

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis

2.1.1 Definisi

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Sebagian besar infeksi TB menyebar lewat udara, melalui terhirupnya nukleus droplet yang berisikan organisme basil tuberkel dari seseorang yang terinfeksi (Iskandar, 2013). Tuberkulosis juga salah satu penyakit tertua yang diketahui menyerang manusia. Jika diterapi dengan benar tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang peka terhadap obat (MDR-TB), praktis dapat disembuhkan. Tanpa terapi tuberkulosis akan mengakibatkan kematian dalam lima tahun pertama pada lebih dari setengah kasus. Penyakit ini menjadi tidak terkendali pada sebagian besar dunia, salah satu penyebab utama kematian di negara-negara berkembang termasuk Indonesia (Lyanda, 2012).

2.1.2 Epidemiologi

Pada tahun 2011 terdapat 8,8 juta kasus baru dari TB dan terdapat 1,45 juta kematian akibat TB di seluruh dunia, sedangkan di Indonesia yang menempati peringkat ke 4 dunia, setelah negara India, Cina dan Afrika selatan terdapat 450.000 kasus baru/tahunnya dan 64.000 kematian/tahun dikarenakan Tuberkulosis di Indonesia (WHO, 2011).

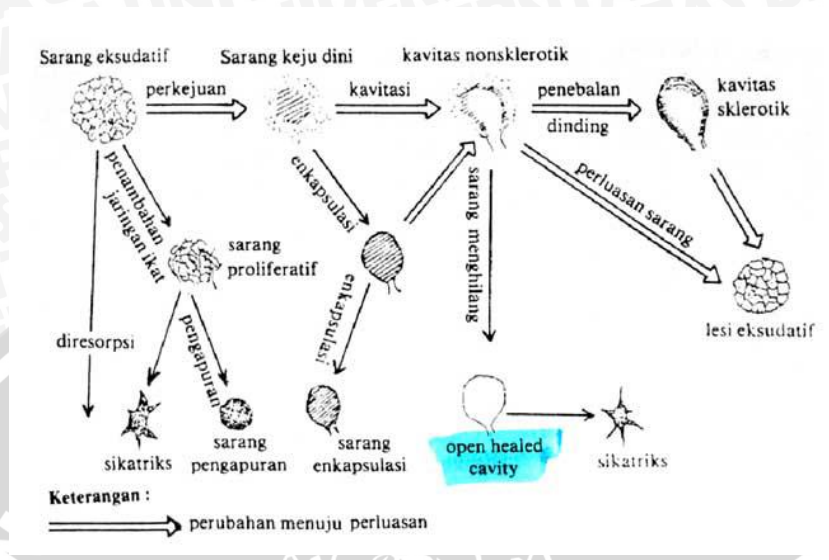
Pada Global Report WHO 2010, didapat data TB Indonesia, Total seluruh kasus TB tahun 2009 sebanyak 294731 kasus, dimana 169213 adalah kasus TB baru BTA positif, 108616 adalah kasus TB BTA negatif, 11215 adalah kasus TB Extra Paru, 3709 adalah kasus TB Kambuh, dan 1978 adalah kasus pengobatan ulang diluar kasus kambuh (PPTI, 2012). Resiko penularan setiap tahun (*Annual Risk of Tuberculosis Infection = ARTI*) di Indonesia dianggap cukup tinggi dan bervariasi antara 1-2%. Pada daerah dengan ARTI sebesar 1% berarti setiap tahun diantara 1000 penduduk, 10 orang akan terinfeksi. Sebagian besar dari orang yang terinfeksi tidak akan menjadi penderita tuberkulosis, hanya 10% dari yang terinfeksi yang akan menjadi penderita tuberkulosis (Analisis Dunia Kesehatan, 2012).

