembangan dan fisiologi. Perubahan ekspresi miRNA melibatkan dan ekspresi gen dikaitkan dengan patogenesis berbagai penyakit pernafasan miRNA telah terbukti mempengaruhi perkembangan penyakit yang berasal dari imunologis melalui modulasi respons imun bawaan dan adaptif terhadap patogen melalui efeknya pada diferensiasi sel imun (Lin et al. 2019).

Kelainan spesifik dalam ekspresi miRNA sering dikaitkan dengan beberapa penyakit, termasuk penyakit menular, maka sedang dipelajari miRNA sebagai penanda diagnostik potensial atau alat pengobatan (Sinigaglia et al. 2020; L. S. H. Wu et al. 2014). Beberapa penelitian menyoroti perubahan tingkat miRNA yang bersirkulasi. Pasien tuberkulosis dan karakteristik miRNA yang teridentifikasi dapat membedakan pasien TB aktif dari pasien TB laten. Biomarker diagnostik dan prognostik baru akan dikembangkan akan sangat berguna untuk skrining infeksi dan penyakit tuberkulosis (L. S. H. Wu et al. 2014).

Respon imun yang efektif terhadap *Mtb* sangat diperlukan dalam pengendalian TB, namun regulasi yang ketat diperlukan untuk mencegah dampak imunopatologis. Inflamasi berlebihan yang dimediasi oleh sel *T helper* 1 (Th1) dapat mengganggu keseimbangan respon imun adaptif dan berpotensi merugikan inang, sementara inflamasi yang rendah memungkinkan pertumbuhan bakteri secara tidak terkontrol. Dalam konteks ini, sel *T regulator* (*Treg*) yang bersifat anti-inflamasi berperan sebagai komponen penting dalam mekanisme imun terhadap infeksi *Mtb*, dengan fungsi utama dalam mengimbangi respon imun pro-inflamasi yang dimediasi oleh sel Th1. Salah satu regulator molekuler yang berperan dalam keseimbangan ini adalah *microRNA* (miRNA), khususnya miRNA-142-3p. Studi sebelumnya melaporkan bahwa ekspresi miRNA-142-3p mengalami penurunan dalam sel *T CD4+* serta dalam darah perifer pasien TB, khususnya pada makrofag yang terinfeksi *Mycobacterium bovis* (Kleinstein et al. 2013). Mekanisme utama dari miRNA-142-3p dalam mengatur inflamasi diduga berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat produksi mediator pro-inflamasi, seperti *nuclear factor kappa B* (NF- κ B), *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), dan *interleukin 6* (IL-6) dalam makrofag. Hal ini dimungkinkan melalui penargetan gen *IL-1 receptor-associated kinase 1* (IRAK1), yang berperan krusial dalam respon imun bawaan melalui jalur pensinyalan *toll-like receptor* (TLR). Lebih lanjut, ekspresi protein IRAK1 mengalami penurunan regulasi pada tingkat pasca-transkripsi akibat interaksi dengan miRNA-142-3p (Sinigaglia et al. 2020); (Xu et al. 2013)

miRNA-142-3p terlibat dalam regulasi yaitu mengatur aktivasi autofagi untuk mendukung kelangsungan hidup *Mtb* intraselluler (Pattnaik et al. 2022), gen yang ditargetkan *autophagy-related protein* (ATG)-1 ATG16L1 (Yunjie Lu et al. 2018). Pada penelitian (Lv et al. 2019) adalah miR-142-3p menurunkan regulasi miRNA ATG16L1 dan produksi ATG16L1 yang telah dikaitkan dengan penyakit autoimun. Sebaliknya, *knock-down* (penonaktifan) miRNA-142-3p akan meningkatkan ekspansi sel tTreg. Penelitian ini memberikan pendekatan baru yang menggunakan penonaktifan miRNA-142-3p untuk meningkatkan aktivitas sel tTreg dengan meningkatkan miRNA, protein ATG16L1 dan proses autofagi (Yunjie Lu et al. 2018).

Fagositosis membutuhkan aktivasi sejumlah besar mekanisme yang mencakup aktivasi sitoskeleton aktin yang diatur oleh kompleks Arp2/3. Mekanisme molekuler yang

terlibat dalam peristiwa awal fagositosis dari *Mtb* patogen dipromosikan oleh aktivator anggota keluarga *Wiskott Aldrich Syndrome Protein* (WASP). Penelitian yang dilakukan dengan memeriksa peran potensial dari miRNA dalam fagositosis, menggunakan profil ekspresi genom untuk mengidentifikasi miRNA setelah infeksi mikobakteri. miRNA-142-3p yang diaktifkan saat infeksi, diprediksi dan dikonfirmasi untuk menargetkan *Neural-Wiskott-Aldrich Protein Syndrome* (N-WASP), protein pengikat aktin yang terlibat dalam dinamika aktin selama penyerapan bakteri, regulasi dinamika aktin yang diperlukan dalam fagositosis (Bettencourt et al. 2011; Mirzaei et al. 2021). Dalam penelitian ini, upregulasi miRNA ini dalam makrofag tikus berkorelasi terbalik dengan tingkat N-WASP, setelah infeksi dengan bakteri hidup, menunjukkan peran aktif *Mtb* pada regulasi fagositosis, pada tingkat pasca transkripsi, dalam sel inang. miRNA-142-3p dapat melemahkan fagositosis dengan mengganggu aktivitas N-Wasp dalam sel inang. Secara keseluruhan hasil ini menunjukkan untuk pertama kalinya bahwa miRNA terlibat dalam regulasi yang dimediasi aktin. fagositosis bakteri patogen dan bahwa ini adalah target langsung dari *Mtb* (Bettencourt et al. 2011; Mirzaei et al. 2021).

Studi yang dilakukan oleh Meng, Wang, dan Jia (2014) menyelidiki ekspresi miRNA yang berkaitan dengan infeksi TB laten pada lini sel makrofag U937 yang secara stabil mengekspresikan protein *Mtb* Hsp16.3. Melalui analisis profil ekspresi miRNA, ditemukan sebanyak 149 miRNA yang terekspresi secara berbeda pada sel U937 yang mengekspresikan *Mtb* Hsp16.3 dibandingkan dengan kontrol yang mengekspresikan *green fluorescent protein* (GFP). Temuan ini menunjukkan adanya keterlibatan miRNA dalam mekanisme molekuler yang mendasari latensi *Mtb* di dalam makrofag. Dari penelitian tersebut didapatkan miRNA-93-3p ditemukan mengalami downregulasi pada TB laten. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Lan et al. melaporkan bahwa ekspresi miRNA mir-93* mengalami peningkatan (upregulasi) pada individu dengan TB aktif. Perbedaan pola ekspresi ini menunjukkan potensi miRNA-93-3p sebagai biomarker diagnostik yang dapat membedakan antara TB laten dan TB aktif secara molekul (Lan et al. 2015).

Pemilihan miRNA-142-3p dan miRNA-93-3p sebagai marker diagnostik dalam penelitian ini didasarkan pada bukti bahwa keduanya memiliki peran penting dalam regulasi sistem imun terhadap *Mtb*. miRNA-142-3p diketahui memiliki peran kunci dalam regulasi fungsi sel imun, termasuk makrofag dan sel T, yang merupakan komponen utama dalam

respons imun terhadap TB. Studi menunjukkan bahwa ekspresi miRNA-142-3p meningkat dalam TB aktif dibandingkan dengan TB laten, yang mengindikasikan keterlibatan miRNA ini dalam diferensiasi status infeksi. miRNA-142-3p juga berperan dalam modulasi produksi sitokin proinflamasi, yang sangat berpengaruh dalam progresi infeksi TB. miRNA-93-3p berperan dalam regulasi jalur inflamasi serta aktivitas makrofag dalam melawan infeksi *Mtb*. Studi menunjukkan bahwa ekspresi miRNA-93-3p dapat berbeda secara signifikan antara pasien dengan TB aktif dan TB laten, menjadikannya kandidat biomarker yang potensial.

Sepengetahuan peneliti, penelitian terkait ekspresi miRNA pada penderita TB belum pernah dilakukan pada populasi orang Indonesia. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melihat peran miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p sebagai biomarker untuk membedakan antara penderita TB aktif dengan TB laten di Kota Makassar. Diharapkan penelitian ini dapat memberi manfaat terkait biomarker untuk mengdiagnosis secara dini penderita TB aktif dan TB laten serta pendekatan diagnostik yang lebih sensitif dan spesifik.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang masalah, maka pertanyaan penelitian: Bagaimanakah ekspresi miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p sebagai biomarker pada penderita TB aktif dan TB laten

1. Apakah ada perbedaan ekspresi miRNA-93-3p pada penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat?
2. Apakah ada perbedaan ekspresi miRNA-142-3p pada penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat?
3. Apakah miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p berpotensi sebagai biomarker TB aktif dan TB laten?

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan umum

Mengetahui ekspresi mirRNA-93-3p dan miRNA-142-3p pada penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat

I.3.2. Tujuan khusus

1. Mengetahui ekspresi miRNA-93-3p dan penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat.
2. Mengetahui ekspresi miRNA-142-3p pada penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat.
3. Menganalisis potensi miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p sebagai biomarker TB aktif dan TB laten.

I.4. Manfaat Penelitian

I.4.1. Manfaat pengembangan ilmu

1. Melihat hasil analisis beberapa tes miRNA (miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p) pada penderita TB aktif, TB laten dan Kontrol Sehat sehingga dapat diketahui tes miRNA mana yang lebih dominan diantara kedua miRNA tersebut
2. Memberikan informasi ilmiah tentang biomarker untuk diagnostik TB aktif dan TB laten sehingga dapat menjadi bahan pengembangan ilmu kedokteran khususnya di bidang Mikrobiologi.

I.4.2. Manfaat aplikasi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pemilihan biomarker untuk diagnostik TB aktif dan TB laten.

I.5. Nilai Kebaharuan Penelitian (*Novelty*)

Sepengetahuan peneliti, penelitian terkait ekspresi miRNA pada penderita tuberkulosis pada populasi orang Indonesia khususnya di Makassar belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini, dianalisis dua jenis miRNA yaitu miRNA-142-3p dan miRNA-93-3p untuk membedakan TB aktif dari TB laten .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. TUBERKULOSIS (TB) GLOBAL

Tuberkulosis (TB) tetap menjadi salah satu tantangan kesehatan masyarakat terbesar secara global. Berdasarkan *Global Tuberculosis Report* terbaru yang diterbitkan oleh World Health Organization (WHO) pada tahun 2024, diperkirakan terdapat sekitar 10,8 juta kasus baru TB yang terjadi secara global sepanjang tahun 2023, dengan kisaran interval kepercayaan 95% antara 10,1 hingga 11,7 juta kasus. Angka kejadian ini setara dengan 134 kasus per 100.000 populasi dunia, mencerminkan beban penyakit yang masih tinggi di berbagai wilayah.

Distribusi geografis menunjukkan bahwa wilayah Asia Tenggara menyumbang kasus terbanyak dengan estimasi 4,91 juta kasus, diikuti oleh wilayah Afrika (2,55 juta kasus), Pasifik Barat (1,88 juta kasus), wilayah Mediterania Timur (936 ribu kasus), Amerika (342 ribu kasus), dan wilayah Eropa (225 ribu kasus). Komposisi demografis dari kasus TB global terdiri atas 55% laki-laki, 33% perempuan, dan sekitar 12% kasus terjadi pada kelompok anak-anak dan remaja.

Dari sisi mortalitas, TB menyumbang sekitar 1,25 juta kematian pada tahun 2023, termasuk di dalamnya 1,09 juta kematian pada individu tanpa infeksi HIV, dan 161 ribu kematian pada individu yang hidup dengan HIV. Dengan demikian, TB kembali menjadi penyebab kematian akibat penyakit infeksi tertinggi secara global, melampaui kematian akibat COVID-19 di tahun yang sama.

Jumlah kasus TB yang berhasil didiagnosis dan dilaporkan pada tahun 2023 mencapai 8,2 juta kasus, angka tertinggi sejak tahun 1995. Meski demikian, WHO mencatat adanya kesenjangan diagnosis dengan perkiraan 2,7 juta kasus TB yang belum terdeteksi atau dilaporkan, menandakan masih adanya hambatan dalam sistem surveilans dan pelayanan kesehatan di berbagai negara.

Tren penurunan angka kejadian TB secara global sejak tahun 2015 hingga 2023 hanya mencapai 8,3%, masih jauh dari target strategi *End TB* yang menetapkan pengurangan

sebesar 50% pada tahun 2025. Meskipun demikian, adanya stabilisasi angka insiden dan kematian pada tahun 2023 dibandingkan dengan tahun-tahun awal pandemi COVID-19 menunjukkan tanda-tanda pemulihan sistem kesehatan global dalam mendeteksi dan menangani kasus TB.

Berdasarkan tren dan proyeksi epidemiologi, WHO memperkirakan bahwa pada tahun 2024, beban TB global akan berada dalam kondisi relatif stabil, dengan kemungkinan terjadi sedikit penurunan insiden dan mortalitas, tergantung pada efektivitas intervensi nasional dan global, khususnya dalam hal deteksi dini, pengobatan, serta pencegahan penularan (WHO, 2024).

II.2. Tuberkulosis di Indonesia

Indonesia menempati peringkat kedua tertinggi jumlah kasus tuberkulosis (TB) di dunia setelah India, diikuti oleh Tiongkok, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh, dan Republik Demokratik Kongo secara berurutan (WHO 2024). Pada tahun 2020, Indonesia berada di posisi ketiga dalam beban kasus TB terbanyak global. Angka kejadian TB di Indonesia terus menunjukkan tren peningkatan; pada tahun 2021 diperkirakan terdapat sekitar 969.000 kasus baru TB. Insidensi TB di Nusantara mencapai 354 per 100.000 penduduk—artinya setiap 100.000 jiwa, terdapat 354 orang terdiagnosis TB aktif (WHO 2022).

