

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

2.1.1 Taksonomi dan Karakteristik Bakteri

Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit tuberkulosis. *Mycobacterium tuberculosis* pertama kali dideskripsikan pada tanggal 24 Maret oleh Robert Koch. Berikut taksonomi dari *Mycobacterium tuberculosis* (Dewi, 2013):

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Fillum	: <i>Actinobacteria</i>
Ordo	: <i>Actinomycetales</i>
Subordo	: <i>Corynebacterineae</i>
Famili	: <i>Mycobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Spesies	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Ciri khas dari genus *Mycobacterium* adalah sukar untuk diwarnai dan apabila warna tersebut sudah menyerap, bahan warna tersebut susah dilunturkan walaupun dengan alkohol asam. Oleh karena itu, bakteri ini sering disebut sebagai bakteri tahan asam (*acid fast bacilli*) (Tim Mikrobiologi FK Unibraw, 2010). *M. tuberculosis* sulit diklasifikasikan ke dalam gram positif atau gram negatif, hal tersebut disebabkan karena *M. tuberculosis* tidak memberikan

karakteristik kimia dari keduanya. Jika pewarnaan gram dilakukan, akan dihasilkan warna merah yang sangat lemah dan tidak merata atau sama sekali tidak memberikan warna. Pewarnaan yang sesuai untuk bakteri ini adalah pewarnaan tahan asam (*acid fast staining*). Pewarnaan tahan asam yang lazim dilakukan adalah dengan metode Ziehl Neelson, *M. tuberculosis* akan terlihat berbentuk batang berwarna merah (Todar, 2005).

2.1.2 Morfologi dan Struktur Bakteri

M. tuberculosis berbentuk batang langsing, lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran lebar 0,3 - 0,6 mm dan panjang 1 - 4 mm. Dinding sel *M. tuberculosis* sangat kompleks dan terdiri dari lapisan lemak yang cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding sel *M. tuberculosis* antara lain; 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. Asam mikolat tidak biasa dijumpai pada bakteri dan hanya dijumpai pada dinding sel *Mycobacterium* dan *Corynebacterium*. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan *M. tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam alkohol (PDPI, 2006).

2.1.3 Struktur Antigen Bakteri

Komponen antigen dapat ditemukan pada dinding sel dan sitoplasma dari *M.tuberculosis* yaitu komponen lipid, protein dan polisakarida serta polipeptida (PDPI, 2006). Karakteristik antigen *M. tuberculosis* dapat diidentifikasi dengan menggunakan antibodi monoklonal. Saat ini telah dikenal *purified antigens* dengan berat molekul 14 kDa (kiloDalton), 19 kDa, 38 kDa, 65 kDa yang memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang bervariasi dalam mendiagnosis tuberkulosis (Jawetz *dkk.*, 2005). Ada juga yang menggolongkan antigen *M. tuberculosis* dalam kelompok antigen yang disekresi dan yang tidak disekresi (somatik). Antigen yang disekresi hanya dihasilkan oleh basil yang hidup, contohnya antigen 30.000 alpha, protein MTP 40 dan lain-lain (Richter *et al.*, 2004).

Dengan melakukan elektroforesis menggunakan filtrat dari biakan *M. tuberculosis* strain H37Rv, diketahui ada sebelas antigen mayor. Menurut Seibert, sel bakteri *M. tuberculosis* terdiri dari 5 fraksi, yaitu 4 fraksi berupa protein (A,B,C, dan D) dan 1 fraksi adalah polisakarida, dimana protein A,B, dan C mengandung bahan-bahan bersifat antigenik. Fraksi polisakarida terdiri atas polisakarida I dan polisakarida II, yang merupakan senyawa arabinogalaktan dan arabinomanan yang berasal dari dinding sel bakteri. Rantai samping arabinosa adalah yang bertindak sebagai penentu antigenik (*antigenic determinant*). Rantai samping ini berhubungan antara mikobakteria, nokardia, dan korinebakteria. Senyawa arabinomanan diduga bertanggung jawab sebagai antigen permukaan yang berperan pada reaksi spesifik seperti aglutinasi serum pada beberapa spesies dari *Mycobacterium*. Walaupun mikobakteria dapat merangsang pembentukan antibodi, namun sampai saat ini belum ditemukan tes-tes serologis yang dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis secara pasti terhadap penyakit terkait bakteri *M. tuberculosis* (Tim Mikrobiologi FK Unibraw, 2010).

2.1.4 Faktor dan Mekanisme Virulensi Bakteri

Pada tahun 1998, penentuan urutan genom lengkap *Mycobacterium tuberculosis* (strain H37Rv) telah selesai dilakukan. Baru-baru ini sebagian besar gen pada genom tersebut telah diketahui fungsinya. Dari hasil penemuan tersebut diketahui bahwa *M. tuberculosis* tidak memiliki faktor virulensi seperti bakteri pada umumnya yaitu toksin, kapsul atau fimbria. Sebagian dari struktur dan sistem fisiologis *M. tuberculosis* telah diketahui berkontribusi terhadap virulensi. Faktor virulensi tersebut diantaranya adalah *M. tuberculosis* tumbuh secara intrasel di dalam sel fagosit terutama makrofag, di dalam makrofag setelah difagositosis *M. tuberculosis* dapat menghambat proses fusi fagosom-lisosom sehingga tidak dapat dicerna. Faktor virulensi lainnya adalah *M. tuberculosis* dapat menginterferensi efek toksik dari zat oksigen reaktif yang dihasilkan dari proses fagositosis. *M. tuberculosis* juga memiliki kompleks antigen 85 yang berperan dalam melindungi bakteri dari sistem imun dan memfasilitasi terbentuknya tuberkuli. Selain itu, *M. tuberculosis* memiliki waktu regenerasi yang lambat sehingga sistem imun tidak dapat mengenali bakteri atau mengeliminasinya (Todar, 2005).

2.2 Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Infeksi yang diakibatkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* pada umumnya mengacu pada istilah penyakit yang disebut tuberkulosis. Tuberkulosis terutama menyerang organ paru, tetapi seringkali juga dapat menyerang organ-organ lain diluar paru (Depkes RI, 2007). Tuberkulosis yang menyerang organ paru disebut tuberkulosis paru (*pulmonary TB*), sedangkan tuberkulosis yang menyerang organ diluar paru disebut tuberkulosis ekstraparu (*extrapulmonary TB*) (WHO,2012). Organ di luar paru yang kemungkinan besar dapat diserang adalah

organ yang mempunyai vaskularisasi yang baik, seperti otak, tulang, ginjal (Kumar *et al.*, 2007).

2.2.1 Tuberkulosis Paru

Tuberkulosis (TB) paru adalah tuberkulosis yang menyerang jaringan paru, tidak termasuk pleura (selaput paru) (PDPI, 2006). Di seluruh dunia terdapat sekitar 9 juta kasus baru dan kira-kira 2 juta kematian karena TB paru pada tahun 2005. Penemuan kasus TB di Indonesia pada tahun 2005 adalah 68% dan telah mendekati target global untuk penemuan kasus TB pada tahun 2005 yaitu sebesar 70%. Berdasarkan hasil survey prevalensi TB di Indonesia tahun 2004 menunjukkan bahwa insiden kasus TB dengan BTA (Basil Tahan Asam) positif sekitar 110 per 100.000 penduduk (Depkes RI, 2006). Menurut laporan WHO, penderita TB paru di Indonesia pada tahun 2009 sebanyak 294.731 orang. Pada tahun 2010, jumlah penderita TB paru naik menjadi 330.000 orang dan pada tahun 2012, jumlah penderita TB paru meningkat cukup tajam yaitu 583.000 orang. Saat ini setiap menit muncul satu penderita baru TB paru, dan setiap dua menit muncul satu penderita baru TB paru yang menular. Bahkan setiap empat menit satu orang meninggal akibat TB paru di Indonesia (WHO, 2012). Penderita TB paru dengan status BTA positif dapat menularkan kepada 10-15 orang lain (Depkes RI, 2008).

2.2.1.1 Patogenesis Tuberkulosis Paru

Paru merupakan *port d'entrée* dari infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*). Karena ukurannya yang sangat kecil, *M.tb* dalam bentuk percikan renik (*droplet nuclei*) yang terhirup melalui inhalasi, dapat mencapai alveolus jika

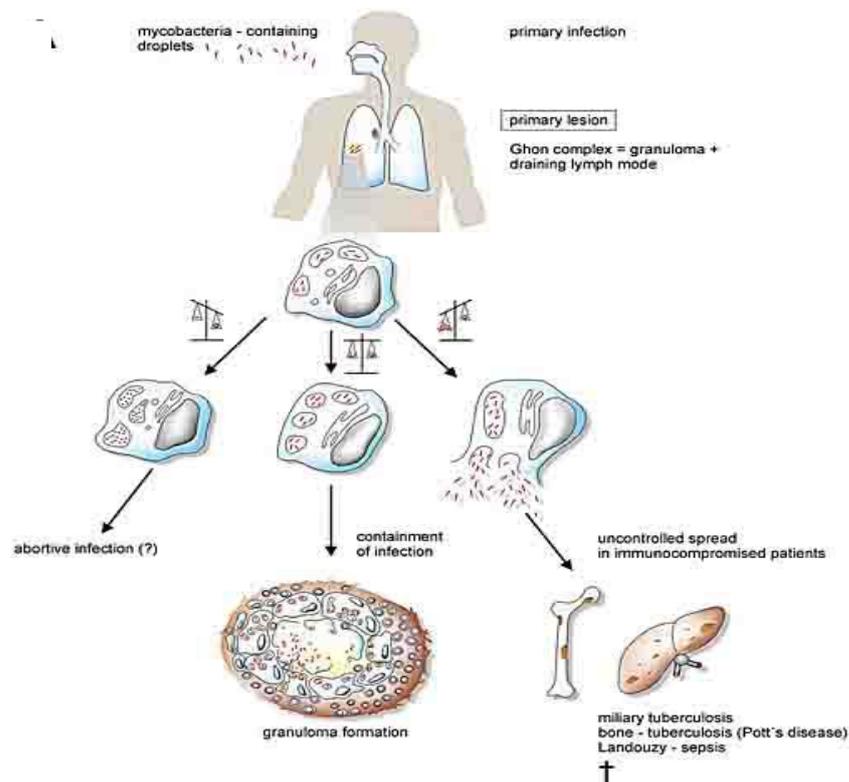
ukurannya semakin kecil. Masuknya *M.tb* ini akan segera diatasi oleh mekanisme imunologis non spesifik. Makrofag alveolar akan menfagosit *M.tb* dan biasanya sanggup menghancurkan sebagian *M.tb*. Meskipun respon imun mampu melawan infeksi primer *M.tb* dengan baik, namun bakteri ini tidak pernah terbasmi dengan sempurna (Glickman, 2001). *M.tb* sulit dibunuh karena memiliki beberapa komponen lipid pada dinding sel yang mampu menetralkan atau menghambat respon imun, antara lain *mycolic acid*, *cord factor* dan *wax-D* (Todar, 2009).

2.2.1.2 Tuberkulosis Primer

Tuberkulosis primer adalah bentuk penyakit pada orang yang belum pernah terpajan *M.tb*, pada umumnya berawal dari paru. Basil yang terhirup cenderung melekat di dalam rongga udara distal bagian bawah lobus atas atau bagian atas lobus bawah, umumnya dekat pleura. Waktu yang diperlukan sejak masuknya *M.tb* hingga terbentuknya kompleks primer secara lengkap disebut sebagai masa inkubasi TB. Masa inkubasi TB biasanya berlangsung dalam waktu 4-8 minggu dengan rentang waktu antara 2-12 minggu. Dalam masa inkubasi tersebut, bakteri tumbuh hingga mencapai jumlah 10³-10⁴ bakteri, yaitu jumlah yang cukup untuk merangsang respon imunitas seluler (Kumar *et al.*, 2007).