2.1.3 Patogenesis

Penularan tuberkulosis terjadi karena kuman dibatukkan atau dibersinkan keluar menjadi *droplet nuklei* dalam udara di sekitar kita. Partikel infeksi ini dapat menetap dalam udara bebas selama 1-2 jam, tergantung ada tidaknya sinar ultraviolet, ventilasi yang buruk, dan kelembaban. Bila partikel infeksi ini terhisap oleh orang sehat, maka partikel in akan menempel pada saluran napas dan jaringan paru. Partikel yang berukuran < 5 mikrometer akan memasuki alveolar. Kuman ini akan dihadapi oleh neutrofil, kemudian makrofag keluar dari percabangan trakeobronkial bersama gerakan silia dengan sekretnya. Bila kuman menetap di paru, berkembangbiak dalam sitoplasma makrofag. Kuman TB dalam makrofag yang terus berkembang biak, akhirnya akan menyebabkan makrofag mengalami lisis, dan kuman TB membentuk koloni di tempat tersebut. Koloni kuman di jaringan

paru ini disebut fokus primer Ghon. Kemudian kuman TB menyebar melalui saluran getah bening terdekat menuju kelenjar getah bening regional secara limfogen. Penyebaran ini menyebabkan terjadinya limfangitis dan limfadenitis. Sehingga terbentuklah kompleks primer yang terdiri dari fokus primer Ghon, limfangitis, dan limfadenitis (Iskandar, 2013). Selanjutnya lesi tersebut pada seseorang akan mengalami beberapa nasib, antara lain: ada yang sembuh sempurna, sembuh dengan fibrosis, atau mengalami komplikasi/menyebar secara perkontinuitatum maupun bronkogen seperti TB ekstraparu (PDPI, 2006).

Kuman dorman yang kemudian aktif kembali pada usia dewasa disebut sebagai TB sekunder. Tb sekunder biasanya terjadi pada usia 15-40 tahun. Bentuk tuberkulosis inilah yang terutama menjadi problem kesehatan rakyat, karena dapat menjadi sumber penularan. Tuberkulosis pasca primer dimulai dengan sarang dini, yang umumnya terletak di segmen apikal dari lobus superior maupun lobus inferior. Sarang dini ini awalnya berbentuk suatu sarang pneumonik kecil. Nasib sarang pneumonik ini akan diresorpsi kembali, atau meluas tetapi segera terjadi proses penyembuhan dengan pembentukan jaringan fibrosis (PDPI, 2006).



Gambar 2.1 Skema perkembangan sarang tuberkulosis post primer dan perjalanan penyembuhannya (PDPI, 2006).

2.1.4 Sistem Imun Tuberkulosis

Sistem imun merupakan suatu mekanisme yang ditimbulkan oleh sel-sel dan molekul imun setelah berhadapan dengan substansi asing (antigen). Sistem imun ini juga banyak didefinisikan sebagai suatu mekanisme tubuh berupa suatu urutan kejadian yang kompleks terhadap antigen, untuk mengeliminasi antigen tersebut. Sistem ini dapat melibatkan berbagai macam sel dan protein, terutama sel makrofag, sel limfosit, komplemen, dan sitokin yang saling berinteraksi secara kompleks. Sistem ini bertanggung jawab mempertahankan kesehatan tubuh, yaitu mempertahankan tubuh terhadap serangan sel patogen maupun sel kanker (Baratawidjaja, 2010). Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun alamiah dan didapat:

a. Sistem imun alamiah

Merupakan mekanisme pertahanan tubuh non-spesifik yang mencegah masuknya dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan (Munasir, 2001). Sistem imun non spesifik/alamiah merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, karena sistem imun spesifik/didapat memerlukan waktu sebelum memberikan responnya. Sistem imun alamiah disebut juga sistem imun non spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu (Judarwanto, 2012). Sistem pertahanan nonspesifik terdiri dari pertahanan fisik/mekanik, pertahanan larut (biokimia) dan pertahanan seluler. Pertahanan fisik terdiri dari kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin dapat mencegah berbagai kuman patogen yang masuk ke dalam tubuh. Pertahanan larut terdiri dari bahan-bahan yang disekresi mukosa saluran napas, kelenjar sebacea kulit, kelenjar kulit, telinga, spermin dalam semen, lisozim yang dilepas makrofag dan laktoferin merupakan bahan yang berperan dalam pertahanan tubuh. Pertahanan seluler terdiri dari makrofag, sel NK dan sel mast (Baratawidjaja, 2010). Hampir semua patogen memiliki fase ekstra seluler dimana pada saat patogen tersebut pertama kali masuk atau berada di ekstra seluler maka sistem imun alamiah inilah yang akan berusaha untuk membunuh bakteri tersebut, seperti pada infeksi *M. tuberculosis* yang pertama kali masuk melalui saluran pernafasan, maka sistem imun alamiah pertama yang akan datang adalah NK cell ataupun makrofag, sehingga dapat langsung dibunuh dengan proses fagositosis. Akan tetapi tidak semua dari bakteri-bakteri yang masuk tersebut dapat difagosit oleh makrofag, contohnya pada bakteri intraseluler yaitu *M.*

tuberculosis yang dapat hidup didalam makrofag, sehingga untuk membunuhnya harus dengan respons imun seluler (Abbas *et al*, 2007).

b. Sistem imun didapat

Bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan nonspesifik/sistem imun alamiah, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu (Munasir, 2001).