II.3. Tuberkulosis

II.3.1. Definisi

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA). Sebagian besar kuman TB sering ditemukan menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan TB paru, namun bakteri ini juga memiliki kemampuan menginfeksi organ tubuh lainnya (TB ekstra paru) seperti pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya (PNPK 2020). Penyakit ini sudah ada sejak zaman kuno dan telah menyerang umat manusia selama lebih dari 4.000 tahun. Gejala TB tergantung di mana di dalam tubuh bakteri TB sedang bertumbuh. Dalam kasus TB paru, mungkin menimbulkan gejala, seperti batuk kronis, nyeri pada dada, hemoptisis, kelemahan atau kelelahan, kehilangan berat badan, demam, dan keringat malam (Zaman 2010).

II.3.2. Etiologi dan Transmisi

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) adalah basil tahan asam dan alkohol. Ini adalah bagian dari kelompok organisme yang diklasifikasikan sebagai *M. tuberculosis* kompleks. Anggota lain dari kelompok ini adalah, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, dan *Mycobacterium microti*. Sebagian besar organisme mikobakteri lain diklasifikasikan sebagai organisme mikobakteri non-TB atau atipikal.

Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri intraseluler non-spora, non-motil, obligat-aerobik, fakultatif, *katalase*-negatif. Organisme ini bukan gram positif atau gram negatif karena reaksi yang sangat buruk dengan pewarnaan Gram. Sel-sel positif yang lemah kadang-kadang dapat ditunjukkan pada pewarnaan Gram, sebuah fenomena yang dikenal sebagai "sel hantu" (Adigun and Singh 2022).

Organisme ini memiliki beberapa fitur unik dibandingkan dengan bakteri lain seperti adanya beberapa lipid di dinding sel termasuk asam mikolat, faktor *cord*, dan Wax-D. Kandungan lipid yang tinggi dari dinding sel dianggap berkontribusi pada sifat-sifat berikut dari infeksi *Mtb*:

- a) Resistensi terhadap beberapa antibiotik
- b) Kesulitan pewarnaan dengan pewarnaan Gram dan beberapa pewarnaan lainnya
- c) Kemampuan untuk bertahan hidup dalam kondisi ekstrim seperti keasaman atau alkalinitas ekstrim, situasi oksigen rendah, dan kelangsungan hidup intraseluler (dalam makrofag) (Adigun and Singh 2022).

Pewarnaan *Ziehl-Neelsen* adalah salah satu pewarnaan yang paling umum digunakan untuk mendiagnosis TB. Sampel diwarnai dengan karbol fuchsin (pewarnaan warna merah muda), kemudian dihilangkan warna dengan asam-alkohol, dan kemudian diwarnai dengan pewarna lain (biasanya, metilen biru berwarna biru). Sampel positif akan mempertahankan warna merah muda dari karbol fuchsin asli, oleh karena itu disebut basil tahan asam (BTA) (Adigun and Singh 2022).

Tuberkulosis biasanya menular dari manusia ke manusia lain lewat udara melalui *droplet nucleus* (<5 microns) yang keluar ketika seorang yang terinfeksi TB paru atau TB laring batuk, bersin, atau bicara. *Droplet nucleus* 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. *Droplet nucleus* 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, *droplet nucleus* ini memiliki kemampuan mencapai ruang alveolar dalam paru, dimana bakteri kemudian melakukan replikasi (PNPK 2020).

Ada 3 faktor yang menentukan transmisi *Mtb* :

- a) Jumlah organisme yang keluar ke udara.
- b) Konsentrasi organisme dalam udara, ditentukan oleh volume ruang dan ventilasi.
- c) Lama seseorang menghirup udara terkontaminasi.

Satu batuk dapat memproduksi hingga 3,000 *droplet nucleus* dan satu kali bersin dapat memproduksi hingga 1 juta *droplet nucleus*. Sementara itu, dosis yang diperlukan untuk terjadinya infeksi TB adalah 1 sampai 10 basil. Kasus yang paling infeksius adalah penularan dari pasien dengan hasil pemeriksaan sputum positif, dengan hasil 3+ merupakan kasus paling infeksius. Pasien dengan hasil pemeriksaan sputum negatif bersifat tidak terlalu infeksius. Kasus TB ekstra paru hampir selalu tidak infeksius, kecuali bila penderita juga memiliki TB paru. Individu dengan TB laten tidak bersifat infeksius, karena bakteri yang menginfeksi mereka tidak bereplikasi dan tidak dapat melakukan transmisi ke organisme lain (PNPK 2020).

II.3.3. Faktor Risiko Tuberkulosis

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

- a) Orang dengan HIV positif dan penyakit imunokompromais lain.
- b) Orang yang mengonsumsi obat imunosupresan dalam jangka waktu panjang.
- c) Perokok
- d) Konsumsi alkohol tinggi
- e) Anak usia <5 tahun dan lansia
- f) Memiliki kontak erat dengan orang dengan penyakit TB aktif yang infeksius.

- g) Berada di tempat dengan risiko tinggi terinfeksi tuberkulosis (contoh: lembaga permasyarakatan, fasilitas perawatan jangka panjang)
- h) Petugas kesehatan (PNPK 2020).

II.3.4. Patogenesis

Setelah inhalasi, nukleus droplet nucleus terbawa menuju percabangan trakea-bronkial dan dideposit di dalam bronkiolus respiratorik atau alveolus, di mana nukleus droplet nucleus tersebut akan dicerna oleh makrofag alveolus yang kemudian akan memproduksi sebuah respon nonspesifik terhadap basilus (PNPK 2020). *Mycobacterium tuberculosis* adalah patogen intraseluler aerobik obligat, yang memiliki predileksi pada jaringan paru yang kaya akan suplai oksigen. Basil menyebar dari tempat infeksi awal di paru-paru melalui limfatik atau darah ke bagian lain dari tubuh, puncak paru-paru dan kelenjar getah bening regional (Alamelu 2017).

Infeksi bergantung pada kapasitas virulensi bakteri dan kemampuan bakterisid makrofag alveolus yang mencernanya. Apabila basilus dapat bertahan melewati mekanisme pertahanan awal ini, basilus dapat bermultiplikasi di dalam makrofag (Zhai et al. 2019). 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 10^3 - 10^4 , yang merupakan jumlah yang cukup untuk menimbulkan sebuah respon imun seluler yang dapat dideteksi dalam reaksi pada uji tuberkulin skin test (Smith 2003). Bakteri kemudian akan merusak makrofag dan mengeluarkan produk berupa tuberkel basilus dan kemokin yang kemudian akan menstimulasi respon imun. Sebelum imunitas seluler berkembang, tuberkel basilus akan menyebar melalui sistem limfatik menuju nodus limfe hilus, masuk ke dalam aliran darah dan menyebar ke organ lain (Smith 2003).

Beberapa organ dan jaringan diketahui memiliki resistensi terhadap replikasi basilus ini. Sumsum tulang, hepar dan limpa ditemukan hampir selalu mudah terinfeksi oleh mikobakteri. Organisme akan dideposit di bagian apeks paru, ginjal, tulang, dan otak, di mana kondisi organ-organ tersebut sangat menunjang pertumbuhan bakteri mikobakteri.

Pada beberapa kasus, bakteri dapat berkembang dengan cepat sebelum terbentuknya respon imun seluler spesifik yang dapat membatasi multiplikasinya.

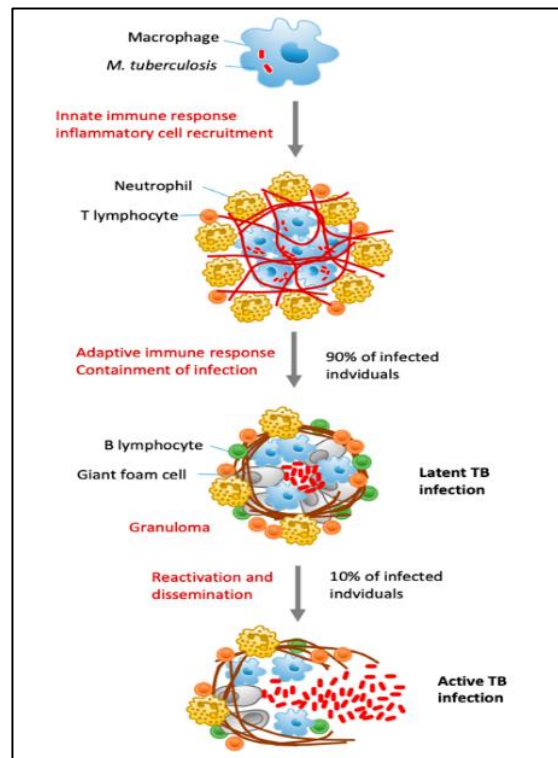
a) Tuberkulosis primer

Infeksi primer terjadi pada paparan pertama terhadap tuberkel basili. Hal ini biasanya terjadi pada masa anak, oleh karenanya sering diartikan sebagai TB anak. Namun, infeksi ini dapat terjadi pada usia berapapun pada individu yang belum pernah terpapar Mtb sebelumnya. Droplet nucleus yang mengandung basili yang terhirup dan menempati alveolus terminal pada paru, biasanya terletak di bagian bawah lobus superior atau bagian atas lobus inferior paru. Basili kemudian mengalami terfagositosis oleh makrofag; produk mikobakterial mampu menghambat kemampuan bakterisid yang dimiliki makrofag alveolus, sehingga bakteri dapat melakukan replikasi di dalam makrofag. Makrofag dan monosit lain bereaksi terhadap kemokin yang dihasilkan dan bermigrasi menuju fokus infeksi dan memproduksi respon imun. Area inflamasi ini kemudian disebut sebagai *Ghon focus*. Basili dan antigen kemudian bermigrasi keluar dari *Ghon focus* melalui jalur limfatik menuju Limfe nodus hilus dan membentuk kompleks (*Ghon*) primer. Respon inflamasinya menghasilkan gambaran tipikal nekrosis kaseosa. Di dalam nodus limfe, limfosit T akan membentuk suatu respon imun spesifik dan mengaktivasi makrofag untuk menghambat pertumbuhan basili yang terfagositosis. Fokus primer ini mengandung 1,000–10,000 basili yang kemudian terus melakukan replikasi. Area inflamasi di dalam fokus primer akan digantikan dengan jaringan fibrotik dan kalsifikasi, yang didalamnya terdapat makrofag yang mengandung basili terisolasi yang akan mati jika sistem imun host adekuat. Beberapa basili tetap dorman di dalam fokus primer untuk beberapa bulan atau tahun (Williams 1919), hal ini dikenal dengan “kuman laten” (PNPK 2020). Infeksi primer biasanya bersifat asimtomatik dan akan menunjukkan hasil tuberkulin positif dalam 4-6 minggu setelah infeksi. Dalam beberapa kasus, respon imun tidak cukup kuat untuk menghambat perkembangbiakan bakteri dan basili akan menyebar dari sistem limfatik ke aliran darah dan menyebar ke seluruh tubuh, menyebabkan penyakit TB aktif dalam beberapa bulan. TB primer progresif pada parenkim paru menyebabkan membesarnya fokus primer, sehingga dapat ditemukan banyak area menunjukkan gambaran nekrosis kaseosa dan dapat ditemukan kavitas, menghasilkan gambaran klinis yang serupa dengan TB post primer (PNPK 2020).

b) Tuberkulosis pasca primer

TB pasca primer terjadi pada individu yang sebelumnya telah tersensitisasi oleh bakteri TB, muncul setelah fase laten selama beberapa bulan hingga tahun. Penyakit ini dapat disebabkan oleh reaktivasi basil dorman dalam jaringan atau reinfeksi dari paparan ulang terhadap penderita TB aktif. Reaktivasi lebih sering terjadi pada individu dengan sistem imun melemah, seperti penderita HIV. Pada anak-anak, perkembangan penyakit intratorakal pasca infeksi primer lebih cepat dibandingkan orang dewasa. Gambaran radiologi bisa menunjukkan limfadenopati intratorakal dan infiltrat paru, sementara TB post-primer umumnya melibatkan parenkim paru, sering kali menyebabkan kavitas di lobus superior dengan kerusakan jaringan luas. Sputum pasien biasanya positif TB, tetapi limfadenopati intratorakal jarang ditemukan (Gambar 2.1) (PNPK 2020).

Proses inflamasi kronis dalam TB melibatkan makrofag berbusa, yang memfagositosis puing seluler kaya lipid dan kolesterol, serta basil *Mycobacterium tuberculosis* yang tidak bereplikasi. Basil ini dapat berpindah melalui cabang bronkial, menyebar kembali ke parenkim paru melalui aerosol inspirasi, menyebabkan lesi kavitas baru (Ahmad 2011; Wong and Jacobs n.d.). Tekanan oksigen tinggi di lobus atas mendukung pertumbuhan basil ekstraseluler, memicu respon inflamasi kuat, dan memperparah kerusakan jaringan (Agarwal, Gordon, and Martinez 2021). Salah satu sifat utama Mtb adalah kemampuannya bertahan lama dalam makrofag di granuloma tuberkel, menghindari mekanisme antimikroba inang seperti apoptosis dan fagositosis. Sebagian besar infeksi TB laten tetap terkendali oleh imun bawaan dan adaptif, tetapi 5-15% dapat berkembang menjadi TB aktif akibat penurunan respons imun, menunjukkan peran penting imunitas dalam pengendalian penyakit (Sinigaglia et al. 2020).