Seiring terjadinya sensitisasi, muncul daerah konsolidasi meradang pada jaringan paru yang disebut fokus primer (Gohn). Sebagian besar kasus terdapat nekrosis pengkejuan (*necrosis caseosa*) pada bagian tengah fokus Gohn. Sementara *M.tb* yang bebas maupun berada dalam fagosit, dapat mengalir ke kelenjar regional yang juga sering mengalami pengkejuan dan terjadi peradangan serta pembesaran kelenjar getah bening di hilus (limfadenitis regional). Kombinasi tersebut disebut kompleks primer (Gohn). Dari kompleks inilah infeksi TB primer dinyatakan telah terjadi dan akan terbentuk imunitas

seluler pada tubuh inang. Hal tersebut ditandai oleh terbentuknya hipersensitivitas terhadap tuberkuloprotein, yaitu timbulnya respon positif terhadap uji tuberkulin (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.1. Patogenesis dan Lesi Tuberkulosis Primer (Ulrichs and Kaufmann, 2002).

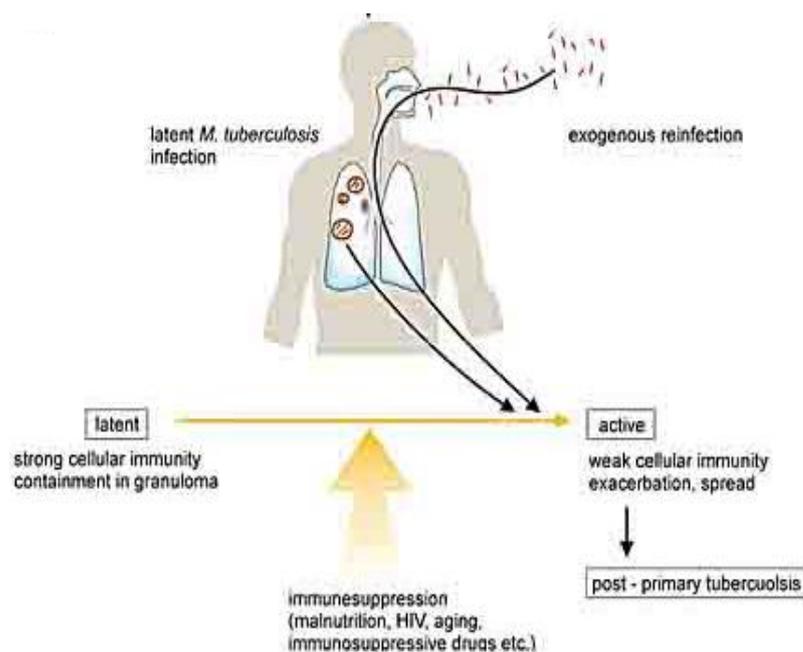
Bila respon imun dapat mengeliminasi bakteri dengan baik, maka penderita sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas berupa granuloma. Bila respon imun tidak mampu mengeliminasi bakteri, atau bila aktivitas sel limfosit T dan makrofag tidak seimbang, akan terjadi rusaknya integritas granuloma yang menyebabkan lepasnya bakteri dan penyebaran melalui pembuluh darah. Kondisi ini dapat menyebabkan penyakit TB sistemik atau TB miliar, TB meningitis, ginjal, tulang dan sebagainya. Penyebaran juga dapat terjadi secara *perkontinuitatum* ke jaringan sekitar, atau secara bronkogen melalui percabangan

saluran nafas ke jaringan paru yang sama maupun kontralateral (CDC, 2013; Hernandez-Pando *et al.*, 2007).

2.2.1.3 Tuberkulosis Pasca Primer

TB pasca primer atau sekunder adalah pola penyakit yang muncul pada orang yang telah tersensitisasi *M.tb* sebelumnya, hal ini terjadi karena reaktivasi bakteri yang dorman terutama saat resistensi pasien melemah, dapat juga terjadi segera setelah infeksi primer maupun akibat reinfeksi eksogen karena berkurangnya proteksi yang dihasilkan penyakit primer atau karena besarnya inokulum basil hidup. Fokus potensial TB pasca primer/sekunder terutama terbatas di apeks lobus yang disebut fokus *Simon*. Kemungkinan besar letak lesi berkaitan dengan tingginya tegangan oksigen disana (Kumar *et al.*, 2007). Tuberkulosis pasca primer ini terutama menjadi masalah kesehatan masyarakat karena sering kali menjadi sumber penularan di masyarakat (Hernandez-Pando *et al.*, 2007).

Lesi awal biasanya berupa fokus kecil konsolidasi (kurang dari 2cm) di segmen apikal dari lobus superior maupun lobus inferior paru (Kumar *et al.*, 2007). Lesi dini awalnya berbentuk suatu lesi pneumonik kecil. Lesi ini dapat diresorpsi dan sembuh kembali tanpa menimbulkan kecacatan; atau mula-mula meluas disusul dengan penyembuhan dan pembentukan jaringan fibrosis; atau dapat terus meluas dan mengalami pengkejuan. Lesi pneumonik dapat pula memadat dan terbungkus oleh suatu selaput membentuk struktur yang disebut tuberkuloma (Hernandez-Pando *et al.*, 2007). Batas fokus tegas dan padat, berwarna abu-abu putih hingga kuning dengan nekrosis kaseosa dan fibrosis perifer dengan derajat yang bervariasi (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.2. Patogenesis Tuberkulosis Pasca Primer (Ulrichs and Kaufmann, 2002).

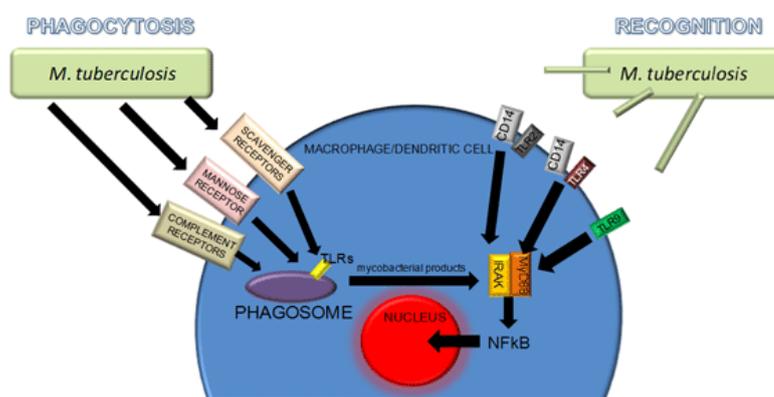
Secara histologis, pada lesi aktif terdapat tuberkel yang menyatu dengan nekrosis kaseosa ditengah (Kumar *et al.*, 2007). Bila lokasi pengejuan berhubungan dengan pembuluh darah, dapat terjadi gejala batuk darah. Sedangkan bila lokasi pengejuan berhubungan dengan lumen percabangan bronkus, material isinya dapat dibatukkan keluar meninggalkan rongga yang disebut sebagai kavitas. Kavitas yang kosong dapat pula ditumbuhi oleh beberapa jenis jamur antara lain *Aspergillus*, memungkinkan terbentuknya aspergilloma (*fungus ball*) yang dapat menjadi penyebab batuk darah masif yang mengancam jiwa (Hernandez-Pando *et al.*, 2007).

2.2.1.4 Respon Imun Terhadap Infeksi Tuberkulosis Paru

Respon imun terhadap infeksi TB meliputi respon imun bawaan (*innate*) dan adaptif. Respon imun bawaan diperankan oleh sel makrofag, sedangkan

respon imun adaptif diperankan oleh limfosit T, baik CD4⁺, CD8⁺, maupun $\gamma\delta$. Makrofag alveolar merupakan pertahanan lini pertama yang berhadapan dengan *M.tb* saat bakteri tersebut masuk saluran nafas melalui inhalasi. Selain itu makrofag juga merupakan sel efektor utama untuk membunuh *M.tb* (Van Crevel *et al.*, 2002).

Makrofag (dan sel dendritik) terlibat dalam proses fagositosis *M.tb* melalui beberapa jenis reseptor pada permukaannya. Reseptor komplemen (CR1, CR3, CR4) berguna untuk fagositosis *M.tb* yang teropsonisasi komplemen. Reseptor *mannose* dan reseptor *scavenger* berguna untuk fagositosis *M.tb* yang tidak teropsonisasi. Reseptor *mannose* berikatan dengan residu *mannose* terminal pada mikobakteria. TLR memiliki peran penting pada imunitas terhadap *M.tb*. Bersama molekul CD14, TLR-2 akan berikatan dengan *lipoarabinomannan* (LAM) (Rook *et al.*, 2001; Van Crevel *et al.*, 2002).



Gambar 2.3. Reseptor Permukaan Sel Makrofag Terhadap Pengenalan *M.tuberculosis* (Bezos, 2009).

Setelah terjadi ikatan dengan TLR, akan diaktifkan jalur signal yang melibatkan IRAK (*IL-1 R-Associated Kinase*) dan MyD88 (*Myeloid Differentiation Protein 88*), mengaktifkan faktor transkripsi NF- κ B dan memicu produksi sitokin proinflamasi, antara lain IL-12 dan TNF- α . TNF- α mengarahkan sel-sel radang

yang lain menuju lokasi infeksi. IL-12 bersama beberapa sitokin lainnya berperan merangsang produksi IFN- γ oleh sel NK, makrofag, dan limfosit T $\gamma\delta$ (Van Crevel *et al.*, 2002; Hernandez-Pando *et al.*, 2007). Aktivasi makrofag membutuhkan dukungan sitokin tertentu, terutama IFN- γ . Sebelum imunitas adaptif diaktifkan, IFN- γ diproduksi oleh sel NK, makrofag, limfosit T $\gamma\delta$, dan limfosit T *CD1-restricted*. Setelah imunitas adaptif diaktifkan, sumber utama IFN- γ adalah limfosit Th-1 (Condos *et al.*, 1998; Van Crevel *et al.*, 2002; Schluger *et al.*, 2005).

Makrofag memiliki beberapa cara untuk membunuh *M.tb*. Dalam fagosom makrofag yang aktif terbentuk *reactive oxygen intermediates* (ROI) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI). Fagosom secara bertahap bersuasana semakin asam dan selanjutnya berfusi dengan lisosom. Enzim-enzim dalam lisosom mampu membunuh *M.tb*. *M.tb* mampu meloloskan diri dari respon imun makrofag melalui beberapa cara, antara lain: menghambat maturasi dan asidifikasi fagosom, serta menghambat fusi fagosom dan lisosom. Selanjutnya, *M.tb* menetap didalam membran vakuola. Disini *M.tb* dapat melakukan replikasi dan maturasi di dalamnya (Kaufmann, 2001; van Crevel *et al.*, 2002; Armstrong and Hart, 1971).

Apoptosis makrofag merupakan salah satu cara lain untuk membatasi pertumbuhan *M.tb*. Hal ini akan membatasi penyebaran bakteri, karena apoptosis sel makrofag yang terinfeksi *M.tb* akan menurunkan viabilitas bakteri intraseluler. Kematian sel makrofag melalui nekrosis tidak menurunkan viabilitas *M.tb*. Untuk menginduksi proses apoptosis diperlukan TNF- α . Beberapa strain *M.tb* mampu menghambat apoptosis makrofag dengan cara merangsang produksi IL-10, dan pelepasan reseptor TNF- α solubel yang menetralkan aktivitas TNF- α (Van Crevel *et al.*, 2002; Schluger *et al.*, 2005). Selain itu, TNF- α juga berperan pada pembentukan granuloma. TNF- α berguna untuk pembentukan dinding yang

membatasi granuloma (Schluger *et al.*, 2005; Hernandez-Pando *et al.*, 2007).