Sistem imun spesifik terdiri dari sistem imun spesifik humoral dan sistem imun spesifik seluler. Yang berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B sedangkan pada spesifik seluler yang berperan adalah limfosit T atau sel T. Bila antigen spesifik melakukan kontak dengan limfosit T dan B didalam jaringan limfoid maka limfosit T tertentu menjadi teraktivasi untuk membentuk sel T teraktivasi dan limfosit B tertentu menjadi teraktivasi untuk membentuk antibodi. Sel T yang teraktivasi dan antibodi ini kemudian bereaksi dengan sangat spesifik terhadap antigen tipe tertentu yang mencetuskan pembentukan sel imun tadi. Makrofag juga sangat berperan dalam proses aktivasi sel T dan sel B karena makrofag mentransfer antigen-antigen tertentu secara langsung ke limfosit dengan cara kontak sel ke sel sehingga menimbulkan aktivasi klon limfositik yang spesifik. Selain itu makrofag juga mensekresikan zat pengaktivasi khusus yang meningkatkan pertumbuhan dan reproduksi limfosit spesifik. Zat ini disebut *Interleukin-1* (Judarwanto, 2012). Respons imun seluler sangat berperan pada proses membunuh bakteri *M. tuberculosis* karena pada respons ini terdapat sel T teraktivasi yang dapat membunuh *M. tuberculosis* yang berada didalam makrofag

maupun APC yang lain setelah APC mempresentasikan antigen *M. tuberculosis* pada sel T naïve yang akan berproliferasi dan berdiferensiasi (Handayani, 2002).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Gejala utama dari TB paru adalah batuk lebih dari 4 minggu dengan atau sputum, malaise, gejala flu, demam derajat rendah, nyeri dada, dan batuk darah (PDPI, 2006). Pasien TB paru menampakkan gejala klinis, yaitu (Depkes, 2006):

1. Tahap asimtomatis
2. Gejala TB paru yang khas, kemudian stagnasi dan regresi
3. Eksaserbasi yang memburuk
4. Gejala berulang dan menjadi kronik

Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan tanda-tanda:

1. Tanda-tanda infiltrat (redup, bronchial, ronki basah, dan lain-lain)
2. Tanda-tanda penarikan paru, diafragma, dan mediastinum
3. Sekret disaluran nafas dan ronki
4. Suara nafas amforik karena adanya kavitas yang berhubungan langsung dengan bronkus.

2.1.6 Diagnosis

Diagnosis untuk menegakkan TB paru berdasar atas temuan dari anamnesa, gejala klinis dan pemeriksaan lab. Dalam anamnesa dilakukan pemeriksaan adanya faktor risiko, lingkungan, *personal hygiene* dan faktor-faktor lain secara komprehensif.

Pada gambaran klinis didasarkan atas adanya batuk selama 3 minggu atau lebih,

batuk dengan dahak, batuk dengan darah, nyeri dada, sesak napas, malaise, berat badan yang menurun serta berkeringat malam hari (Depkes, 2006).

Pemeriksaan laboratorium sebagai penunjang penegakkan diagnosis antara lain dengan:

- a. Pengecatan pada hapusan *sputum* pengecatan BTA menggunakan metode Ziehl Nielsen, Kinyoun, atau Tan Thiam Hok (TTH). Pada pewarnaan cara Ziehl Nielsen bakteri tampak merah dengan latar belakang berwarna biru. Kemudian dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan dihitung tuberkelnya dengan intepretasi sebagai berikut: 0 jika tidak ditemukan tuberkel pada 100 LP, jarang, jika ditemukan 1-9 tuberkel pada 100 LP, +, jika ditemukan 10-99 tuberkel pada 100LP, ++, jika ditemukan 1-10 tuberkel pada 50 LP, +++, jika ditemukan >10 tuberkel pada 20 LP (Dzen, 2003).
- b. Tes serologi menggunakan *Nucleic Acid Amplification* (NAA). *Nucleic Acid Amplification* adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan segmen DNA atau RNA mikroorganisme yang ada pada spesimen darah. *Nucleic Acid Amplification test* dapat mendeteksi bakteri *M. tuberculosis* di spesimen darah hanya dalam hitungan jam. Satu kali hasil tes negatif NAA tidak bisa digunakan sebagai penentu bahwa subjek tidak terkena TB jika terdapat banyak gejala-gejala dan tanda-tanda terkena TB (CDC, 2007).



Gambar 2.2. Tes Nucleic Acid Amplification(CDC, 2007)

- c. Tes tuberkulin atau yang biasa disebut tes mantoux (cara mantoux) merupakan tes untuk mengetahui apakah seseorang pernah terinfeksi *M. tuberculosis*. Dilakukan dengan menginjeksi antigen dari *M. tuberculosis* secara subkutan pada lengan kanan. Digunakan sebagai pemeriksaan penunjang jika terdapat gejala, *screening*, atau kecurigaan pada abnormalitas X-Ray pada suspek. Hasilnya dibaca setelah 48-72 jam, dengan menghitung indurasi/benjolan serta bekas kemerahan (CDC, 2007).
- d. Digunakan beberapa media kultur seperti: Lowenstein Jensen (LJ), Petragnani, Middlebrook 7H10 dan 7H11, Sula, Tharsis dan lain-lain. Koloni TB pada media kultur tersebut mempunyai ciri-ciri tumbuh tidak rata, berdungkul-dungkul seperti bunga kubis kering (Dzen, 2003).
- e. Pemeriksaan radiologis pada TB paru yang sering adalah didapatkannya gambaran tidak normal pada bagian apikal dan posterior dari lobus atas, atau bagian superior dari lobus bawah. Lesi bisa tampak di mana saja dan bisa berbeda dalam ukuran, bentuk dan densitasnya (CDC, 2007).

2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri ini berukuran lebar 0,3 – 0,6 mm dan panjang 1 – 4 mm. Dinding *M. tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding sel *M. tuberculosis* ialah asam mikolat, lilin kompleks (complex-waxes), trehalosa dimikolat yang disebut *cord factor*, dan *mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang (C60 – C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *M. tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam – alkohol (WHO, 2010). Koloninya mempunyai bau seperti aroma buah. Bakteri ini hanya dapat diwarnai dengan metode pewarnaan BTA metode Ziehl Nielsen, atau Kinyoun atau Tan Thiam Hok (TTH) (Dzen, 2003). Tidak dapat diklasifikasikan secara Gram positif atau Gram negatif (Jawetz *et al.*, 2007).

2.3 Protein Mtb 38 kDa

Protein 38 kDa *M.tuberculosis* adalah salah satu antigen dari *M.tuberculosis* yang mempunyai sensitifitas yang tinggi, selain itu protein ini sangat spesifik terhadap *M.tuberculosis* karena protein ini hanya ditemukan pada bakteri *M.tuberculosis* saja. Protein 38 kDa secara aktif disekresi dan sedikit bagiannya menempel di permukaan sel mikobakteri dengan *lipid tail* yang bertanggungjawab dalam pengikatan

karbohidrat ke protein. Protein antigen dari *M.tuberculosis* yang dapat merangsang respons imun pada host adalah protein M.tb 38 kDa (Syamsu, 2008). Protein 38-kDa merupakan salah satu antigen yang paling penting dari *Mycobacterium tuberculosis* yang secara aktif disekresikan tetapi sebagian melekat pada permukaan sel mikobakterium dengan ekor lipid yang mungkin juga bertanggung jawab untuk mengikat karbohidrat menjadi protein. Protein ini menginduksi sel B dan sel T dengan spesifisitas yang tinggi untuk infeksi dengan *M. tuberculosis* dan merupakan kandidat utama untuk pengembangan reagen diagnostik baru untuk tuberkulosis (Harboe, 1992).