Gambar 2.1. Patogenesis Tuberkulosis (Sumber: Sinigaglia et al. 2020)

Kemampuan tubuh untuk secara efektif membatasi atau menghilangkan inokulum infeksi ditentukan oleh status kekebalan individu, faktor genetik, dan apakah itu paparan primer atau sekunder terhadap organisme. Selain itu, *Mtb* memiliki beberapa faktor virulensi yang menyulitkan makrofag alveolar untuk menghilangkan organisme dari individu yang terinfeksi. Faktor virulensi termasuk kandungan asam mikolat yang tinggi dari kapsul luar bakteri, yang membuat fagositosis menjadi lebih sulit untuk makrofag alveolar. Selanjutnya, beberapa konstituen lain dari dinding sel seperti faktor *cord* dapat secara langsung merusak makrofag alveolar. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa *Mtb* mencegah pembentukan fagolisosom yang efektif, oleh karena itu, mencegah atau membatasi eliminasi organisme (Adigun and Singh 2022).

Penularan aerogenik *Mtb* ke kontak person di ruang udara bersama tergantung pada :

1. durasi paparan;
2. intensitas paparan;
3. batuk dan faktor pejamu terkait dahak; dan

4. karakteristik virulensi terkait strain *Mtb*.

Droplet nuclei infeksius disimpan dalam ruang alveolar di *Mtb* dapat difagositosis oleh makrofag alveolar, sel epitel, sel dendritik dan neutrofil. Makrofag alveolar dan DC kemudian diyakini mengangkut *Mtb* ke kelenjar getah bening lokal di mana sel T disiapkan dan diperluas secara klon. Penyakit TB aktif, ada respon imun paru lokal yang ditandai dengan alveolitis yg di aktivasi oleh limfosit positif reseptor sel T α/β yang diaktifkan, kemudian merekrut makrofag imatur dan respon Th1 spesifik antigen *Mtb* yang sangat kuat dengan sejumlah besar IFN- γ yang disekresikan secara lokal (Cohen et al. 2019). Peningkatan jumlah neutrofil alveolar juga dapat ditemukan pada subkelompok pasien. Mekanisme penghindaran imun yang diinduksi *Mtb* dengan produksi sitokin penekan dan molekul efektor dapat melawan respons imun protektif dan membatalkan mekanisme imun bakterisida. Peran sel T regulator (Treg) dalam menekan respon imun lokal dan memungkinkan pertumbuhan mikobakteri belum dipahami dengan baik (Borkute et al. 2021)(Dheda et al. 2010)

II.4. Aspek Immunologi Tuberkulosis

II.4.1. Respon Imunitas Bawaan pada Tuberkulosis

Respons imun bawaan terhadap bakteri intraseluler, termasuk *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), dimediasi oleh sel-sel imun seperti fagosit dan sel pembunuh alami (natural killer/NK). Fagosit, yang terdiri dari neutrofil pada tahap awal dan makrofag pada tahap lanjutan, berperan dalam fagositosis dan eliminasi mikroba. Namun, *Mtb* memiliki kemampuan untuk bertahan dan bereplikasi dalam fagosit dengan menghambat proses degradasi intraseluler. Identifikasi patogen ini dilakukan melalui aktivasi ***Toll-like receptors* (TLR)** serta ***NOD-like receptors* (NLR)**, yang kemudian memicu aktivasi fagosit dan respons imun seluler (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021).

Bakteri intraseluler seperti *Mtb* dapat menginduksi aktivasi sel NK dengan meningkatkan ekspresi ligan pengaktif sel NK pada sel yang terinfeksi, serta merangsang sel dendrit dan makrofag untuk memproduksi **interleukin-12 (IL-12)** dan **interleukin-15 (IL-15)**, yang merupakan sitokin utama dalam aktivasi sel NK. Aktivasi sel NK menghasilkan **interferon-gamma (IFN- γ)** yang berperan dalam meningkatkan aktivitas makrofag dan efektivitas

fagositosis terhadap *Mtb*. Selain itu, kelompok sel imun bawaan lain, yaitu **Innate Lymphoid Cells (ILC) tipe 1**, juga berkontribusi dalam pertahanan terhadap infeksi intraseluler dengan mensekresi **IFN- γ dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)**, yang lebih lanjut mengaktifkan makrofag dan meningkatkan eliminasi patogen (Gambar.2.2) (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021; Kim 2005).

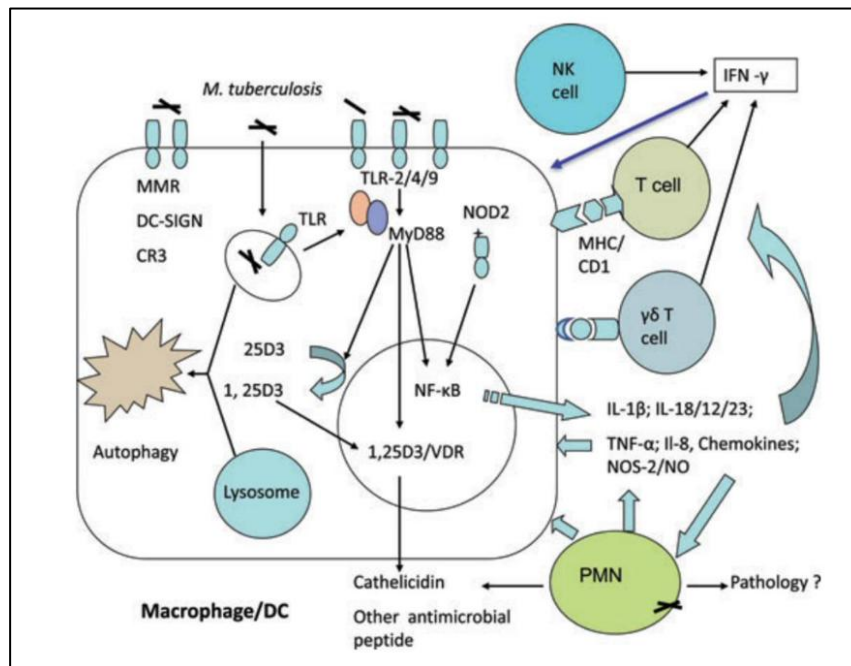
a) **Peran Epitel Saluran Napas dalam Imunitas terhadap Tuberkulosis**

Epitel saluran napas memiliki peran penting dalam pertahanan terhadap *Mtb* sebagai bagian dari sistem imun bawaan. Selain sebagai **barier fisik**, epitel saluran napas juga berfungsi sebagai modulasi imunologi melalui ekspresi ***pattern recognition receptors (PRRs)***. PRRs berperan dalam mengenali keberadaan *Mtb* dan menginisiasi respons imun bawaan dengan meningkatkan kapasitas antimikroba melalui sekresi mediator inflamasi dan modulasi komposisi cairan saluran napas. Aktivasi PRRs memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi yang berperan dalam rekrutmen sel imun dan aktivasi **sel T invariant**, yang kemudian merangsang produksi **IFN- γ dan TNF- α** (Kim 2005). Studi pada model hewan knockout menunjukkan bahwa beberapa jalur pensinyalan PRRs berperan krusial dalam mekanisme pertahanan inang terhadap infeksi *Mtb* (Sia and Rengarajan 2019).

b) **Interaksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan Reseptor Imun Inang**

Ketika *Mtb* masuk ke dalam paru-paru melalui inhalasi aerosol, patogen ini berinteraksi dengan berbagai reseptor imun inang yang berperan dalam pengenalan dan inisiasi respons imun. Beberapa reseptor utama yang terlibat dalam proses ini meliputi:

- ***Toll-like receptors (TLRs)***
- **Reseptor komplemen 3 (CR3)**
- **Reseptor mannose**
- ***Reseptor scavenger***
- ***Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin (DC-SIGN)***



Gambar 2.2. Imunitas Bawaan Infeksi TB (Sumber Dheda et al. 2010))

Setelah dikenali oleh reseptor-reseptor tersebut, *Mtb* difagositosis oleh makrofag dan sel dendrit melalui berbagai jalur, termasuk **reseptor CR3, scavenger receptor, macrophage mannose receptor (MMR), TLR, NOD2, dan DC-SIGN**. Aktivasi makrofag melalui jalur pensinyalan **nuclear factor-kappa B (NF-κB)** menginduksi pelepasan sitokin pro-inflamasi, kemokin, dan molekul antimikroba, serta aktivasi **vitamin D receptor (VDR)**, yang berperan dalam induksi ekspresi peptida antimikroba seperti **cathelicidin dan beta-defensin**. Proses ini juga didukung oleh mekanisme autofagi yang meningkatkan eliminasi bakteri intraseluler (Gambar 2.2.) (Dheda et al. 2010).

Selain fagosit, sel polimorfonuklear (PMN) juga berperan dalam mengenali dan menelan *Mtb*, serta mensekresi peptida antimikroba yang berfungsi membunuh bakteri. Sel NK, sel **T gamma-delta (Tγδ)**, dan sel **T terbatas CD1** turut berkontribusi dalam eliminasi patogen dengan melepaskan faktor sitotoksik serta mensekresi **IFN-γ**, yang semakin memperkuat aktivasi makrofag (Dheda et al. 2010).

1) Regulasi Respon Imun terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

Reseptor-reseptor yang berperan dalam mengenali *Mtb* masing-masing memiliki target spesifik dalam mendeteksi komponen mikroba, seperti **lipoprotein, DNA yang mengandung CpG, lipoarabinomannan mannose-capped, dan phosphatidylinositol**

mannoside. Protein D surfaktan paru mengikat **lipoarabinomannan** pada permukaan *Mtb*, yang berkontribusi dalam pembatasan pertumbuhan intraseluler bakteri dengan meningkatkan **fusi fagosom-lisosom** (Zihad et al. 2023) (Ferguson et al. 2006).

Selain itu, pengenalan *Mtb* oleh **cytosolic nucleotide-binding oligomerization domain (NOD2) receptors** melalui interaksi dengan **muramyl dipeptide** berperan dalam aktivasi jalur pensinyalan **NF-κB**, yang pada akhirnya menginduksi produksi **sitokin pro-inflamasi dan antimikroba**. Aktivasi **C-type lectin receptor (dectin-1)** juga bekerja secara sinergis dengan **TLR-2** untuk meningkatkan efektivitas respons imun bawaan terhadap *Mtb* (Dheda et al. 2010).

2) Jalur NF-κB dan Aktivasi Vitamin D dalam Imunitas terhadap Tuberkulosis

Jalur pensinyalan **NF-κB** memainkan peran utama dalam regulasi respons imun terhadap *Mtb*, yang mengarah pada beberapa mekanisme berikut:

- a. **Produksi dan sekresi mediator inflamasi**, termasuk **TNF-α, IL-1, IL-12, IL-18, dan kemokin** yang merekrut berbagai sel imun ke lokasi infeksi. **TNF-α** juga berperan dalam produksi **oksida nitrat** oleh makrofag, yang esensial dalam membatasi pertumbuhan bakteri intraseluler. Namun, beberapa protein *Mtb*, seperti **ESAT-6**, diketahui dapat **menghambat aktivasi NF-κB** melalui interferensi dengan interaksi **MyD88 dan IRAK4**, yang berpotensi melemahkan respons imun inang (Domingo-Gonzalez et al. 2016) (Yuk et al. 2024) (Passos et al. 2024).
- b. **Regulasi jalur vitamin D dalam respons imun bawaan**, melalui peningkatan ekspresi **reseptor vitamin D (VDR)** dan **gen vitamin D-1-hidroksilase**, yang mengubah provitamin D menjadi bentuk aktif **1,25(OH)2D3**. Bentuk aktif vitamin D ini kemudian menginduksi ekspresi peptida antimikroba seperti cathelicidin dan beta-defensin, yang memiliki aktivitas membunuh *Mtb* secara langsung. Mekanisme ini juga diperkuat oleh aktivitas **NADPH oksidase 2**, yang meningkatkan pembunuhan fagositik terhadap *Mtb* (Dheda et al. 2010) (Chung et al. 2020) (Philips and Ernst 2012).

II.4.2. Respon Imun Adaptif pada Tuberkulosis

Sistem imun adaptif memainkan peran utama dalam pengendalian infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) melalui rekrutmen dan aktivasi fagosit yang dimediasi oleh sel T, yang dikenal sebagai **imunitas yang diperantarai sel** (*cell-mediated immunity*).

Sel T berperan dalam melindungi inang dari infeksi melalui dua mekanisme utama. Pertama, limfosit **CD4+ T-helper 1 (Th1)** mengaktifkan fagosit melalui interaksi **CD40-ligand (CD40L)** dan sekresi **interferon-gamma (IFN- γ)**, yang menginduksi pembunuhan mikroba yang tertelan dalam fagolisosom makrofag. Kedua, limfosit **CD8+ T sitotoksik (CTLs)** secara langsung membunuh sel inang yang terinfeksi, sehingga menghilangkan mikroba yang lolos dari mekanisme pembunuhan fagosit (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021).

Diferensiasi **CD4+ T-helper** ke subset **Th1** dimediasi oleh **interleukin-12 (IL-12)** yang diproduksi oleh makrofag dan sel dendritik. Sel Th1 yang telah berdiferensiasi kemudian mengekspresikan **CD40L** dan mensekresi **IFN- γ** , yang berinteraksi dengan reseptor CD40 pada makrofag dan menginduksi produksi sejumlah zat antimikroba seperti **oksida nitrat (NO)**, **enzim lisosom**, dan **spesies oksigen reaktif (ROS)**. Studi eksperimental serta gangguan imun bawaan telah menunjukkan pentingnya IL-12 dan IFN- γ dalam kekebalan terhadap bakteri intraseluler. Misalnya, individu dengan mutasi genetik pada reseptor IFN- γ atau IL-12 memiliki kerentanan yang lebih tinggi terhadap infeksi *Mycobacterium atipikal* (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021).