Pada sebagian besar individu, respon imun yang timbul tetap mampu membunuh *M.tb* dan menghasilkan suatu struktur yang disebut granuloma. Granuloma merupakan gambaran respon imun terhadap *M.tb* yang paling menonjol. *M.tb* sulit dibunuh karena memiliki beberapa komponen lipid pada dinding sel yang mampu menetralkan atau menghambat respon imun, antara lain *mycolic acid*, *cord factor* dan *wax-D* (Todar, 2009). Untuk mengatasi hal tersebut, respon imun membentuk granuloma, yaitu struktur yang terdiri dari beberapa makrofag yang terinfeksi dibagian tengah dan dikelilingi oleh sel-sel limfosit T di bagian tepinya. Pada bagian tengah granuloma bertekanan oksigen yang sangat rendah dan seringkali mengalami nekrosis atau pengejuan, berisi sel-sel jaringan nekrotik, debris seluler, dan sejumlah bakteri *M.tb* yang mati (Schluger *et al.*, 2005; Hernandez-Pando *et al.*, 2007).

Respon imun limfosit T meliputi respon imun non spesifik yang diperankan oleh limfosit T $\gamma\delta$, limfosit T *CD1-restricted*, dan respon imun spesifik yang diperankan oleh limfosit T $CD4^+$ dan $CD8^+$ (Van Crevel *et al.*, 2002; Hernandez-Pando *et al.*, 2007). Limfosit T $\gamma\delta$ terakumulasi di lokasi infeksi pada awal infeksi. Limfosit ini mampu mengenali produk lipid dan glikolipid mikobakteria tanpa membutuhkan ikatan melalui molekul MHC. Fungsinya adalah membunuh sel makrofag yang terinfeksi *M.tb* melalui interaksi Fas-Fas *ligand* dan perforin (De la Barrera *et al.*, 2003). Sel ini juga berfungsi mengendalikan respon imun agar tidak terjadi respon imun berlebihan yang akan menyebabkan kerusakan jaringan. Pada saat diaktifkan, limfosit T $\gamma\delta$ mengalami peningkatan ekspresi *CD95-ligand*. Untuk menghentikan aktivitasnya, tidak lama kemudian sel ini mengalami apoptosis (Manfredi *et al.*, 1998; Rook *et al.*, 2001).

Limfosit *CD1-restricted* meliputi sekelompok limfosit yang mampu mengenali antigen glikolipid (*phosphatidylinositol mannoside*, LAM, *mycolic acid*

dan *hexosyl-1-phosphoisoprenoid*) pada permukaan *M.tb* yang dipresentasikan melalui ikatan dengan molekul CD1 oleh sel dendritik. Sel-sel tersebut antara lain limfosit T $\alpha\beta$ CD4⁻CD8⁻ (*double negative T cell*), limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ tertentu, CD8 α/α^+ , dan sel NK (Porcelli and Modlin, 1999; Rook *et al.*, 2001). Mekanisme efekturnya terutama menghasilkan IFN- γ yang berfungsi mengaktifkan makrofag, serta induksi apoptosis sel makrofag terinfeksi melalui interaksi CD95-CD95 *ligand* (Rook *et al.*, 2001).

Imunitas seluler/spesifik umumnya muncul dalam waktu 3 minggu setelah pajanan. Makrofag yang tidak dapat membunuh *M.tb* nantinya akan mempresentasikan antigen dari bakteri. Antigen mikobakterium diproses kemudian mencapai kelenjar getah bening regional dan disajikan dalam konteks MHC-II oleh sel makrofag ke sel *T-helper* (Th) CD4⁺. Selanjutnya, sel tersebut mengalami pematangan menjadi sel Th-1 dengan bantuan IL-12 yang dihasilkan oleh makrofag. Sel Th-1 mengeluarkan IFN- γ yang akan meningkatkan fagositosis makrofag dan mengaktifkan gen *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). Monosit akan teraktivasi dan berdiferensiasi menjadi histiosit epiteloid yang menandai respon granulomatosa. Sementara iNOS akan menyebabkan peningkatan nitrit oksida ditempat infeksi. Nitrit oksida dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada beberapa konstituen mikobakterium dari dinding sel sampai DNA (Kumar *et al.*, 2007).

Limfosit T CD8⁺ mengenali antigen mikobakteria yang dipresentasikan melalui molekul MHC kelas I atau CD1. Sel limfosit T CD8⁺ berfungsi membunuh makrofag yang terinfeksi dengan mensekresi *perforin*, *granzyme*, dan *granulysin*; namun sel ini diketahui juga mampu memproduksi IFN- γ (Rook *et al.*, 2001; Kaufmann, 2001). Adapun Immunoglobulin berfungsi sebagai opsonin, menetralkan bakteri, aktivasi sistem komplemen, membantu proses ADCC (*Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity*) namun dianggap tidak begitu penting

dalam proteksi terhadap infeksi *M.tb* maupun eliminasi bakteri *M.tb* (Rook *et al.*, 2001).

Pada 95% kasus, imunitas seluler dapat mengendalikan infeksi, sehingga kompleks gohn mengalami fibrosis progresif yang sering diikuti kalsifikasi dan dapat terdeteksi dengan radiologi. Jika dilihat secara histologis, dapat ditemukan reaksi peradangan granulomatosa yang membentuk tuberkel pengejuan dan non pengejuan yang merupakan penanda tempat yang terlibat aktif. Granuloma baru tampak secara makroskopik jika tuberkel menyatu dalam jumlah yang banyak. Granuloma biasanya terbungkus cincin fibroblastik disertai limfosit. Selain itu, juga terdapat sel raksasa berinti banyak (sel Datia Langhans) (Kumar *et al.*, 2007).

2.2.2 Tuberkulosis Pada Sistem Saraf Pusat

Infeksi TB pada sistem saraf pusat (SSP) terjadi sekitar 1% dari semua kasus TB yang membawa mortalitas dan morbiditas pada pasien *immunodeficiency* (Rock *et al.*, 2008). Tuberkulosis yang menyerang SSP ditemukan dalam tiga bentuk, yakni meningitis, tuberkuloma, dan araknoiditis spinalis. Ketiganya sering ditemukan di negara endemis TB, dengan kasus terbanyak berupa meningitis tuberkulosis (Rahajoe *dkk.*, 2007).

Di Indonesia, meningitis tuberkulosis masih banyak ditemukan karena morbiditas tuberkulosis pada anak masih tinggi. Angka kejadian tertinggi dijumpai pada anak umur 6 bulan sampai dengan 4 atau 6 tahun, jarang ditemukan pada umur dibawah 6 bulan, hampir tidak pernah ditemukan pada umur dibawah 3 bulan. Meningitis tuberkulosis menyerang 0,3% anak yang menderita tuberkulosis yang tidak diobati. Angka kematian pada meningitis tuberkulosis berkisar antara 10-20%. Sebagian besar memberikan gejala sisa, hanya 18%

pasien yang akan kembali normal secara neurologis dan intelektual (IDAI, 2005; Behrman *et al.*, 2004).

Tuberkuloma merupakan penyakit yang jarang didapatkan tetapi menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi walaupun metode diagnostik dan pengobatan sudah berkembang (Lee *et al.*, 2002). TB CNS dapat berkembang dalam tiga tahapan. Tahap pertama ditandai gejala-gejala nonspesifik dengan sedikit atau tanpa tanda-tanda klinis meningitis. Tahap kedua ditandai perkembangan tanda-tanda meningitis seperti meningismus, letargi, dan kelumpuhan saraf kranialis. Tahap ketiga ditandai koma dan gangguan neurologis seperti paralisis (Fitzpatrick and Braden, 2000).

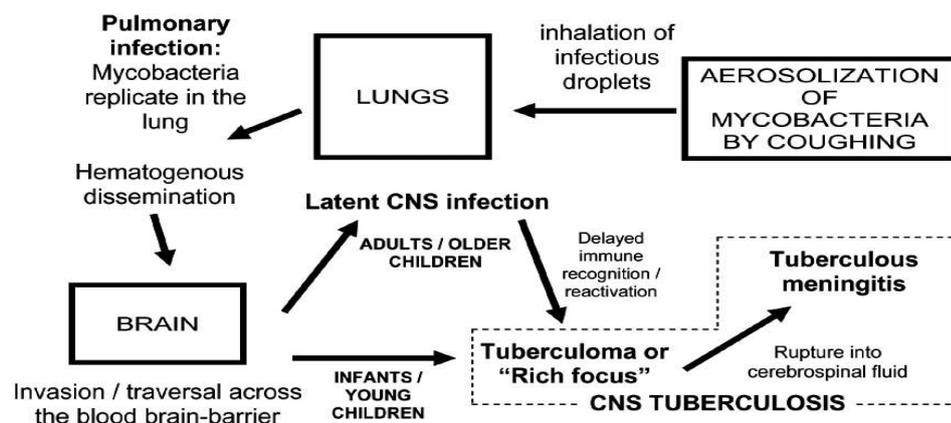
2.2.2.1 Patogenesis Tuberkulosis Pada Sistem Saraf Pusat

Tuberkulosis SSP disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) yang menyebar dan belum dapat dihancurkan dengan sempurna oleh makrofag alveolar (Rock *et al.*, 2008). Patofisiologi tuberkulosis SSP secara hematolimfogen masih berupa kontroversial dikalangan para ilmuwan. Diyakini penyebaran bakteri yang paling sering terjadi adalah dalam bentuk penyebaran hematogenik tersamar (*occult hematogenic spread*). Berawal dari perkembangan *M.tb* yang menembus sawar darah otak yang tersusun atas sel *endothelial mikrovascular monolayer* (Tarakad, 2013).

Mycobacterium tuberculosis strain H37Rv memiliki kemampuan invasi serta merubah struktur dari kompleks sel endotel di otak manusia. Kemampuan invasi pada kompleks sel endotel otak manusia diduga karena adanya tonjolan-tonjolan mikrovili pada pintu masuk, yang mendorong keterlibatan sel aktin pada sitoskeleton inang untuk melakukan penyusunan ulang. Kondensasi F-aktin juga terjadi selama infeksi *Mycobacterium* dan invasi *M. tuberculosis* pada kompleks

sel endotelial di otak yang dihambat oleh *cytochalasin D*. Selain itu, gen *Rv0986* dan *Rv0987* yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis* memiliki potensi untuk meningkatkan virulensi dan adesi tuberkulosis pada sel inang (Rock *et al.*, 2008).

Masuknya *M.tb* menembus BBB, memicu terjadinya fokus kecil lesi kaseosa (*Rich fokus*) pada korteks dan meningen otak. Seiring berjalannya waktu, lesi *Rich fokus* akan membesar dan ruptur, sehingga menyebabkan *M.tb* menyebar ke ruang subarachnoid dan menyebabkan meningitis. Inflamasi yang juga terjadi pada cairan serebrospinal (CSF) akan menyebabkan obstruksi bahkan infark, oleh karena itu, pada pasien meningitis TB sering terjadi hidrosefalus, disfungsi nervus kranial III, VI, dan VII. Selain itu, dinding pembuluh darah kortikomeningeal juga mengalami peradangan yang dapat menyebabkan menurunnya aliran darah ke jaringan otak dan menyebabkan sel-sel otak kekurangan oksigen. *M.tb* yang masuk lebih dalam ke parenkim otak atau sumsum tulang belakang (intraparenkim), akan menyebabkan tuberkuloma kaseosa (Tarakad, 2013).



Gambar 2.4 Alur Perjalanan *M. tuberculosis* Menyebabkan Tuberkulosis SSP (Be *et al.*, 2009).