Pembuatan rekombinan protein 38 kDa saat ini banyak dilakukan dengan cara diklon ke plasmid pGEM-Teasy menjadi pMB38 pada bakteri *E.coli* DH5 α (Raras, 2011). Pada penelitian yang dilakukan oleh Raras (2011) pencocokan sekuen gen pab dari klon *E.coli* DH5 α berwarna putih dengan gen pab dari *M. tuberculosis* H37Rv memperlihatkan homologi sebesar 98%. Protein rekombinan yang sudah dihilangkan sinyal peptidanya ditemukan di sitoplasma (Raras, 2011).

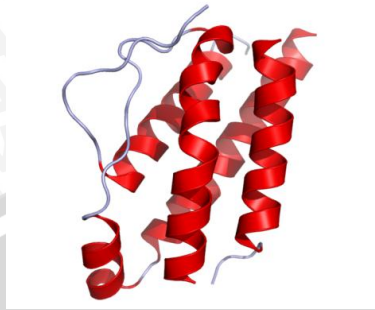
Protein 38 kda mempunyai struktur yang dapat berinteraksi dengan *Toll-like receptor 2* (TLR2) dan TLR4, dan juga interaksi dengan protein ini dapat menginduksi sitokin pro-inflamasi, TNF- α dan IL-6 untuk aktivasi monosit primer. Protein ini mempunyai peran dalam respons inflamasi awal jika ada infeksi TB (Forrellad, 2013). Selain itu protein ini dapat digunakan sebagai diagnosis secara serologis terhadap infeksi tuberkulosis karena mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang tinggi dibanding antigen lainnya (Senol *et al.*, 2007).

2.4 IL-2 (interleukin 2)

Interleukin 2 (IL-2) adalah sitokin yang diproduksi terutama oleh sel T dalam kondisi fisiologis, yang terdiri dari 133 asam amino (15,4 kDa). IL-2 disintesis sebagai protein precursor dari 153 asam amino dengan 20 asam amino aminoterminal pertamanya memiliki fungsi sebagai urutan sekresi sinyal hidrofobik. Pada *in vitro* sintesis IL-2 dapat dihambat oleh Deksametason atau CSA(Cyclosporin A) (Ibelgaufts, 2011)

IL-2 memiliki peran dalam proliferasi dari sel T naif sehingga disebut juga *T cell growth factor*. Selain berfungsi dalam proliferasi, IL-2 juga adalah faktor pertumbuhan dan differensiasi dari sel limfosit T dan memiliki peran utama dalam regulasi respon T sel melalui aksi-aksinya dalam sel T regulator (Abbas et al, 2007). Khususnya ketika tubuh host terpapar oleh antigen, IL-2 akan memperkuat respons imun (Fatmah, 2006).

Pada respons imun terhadap *M. tuberculosis*, yang diperantarai oleh respons imun seluler karena *M. tuberculosis* yang merupakan bakteri intraseluler maka peran sitokin akan sangat berguna, dalam hal ini peran IL-2. IL-2 yang merupakan *T cell growth factor* yang apabila *M. tuberculosis* memasuki tubuh akan membuat sel T naif yang sudah dikenalkan dengan *M. tuberculosis* akan teraktivasi sehingga akan mensekresikan IL-2 yang akan merangsang sel T untuk berproliferasi dan berdifferensiasi sehingga akan memberikan respons yang lebih baik terhadap *M. tuberculosis* (Kaihena, 2013).



Gambar 2.3 Kristal Interleukin-2 (Fatmah, 2006)

2.5 Flow Cytometry

2.5.1 Definisi

Flow Cytometry berasal dari kata *flow* (aliran cairan), *cyto* (sel) dan *metry* (pengukuran) yang dapat diartikan sebagai pengukuran sel-sel dalam aliran cairan melalui celah sempit yang ditembus oleh seberkas sinar laser. Setiap sel yang melewati berkas sinar laser menimbulkan sinyal elektronik yang dicatat oleh instrumen sebagai karakteristik sel bersangkutan. Setiap karakteristik molekul pada permukaan sel maupun yang terdapat di dalam sel dapat diidentifikasi dengan menggunakan satu atau lebih *probe*/pelacak. Oleh karena itu, instrumen dapat mengidentifikasi setiap jenis aktivitas sel dan menghitung jumlah masing-masing dalam suatu populasi campuran (Koeswardani, 2001).