Selain IFN- γ , beberapa sitokin lain turut berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap bakteri intraseluler, termasuk **tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)**. TNF- α yang diproduksi oleh makrofag teraktivasi merekrut serta mengaktivasi fagosit mononuklear dalam menghadapi infeksi mikobakteri. Kondisi ini menjadi dasar mengapa individu yang menerima terapi **antagonis TNF- α** untuk penyakit autoimun, seperti rheumatoid arthritis, memiliki peningkatan risiko infeksi tuberkulosis laten yang bereaktivasi (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021).

a) **Respons CD8+ T terhadap Infeksi *Mycobacterium tuberculosis***

Antigen bakteri yang difagositosis dapat merangsang respons sel T **CD8+** jika antigen tersebut ditranspor dari fagosom ke dalam sitosol atau jika bakteri lolos ke dalam sitoplasma sel yang terinfeksi. Di dalam sitosol, mikroba tidak lagi peka terhadap mekanisme mikrobisida fagosit, sehingga eliminasi sel inang yang terinfeksi oleh **CD8+ cytotoxic T lymphocytes (CTLs)** menjadi esensial untuk mengendalikan infeksi. Dengan demikian, efektor imunitas seluler, yakni **sel T CD4+ Th1** yang mengaktifkan makrofag dan **CD8+**

CTLs yang membunuh sel inang terinfeksi, berperan secara sinergis dalam pertahanan terhadap bakteri intraseluler (Abbas, Lichtman, and Pillai 2021).

Respons imun sel T terhadap infeksi *Mtb* diawali ketika patogen mencapai **kelenjar getah bening** setelah fase inisiasi respons imun bawaan. Aktivasi imun seluler ini umumnya memerlukan waktu **2–6 minggu setelah infeksi primer**, yang tercermin dalam **hipersensitivitas tipe lambat terhadap uji tuberkulin intradermal** (de Martino et al. 2019). Makrofag dan sel dendrit yang terinfeksi oleh *Mtb* kemudian mempresentasikan antigen kepada sel T dan sel B dalam sistem imun adaptif. IL-12 memainkan peran kunci dalam aktivasi sel dendrit di paru-paru yang diinduksi oleh patogen. **Apoptosis makrofag** dapat melepaskan vesikel apoptosis yang mengandung antigen mikobakteri ke sel dendrit yang tidak terinfeksi, sehingga meningkatkan efisiensi presentasi antigen. Sebaliknya, penghambatan apoptosis makrofag dapat menurunkan efisiensi transfer antigen dan menghambat aktivasi CD8⁺ T cells (Mihret 2012, Harding and Boom 2010, Espinosa-Cueto et al. 2017).

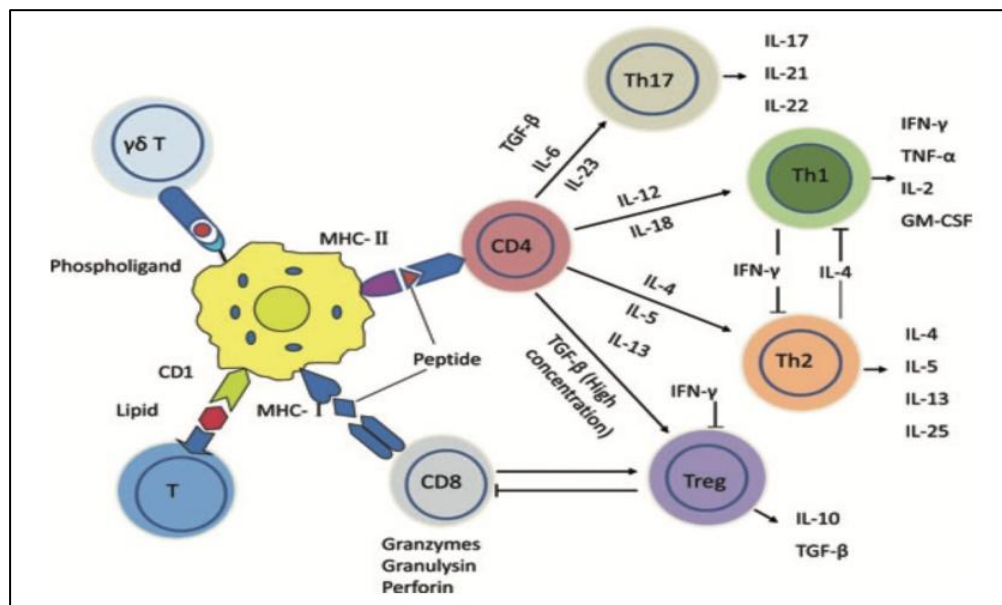
Sel **CD4⁺ Th1** berperan lebih dominan dibandingkan **CD8⁺ CTLs** dalam menghasilkan **IFN- γ** sebagai respons terhadap infeksi mikobakteri. Kekurangan sel T CD4⁺ diketahui dapat memperlambat migrasi sel T CD8⁺ ke organ target dan menunda pembentukan kekebalan protektif. Namun, limfosit T CD8⁺ tetap mampu menghasilkan **granulisin dan perforin**, yang memiliki efek langsung dalam membunuh sel yang terinfeksi mikobakteri dan berperan dalam kekebalan protektif terhadap infeksi sekunder.

b) **Diferensiasi Subset Sel T Helper dan Perannya dalam Infeksi Tuberkulosis**

Sel CD4⁺ T-helper dapat berdiferensiasi menjadi beberapa subset efektor, termasuk **Th1, Th2, Th17, dan T regulator (Treg)**.

1. Sel **Th1** menghasilkan **IFN- γ , TNF- α , IL-2, limfotoksin, dan granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)**, yang berperan dalam aktivasi makrofag dan granulosit untuk meningkatkan efektivitas eliminasi mikobakteri.
2. Sel **Th2** mensekresi **IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13**, yang berperan dalam stimulasi sel B dan produksi antibodi, tetapi memiliki efek **supresif terhadap respons Th1**.

3. **Sel Th17**, subset sel T-helper yang unik, mensekresi **IL-17, IL-17F, IL-21, dan IL-22**, yang merekrut neutrofil dan monosit ke lokasi peradangan dan berperan dalam pertahanan awal terhadap patogen.
4. **Sel T regulator (Treg)**, termasuk **CD4+CD25+FoxP3+**, berperan dalam menekan respons imun melalui produksi **TGF- β dan IL-10**, serta mengontrol keseimbangan antara inflamasi dan toleransi imun (Dhedha et al. 2010). (Gambar 2.3)



Gambar 2.3. Imunitas adaptif infeksi TB (Sumber : Dheda et al, 2010)

c) Mekanisme Regulasi Imun oleh Subset Sel T

Sitokin yang dihasilkan selama infeksi berperan dalam menentukan diferensiasi subset sel T.

- **IL-12, IL-18, dan IFN- γ** memfasilitasi diferensiasi ke arah **Th1**.
- **IL-4, IL-5, dan IL-13** menginduksi diferensiasi **Th2**.
- **IL-23, IL-6, IL-21, dan konsentrasi rendah TGF- β** memicu diferensiasi **Th17**.
- **IL-2 dan konsentrasi tinggi TGF- β** mendorong pembentukan **Treg**.

Selain itu, **IL-6** berperan dalam **menghambat pembentukan Treg**, tetapi bersama dengan **TGF- β** dapat menginduksi diferensiasi **Th17**. Mekanisme ini menunjukkan adanya **regulasi silang kompleks** antara subset Th1, Th2, Th17, dan Treg dalam mengontrol imunitas terhadap *Mtb* (Dhedha et al. 2010).

d) **Imunologi Tuberkulosis Laten**

Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) pada individu imunokompeten dapat mengalami **fase laten**, di mana basil tetap berada dalam **granuloma** dalam keadaan tidak bereplikasi namun tetap memiliki potensi untuk mengalami reaktivasi dan menyebabkan **tuberkulosis (TB) aktif** ketika terjadi gangguan sistem imun. Model klasik TB laten menggambarkan keadaan statis di mana *Mtb* tetap dorman hingga terjadi gangguan pada imunitas pejamu. Namun, temuan eksperimental terbaru mengindikasikan bahwa TB laten merupakan suatu kondisi **dinamis**, di mana terjadi **reaktivasi endogen dan respons imun yang terus-menerus berlangsung**, bahkan pada individu dengan sistem imun yang berfungsi optimal (Ahmad 2011).

Model ini menunjukkan bahwa selama infeksi, *Mtb* mampu berkembang di dalam **fagosom makrofag**. Namun, beberapa basil yang dilepaskan dari **makrofag nekrotik** di lingkungan ekstraseluler granuloma akan mengalami **penghentian replikasi** sebelum respons imun pejamu berkembang secara optimal. Faktor utama yang berkontribusi terhadap penghentian pertumbuhan basil meliputi:

1. **Hipoksia** dalam lingkungan ekstraseluler granuloma, yang menyerupai kondisi **fase stasioner** dalam kultur bakteri.
2. **Pelepasan enzim bakterisida** dari makrofag dan neutrofil yang mengalami kematian seluler.

Basil *Mtb* yang tumbuh aktif pada akhirnya dapat dieliminasi oleh respons imun yang berkembang secara efektif. Namun, populasi **basil dorman** yang tidak bereplikasi tetap bertahan karena mekanisme **resistensi terhadap eliminasi imun** (Ahmad 2011)

e) **Peran Makrofag Berbusa dalam Dinamika TB Laten**

Model patogenesis TB laten juga menunjukkan adanya peran **makrofag berbusa (foam macrophages)** yang muncul selama proses inflamasi kronis. Sel-sel ini terbentuk akibat fagositosis terhadap **puing-puing seluler yang kaya akan asam lemak dan kolesterol** yang berasal dari membran sel yang mengalami degradasi. Selain itu, makrofag berbusa juga dapat memfagositosis **basil *Mtb* kaya lipid** yang dalam kondisi **dorman**. Dalam kondisi ini, basil tidak dapat tumbuh dan berkembang di lingkungan intraseluler makrofag

yang telah teraktivasi, namun juga tidak dapat dieliminasi sepenuhnya akibat sifat basil yang berada dalam **keadaan tidak bereplikasi**.

Makrofag berbusa yang mengandung ***Mtb* dorman** memiliki mobilitas dalam jaringan paru dan dapat bermigrasi dari **granuloma paru ke cabang bronkial**, kembali menuju daerah **parenkim paru yang berbeda**. Proses ini didukung oleh aerosol yang dihasilkan oleh udara inspirasi, yang memungkinkan **redistribusi basil *Mtb*** di dalam paru dan berpotensi memicu **infeksi ulang (reinfeksi)** pada lokasi baru. **Reinfeksi di lobus atas paru-paru** memiliki potensi yang lebih besar untuk menyebabkan **lesi kavitas**, yang ditandai dengan:

- **Tingginya tekanan oksigen** di lobus atas, yang mendukung pertumbuhan **basil *Mtb* ekstraseluler**.
- **Peningkatan beban bakteri**, yang melampaui kapasitas kontrol sistem imun pejamu.
- **Respons inflamasi yang lebih kuat**, yang menyebabkan **kerusakan jaringan, pencairan, dan peningkatan pertumbuhan basil ekstraseluler**, sehingga mempercepat proses **kavitasi** (Ahmad 2011).

II.4.3. Diagnosis Tuberkulosis paru

a) Gambaran klinis

Diagnosis TB dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinik, pemeriksaan fisik/jasmani, pemeriksaan bakteriologik, radiologik dan pemeriksaan penunjang lainnya.

Gejala Klinis

Gejala penyakit TB tergantung pada lokasi lesi, sehingga dapat menunjukkan manifestasi klinis sebagai berikut (PNPK 2020).

- Batuk > 2 minggu
 - Batuk berdahak
 - Batuk berdahak dapat bercampur darah
 - Dapat disertai nyeri dada
 - Sesak napas
- Dengan gejala lain meliputi :
- Malaise
 - Penurunan berat badan

- Menurunnya nafsu makan
- Menggigil
- Demam
- Berkeringat di malam hari

b) Pemeriksaan fisik

Pada pemeriksaan jasmani kelainan yang akan dijumpai tergantung dari organ yang terlibat. Pada tuberkulosis paru, kelainan yang didapat tergantung luas kelainan struktur paru. Pada permulaan (awal) perkembangan penyakit umumnya tidak (atau sulit sekali) menemukan kelainan. Kelainan paru pada umumnya terletak di daerah lobus superior terutama daerah apex dan segmen posterior, serta daerah apex lobus inferior. Pada pemeriksaan jasmani dapat ditemukan antara lain suara napas bronkial, amforik, suara napas melemah, ronki basah, tanda-tanda penarikan paru, diafragma & mediastinum. Pada limfadenitis tuberkulosa, terlihat pembesaran kelenjar getah bening, tersering di daerah leher (pikirkan kemungkinan metastasis tumor), kadang-kadang di daerah ketiak. Pembesaran kelenjar tersebut dapat menjadi “*cold abscess*” (Getahun et al. 2015; PDPI 2016).

c) Pemeriksaan bakteriologi

Semua pasien terduga TB harus menjalani pemeriksaan bakteriologis untuk mengkonfirmasi penyakit TB. Pemeriksaan bakteriologis merujuk pada pemeriksaan apusan dari sediaan biologis (dahak atau spesimen lain), pemeriksaan biakan dan identifikasi *Mtb* atau metode diagnostik cepat yang telah mendapat rekomendasi WHO (PNPK 2020). 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. (Gambar 2.4)

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 *Mtb* dapat dilakukan menggunakan 2 macam medium padat *Lowenstein Jensen* atau Ogawa dan media cair *Mycobacterium growth indicator tube* (MGIT). Biakan *Mtb* 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 molekuler cepat) Pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi DNA *Mtb* saat ini merupakan metode pemeriksaan tercepat yang sudah dapat dilakukan di Indonesia. Metode molekuler dapat mendeteksi *Mtb* dan membedakannya dengan *Non-Tuberculous Mycobacteria* (NTM). Selain itu, metode molekuler dapat mendeteksi mutasi pada gen yang berperan dalam mekanisme kerja obat anti tuberkulosis lini 1 dan lini 2. *World Health Organization* merekomendasikan penggunaan Xpert MTB/RIF untuk mendeteksi resistan 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, namun tidak dapat diterapkan secara rutin karena memerlukan peralatan mahal dan keahlian khusus dalam menganalisisnya. *World Health Organization* telah merekomendasi pemeriksaan molekuler *line probe assay* (LPA) dan TCM, langsung pada spesimen sputum (PNPK 2020).