2.2.2.2 Respon Imun Terhadap Tuberkulosis di Sistem Saraf Pusat

Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* yang mengenai sistem saraf pusat menginduksi aktivasi sel mikroglia yang bertugas sebagai pertahanan terhadap infeksi. Mikroglia yang teraktivasi akan mengekspresikan molekul CD-14. Dengan bantuan molekul CD-14, *Toll Like Receptor-2* (TLR-2) menjadi aktif dan kemudian berikatan dengan *lipoarabinomannan* (LAM). TLR-2 secara aktif mampu mengenali antigen mt38 yang dimiliki *M.tb* (Rock *et al.*, 2008). Terjadinya ikatan dengan TLR-2, akan memicu penggabungan MyD88 (*Myeloid Differentiation Protein 88*) dengan domain TIR (*Translocated Intimin Receptor*) dan membentuk kompleks IRAK-1/IRAK-4 (*IL-1 R-Associated Kinase*). IRAK-4 memfosforilasi IRAK-1, menghasilkan tempat ikatan untuk TRAF6. Kemudian kompleks IRAK1-TRAF6 terpecah dan mengaktifkan kompleks protein kinase TAK-1 (*Transforming Growth Factor b Activated Kinase-1*). TAK-1 yang sudah diaktifkan menghasilkan sinyal transduksi yang memfosforilasi IKK untuk mengaktifkan jalur NFkB. Kemudian IKK memfosforilasi Ikb sehingga terjadi pelepasan NFkB (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

NFkB yang dilepas bertranslokasi dari sitoplasma ke nukleus menjadi aktivator transkripsi gen yang NFkB dependen. NFkB kemudian memicu produksi sitokin proinflamasi, antara lain IL-12 dan TNF- α . TNF- α diproduksi selama mikroglia teraktivasi dan berfungsi mengarahkan sel-sel radang lain menuju lokasi infeksi. IL-12 yang dihasilkan dapat menginduksi limfosit Th-1 melalui jalur STAT4 (*Signal Transducers and Activators of Transcription*). IL-12 memacu diferensiasi CD4+ menjadi sel efektor Th1 yang kemudian memproduksi IFN- γ . IFN- γ sangat dibutuhkan untuk meningkatkan kemampuan mikroglia dalam fagositosis dan merangsang sel B untuk memproduksi IgG yang bekerja sebagai opsonin dalam fagositosis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

IFN- γ juga mengaktifkan gen *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) yang akan menyebabkan peningkatan nitrit oksida ditempat infeksi. Nitrit oksida dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada beberapa konstituen mikobakterium dari dinding sel sampai DNA (Kumar *et al.*, 2007). Mikroglia juga mengeluarkan sitokin lain, salah satunya adalah enzim *matrix metalloproteinase* (MMP) yang berperan pada kerusakan BBB, migrasi leukosit ke sistem nervus, dan kerusakan jaringan. MMP adalah enzim yang mampu mendegradasi protein matrix ekstraseluler dan diberkaitkan erat dengan infeksi pada SSP, neuroinflamasi/neurodegeneratif, hipoksia, serta trauma SSP . MMP juga dapat dihasilkan oleh astrosit, oligodendrisit, dan neuron. Beberapa faktor seperti sitokin, faktor pertumbuhan, *phorbol esters*, sel-sel dan interaksi matriks sel mempengaruhi ekspresi MMP (Gottschall *et al*, 1996). Selain itu, produksi IL-1 dan IL-10 terhambat secara signifikan. Hal ini menandakan bahwa infeksi *M.tb* menginduksi efek *immunosuppressive* pada mikroglia (Dalmau *et al.*, 2003).

2.3 Sistem Saraf Pusat

2.3.1 Sawar Darah Otak

Sawar darah otak atau *blood brain barrier* adalah struktur membran yang secara primer berfungsi untuk melindungi otak dari bahan-bahan kimia dalam darah, dimana fungsi metabolik masih dapat dilakukan. Di dalam otak dan medula spinalis pada mamalia termasuk manusia, sawar darah otak disusun oleh sel-sel endothelial yang membentuk dinding kapiler. Penyusun lainnya adalah sel epitel yang berasal dari pleksus koroideus, yang menghalangi percampuran antara darah dengan cairan serebrospinal. CSF disekresikan oleh sel-sel epitel dari pleksus koroideus menuju ke sistem ventrikuler otak. Epitel arakhnoid yang avaskular juga menjadi penyusun dari lapisan ini. Walaupun lapisan ini

membentuk sistem *barrier* dari SSP, karakteristiknya yang avaskular dan area permukaannya yang relatif kecil membuat perannya dalam pertukaran darah dan SSP menjadi kurang signifikan. Kombinasi ketiga komponen tersebut akan menjadi sawar darah otak yang berfungsi sebagai proteksi, transport, dan metabolisme (transit dari molekul enzim-enzim metabolisme) (Weiss, 2009).

Fungsi dari sawar darah otak tidak selalu tetap, namun dapat berubah jika mengalami modulasi dan regulasi, baik pada keadaan fisiologi maupun patologi. Sawar darah otak dicirikan sebagai lapisan seluler yang sempurna dan kontinu serta sel-sel endotel yang tersegel oleh *tight junction*. Komunikasi antar sel-sel normal antara astrosit, perisit, sel endotel dan neurofil yang mengelilingi penting bagi ekspresi sawar darah otak dan mekanisme homeostatisnya. Transpor, fungsi yang dimediasi reseptor dan enzim, memainkan peran penting dalam regulasi komposisi cairan ekstraseluler. Molekul, di atas ukuran yang dibatasi, yang bersirkulasi dalam darah dapat memperoleh akses menuju interstisial hanya jika terdapat sistem transpor khusus untuk molekul tersebut yang terdapat dalam endotel kapiler otak. Demikian untuk sistem asam amino, transferin, insulin, Ig G, dan albumin terkonjugasi menjamin bahwa SSP secara tetap menerima senyawa yang dibutuhkan (Weiss, 2009).

2.3.2 Meningen

Konsistensi otak bersifat lembut dan bergelatin, walaupun traktus spinalis berbentuk keras. Meningen berfungsi sebagai struktur tambahan yang memproteksi otak selain tengkorak dan kolumna vertebrae serta ligamen-ligamen. Meningen terdiri dari tiga lapisan, yakni duramater sebagai lapisan yang terluar yang lebih tebal, arakhnoid yang tepat dibawah lapisan duramater, serta piamater yang tipis dan melekat erat dengan otak dan traktus spinalis. Dua

lapisan terakhir, pia-arakhnoid, terhalang oleh rongga subarakhnoid yang berisi cairan serebrospinal. Proteksi utama berasal dari lapisan duramater yang terluar dan bantalan cairan serebrospinal di rongga subarakhnoid (Liewellyn, 1979).

Duramater atau *pachymeninx* (membran yang tebal), merupakan lapisan kuat yang terdiri dari jaringan kolagen. Lapisan dalam duramater mengandung epitel selapis pipih, dan lapisan tipis dari cairan yang mengisi rongga potensial subdural antara duramater dan arakhnoid. Duramater kranial memiliki beberapa fungsi penting, terutama refleks dural dan sinus vena dural. Duramater kranial memiliki banyak suplai dari serabut saraf sensoris, terutama dari saraf germinal. Duramater melapisi anterior fossa kranial yang disuplai oleh cabang ethmoidal dari saraf optalmik (Liewellyn, 1979).

Piamater dan arakhnoid berkembang secara instant sebagai lapisan tunggal dari jaringan mesodermal mengelilingi otak embrionik dan traktus spinalis. Cairan mengisi rongga yang akan menjadi rongga subarakhnoid, dan asal dari membran yang berasal dari lapisan tunggal yang memberi gambaran banyak trabekula melewati diantara keduanya. Secara histologis, pia dan arakhnoid terdiri dari serabut kolagen dan beberapa serabut elastik. Kedua permukaan dari arakhnoid dan piamater dilapisi oleh epitel selapis pipih. Trabekula menyebrangi rongga subarakhnoid yang terdiri dari serabut halus jaringan ikat dengan sel epitel pipih pada permukaannya. Piamater dan arakhnoid bersama-sama merupakan *leptomeninges* (membran kecil). Piamater yang mengandung jaringan dari pembuluh darah sehat, menempel ke permukaan otak dan traktus spinalis, mengikuti konturnya masing-masing (Liewellyn, 1979; Holmes, 1993).

2.3.3 Cairan Serebrospinal

Cairan serebrospinal bersifat jernih seperti kristal, tidak berwarna, bebas dari protein, terlihat seperti air dan ditemukan di sistem ventrikular serta rongga subaraknoid. Cairan ini mencegah otak dari penarikan terhadap meningen, cabang saraf, dan pembuluh darah, yang juga terinervasi dengan saraf sensoris. Tekanan cairan serebrospinal lebih rendah daripada darah. Volume cairan serebrospinal berkisar antara 80-200 ml, dengan rata-rata sekitar 130 ml, ini termasuk cairan di kedua ventrikel dan rongga subaraknoid. Sistem ventrikular sendiri mengandung dari 15-45 ml cairan. Jumlah produksi cairan diperkirakan akan cukup terhadap efek perpindahan total dalam 24 jam. Tekanan cairan serebrospinal berkisar dari 80-180 ml air ketika seseorang berbaring, tekanan dari sisterna lumbar kurang lebih dua kali lipat dari nilai ini ketika diukur saat posisi duduk. Cairan ini juga memiliki gravitasi spesifik pada 1.003-1.008 (Liewellyn, 1979).

Cairan serebrospinal diproduksi oleh pleksus koroideus pada lateral, ketiga, dan keempat ventrikel, dimana ventrikel lateral adalah yang terbesar dan paling penting. Pleksus koroideus pada setiap ventrikel lateralnya dibentuk oleh sebuah invaginasi dari vaskular piamater (*The Tela Choridea*) pada permukaan tengah dari hemisfer serebral. Pleksus koroideus mempunyai permukaan terlipat, karena mengandung banyak kapiler-kapiler lebar dan lapisan permukaan dari epitel simpel kuboid atau kolumnar rendah (Holmes, 1993).

Produksi cairan serebrospinal adalah proses yang kompleks, yang sampai saat ini masih dipelajari. Beberapa komponen dari plasma darah mengatur dinding kapiler dan epitel koroideus dengan tidak mudah, yang lain masuk ke cairan serebrospinal secara difusi, dan yang lain tetap menjangkau cairan dengan bantuan dari aktivitas metabolik pada bagian dari sel epitel

pleksus koroideus. Sebuah faktor penting muncul menjadi transpor aktif dari beberapa ion (kebanyakan ion natrium) melalui sel epitel, diikuti perpindahan pasif dari air untuk menyeimbangkan keseimbangan osmotik diantara cairan serebrospinal dan plasma darah (Liewellyn, 1979).

Pergerakan cairan dibantu oleh pulsasi arteri di rongga subaraknoid, khususnya di sekitar *spinal cord*. Absorpsi cairan serebrospinal ke pembuluh darah vena melalui vili araknoid yang mengantarkan cairan ke sinus vena dural, khususnya sinus sagital superior dan berdampirkan dengan lakuna vena. Mekanisme absorpsi tergantung pada tekanan hidrostatik tinggi dari cairan serebrospinal yang dibandingkan dengan darah vena di sinus dural. Perbedaan dari tekanan osmotik koloidal antara cairan serebrospinal yang kurang lebih bebas protein dan darah, serta transpor aktif oleh sel pembentuk dinding dari vili araknoid. Walaupun pleksus koroideus adalah sumber utama cairan serebrospinal dan vili araknoid untuk absorpsinya, terdapat pertukaran antara plasma darah dan cairan serebrospinal di tempat lain (Liewellyn, 1979; Holmes, 1993).

2.3.4 Sel Endotel

Sel endotel di sistem saraf pusat berbeda dengan sel endotel yang ada di sistem lain. Perbedaannya sel endotel di sistem saraf pusat tidak memiliki hubungan fenestrasi dengan *tight junction* interseluler, jumlah pinositosis dan difusi paraseluler bahan-bahan hidrofilik yang sedikit atau bahkan hampir tidak ada, banyaknya jumlah mitokondria sehingga aktivitas metabolisme menjadi meningkat, dan ekspresi polar membran reseptor dan transporter yang bertanggung jawab untuk transpor aktif nutrisi otak atau *efflux* substansi yang kemungkinan toksik dari otak ke kompartemen vaskular. Selain itu, sel endotel

dari pembuluh darah serebral tidak berkontraksi karena tidak mempunyai aktomiosin, sebagaimana kapiler lainnya di tubuh. Sel endotel berasosiasi dengan sejumlah efek dari histamin pada kapiler serebral. Sebagaimana diketahui histamin dapat membuat kontraksi seluler dan relaksasi. Banyaknya kontraktilitas di kapiler serebral membuktikan bahwa jaringan ikat padat (*tight junction*) tidak terbuka (Ranson and Clark, 1959).

2.3.5 Perisit

Perisit adalah sel perivaskuler yang bersifat sel kontraktil yang mengelilingi kapiler otak dengan prosesus panjang. Perisit mempunyai peran mengontrol pertumbuhan sel endotel, berpengaruh pada kesatuan kapiler dan melindungi sawar darah otak serta membatasi transport dengan kemampuan fagosit komponen sawar (Yuliana, 2013). Perisit selalu berada bersama dengan pembuluh darah mikro otak dan non-otak di dalam lamina basalis yang mengelilingi sel endothelial. Perisit secara aktif berkaitan dengan perawatan integritas pembuluh darah, vasoregulasi, dan penjagaan permeabilitas BBB (Weiss, 2009).

2.3.6 Sel Neuron

Seperti sel lainnya, sel neuron juga memiliki inti sel (*nucleus*) yang dikelilingi oleh sitoplasma. Bagian yang mengelilingi nukleus disebut *perikaryon*, sedangkan gabungan *perikaryon* dan nukleus disebut *cell body* (tubuh sel). Sebuah neuron yang diameter tubuh selnya kurang dari 25 μ m secara umum mempunyai akson pendek yang tidak bermielin, sementara neuron lainnya memiliki akson yang bermielin. Sel neuron memiliki dua prosesus, yaitu akson

(serabut saraf) dan dendrit. Prosesus akson dan dendritik berukuran dari 0.1 sampai 3 μm . Pada neuron, *cell body* dan prosesus dikelilingi oleh membran plasma. Akson dan plasma membran sering disebut aksis silinder dan *axolemma* (Holmes, 1993).

Sel neuron yang besar adalah sel piramidal dari korteks serebral, sel purkinje dari korteks serebellar, dan sel motor dari medulla spinalis adalah contoh famili dari neuron Golgi tipe I. Sedangkan sel neuron terkecil pada mamalia berada di hipotalamus. Walaupun sel neuron Golgi tipe I terkesan lebih besar, tetapi lebih banyak dijumpai jumlahnya pada sel Golgi tipe II. Belakangan ini disebut interkalaris, interkalatid, atau neuron internusial (atau *simply interneuron*). Sel-sel kecil ini khususnya banyak di korteks serebral. Sel neuron Golgi tipe II banyak yang membentuk sel *stellata*, karena bentuk mereka yang multipolar memberikan bentuk seperti bintang. Sel granula dari korteks serebral adalah contoh lain dari neuron Golgi tipe II yang terletak di lapisan kortikal ketiga (Liewellyn, 1979).

Adapun klasifikasi sel neuron berdasarkan struktur dan fungsinya. Sel neuron yang dibedakan berdasarkan strukturnya, antara lain neuron unipolar, bipolar, dan multipolar. Neuron unipolar memiliki satu prosesus tunggal yang terdapat pada embrio dan fotoreseptor mata. Neuron bipolar memiliki dua juluran, yaitu akson dan dendrit serta badan sel yang berbentuk lonjong. Neuron bipolar terdapat di retina, koklea, dan epitel olfaktori. Sedangkan neuron multipolar, memiliki satu atau beberapa dendrit dan banyak terdapat di dalam tubuh dibandingkan neuron unipolar atau bipolar. Neuron yang keluar dari sum-sum tulang belakang adalah neuron motorik. Selain itu, berdasarkan fungsinya neuron dibedakan menjadi neuron sensorik, neuron motorik, dan interneuron. Neuron sensorik (afere) menghantarkan impuls listrik dari reseptor pada kulit, organ indera, atau suatu organ internal ke SSP. Neuron motorik berfungsi

menyampaikan impuls dari SSP ke efektor. Sedangkan interneuron (neuron penghubung) menghubungkan neuron sensorik dan motorik atau menyampaikan informasi ke interneuron lain (Liewellyn, 1979).

Inti sel neuron berbentuk bulat dan besar serta mengandung sedikit kromatin pada inti selnya. Jika diberi pewarna, inti sel neuron akan terlihat berwarna terang. Inti sel neuron mengandung RNA (*Ribose Nucleic Acid*) dan terdapat sebuah satelit nukleolar yang juga mengandung DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) yang biasanya terlihat di dalam inti sel. Pada permukaan membran sel neuron terdapat membran plasma yang berisi molekul lipid dan protein. Membran sel semipermeabel terhadap beberapa ion tetapi juga membatasi yang lainnya. Aktif dan istirahatnya membran potensial bergantung pada tingkat semipermeabel dari membran dan polarisasi ionik, yang mana dipertahankan oleh proses metabolisme aktif. Pada membran nukleus atau *envelope* memiliki lapisan ganda ultrastruktur dengan sejumlah pori-pori kecil. Walaupun pori-pori tersebut ditutup oleh diafragma tipis, pori-pori tersebut dapat meningkatkan permeabilitas dari membran nukleus untuk celah bagi zat kimiawi dari nukleoplasma ke sitoplasma atau sebaliknya (Moore and Barr, 1953).

Saat istirahat, membran sel permeabel terhadap ion K^+ dan berdifusi dari sitoplasma, yang apabila pada konsentrasi tinggi ke lapisan luar dari membran sel. Disini lapisan luar menerima sebuah potensial istirahat yang positif sekitar 80 mV (*millivolts*). Selama eksitasi, ketika potensial membran telah menurun sekitar 10-15 mV sampai nilai threshold, ada perubahan di membran, yang dicirikan dengan peningkatan selektif permeabilitas terhadap ion Na^+ . Hal ini secara lokal terbentuk dari luar ke lapisan dalam, konsentrasi ion Na^+ menjadi relatif tinggi secara eksternal, menyebabkan sebuah kebalikan dari pengisian dan membuat sebuah aksi potensial (Liewellyn, 1979).

Sitoplasma sel neuron terdiri dari membran halus selaput proteoplasma.

Bagian ini adalah bagian penting dari sel neuron. Pada sel neuron terdapat dua struktur tambahan, yaitu *nissl granules* dan *neurofibril*. *Nissl granules* berwarna *basophilic* dan biasanya berkelompok dalam gumpalan yang tebal. *Nissl granules* juga dikenal dengan sebutan massa trigoid atau substansi kromatofilik dan granul ini banyak terdapat di dendrit besar dan akson. Material dari granul ini tersusun menjadi produk dari nukleus yang mungkin adalah *nucleoprotein* yang mengandung besi. Poin utama dari substansi *nissl* adalah kapasitas dalam mengekspresikan luka pada sel neuron. Sitoplasma juga mengandung neurofibril yang terkadang berkelompok ke dalam sebuah bundel, berjalan ke nukleus dan kedalam proses sel. Dalam elektron mikroskop, sitoplasma terlihat mengandung neurofilamen (Moore and Barr, 1953).

Mitokondria pada sel neuron berbentuk bulat, batang, atau filamen, berkisar antara 0.2-1.0 μ pada dimensi besar dan sekitar 0.2 μ pada diameternya. Dengan mikroskop elektron, mitokondria dari sel neuron terlihat ada permukaan membran ganda dan selubung internal atau krista. Mitokondria adalah tempat dari enzim, yang mana terlibat dalam metabolisme sel, termasuk siklus asam sitrat Krebs. Enzim-enzim tersebut sangat penting bagi sel neuron, sama seperti sel-sel lain, pada reaksi produksi energi dari fisiologi selular (Liewellyn, 1979).

Sel neuron juga disebut sebagai unit trofik, semua bagian dari sel adalah interdependen, dan sebuah interaksi berkelanjutan diantara nukleus dan sitoplasma yang mana adalah kebutuhan untuk hidup. Nukleus memimpin terhadap asupan nutrisi bagi seluruh bagian neuron. Serabut saraf tidak bisa mempertahankan eksistensi secara cepat atau regenerasi ketika kontinuitas dengan tubuh sel terjadi hilang kontak. Inilah alasan dari sebutan bahwa neuron adalah unit trofik (rantai makanan) dari *nervous system* (Moore and Barr, 1953).

2.3.7 Sel Neuroglia

Sel neuroglia diklasifikasikan menjadi empat macam, yaitu astrosit, oligodendrosit, mikroglia, dan sel endotelial. Neuroglia adalah sel pendukung di otak yang berperan melindungi jaringan otak, merekatkan sel-sel saraf pada tempatnya dan menyeimbangkan lingkungan serebral. Sel glia terdapat diantara badan sel dan diantara akson. Sel neuroglia berbeda dengan neuron karena tidak dapat menciptakan sinyal listrik aktif. Neuroglia memiliki banyak peranan lainnya, yaitu menghilangkan sampah sisa-sisa neuron yang telah mati atau cedera, menjadi pembungkus yang menutupi akson, menyangga konsentrasi K^+ ekstrasel, membersihkan bahan kimia yang dilepas neuron di celah sinaps, dan mempengaruhi perkembangan neuron serta menyediakan nutrisi bagi neuron (Pasiak, 2009)

Sel glia memiliki proporsi yang besar di otak, dengan total volume kurang lebih dua kali lipat terhadap neuron. Volume yang besar ini dibantu dengan fungsi khusus dari regulasi komposisi cairan serebrospinal. Jika komposisi cairan serebrospinal berubah, sel glia akan mengirim senyawa ke dalam atau keluar sitoplasma untuk membatalkan perubahan komposisi dari rongga ekstraseluler. Pada otak yang normal, peningkatan konsentrasi potasium ekstraseluler ditahan oleh sel glia, yang mengabsorpsi kelebihan potasium ke dalam sitoplasma. Kemudian neuron mengambil potasium kembali dan pada saat itu sel glia akan melepaskan potasium. Pada kasus ini, sel glia menahan konsentrasi ekstraseluler dari potasium agar tetap konstant, sehingga neuron dapat beroperasi secara normal (Ranson and Clark, 1959).

Astrosit merupakan neuroglia terbesar dengan ciri histologis inti bulat atau oval, terletak di tengah, dan warnanya agak pucat, terdapat prosesus panjang dan banyak mempunyai pedikel yang melebar pada ujung-ujungnya, yang

melekat pada dinding pembuluh darah kapiler. Pedikel-pedikel ini disebut “kaki vaskuler” (*vaskular feet*) (Yuliana, 2013). Astrosit banyak ditemukan pada seluruh area abu-abu dan putih dari otak dan traktus spinalis. Sitoplasmanya mengandung granula (*glisomes*), yang terlihat oleh mikroskop elektron kearah mitokondria atau lisosimal. Terdapat membran yang terhalang oleh vesikel yang mengandung enzim yang dapat mencerna material dan molekul besar, tidak hanya membawa sel, tetapi juga merusak proteoplasma (*autophagia*) (Liewellyn, 1979).

Astrosit berfungsi sebagai sel pemberi makan bagi sel-sel neuron disekitarnya. Peran astrosit dalam induksi dan perawatan integritas *Blood Brain Barrier* telah didokumentasikan selama lebih dari dua dekade, mekanisme molekular yang memediasi aksi mereka masih tetap tidak jelas. Namun, hasil pelepasan astrosit dan lebih umumnya faktor pelepasan glial telah berkontribusi untuk integritas BBB, termasuk *glial-derived neurotrophic factor* (GDNF), angiopietin-1, dan yang lebih baru angiotensin-II (Weiss, 2009).