II.4.4. Tuberkulosis Laten

Kira-kira 5-10% orang yang terinfeksi TB adalah pembawa aktif sepanjang hidup mereka. Sebagian besar orang tidak menunjukkan gejala, yang dikenal sebagai infeksi tuberkulosis

laten (TB laten), 5-15% kasus dengan TB laten dapat berkembang menjadi TB aktif selama masa hidup mereka dan menjadi menular. Risiko perkembangan menjadi lebih tinggi pada anak-anak yang lebih muda dan pasien dengan gangguan kekebalan atau Imunosupresi yang hanya dapat dideteksi dengan bukti uji imunologis terhadap protein mikobakteri, seperti protein murni, *Mtb* dan *purified protein derivative* (PPD), dan mereka kekurangan tanda dan gejala klinis penyakit aktif. Organisasi Kesehatan Dunia memperkirakan bahwa hampir sepertiga penduduk dunia positif untuk tes PPD. Reservoir yang luas ini terdiri dari orang dengan infeksi TB laten sebagai sumber penyakit yang dapat menyebabkan reaktivasi penyakit, terutama negara berkembang dengan tingkat infeksi TB yang tinggi (Behrouzi et al. 2019). Sekarang tes pelepasan interferon-gamma berbasis darah (IGRA) secara luas digunakan untuk mendiagnosis TB dan TB laten karena kesederhanaan dan spesifisitasnya yang tinggi. Tes IGRA positif, rontgen dada normal dan riwayat kontak (terutama dalam 2 tahun di daerah dengan prevalensi tinggi) diperlukan untuk mendiagnosis (Hashimoto et al. 2020).

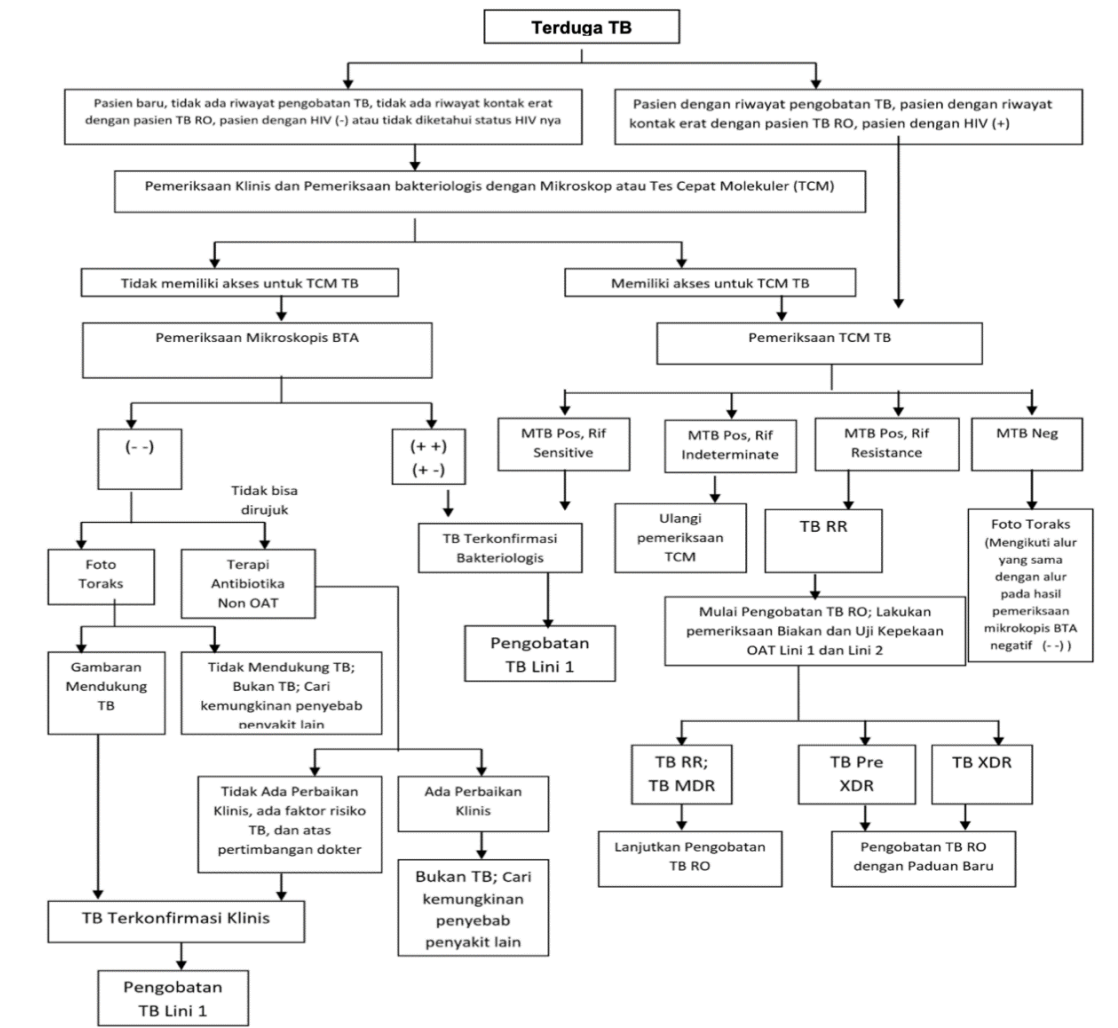
a) Definisi

Tuberkulosis laten adalah seseorang yang terinfeksi kuman *Mtb* 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 berisiko terutama terdapat kontak dengan pasien TB menular (PNPK 2020).

Untuk negara berkembang, WHO menetapkan kelompok berisiko TB 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 imunosupresan lain, pasien yang menjalani hemodialisa, pasien yang menjalani transplantasi organ, pasien yang mendapat anti *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- α)
4. Petugas kesehatan yang melayani pasien tuberkulosis.

5. Bayi, anak-anak, dan dewasa muda terpajan orang dewasa yang berisiko tinggi terinfeksi TB aktif.
6. Kelompok berisiko tinggi diantaranya HIV, kanker dalam kemoterapi, pasien dengan steroid jangka panjang, pasien diabetes melitus, pasien dengan imunosupresan lain, pasien yang menjalani hemodialisa, pasien yang menjalani transplantasi organ, pasien yang mendapat anti *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- α)
7. Petugas kesehatan yang melayani pasien tuberkulosis.
8. Bayi, anak-anak, dan dewasa muda terpajan orang dewasa yang berisiko tinggi terinfeksi TB aktif.
- 9.



Gambar 2. 4 Alur diagnosis TB (Sumber: PNPk 2020)

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 TNF- α 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

b) Diagnosis

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. 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) plus dan T-SPOT®.TB (PNPK 2020).

c) Tatalaksana

Pengobatan TB laten tidak diberikan kepada semua orang dengan hasil pemeriksaan TB laten positif. Penentuan pengobatan individu dengan TB laten tergantung kebijakan masing-masing negara, dipengaruhi oleh epidemi TB dan kemampuan negara tersebut. WHO merekomendasikan pengobatan TB laten di negara berpendapatan rendah atau sedang atau sumber daya terbatas pada anak usia dibawah 5 tahun yang kontak dengan pasien TB dan pasien HIV. Pengobatan diberikan setelah dilakukan evaluasi klinik dengan cermat dan tidak ditemukan TB aktif Pelayanan kesehatan sebaiknya memilih jenis pengobatan yang tepat berdasarkan :

1. Hasil uji kepekaan obat kasus indeks (sumber penularan, jika diketahui)
2. Penyakit lain yang menyertai
3. Kemungkinan adanya interaksi obat
4. Beberapa pilihan pengobatan yang direkomendasikan untuk pengobatan TB laten pada kelompok berisiko tinggi menjadi TB aktif yaitu:
5. Isoniazid selama 6 bulan
6. Isoniazid selama 9 bulan
7. Isoniazid dan Rifapentine (RPT) sekali seminggu selama 3 bulan
8. 3-4 bulan Isoniazid dan Rifampisin
9. 3-4 bulan Rifampisin (PNPK 2020).

II.5. Micro RNA

II.5.1. Micro RNA (miRNA)

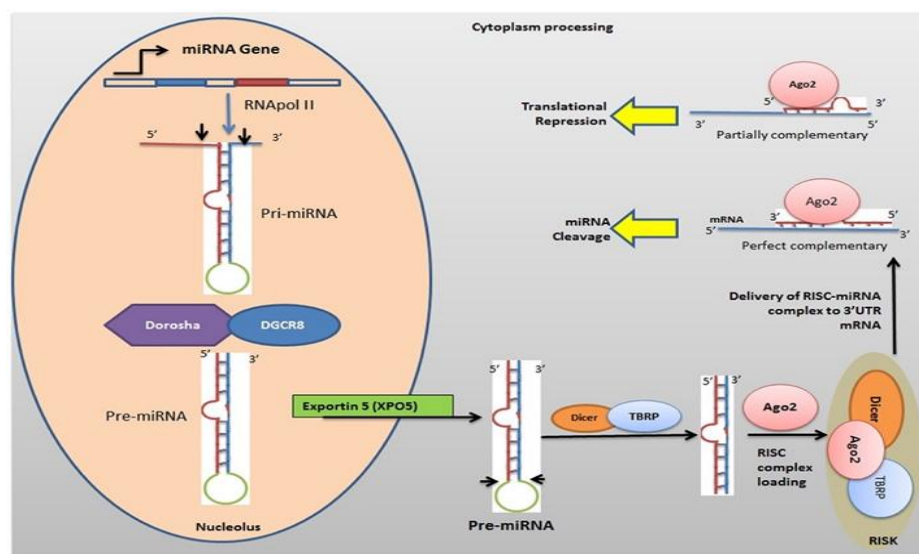
miRNA adalah molekul *ribonucleic acid* (RNA) kecil dengan panjang 18-25 nukleotida, walaupun berukuran kecil ternyata gen penyandi miRNA jauh lebih besar. Mulai saat transkripsi sampai menjadi miRNA *mature*, molekul ini melalui beberapa tahap biogenesis yang melibatkan berbagai enzim ataupun protein lainnya, baik yang terjadi dalam nukleus maupun di sitoplasma.

Sintesis miRNA terjadi di *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) yang diketahui sebagai tempat tersimpannya berbagai kode genetik berbagai molekul. Tahap awal yang terjadi dalam mengekspresikan gen yang terdapat dalam sekuens DNA adalah proses transkripsi membentuk RNA. Diketahui beberapa bentuk transkrip RNA, yaitu *messenger* RNA (mRNA) yang kemudian ditranslasi untuk mensintesis rantai polipeptida / protein dan beberapa molekul RNA kecil yang terdiri dari *transfer* RNA (tRNA), *ribosomal* RNA (rRNA), *small nucleolar* RNA (snoRNA), *small interfering* RNA (siRNA), dan *micro* RNA (miRNA). Secara biokimiawi dan fungsional miRNA dan siRNA tidak dapat dibedakan. Keduanya dirakit dalam *RNA-induced silencing complex* (RISC) untuk menghambat ekspresi gen penyandi protein. Prekursor miRNA berupa dsRNA berstruktur seperti jepit rambut sebesar 60-70 nukleotida (Kim 2005; MacFarlane and R. Murphy 2010). Prekursor MiRNA sering ditemukan dalam klistir di area intargenik atau dalam intron gen penyandi protein dan jarang tersedia dalam ekson atau transkrip antisense. Proses kerja ekspresi MiRNA adalah dalam pengantar gen yang relevan dilakukan oleh promotor yang sama untuk miRNA intragenik mempunyai promotor yang terpisah. Sebagian besar miRNA dari transkripsi RNA Polymerase II (POL II) juga transkripsi DNA menjadi mRNA. Transkripsi miRNA juga dapat dilakukan oleh POL III terutama mensintesis RNA kecil yang tidak menyandi protein dan berperan dalam pengaturan siklus dan pertumbuhan sel. Regulasi ekspresi miRNA masih banyak yang belum diketahui; (Kim 2005; Lee et al. 2004).

II.5.2. Biogenesis Micro RNA

miRNA ditranskripsi sebagai miRNA primer (primiRNA) dalam nukleus dan menghasilkan miRNA primer yang panjang (primiRNA) dengan struktur jepit rambut, kemudian mengalami tahapan biogenesis hingga dewasa dan siap berfungsi sebagai organel pengatur. Dua langkah pembentukan biogenesis terjadi dilakukan oleh dua enzim endonuklease yaitu Drosha rionuclease III di nukleus dan Dicer rionuclease III di sitoplasma. Transkripsi

primiRNA dipecah oleh aksi enzim Drosha yang merupakan prekursor miRNAs (premiRNAs) dalam nukleus. Drosha kompleks dengan delapan gen wilayah kunci sindrom DiGeorge (DGCR8) yang menstabilkan Drosha dengan berinteraksi dengan protein dan mengendalikan kadar protein Drosha. Prekursor miRNA kemudian bermigrasi ke sitoplasma menggunakan Exportin5 dan RanGTP. Di dalam sitoplasma PremiRNA kemudian dipecah oleh enzim Dicer menjadi miRNA matang membentuk RNA-induced silencing complex (RISC) dan siap berfungsi sebagai pengatur ekspresi protein (Gambar 2.5) (Hammond 2015).



Gambar 2. 5 Mekanisme dan biogenesis miRNA (Alipoor, Adcock, et al. 2020)

Dalam sitoplasma, pra-miRNA dibelah oleh enzim RNase III Dicer menghasilkan dupleks miRNA 18-22 nt. Dicer, TRBP, dan Argonaute (AGO) melanjutkan pemrosesan dupleks miRNA dan perakitan RISC (kompleks pembungkaman yang diinduksi RNA). Salah satu dari dua untai pra-miRNA, yang dikenal sebagai untai pemandu membentuk untai miR matang dan tetap pada protein Ago, sementara yang lain terdegradasi. MiRNA matang bersama dengan kompleks RISC mengenali dan menargetkan urutan benih pada mRNA 3'-UTR. Tingkat komplementaritas antara situs berpasangan ini menentukan dampak pada regulasi gen; pasangan basa komplementer sempurna menimbulkan degradasi mRNA sementara represi translasi terjadi ketika tingkat komplementaritas lebih rendah (Alipoor, Adcock, et al. 2020). (Gambar 2.5.)

II.5.3. Mekanisme Aksi miRNA

miRNA terutama mengatur ekspresi molekul mRNA melalui pasangan basa dengan mRNA target yang menyebabkan molekul mRNA menjadi dibungkam baik melalui pembelahan dan destabilisasi molekul atau mengurangi efisiensi translasi mRNA. miRNA menggunakan mekanisme berbeda untuk menyempurnakan ekspresi gen tetapi terutama berfungsi dengan regulasi bawah pasca transkripsi. Mekanisme utama miRNA adalah melalui hibridisasi miRNA-mRNA. Enam 8-nukleotida dalam 5' wilayah MiRNA, yang dikenal sebagai *seed sequence*, bertanggung jawab untuk mengikat target mRNA dalam residu mRNA elemen (MRes) terutama di 3' daerah belum diterjemahkan (3'UTRs) dari mRNA. *Seed sequence* dipertahankan dan jika terjadi perubahan maka dapat mempengaruhi fungsinya (Alipoor, Adcock, et al. 2020).. miRNA berinteraksi dengan mRNA menggunakan pasangan Watson-Crick dan tingkat komplementaritas antara situs berpasangan ini menentukan berdampak pada regulasi gen dan dapat mengakibatkan :

- penekanan translasi ion,
- pembelahan mRNA
- deadenylation (Hatta et al. 2010)

Secara keseluruhan, pasangan basa yang saling melengkapi sempurna menimbulkan degradasi mRNA sementara represi translasi terjadi ketika tingkat komplementaritas lebih rendah. Namun, RNA sekunder struktur dan urutan mengapit situs target miRNA juga mempengaruhi aksesibilitas situs berpasangan dan tingkat hibridisasi (Hatta et al. 2010).

II.5.4. Regulasi miRNA

Seperti halnya RNA lainnya, ekspresi miRNA diatur oleh berbagai mekanisme, termasuk elemen transkripsi dan modifikasi epigenetik (Ha and Kim 2014). Berdasarkan lokasi genomiknya, miRNA diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu miRNA intragenik dan intergenik. Lebih dari setengah miRNA yang telah diidentifikasi bersifat intergenik, yang berarti bahwa mereka terletak di antara gen-gen dan umumnya memiliki elemen promotor serta mekanisme regulasi sendiri, sehingga dapat ditranskripsi secara independen dari gen inangnya (Hatta et al. 2010). Sebaliknya, miRNA intragenik ditemukan dalam intron atau ekson gen pengkode protein dan diatur secara bersamaan dengan gen inangnya (Hatta et al. 2010).

Selain regulasi transkripsi, miRNA juga dapat berpartisipasi dalam umpan balik transkripsi yang kompleks, seperti yang ditunjukkan dalam regulasi miR-200c. Homeobox 1 (ZEB1), yang berfungsi sebagai represor transkripsi miR-200c melalui pengikatan pada elemen E-box, juga bertindak sebagai target dari miRNA tersebut, menciptakan mekanisme regulasi berbasis loop umpan balik (Sundararajan et al. 2015). Proses biogenesis miRNA di dalam nukleus dan sitoplasma sangat bergantung pada struktur sekunder serta keberadaan loop khas yang mempengaruhi efisiensi pemrosesan dan tingkat ekspresi miRNA matang (Hatta et al. 2010).

II.5.5. Peran miRNA pada Penyakit Tuberkulosis

MicroRNA (miRNA) merupakan kelas RNA non-koding kecil dengan panjang sekitar 18–24 nukleotida yang berperan dalam regulasi ekspresi gen pada tingkat pasca-transkripsi. miRNA berfungsi dengan berikatan pada sekuens komplementer di wilayah *untranslated region* (UTR) dari mRNA target, yang mengakibatkan degradasi transkrip atau inhibisi translasi. Mekanisme ini memungkinkan miRNA untuk mengontrol berbagai proses biologis, termasuk regulasi respons imun. Dalam konteks genom manusia, diperkirakan terdapat sekitar 2.000 miRNA yang berpotensi memiliki fungsi biologis spesifik. Setiap miRNA dapat menargetkan beberapa gen sekaligus, sementara satu mRNA dapat dikendalikan oleh berbagai miRNA, mencerminkan kompleksitas dan fleksibilitas sistem regulasi gen yang dimediasi oleh miRNA.

Kelainan dalam ekspresi miRNA telah dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis, termasuk penyakit menular, autoimunitas, dan kanker. Dalam bidang penyakit infeksi, miRNA semakin banyak dieksplorasi sebagai biomarker potensial untuk diagnosis serta sebagai target terapi yang dapat dimanipulasi untuk meningkatkan respons imun inang. (Sinigaglia et al. 2020).

Adapun peran miRNA pada penyakit tuberkulosis adalah:

a. Modulasi microRNA dari respon imun bawaan dan adaptif

Studi terbaru telah mengungkap perubahan profil ekspresi gen pada makrofag dan sel natural killer (NK) pada pasien dengan tuberkulosis aktif maupun laten, serta pada individu sehat sebagai kelompok kontrol. Perubahan ini mencerminkan dinamika kompleks yang terjadi dalam lingkungan imunologis selama infeksi *Mtb*. Regulasi ekspresi gen dalam sel

imun, termasuk makrofag dan sel NK, kemungkinan dipengaruhi oleh miRNA, yang telah diidentifikasi berperan penting dalam pengaturan diferensiasi dan fungsi sel T. Selain itu, miRNA juga memiliki peran krusial dalam modulasi imunitas bawaan, termasuk regulasi fungsi makrofag, sel dendritik, dan sel NK (Harapan et al. 2013).

Pada sebagian besar kasus infeksi *Mtb*, bakteri dapat bertahan dan bereplikasi dalam lingkungan intraseluler makrofag. Oleh karena itu, aktivasi makrofag oleh sel T spesifik antigen menjadi esensial untuk membunuh patogen secara efektif. Imunitas bawaan memainkan peran penting pada tahap awal infeksi *Mtb* dengan menciptakan lingkungan yang mendukung induksi respons imun adaptif. Dalam respons imun adaptif terhadap *Mtb*, produksi interferon-gamma (IFN- γ) dan kemokin oleh sel T spesifik antigen memfasilitasi rekrutmen sel T lebih lanjut serta menginduksi aktivitas fagositik makrofag terhadap bakteri intraseluler (Sinigaglia et al. 2020).

Adapun miRNA yang berperan adalah:

- miR-155-5p menghambat kekebalan bawaan inang dan mempromosikan pembersihan *Mtb*
- miR-29a-3p menargetkan IFN- γ dan downregulasi dalam infeksi *Mtb* eksperimental
- miR-26a-5p menargetkan pensinyalan IFN- γ (Sinigaglia et al, 2020)
- miR-142-3p dapat melemahkan fagositosis dengan mengganggu aktivitas *Neural-Wiskott-Aldrich Protein Syndrome* (N-Wasp) dalam sel inang (Bettencourt et al. 2011; Mirzaei et al. 2021).

b. Penekanan Jalur Sinyal Inflamasi

Respon imun yang efektif terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) merupakan faktor krusial dalam pengendalian infeksi tuberkulosis. Namun, regulasi yang ketat terhadap respons imun ini sangat diperlukan untuk mencegah dampak patologis yang merugikan bagi inang. Inflamasi berlebihan yang dimediasi oleh sel T helper 1 (Th1) dapat menyebabkan disregulasi imun adaptif dan berkontribusi terhadap kerusakan jaringan, sementara respon inflamasi yang lemah memungkinkan pertumbuhan bakteri yang tidak terkontrol. Oleh karena itu, keseimbangan antara respons imun pro-inflamasi dan mekanisme anti-inflamasi menjadi aspek fundamental dalam patogenesis tuberkulosis.

Sel T regulator (*regulatory T cells*, Treg) berperan sebagai modulator utama dalam menyeimbangkan respons imun terhadap infeksi *Mtb*. Sel Treg memiliki fungsi

imunoregulasi yang bertujuan untuk menghambat eksaserbasi inflamasi yang berlebihan melalui berbagai mekanisme, termasuk sekresi sitokin anti-inflamasi seperti interleukin-10 (IL-10) dan transforming growth factor-beta (TGF- β). Mekanisme ini berkontribusi terhadap pengendalian inflamasi yang dimediasi oleh sel Th1, sehingga mencegah kerusakan jaringan yang berlebihan. Namun, peningkatan aktivitas sel Treg juga dapat menghambat efektivitas respons imun protektif, yang pada akhirnya dapat memberikan keuntungan bagi *Mtb* dalam bertahan dan berkembang di dalam inang (Sinigaglia et al. 2020).

- miRNA-21-5p, miRNA dengan fungsi antiinflamasi, mengalami upregulasi pada kondisi infeksi mikobakteri
- keluarga Let-7, miRNA dengan fungsi antiinflamasi yang didownregulasi pada kondisi infeksi *Mtb*
- miRNA-125-5p menekan produksi TNF- α dan aktivasi autofagi
- miRNA-146a-5p, diupregulasi oleh infeksi mikobakteri, menargetkan TRAF6 dan menghambat produksi oksida nitrit (NO)
- miRNA-223-3p diekspresikan berlebihan pada TB, mengurangi peradangan
- miRNA-27b-3p dan miR-99b-5p mencegah peradangan berlebihan pada TB
- miRNA-142-3p, miRNA anti inflamasi yang mengalami downregulasi pada TB Aktif, (Sinigaglia et al. 2020).

c. Modulasi jalur metabolik dan energi inang

Autofagi merupakan mekanisme seluler yang berperan dalam regulasi degradasi komponen intraseluler yang disfungsi. Proses ini dipicu oleh berbagai rangsangan ekstraseluler dan intraseluler, seperti defisiensi nutrisi dan stres oksidatif, serta memiliki peran krusial dalam menjaga homeostasis energi seluler dan ketersediaan nutrisi selama kondisi defisiensi. Selain itu, autofagi juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan imun bawaan melalui eliminasi patogen intraseluler dalam suatu proses yang dikenal sebagai xenofagi. Mekanisme ini berkontribusi terhadap pembatasan replikasi bakteri intraseluler, termasuk *Mtb*.

Namun, patogen intraseluler seperti *Mtb* telah mengembangkan strategi untuk menghambat atau memodulasi jalur autofagi inang guna mendukung kelangsungan hidupnya. Selama proses patogenesis tuberkulosis, *Mtb* menghambat pematangan fagosome

dan membajak jalur pertahanan imun inang, khususnya yang berkaitan dengan fungsi autofagi dan lisosom. Sekresi makromolekul *protein tyrosine phosphatase A* (PtpA) dan *secreted acid phosphatase M* (SapM) oleh *Mtb* memungkinkan bakteri untuk menghambat autofagi dengan mengganggu pematangan fagosom pada makrofag yang terinfeksi (Alipoor, Jamaati, et al. 2020). Selain itu, *Mtb* juga menghambat pengasaman fagosom, mencegah fusi fagosom-lisosom, dan memanfaatkan sistem sekresi *ESAT-6 secretion system 1* (ESX-1) untuk meloloskan diri dari fagosom. Hambatan terhadap jalur autofagi ini menjadi strategi utama *Mtb* dalam memastikan kelangsungan hidup dan persistensinya di dalam sel inang.

Mycobacterium tuberculosis juga memanfaatkan berbagai mekanisme virulensi untuk menghindari destruksi oleh makrofag. Salah satu komponen dinding selnya, *lipoarabinomannan* (LAM), berperan dalam menghambat fusi fagosom-lisosom serta proses autofagi. Selain itu, ekspresi diferensial miRNA yang dimodulasi selama infeksi *Mtb* diketahui berperan dalam mengatur jalur autofagi dan pematangan fagolisosom, sehingga memberikan keuntungan bagi patogen untuk menghindari eliminasi oleh sistem imun inang. (Sinigaglia et al. 2020).

- miRNA-33 lokus miRNA menargetkan efektor autofagi
- miRNA-27a-5p downregulasi pensinyalan calcium dan pembentukan autofagosom
- miRNA-144-5p menghambat pematangan fagosom dan fungsi sel T
- miRNA-155-5p mempromosikan pembunuhan *Mtb* melalui autofagi
- miRNA-889-5p diekspresikan di TB laten, menghambat autofagi (Sinigaglia et al. 2020).
- miRNA-142-3p di turunkan kerja selnya (efesiensi sel) tTreg dengan cara meningkatkan mRNA ATG16L1 dan protein serta proses autofagi (Yunjie Lu et al. 2018).

d. Modulasi apoptosis sel inang setelah infeksi

Apoptosis makrofag merupakan salah satu mekanisme pertahanan utama dalam menghadapi infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Mekanisme ini berperan dalam membatasi penyebaran patogen dengan menginduksi kematian terprogram sel yang terinfeksi, sehingga mencegah replikasi dan penyebaran basil tuberkulosis. Namun, *Mtb* memiliki kemampuan untuk mengintervensi jalur apoptosis guna mendukung kelangsungan

hidupnya di dalam makrofag. Salah satu strategi yang digunakan *Mtb* adalah modulasi ekspresi miRNA inang untuk menghambat apoptosis. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sekresi MPT64 oleh *Mtb* berperan dalam menghambat apoptosis makrofag yang terinfeksi. Protein MPT64 diketahui dapat meningkatkan ekspresi *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) melalui regulasi *microRNA-21* (miRNA-21) dan aktivasi faktor transkripsi *nuclear factor kappa B* (NF-κB). Aktivasi jalur ini berkontribusi terhadap peningkatan kelangsungan hidup makrofag yang terinfeksi, yang pada akhirnya menciptakan lingkungan yang mendukung keberlanjutan infeksi *Mtb* dalam sel inang. (Alipoor, Adcock, et al. 2020).