Mikroglia merupakan sel glia yang tinggal di dalam jaringan parenkim sistem saraf pusat. Mikroglia berfungsi sebagai makrofag jaringan dalam sistem pertahanan imunitas di sistem saraf pusat. Mikroglia adalah sel glial terkecil yang jika teraktivasi dapat beraksi sebagai fagosit yang membersihkan debris di sistem saraf pusat. Mikroglia berasal dari jaringan mesenkim. Sel ini dapat dibedakan dengan yang lain karena bentuk intinya yang memanjang dengan butir-butir kromatin yang tersebar rata. Terkadang masih dapat terlihat sitoplasma di sekitar intinya. Lebih banyak ditemukan dalam *substantia grisea* sebagai sel-sel satelit perivaskuler. Mula-mula tampak sebagai sel-sel ameboid di bawah piamater kemudian masuk ke dalam jaringan saraf. Pada kerusakan jaringan otak, sel-sel mikroglia yang teraktivasi dapat menjadi fagosit dan berubah bentuk menjadi ameboid (Rock *et al.*, 2004).

Oligodendrosit merupakan sel glia yang berperan dalam membentuk selaput mielin dalam sistem saraf pusat. Sel ini mempunyai lapisan dengan substansi lemak yang mengelilingi serabut-serabut akson sehingga terbentuk selubung mielin. Dibandingkan dengan astrosit, oligodendrosit mempunyai badan sel yang relatif lebih kecil. Sel Schwann sebagai neuron unipolar, sebagaimana oligodendrosit, membentuk mielin dan neurolema pada SSP. Neurolema adalah membran sitoplasma halus yang dibentuk oleh sel-sel Schwann yang membungkus serabut akson neuron dalam SSP, baik yang bermielin maupun tidak bermielin. Neurolema merupakan struktur penyokong dan pelindung bagi serabut akson (Liewellyn, 1979).

Sel ependimal berperan dalam pembentukan dan produksi cairan serebrospinal di sistem saraf pusat. Ependimal adalah sel neuroglia yang membatasi sistem ventrikel sistem saraf pusat. Sel-sel inilah yang merupakan epitel dari pleksus koroideus di ventrikel otak. Sel ependimal yang membentuk membran epitelial melapisi rongga serebral dan rongga medulla spinalis. Sel ependimal dilengkapi dengan silia yang dapat digerakkan sehingga cairan serebrospinal mampu untuk bersirkulasi dengan baik (Holmes, 1993).

2.3.8 Suplai Aliran Darah Otak

Untuk memenuhi kebutuhan oksigen dan glukosa yang sedemikian besar, maka aliran darah ke otak harus lancar dan efisien. Secara umum kecepatan aliran darah ke otak sangat tinggi yaitu 750 ml/menit, 15 % dari jumlah aliran darah ke seluruh tubuh. Jika aktivitas di otak meningkat, maka dibutuhkan suplai darah yang lebih baik lagi. Otak membutuhkan sekitar seperlima dari darah yang dipompa oleh jantung (sepertiga dari *cardiac output* pada sisi kiri dari jantung), untuk konsumsi otak sekitar 20% dari oksigen seluruh tubuh (paling banyak 50%

pada *infant*). Membutuhkan sekitar 7 detik untuk menaruh aliran darah melalui otak dari arteri karotis interna ke vena jugular interna. Sekitar 800 mL dari aliran darah melalui otak setiap menitnya, dengan 75 mL menjadi cadangan jika otak mengalami beberapa keadaan. Setidaknya 50 mL dari aliran darah melalui 100 g otak tiap menit. Otak menggunakan sekitar 400 kcal setiap hari, atau sekitar seperlima dari asupan 2000 kcal. Karena otak yang normal tidak akan pernah beristirahat, ketersediaan oksigen dan glukosa harus seimbang dengan adanya aliran darah yang lancar (Holmes, 1993).

2.3.9 Metabolisme Otak

Otak sangat bergantung pada glukosa sebagai sumber energinya, sedangkan organ lainnya dapat mempergunakan asam lemak sebagai alternatif energinya jika glukosa tidak tersedia (misalnya dalam fase kelaparan). Oleh karena itu kekurangan glukosa yang nyata (misalnya penggunaan insulin dengan dosis terlalu besar) akan membuat orang pingsan, kejang, koma atau bahkan kematian. Selain glukosa, otak sangat membutuhkan oksigen. Dalam sepuluh detik *anoksia* akan menyebabkan orang kehilangan kesadaran dan kehilangan kemampuan fungsi luhur. Dalam beberapa menit orang hipoksia akan menyebabkan koma dan kerusakan otak berat yang tidak dapat dipulihkan. Kematian dapat terjadi oleh sebab kegagalan pernafasan pada pusat pernafasan di medulla. Pada orang dewasa, otak manusia mempunyai berat sekitar 1,4 kg, dengan konsumsi oksigen otak 50 cc/menit. Jadi, meskipun berat otak hanya sekitar 2% berat badan, tetapi kecepatan metabolisme oksigen 20% dari keseluruhan konsumsi oksigen tubuh (Ratna, 1996).

Kebutuhan oksigen yang besar mencerminkan kerja otak yang besar. Otak melakukan berbagai pekerjaan kompleks dalam semua pengaturan fungsi

tubuh, transmisi sinaps, integrasi berbagai potensial elektrokimiawi, serta kerja pompa natrium-potasium yang bergantung pada siklus Krebs-ATP. Dalam neuron, dendrit sinaps dan badan sel membutuhkan energi paling besar. Karena itu area sinaps kaya akan oksigen (*grey substansia*, korteks, ganglia basalis, nuklei subkorteks) mempunyai kecepatan metabolik yang tinggi, sedang area sinaps yang miskin oksigen (*white substansia, myelin sheath*) mempunyai kecepatan metabolisme yang rendah. Ganglia basalis dan kolikulus inferior merupakan bagian otak yang paling tinggi konsumsi oksigennya, korteks serebri dan serebelum mempunyai kebutuhan sedang-tinggi, nuklei serebelum dan medulla kebutuhan oksigennya sedang (Ratna, 1996; Noback and Demarest, 1981).

2.4 Apoptosis

2.4.1 Definisi Apoptosis

Apoptosis adalah suatu mekanisme kematian sel secara fisiologis. Apoptosis bertanggung jawab untuk mengontrol jumlah sel dalam suatu jaringan dan menyingkirkan sel-sel yang mengancam kehidupan suatu organisme. Apoptosis menjaga homeostasis pada diferensiasi dan proliferasi vertebrata. Apoptosis diawali oleh interaksi antara ligan dan reseptor yang teregulasi dengan tepat dan dirangkai dengan proses fagositosis dengan tujuan mengeliminasi sel yang telah rusak atau sel normal yang tidak diperlukan lagi. Oleh karena itu, apoptosis seringkali disebut sebagai program kematian sel (*programmed cell death*) (Krijnen *et al.*, 2002).

Sel yang mengalami apoptosis akan segera mengkerut, membran sitoplasmanya menjadi menggelembung, kromatinnya mengalami kondensasi dan terjadi fragmentasi DNA kromosomal menjadi oligomer-oligomer yang terdiri dari 180 pasangan basa yang pada *gel analysis* tampak sebagai *ladder* dari

DNA. Selanjutnya sel tersebut menjadi benda apoptotik yang terpecah-pecah. Pecahan ini kemudian dibungkus dalam suatu vesikel yang disebut sebagai *apoptotic bodies*, yang juga mengandung sisa-sisa organel sel dan fragmen DNA lain, untuk selanjutnya akan segera difagositosis oleh sel-sel disekitarnya atau oleh makrofag, maupun mengalami degradasi otomatis (Sudoyo *dkk.*, 2009).

Adapun nekrosis yang dicirikan adanya proses kehilangan yang cepat pada proses homeostasis sel, proses pembengkakan yang cepat oleh karena akumulasi air dan elektrolit, ruptur membran awal, dan terjadinya *leakage* dari material sel keluar sel. Terjadinya nekrosis sel menginduksi terjadinya reaksi inflamasi (Krijnen *et al.*, 2002). Nekrosis umumnya melibatkan sekelompok sel secara bersama-sama yang terjadi oleh karena *clinical insult* yang berat. Sekilas proses apoptosis memiliki kemiripan dengan nekrosis sehingga sering disebut sebagai nekrosis sekunder, namun pada apoptosis tidak terjadi ruptur membran plasma (Gauthier, 2004). Proses apoptosis ini tidak menginduksi terjadinya reaksi inflamasi, namun prosesnya diinduksi oleh reaksi inflamasi sebelumnya (Krijnen *et al.*, 2002). Pada umumnya apoptosis terjadi pada sel secara individual (Husada, 2004).

Proses apoptosis berlaku pada hampir semua jenis sel, termasuk juga pada sistem imun. Fungsi apoptosis sangat penting karena apabila terjadi defek apoptosis (baik spontan maupun mutasi) maka akan mengakibatkan dampak pada sistem imun. Apoptosis cepat dibersihkan tanpa menimbulkan reaksi inflamasi, berbeda dengan nekrosis biasanya akan membuat reaksi inflamasi. Peristiwa apoptosis dapat dipicu oleh adanya kerusakan DNA yang gagal diperbaiki, efek hormon glukokortikoid, hipertermia, infeksi, penurunan secara mendadak beberapa faktor pertumbuhan (*withdrawal*), dan mekanisme remodeling pada proses tumbuh kembang yang bersifat fisiologis. Sinyal-sinyal yang berasal dari lingkungan sekitar sel (interseluler) dan sinyal-sinyal internal

secara normal menjaga agar mekanisme apoptosis tidak bekerja. Pada keadaan dimana sel telah kehilangan kontak dengan sekitarnya atau adanya gangguan internal yang tidak dapat diatasi, maka sel terpicu untuk melakukan apoptosis (Sudoyo *dkk.*, 2009).

Sinyal apoptosis sel dapat terjadi secara intraseluler dan ekstraseluler. Jalur ekstrinsik (ekstraseluler) diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian sel (*cell death receptor*) yang ada di permukaan sel sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor *signal* dari mitokondria dalam sel (Kumar *et al.*, 2007). Kedua *pathway* tersebut masih melibatkan *caspase* dalam prosesnya. Disamping kedua *pathway* di atas, apoptosis dapat terjadi melalui *pathways* yang tidak melibatkan *caspase*, yang dinamakan *Caspase-Independent Pathways* yang dipicu oleh keluarnya AIF dari mitokondria dan karena pengaruh aktivasi PARP bertranslokasi ke nukleus dan menimbulkan fragmentasi DNA, diikuti kematian apoptosis (Husada, 2004).

Caspase adalah *cystein aspartic acid-specific protease*. *Caspase* berbentuk zymogen tidak aktif di dalam sel dan berfungsi dalam mengatur dan mengeksekusi kematian sel secara apoptosis. Struktur *caspase* berupa rantai polipeptida berukuran 32-55 kilo dalton yang terbagi menjadi 3 domain, yaitu domain pertama/ sentral (17-21 kilo dalton) merupakan subunit katalitik terbesar (*active side*), domain kedua/ terminal (10-13 kilo dalton) merupakan subunit katalitik terkecil, dan domain ketiga/prodomain terminal (3-24 kilo dalton) disebut *death domain*. Aktivasi *caspase* akan dimulai ketika ketiga domain mengalami pemotongan residu asam aspartat yang menghilangkan domain amino terminal sehingga terjadi penggabungan domain besar dan domain kecil membentuk heterodimer yang diikuti oleh proses proteolitik. Gabungan 2 heterodimer akan menjadi tetramer yang merupakan bentuk aktif *caspase* (Nakagawa *et al.*, 2000).