- miRNA-20b-5p di downregulasi pada infeksi *Mtb*, menghambat aktivasi inflamasi dan mempromosikan apoptosis
- miRNA-325-3 di upregulasi pada infeksi *Mtb*, menghambat apoptosis
- miRNA-155-5p memodulasi apoptosis (Sinigaglia et al. 2020).

II.5.6. miRNA-142-3p pada Penyakit Tuberkulosis

Beberapa bukti menunjukkan bahwa miRNA-142-3p memainkan peran ganda dalam proses organogenesis, serta patogenesis berbagai penyakit, termasuk tumor, penyakit kekebalan, dan penyakit menular. miRNA-142-3p juga telah terbukti memainkan peran penting dalam regulasi respon imun. miRNA-142 menunjukkan kapasitas untuk mengatur secara negatif aktivitas asetiltransferase p300 dan aktivitas MAPK, dan mencegah produksi oksida nitrat yang dimediasi sitokin dengan menghambat berbagai molekul pemberi sinyal jalur NF-κB. miRNA-142-3p mengalami penurunan regulasi pada dermatitis kontak alergi dan peningkatan regulasi pada pasien dengan psoriasis, serta kemampuannya untuk menargetkan gen IL-6 dalam sel dendritik (DC) melawan lipopolisakarida, dan gen IRAK-1 pada makrofag yang ditunjukkan dalam penelitian Xu et al (2013), menunjukkan bahwa miRNA-142-3p terlibat dalam peradangan akut dan kronis yang berhubungan dengan alergi.

miRNA-142-3p terbukti memainkan peran penting dalam tuberkulosis (TB) dengan mengatur berbagai proses seluler. Hal ini ditunjukkan bahwa miRNA-142-3p menghambat autofagi dan meningkatkan kelangsungan hidup *Mtb* intraseluler dengan menargetkan ATG16L1 dan ATG4c (Qu et al. 2021; Sabir et al. 2018). Autofagi adalah proses seluler yang membantu menghilangkan patogen intraseluler, dan penghambatan autophagy oleh miRNA-142-3p dapat berkontribusi pada kelangsungan hidup *Mtb* di dalam sel inang.

Selain itu, miRNA-142-3p diregulasi dalam sel T CD4⁺ dan darah tepi pasien tuberkulosis, yang menunjukkan potensi perannya dalam respon imun terhadap tuberkulosis (Wang et al. 2022). Temuan ini menyoroti pentingnya miRNA-142-3p dalam patogenesis TB dan potensinya sebagai biomarker penyakit ini. miRNA-142-3p ditemukan oleh para peneliti sebagai kandidat yang menjanjikan untuk berperan dalam pengendalian dinamika aktin, yang diperlukan untuk proses fagositosis.

miRNA menjadi target respon imun alamiah selama infeksi TB, fagositosis dan pematangan fagosom merupakan langkah kunci dalam pembersihan bakteri patogen oleh makrofag. miRNA-142-3p menargetkan protein sindrom N-Wiskott-Aldrich (N-WASp) yang berperan dalam pengendalian dinamika aktin dengan menghambat perakitan aktin, yang diperlukan untuk fagositosis. peran miRNA dalam memodulasi serapan mikobakteri oleh sel fagositik, yang dengan penghambatan parsial dan temporal aktivitas N-Wasp melalui miRNA-142-3p yaitu: (1) infeksi mikobakteri pada makrofag menghasilkan induksi miRNA-142-3p yang berumur pendek, dan dalam kasus *Mtb*, disertai dengan penurunan sebagian kadar protein N-Wasp, (2) target langsung miRNA-142-3p adalah N - Wasp mRNA (Wasl), (3) miRNA-142-3p menyebabkan penurunan signifikan asupan mikobakteri intraseluler oleh makrofag (4) inaktivasi N-Wasp yang dimediasi siRNA di makrofag mempengaruhi tingkat awal fagositosis *Mtb* (Bettencourt 2013). Hal ini menunjukkan regulasi fagositosis yang dimediasi miRNA selama infeksi *Mtb* (Kundu and Basu 2021).

Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa miRNA-142-3p dapat menargetkan dan menghambat ekspresi IL-6. Selain itu, meskipun miRNA-142-3p mengalami penurunan regulasi dalam sel T CD4⁺ perifer dan makrofag pasien TB, ekspresi miRNA-142-3p berkorelasi negatif dengan produksi mediator proinflamasi IL-6, NF- κ B, dan TNF- α . Oleh karena itu, penurunan ekspresi miRNA-142-3p dapat menunda kelangsungan hidup *Mtb* di makrofag (Wang et al. 2022).

II.5.7. miRNA-93-3p pada Penyakit Tuberkulosis

Peran miRNA-93-3p pada tuberkulosis (TB) telah menjadi topik yang menarik dalam penelitian terbaru. Sebuah tinjauan sistematis menyoroti potensi miRNA sebagai biomarker pada TB, menekankan peran mereka dalam patogenesis penyakit dan potensinya sebagai target terapi (Pattnaik et al. 2022). Selain itu, penelitian oleh Zhou et al (2016).

menyarankan bahwa miRNA-93-3p dapat menjadi penanda diagnostik potensial untuk membedakan infeksi TB laten dari TB aktif (Qu et al. 2021). Selain itu, miRNA-93-5p telah diidentifikasi sebagai kontrol endogen yang stabil dalam penelitian TB, yang menunjukkan potensi kegunaannya dalam penelitian terkait TB (Korma et al. 2020). miRNA-93 telah diidentifikasi sebagai miRNA referensi yang cocok normalisasi kadar miRNA dalam studi berbagai penyakit mulai dari kanker lambung hingga gangguan depresi berat. Penelitian lain pada kanker ovarium dan payudara menemukan bahwa miRNA-93 diatur secara berbeda dalam jaringan kanker dan kadarnya mungkin dapat memprediksi keadaan penyakit lebih lanjut menyoroti perlunya mengkonfirmasi kesesuaian miRNA yang dipilih untuk menormalkan kadar miRNA tergantung pada jaringan yang diselidiki, keadaan penyakit dan kemungkinan etnisitas populasi subjek.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Kalayci Yüksek et al (2021), miRNA-93 tidak digunakan sebagai biomarker tuberkulosis (TB), melainkan sebagai gen referensi untuk normalisasi ekspresi miRNA target. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi *miRNA-93* dianggap stabil dalam sampel pasien TB, sehingga dapat digunakan sebagai kontrol internal untuk membandingkan perubahan ekspresi miRNA lain, seperti miRNA-144. Normalisasi data ekspresi miRNA merupakan langkah penting dalam analisis ekspresi gen untuk mengoreksi variasi teknis yang dapat muncul selama proses eksperimen, termasuk variasi dalam ekstraksi RNA, efisiensi reaksi *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR), serta variasi antar individu.

Dalam konteks ini, miRNA-93 dan U6 digunakan sebagai kontrol internal untuk memastikan bahwa perbedaan ekspresi miRNA target benar-benar mencerminkan perubahan biologis akibat kondisi patologis, bukan karena faktor teknis yang dapat mempengaruhi hasil analisis (Kalayci Yüksek et al. 2021). Pemilihan miRNA-93 sebagai referensi stabil dalam penelitian ini mendukung validitas hasil yang diperoleh, terutama dalam mengevaluasi ekspresi miRNA pada pasien TB aktif dan laten.

Lebih lanjut, stabilitas ekspresi miRNA-93 sebagai referensi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal, seperti faktor etnis dan lingkungan, yang berkontribusi terhadap perbedaan ekspresi miRNA antar populasi. Selain itu, jenis penyakit yang diderita serta respons individu terhadap terapi farmakologis juga dapat memengaruhi ekspresi miRNA dalam sirkulasi tubuh (Barry et al. 2018). Oleh karena itu, meskipun miRNA-93 telah

terbukti sebagai referensi yang andal dalam analisis ekspresi miRNA pada pasien TB, penting untuk mempertimbangkan faktor-faktor eksternal yang dapat memengaruhi stabilitas ekspresinya dalam berbagai populasi dan kondisi klinis.

Meskipun mekanisme patogenik spesifik dari **miRNA-93-3p** dalam infeksi *Mtb* belum sepenuhnya dijelaskan, bukti yang ada menunjukkan **potensinya sebagai biomarker diagnostik dan prognostik**, serta peranannya dalam **regulasi patogenesis TB**. Sejumlah penelitian mengindikasikan bahwa **ekspresi miRNA-93-3p meningkat secara signifikan dalam kasus TB aktif**, yang menjadikannya kandidat potensial sebagai biomarker penyakit ini (Kalayci Yüksek et al. 2021; Lyu et al. 2019)

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengaitkan *miRNA-93* dengan regulasi **pertumbuhan sel, proliferasi, dan imunomodulasi**, yang dapat berkontribusi terhadap patogenesis TB, misalnya, penelitian yang dilakukan oleh Lyu et al (2019) mengidentifikasi bahwa **miRNA-93 mengalami upregulasi signifikan dalam serum pasien dengan TB aktif**, sehingga dipilih untuk validasi lebih lanjut menggunakan **real-time PCR**. Dalam penelitian tersebut, *miRNA-93* ditemukan memiliki peran dalam **mendorong pertumbuhan sel patologis** dengan menargetkan **gen penekan tumor Fus1 dan integrin- β 8**, yang sebelumnya dikaitkan dengan proliferasi sel kanker, **menghambat replikasi virus** dalam kasus infeksi *vesicular stomatitis virus (VSV)* dengan menargetkan **protein besar dan gen fosfoprotein**.

Penemuan bahwa *miRNA-93* mengalami upregulasi pada infeksi TB aktif menunjukkan bahwa miRNA ini berpotensi terlibat dalam **modulasi sistem imun inang terhadap infeksi patogen**, termasuk *Mtb* (Lyu et al. 2019). Selain itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami **bagaimana mekanisme regulasi miRNA-93-3p secara spesifik dalam respon imun terhadap TB aktif dan laten**.

Dengan meningkatnya bukti tentang peran *miRNA-93-3p* dalam **respon imun terhadap TB**, penelitian lanjutan sangat diperlukan untuk mengeksplorasi **potensinya sebagai biomarker spesifik untuk membedakan TB aktif dan laten**, dengan evaluasi sensitivitas dan spesifisitas diagnostiknya. **Hubungannya dengan jalur inflamasi dan immunosupresi**, yang dapat berkontribusi pada pengembangan strategi terapeutik baru. **Interaksi miRNA-93-3p dengan regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam respon imun TB**, seperti jalur *Toll-like receptor (TLR)* dan *nuclear factor-kappa B (NF- κ B)*, yang

diketahui berperan dalam aktivasi makrofag dan kontrol infeksi TB (Fatima et al. 2020; Flynn et al. 2014)

II.5.8. Potensi miRNA sebagai biomarker

miRNA telah menunjukkan potensi besar sebagai biomarker baru yang stabil dalam berbagai sampel biologis seperti serum, plasma, dan urin. Molekul RNA pendek tanpa kode ini tetap terjaga bahkan setelah penyimpanan jangka panjang dan siklus pembekuan-pencairan, menjadikannya ideal sebagai indikator penyakit klinis. Dalam bidang onkologi, miRNA telah digunakan sebagai biomarker diagnostik untuk deteksi dini berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara, karsinoma paru, dan kanker kolorektal (Behrouzi et al., 2019; Wang et al., 2022). Selain itu, perubahan ekspresi miRNA dapat diukur dengan cepat menggunakan metode seperti qPCR, memungkinkan analisis ekspresi miRNA dengan presisi tinggi (Wang et al. 2022). Tidak hanya berfungsi sebagai biomarker penyakit, miRNA juga berperan dalam respons imun terhadap patogen, di mana regulasi ekspresi miRNA menjadi strategi penting dalam mengendalikan infeksi dan mengidentifikasi pasien yang terinfeksi (Behrouzi et al. 2019).

Dalam konteks tuberkulosis (TB), miRNA dapat membedakan antara pasien TB aktif dan TB laten, serta membantu mengidentifikasi resistensi obat dan virulensi *Mycobacterium tuberculosis* (Wang et al. 2022). Beberapa jenis miRNA, seperti miRNA-155, miRNA-146a, dan miRNA-21, telah terdeteksi dalam beberapa sampel pasien TB, menunjukkan peran pentingnya dalam patogenesis penyakit ini (Pattnaik et al. 2022). Selain itu, miRNA juga terlibat dalam regulasi peradangan, autofagi, dan apoptosis selama infeksi TB. Regulasi ini berkontribusi terhadap keberlangsungan hidup bakteri intraseluler serta respons imun pasien terhadap penyakit. Dengan kemampuannya untuk membedakan antara berbagai status infeksi dan membantu penentuan prognosis, miRNA memiliki prospek besar sebagai alat diagnostik dan terapeutik dalam pengelolaan TB serta penyakit lainnya (Pattnaik et al. 2022). Kandidat biomarker miRNA infeksi *Mtb* terlihat pada (Tabel 2. 1)

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa individu dengan TB aktif telah mengubah profil ekspresi miRNA dalam sampel klinis (dahak, serum, efusi pleura, dan PBMC). Penelitian Cao et al (2020) mengidentifikasi 26 miRNA yang diekspresikan secara berbeda di *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) pasien TB aktif. MiRNA-23a-5p,

miRNA-183-5p, miRNA-193a-5p, dan miRNA-941 terekspresi berlebih, sedangkan ekspresi miRNA-16-1-3p menurun relatif terhadap kontrol sehat. Temuan ini menunjukkan bahwa miRNA mungkin berguna dalam diagnosis TB aktif (Cao et al. 2020). miRNA dalam dahak pasien dengan TB aktif yaitu miRNA-3179 dan miRNA-19b-2 mengalami *underexpression*. Penelitian terbaru biomarker tuberkulosis aktif dalam dahak adalah miRNA-155 (Ying et al. 2020).