Ada berbagai macam *caspase* yang terlibat dalam proses apoptosis dan *caspase-caspase* tersebut memiliki peranannya masing-masing. Adapun *caspase-8* dan *9* yang disebut sebagai "*caspase inisiator*", sedangkan *caspase 3*, *6*, dan *7* disebut sebagai "*caspase effector*" karena mengeksekusi proses apoptosis, yaitu merombak enzim, unsur protein rangka sel (β -actin, lamins, fodrin, dll), ICAD (*Inhibitor of Caspase Activated DNA-ase*) yang berakibat DNA-ase menjadi aktif dan merusak DNA nukleus dan protein-protein lainnya yang berperan dalam regulasi ketahanan/*survival* sel, seperti Bcl-2, Bcl-xL, fosfolipase A2, protein kinase $c\delta$, hingga akhirnya mengakibatkan apoptosis, atau *programmed cell death*. Bcl-2, Bcl-xL, bax, Bid, dan Bad adalah protein yang tergolong "*Bcl-2 family*" dan bersifat pro-apoptotik (Bax, Bid dan Bad), serta anti-apoptotik (Bcl-2 dan Bcl-xL) (Husada, 2004).

Reseptor kematian (*death receptor*), yakni reseptor permukaan sel yang dapat meneruskan sinyal awal apoptosis melalui ikatan dengan ligannya yang spesifik (*death ligand*), yang memiliki peran penting dalam apoptosis aktif. Reseptor tersebut dapat mengaktifasi *caspase* dalam beberapa detik melalui ikatan dengan ligannya, menyebabkan apoptosis sel dalam waktu beberapa jam kemudian. Yang tergolong dalam reseptor kematian (*Cell death receptor*) adalah CD 95 (juga disebut Fas atau APO I), TNFR-I disebut juga p55 atau CD 120a) dan TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan (TRAIL)-R1 dan R2. Ketiga *Cell death receptor* tadi adalah famili reseptor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), TNF adalah molekul penginduksi interseluler yang berupa asam amino-157, dihasilkan terutama oleh makrofag yang teraktivasi, merupakan mediator apoptosis ekstrinsik utama. TNF yang berikatan dengan TNFR-1 dapat menginisiasi jalur aktivasi *caspase* (Arcila *et al.*, 2007).

Reseptor kematian yang lainnya adalah avian CARI, *death receptor 3* (DR3), DR4 dan DR5. Ligan yang mengaktifkan reseptor tersebut adalah ligan

CD95 (CD95L) yang berikatan dengan CD95, TNF dan limfotoksin alfa yang berikatan dengan TNFRI, ligan Apo3 (Apo3L) yang berikatan dengan DR3 dan ligan Apo2 (Apo2L) yang berikatan dengan DR4 dan DR5. Sedangkan ligan untuk CARI belum diketahui (Sudoyo *dkk.*, 2009).

2.4.2 Apoptosis Sel Pada Infeksi *M. tuberculosis*

Infeksi bakteri khususnya berperan sebagai peranan penting dalam memicu apoptosis. Bakteri yang menggunakan mekanisme apoptosis meliputi berbagai patogen intraseluler fakultatif, seperti *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Haemophilus*, *Neisseria meningitides* dan *Neisseria gonorrhoeae*, serta bakteri yang tidak dianggap khas patogen intraseluler fakultatif, seperti *Helicobacter pylori*. Patogen intraseluler seperti *Rickettsia genera* dan *Chlamydia* juga dapat menyebabkan apoptosis. Kelompok enzim yang terlibat dalam berbagai bentuk apoptosis, termasuk *bacteria-induced apoptosis*, adalah *caspase* (Corwin, 2007).

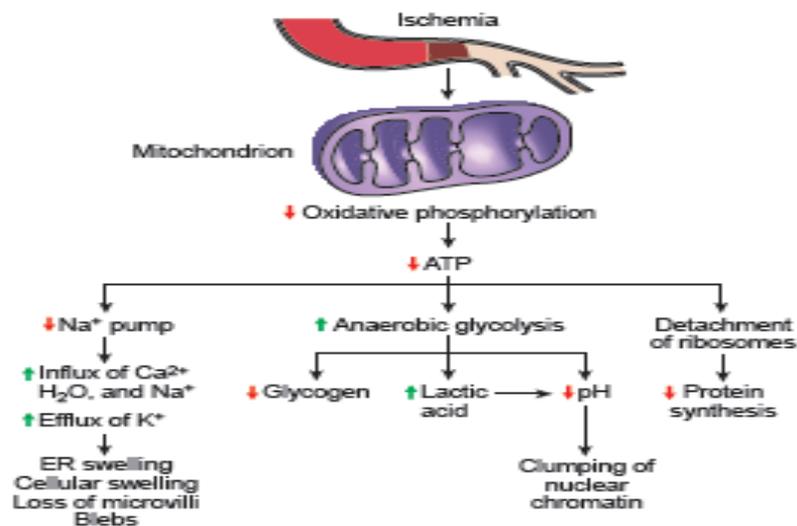
Cedera sel terjadi apabila suatu sel tidak lagi dapat beradaptasi terhadap rangsangan. Hal ini dapat terjadi bila rangsangan tersebut terlalu lama atau terlalu berat. Sel dapat pulih dari cedera atau mati bergantung pada sel tersebut dan besar serta jenis cedera. Apabila suatu sel mengalami cedera, maka sel tersebut dapat mengalami perubahan dalam ukuran, bentuk, sintesis protein, susunan genetik, dan sifat transportasinya. Sel tubuh dapat mengalami kerusakan secara langsung oleh mikroorganisme atau secara tidak langsung akibat reaksi imun dan peradangan yang muncul sebagai respon terhadap mikroorganisme. Infeksi sel oleh mikroorganisme dapat menurunkan kestabilan sel sehingga terjadi apoptosis (Corwin, 2007; Kumar *et al.*, 2007).

Sinyal apoptosis dapat berasal dari ekstraseluler maupun intraseluler. Jalur ekstrinsik yang diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*cell death receptor*), sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui faktor sinyal dari mitokondria dalam sel. Yang termasuk sinyal ekstrinsik antara lain hormon, faktor pertumbuhan, *nitric oxide* dan sitokin. semua sinyal tersebut harus dapat menembus membran plasma ataupun transduksi untuk dapat menimbulkan respon. Peningkatan reseptor nuklear oleh glukokortikoid, panas, radiasi, kekurangan nutrisi dan hipoksia merupakan keadaan yang dapat menimbulkan pelepasan sinyal apoptosis jalur intrinsik (Kumar *et al.*, 2007).

Ketika komponen membran sel dari bakteri dikenali oleh sistem imun (terutama makrofag), akan menimbulkan respon berupa pelepasan sitokin-sitokin, yaitu mediator serupa hormon yang merekrut sel lain dan merangsang jaringan lain untuk berpartisipasi dalam respon imun. Hal ini dapat menyebabkan peradangan pada dinding pembuluh darah (vaskulitis) yang menyebabkan degenerasi lapisan intima pembuluh darah, sehingga terjadi proliferasi sel endotel pembuluh darah yang meningkat. Akibatnya, terjadi iskemia dan penurunan aliran darah ke jaringan, sehingga sel-sel akan kekurangan oksigen (hipoksia) (Corwin, 2007).

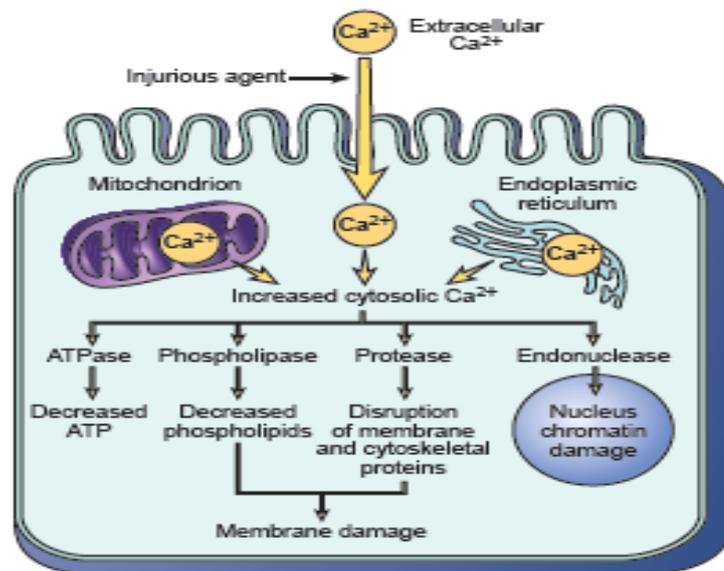
Oksigen diperlukan oleh mitokondria untuk fosforilasi oksidatif dan pembentukan ATP. Tanpa oksigen, proses ini tidak dapat terjadi. Meskipun glikolisis anaerob akan menghasilkan sedikit ATP, tetapi ATP hasil dari proses ini bukan merupakan sumber yang efisien, dan tidak dapat menunjang kebutuhan energi sel apabila terjadi hipoksia yang berkepanjangan sehingga dapat memicu terjadinya apoptosis sel. Akibat lain dari hipoksia adalah pembentukan asam laktat, yang terjadi selama glikolisis anaerob. Peningkatan asam laktat menyebabkan pH dalam sel dan darah menurun. Penurunan pH (peningkatan keasaman) intrasel menyebabkan kerusakan struktur-struktur inti, membran sel

dan mikrofilamen. Perubahan pH dapat juga mempengaruhi potensial listrik yang melintasi membran sel (Corwin, 2007).



Gambar 2.5 Konsekuensi dari Iskemia Terhadap Sel (Kumar *et al.*, 2007).

Hilangnya keseimbangan potensial membran juga akibat kurangnya ATP sebagai energi *Na-K channel pump*, sementara saluran ion yang sifatnya “*voltage-dependent*” terbuka. Glutamat memicu reseptor NMDA (*N-Methyl-D-Aspartate*) dengan efek membuka reseptor yang memudahkan Ca^{2+} masuk. Influx Ca^{2+} berakibat mitokondria menjadi “*overloaded*” dalam usaha mengatasi influx tersebut, sehingga terjadi kegagalan metabolik mitokondria. Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} di dalam mitokondria dapat memicu kerusakan mitokondria dan menyebabkan sitokrom-c bocor dari intermembran mitokondria ke sitosol. Semua faktor tersebut dapat memicu berlangsungnya proses apoptosis sel ke tahap selanjutnya (Husada, 2004).



Gambar 2.6 Konsekuensi Peningkatan Ca^{2+} Pada Sel (Kumar *et al.*, 2007).

2.4.3 Mekanisme Biomolekular Apoptosis Sel Neuron

Peristiwa apoptosis jalur ekstrinsik dimulai dari adanya pelepasan molekul signal yang disebut Fas ligan oleh sel lain tetapi bukan berasal dari sel yang akan mengalami apoptosis. Ligan tersebut berikatan dengan *cell death receptor* Fas (CD 95) yang terletak pada transmembran sel target yang menginduksi apoptosis. Fas ligan yang berikatan dengan reseptor Fas (CD 95) akan mengakibatkan terbentuknya *caspase inisiator 8* setelah membentuk trimer dengan adaptor FADD (*Fas Associated Death Domain*). DED (*Death Effector Domain*) dari FADD mengikat *pro-caspase 8*. Kompleks yang terbentuk antara ligan-reseptor dan FADD disebut DISC (*Death Inducing Signaling Complex*). Kompleks ini mengaktifasi *pro-caspase 8* menjadi *caspase-8* (Arcila *et al.*, 2007).