Penelitian Lyu et al (2019) dimana miRNA-378i ekspresinya mengalami upregulasi pada penderita efusi pleura dari pasien TB paru dibandingkan dengan penderita kanker paru-paru atau pneumonia. Penelitian Wang et al (2022) menggunakan urin dimana terjadi peningkatan kadar miRNA-625-3p pada pasien *Mtb* dengan BTA positif dibandingkan dengan pasien *Mtb* dengan BTA negatif (Barry et al. 2018; Magdalena and Magdalena 2022).

Mengembangkan model diagnostik untuk TB melalui kombinasi ketiga miRNA, sehingga mencapai area di bawah kurva (AUC) sebesar 0,908. Peneliti tersebut membuat model berdasarkan kelima miRNA ini untuk menentukan infeksi *Mtb*, menunjukkan AUC 0,976. Setelah memperoleh hasil ini, kemudian menggunakan kombinasi protein dan miRNA untuk lebih menyempurnakan model. Kelompok lain menggabungkan miRNA-142-3p dengan data catatan rekam medik elektronik untuk mendeteksi TB dan terjadi peningkatan AUC sebesar 0.908 (Liang et al. 2022; Qu et al. 2021).

Tabel 2. 2 Kandidat biomarker miRNA infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Magdalena and Magdalena 2022)

Clinical Sample	miRNA candidate	Regulation	Study Groups	Ref.
Serum	miRNA-21-5p miRNA-151a-3p has-let-7i-5p miRNA-92a-3p miRNA-155	↑ ↑ ↓ ↓ ↑	ATB vs HC; ATB before and after therapy, ATB vs LTBI ATB vs LTBI ATB vs LTBI ATB vs HC; ATB before and after therapy ATB before and after therapy	Lyu et al., 2019 Hashimoto, 2020 Wagh, 2017
Sputum	miRNA-19b-2 miRNA-3179 miRNA-144 miRNA-155	↓ ↑ ↑ ↑	ATB vs HC ATB vs HC ATB vs HC ATB vs HC	Qi et al., 2012 Liu., 2011 Wang., 2018

Whole blood	miRNA-26a miRNA-142-3p	↓ ↓	ATB vs LTBI ATB vs LTBI	Kleinsteuber et al., 2013
CD ⁴ Cell	miRNA-21-5p miRNA-26a-5p miRNA-142-3p	↓ ↓ ↓	ATB vs LTBI ATB vs LTBI ATB vs LTBI	Kleinsteuber et al., 2013
Plasma	miRNA-26a-5p miRNA-29a miRNA-99b miRNA-652	↑ ↑ ↑ ↓	ATB before and after therapy ATB vs HC; ATB before and after therapy ATB vs HC; ATB before and after therapy ATB vs HC	Wang et al., 2016
PBMC	miRNA-16-1-3p miRNA-941 miRNA-144 miRNA-424 miRNA-451	↓ ↑ ↑ ↑ ↑	ATB vs HC ATB vs HC ATB vs LTBI ATB vs HC ATB vs HC	Yi et al., 2012 Nzi., 2019 Hua et al., 2020

Diagnosis TB laten merupakan tantangan saat ini, karena keterbatasan tes yang ada yaitu tes kulit tuberkulin dan tes IGRA. Beberapa miRNA yang membedakan TB aktif dan TB laten telah diidentifikasi. Penelitian Hashimoto et al (2020), menggunakan profil ekspresi delapan miRNA berbeda (miRNA-122-5p, miRNA-151a-3p, miRNA-451a, miRNA-486-5p, let-7i-5p, miRNA-148a-3p, miRNA-21-5p, dan miRNA-423-5p), TB laten dapat dibedakan dari penyakit aktif dengan akurasi 71,8% (Hashimoto et al. 2020). Selain itu, (Wang *et al.*, 2022) mengidentifikasi profil miRNA spesifik yang terdiri dari miRNA-223, miRNA-424, miRNA-451, dan miRNA-144 yang mampu membedakan antara infeksi Mtb dan TB aktif. Penelitian Wang et al (2022) bahwa miRNA-93-3p mengalami upregulasi pada TB aktif sedangkan Penelitian Meng et al (2013), miRNA-93-3p mengalami downregulasi pada TB laten dan sehingga miRNA-93-3p penanda potensial untuk membedakan antara TB aktif dan TB laten. Kurangnya konsistensi penanda miRNA yang dilaporkan mungkin disebabkan oleh perbedaan karakteristik populasi penelitian (usia, jenis kelamin, penyakit penyerta), jenis sampel yang diambil untuk isolasi miRNA (dahak, serum, urin) serta protokol penelitian yang diterapkan (Barry et al. 2018; Magdalena and Magdalena 2022)

II.6. Relevansi Penelitian Sebelumnya

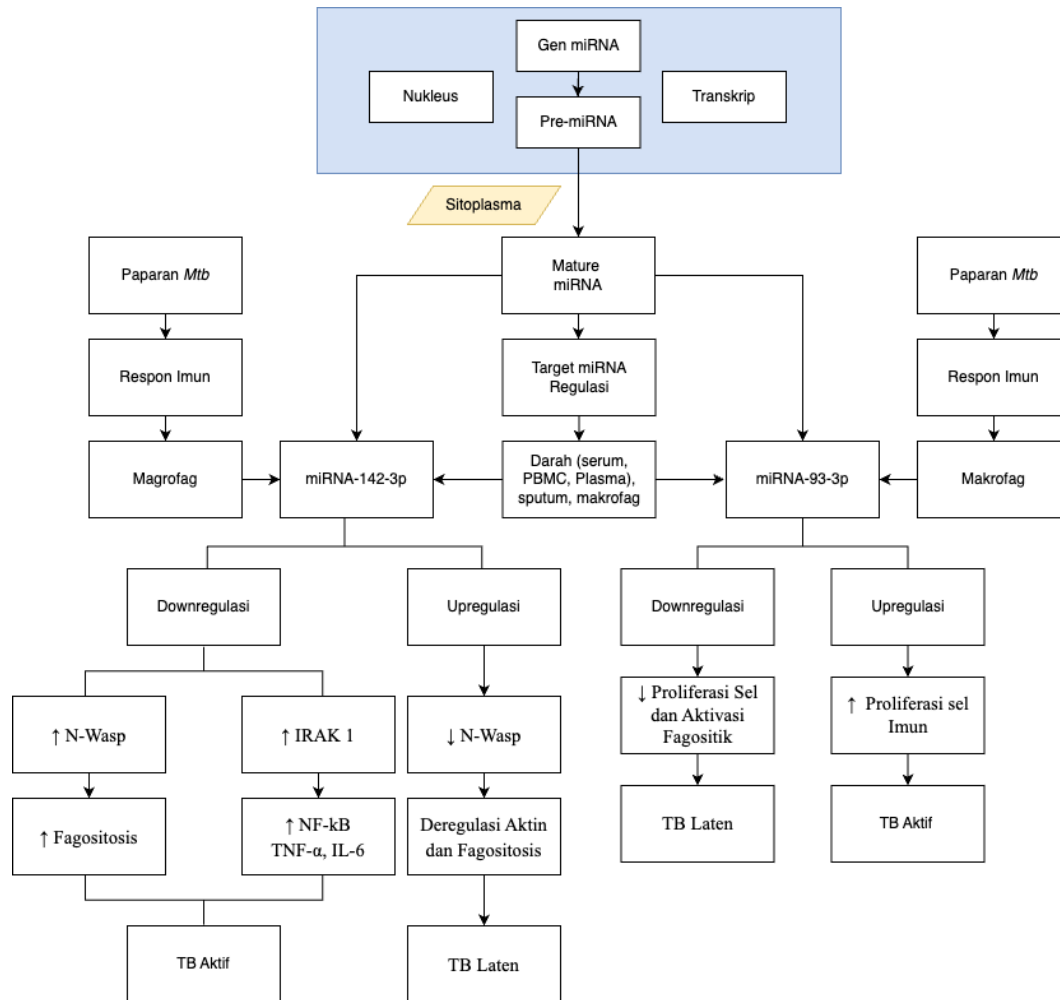
Tabel 2. 3 Relevansi penelitian *miRNA-142-3p* dan *miRNA-93-3p* sebelumnya

No	Kategori Kasus	Lokasi Penelitian	Sampel	Hasil Penelitian	Referensi
1	22 TB aktif 14 TB laten	Jerman	Sel T CD ⁴	downregulasi miRNA-142-3p pada TB aktif	(Kleinsteinuber et al. 2013)
2	60 TB aktif, 24 nonTB & 48 kontrol	China	serum	• Downregulasi miRNA-142-3p pada TB aktif • kombinasi miR-142-3p data rekam medis TB dan AUC mendekati 0.94	(Gao et al. 2021)
3	7 TB aktif, 7 TB laten & 7 kontrol	Taiwan	plasma	upregulasi miRNA-142-3p TB laten	(L. S.-H. H. Wu et al. 2014)
4		Portugal	J774A.1 dan makrofag manusia	Upregulasi <i>miRNA-142-3p</i> mengurangi ekspresi N-Wasp & menurunkan kemampuan makrofag untuk memfagosit bakteri, sedangkan penurunan N-Wasp (baik melalui mimik atau siRNA) memengaruhi jumlah bakteri internal. modulasi miR-142-3p–N-Wasp adalah strategi mikroba untuk menghambat phagolysosome biogenesis dan mempertahankan kelangsungan hidupnya di dalam makrofag	(Bettencourt et al. 2013)
5		China	Tikus, makrofag yang diinfeksi TB	• 4 upregulasi (miR-24, miRNA-142, miRNA-155, and miRNA- 212) and 3 downregulasi (miRNA-19a, miRNA-202, and miRNA-376a)	(Rothchild et al. 2016)

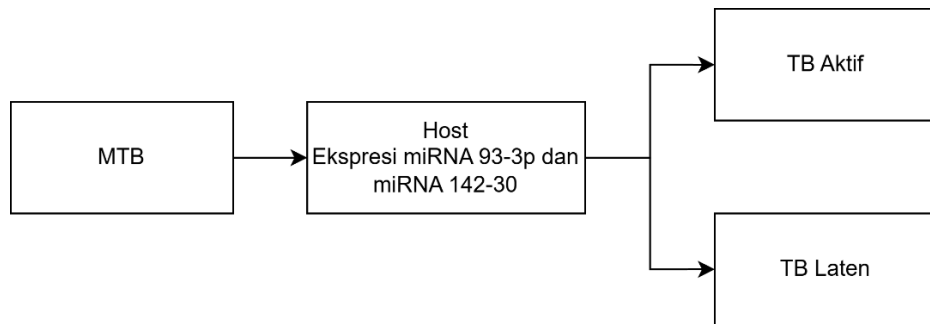
6		China	Murine RAW264.7 di infeksi dengan BCG	• miR-142-3p berperan sebagai regulator negatif jalur TLR/IRAK-1 pada makrofag yang terinfeksi BCG menarget 3'-UTR mRNA IRAK-1, • downregulasi miR-142-3p menurunkan ekspresi protein IRAK-1 dan selanjutnya menekan produksi mediator pro-inflamasi (NF-κB, TNF-α, IL-6). • peningkatan miR-142-3p dapat membantu meredam respons inflamasi berlebih selama infeksi mycobacterial.	(Xu et al. 2013)
7		USA	<i>buffy coats</i> donor sehat	• miRNA-142-3b mengatur fagositosis di sel myeloid inflamatori • overekspresi miRNA-142-3p menghambat penyerapan bakteri dalam sel myeloid • penurunan kadar N-Wasp pada miRNA-142-3p (ekspresi berlebih)	(Naqvi, Fordham, and Nares 2015)
8		China	RAW264.7 cells dan sel-sel HEK 293 T	• miR-142-3p berfungsi sebagai regulator negatif autophagy pada makrofag yang terinfeksi <i>Mtb</i>, dengan menarget langsung gen <i>ATG16L1</i> dan <i>ATG4c</i>. Akibatnya, pembentukan autophagosome / autolysosome terhambat, sehingga mendukung kelangsungan hidup bakteri di dalam sel	(Qu et al. 2021)
9	75 TB aktif, 52 kontrol	China	serum	upregulasi miRNA-93 pada TB aktif	(Fu et al. 2011)
10	12 TB aktif, 12 kontrol	Australia	Plasma	miR-93 sebagai miRNA yang paling stabil di antara kelompok TB aktif, LTBI, dan kontrol sehat, sehingga tidak ada perbedaan ekspresi signifikan yang menunjukkan regulasi naik atau menurun untuk miR-93-3p	(Barry et al. 2015)
11	14 Igra Positif & 6 kontrol	China	serum	• downregulasi miRNA-93-3p TB laten • miRNA-93-3p merupakan penanda diagnostik potensial untuk membedakan Tb laten dari TB aktif.	(Q. L. Meng et al. 2014)

12	4 pasien anak TB laten, 2 pasien anak kontrol	Indonesia	Whole blood	• downregulasi miRNA-93-3p pada TB laten	(Sanjaya et al. 2020)
----	---	-----------	-------------	--	-----------------------

II.7. Kerangka Teori



II.8. Kerangka Konsep



Keterangan :

Variabel terikat : TB aktif dan TB laten

Variabel bebas : *Mtb*

Variabel antara : *Host*, miRNA-93-3p dan miRNA-142-3p

II.9. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan ekspresi miRNA-142-3p pada penderita TB paru aktif dengan TB laten dan Kontrol Sehat
2. Terdapat perbedaan ekspresi miRNA-93-3p pada penderita TB paru aktif dengan TB laten dan Kontrol Sehat
3. miRNA-142-3p dan miRNA-93-3p berpotensi menjadi biomarker TB paru