Caspase-8 yang teraktivasi (heterotetramer) setelah membentuk kompleks ligan-reseptor akan dilepaskan dari DISC ke sitoplasma. *Caspase-8* termasuk *caspase inisiator* yang akan mengaktifasi *caspase eksekutor* terutama melalui *pro-caspase 3*. Protein *caspase-8* akan memotong anggota family Bcl-2 yaitu Bid

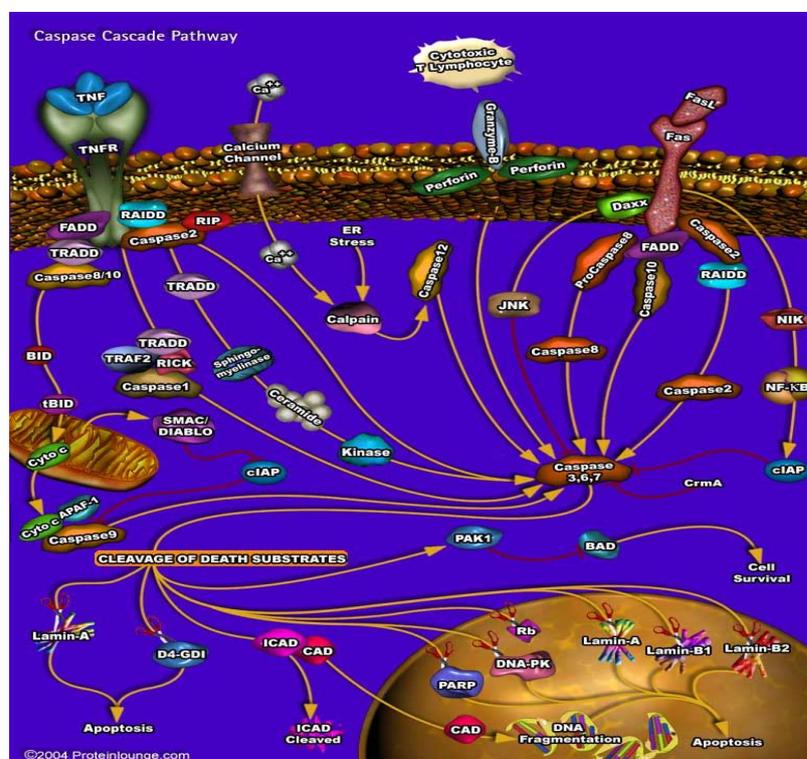
(*BCL-2 Interacting Domain*). Kemudian Bid yang terpotong pada bagian ujungnya akan menginduksi insersi Bax ke dalam membran mitokondria dan melepaskan molekul pro-apoptotik sitokrom-c, dimana berkontribusi terhadap pembentukan apoptosome. Sitokrom-c merupakan suatu heme protein yang bertindak sebagai suatu pembawa elektron dalam fosforilasi oksidasi mitokondria (Arcila *et al.*, 2007).

Stress mitokondria yang menginduksi apoptosis jalur intrinsik disebabkan oleh karena sel kehilangan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria. Terjadinya iskemia pada sel dan kurangnya pasokan glukosa akan memicu terjadinya influx Ca^{2+} ke dalam sel dan ekspresi glutamat yang meningkat. Hal ini didukung pula oleh hilangnya keseimbangan potensial membran akibat kurangnya ATP sebagai energi *Na-K channel pump*, sementara saluran ion yang sifatnya "*voltage-dependent*" terbuka. *Voltage Dependent Calcium Channels* terdiri atas dua protein, selaput bagian dalam (*Adenine Nucleotide Translocator-ANT*) dan suatu protein bagian luar (porin, yang *voltage-gated-kanal anion* VDAC). Protein ini bertindak bersama-sama, sehingga kemungkinan pada sisi luar dan sisi dalam terjadi kontak (Husada, 2004).

Perubahan gradient proton menyebabkan oksidasi dan fosforilasi di mitokondria. Metabolisme glukosa pun beralih ke proses yang anaerobik sehingga membuat ATP semakin terkuras dan terjadilah asidosis. Glutamat memicu reseptor NMDA (*N-Methyl-D-Aspartate*) dengan efek membuka reseptor yang memudahkan Ca^{2+} masuk. Influx Ca^{2+} berakibat mitokondria menjadi "*overloaded*" sehingga terjadi kegagalan metabolik mitokondria. Saat membran dalam mitokondria memiliki permukaan yang lebih luas dibanding membran luar maka gelombang matriks menyebabkan terjadinya *Permeability Transition Pore*

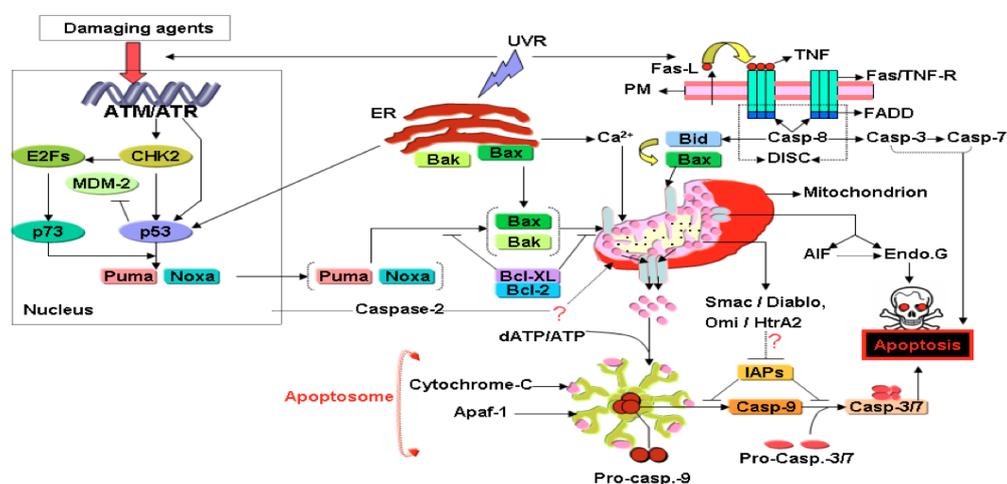
(PTP) pada membran luar mitokondria menjadi terbuka sehingga sitokrom-c bocor dari intermembran mitokondria ke sitosol (Husada, 2004).

Bax dan Bid juga berperan dalam menyebabkan terbukanya *Permeability Transition Pore* (PTP) pada membran luar mitokondria. Hal ini diakibatkan protein *caspase-8* yang memotong Bid (*BCL-2 Interacting Domain*) pada bagian ujungnya akan menginduksi insersi Bax dalam membran mitokondria dan melepaskan molekul pro-apoptotik sitokrom-c ke sitosol. (Arcila *et al.*, 2007) Protein Bax dan Bak merupakan protein *pro-apoptotic* yang transkripsinya diaktifkan oleh p53. Gen p53 adalah gen yang proteinnya memiliki berat molekul 53 kilodalton yaitu suatu protein berumur pendek yang dalam artian adalah protein yang tidak stabil dan tidak dapat otomatis menjadi aktif. Salah satu tanda aktifnya p53 adalah terjadinya akumulasi p53 di dalam inti sel. (Murray *et al.*, 2006).



Gambar 2.7 Mekanisme Kompleks Apoptosis Sel (Oberholzer *et al.*, 2001).

Meningkatnya kadar p53 juga mengaktifkan transkripsi serangkaian gen yang secara kolektif berfungsi menunda transit melintasi siklus. Protein p53 akan menghambat replikasi sel sehingga sistem perbaikan DNA mempunyai peluang untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Namun, jika kerusakan DNA terlalu luas untuk diperbaiki, sel yang terkena akan mengalami apoptosis melalui mekanisme yang dependen-p53 (Murray *et al.*, 2006).

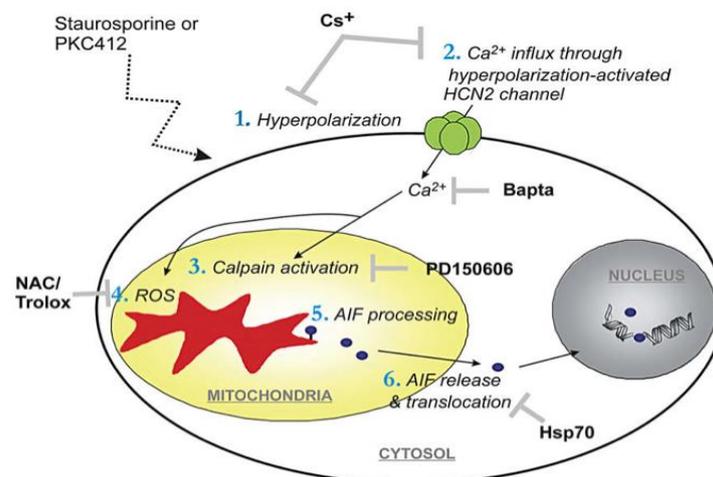


Gambar 2.8 Jalur Umum Kerusakan DNA yang Diinduksi p53 Memediasi Apoptosis (Rastogi *et al.*, 2009).

Sitokrom-c yang bocor dari ruang intermembran mitokondria kemudian berikatan membentuk suatu kompleks dengan *APAF-1* (*Apoptotic Protease Activating Factor*) membentuk *CARD* (*Caspase Recruitment domain*) dan kemudian mengikat *pro-caspase 9* yang disebut sebagai "*Apoptosome*". *Apoptosome* mengaktifkan *pro-caspase 9* menjadi *caspase-9*, selanjutnya *caspase-9* mengaktifkan *pro-caspase 3* menjadi *caspase-3* yang merupakan *caspase* efektor dalam melaksanakan apoptosis (Otera *et al.*, 2005).

Caspase 3 juga mengaktifasi kinase yang disebut *p21-activated kinase 2* (*PAK2*) melalui proteolisis. *PAK2* termasuk protein yang dibutuhkan dalam membentuk *apoptotic body*. Protein kaspase-3 yang aktif dapat memecah

berbagai macam substrat, diantaranya enzim *DNA repair* seperti *poly-ADP Ribose Polymerase* (PARP) dan DNA protein kinase yaitu *protein structural seluler* dan nukleus, termasuk aparatus mitotik inti, lamina nukleus, dan aktin serta endonuklease, seperti *Caspase-Aktivated Deoxyribonuklease Inhibitor* (ICAD) dan konstituen seluler lainnya. *Caspase 3* membelah berbagai protein sel termasuk ICAD sehingga CAD dilepaskan dari ICAD lalu mendegradasi kromosom DNA menjadi oligomer-oligomer yang terdiri dari 180 pasangan basa yang pada *gel analysis* tampak sebagai *ladder* dari DNA. (Kumar dkk., 2007).



Gambar 2. 9 Model Hipotesis Tentang Mekanisme yang Terlibat Dalam Pengolahan dan Pelepasan AIF (Norberg, 2010).

Kerusakan DNA juga dapat terjadi karena faktor AIF (*Apoptosis Inducing Factor*) yang terletak di intermembran mitokondria, bocor keluar oleh karena pecahnya membran mitokondria. AIF kemudian memasuki nukleus dan menimbulkan kerusakan, membuat aktifnya berbagai *endonuclease*. *Endonuclease* yang terlibat antara lain *endonuclease G*, PARP (*Poly-ADP Ribose Polimerase*) yang memicu kematian sel via apoptosis dengan menempuh berbagai jalur (*pathways*) (Husada, 2004). Apoptosis melalui *pathways* ini tidak melibatkan *caspase* (*Caspase-Independent Pathways*). AIF dikodekan sebagai

protein kDa 67 yang berisi *mitochondria localization signal* (MLS) di N-terminus (Otera *et al.*, 2005).

Fragmentasi DNA yang terjadi pada proses apoptosis berlangsung selama beberapa jam, sebelum akhirnya akan mengalami fagositosis oleh sel-sel disekitarnya atau oleh makrofag jaringan, maupun mengalami degradasi otomatis. Selain terjadinya fragmentasi DNA, sel juga mengalami pengerutan serta kromatin dan nukleus mengalami kondensasi yang kemudian pecah. Pecahan ini kemudian dibungkus dalam suatu vesikel, disebut sebagai *apoptotic bodies*, yang mengandung pula sisa-sisa organel sel dan fragmen DNA, serta kandungan sitosolik lain (Sudoyo *dkk.*, 2009).

Badan apoptotik juga mengekspresikan ligan lain (misalnya, fosfatidilserin) yang memerantarai peningkatan fagositosis sel makrofag. Pada sel sehat fosfatidilserin umumnya berada di bagian dalam membran plasma. Namun, pada sel yang apoptosis fosfatidilserin berada di luar sel. Akibatnya molekul ini dapat dikenali makrofag jaringan. Perubahan posisi fosfatidilserin ini memungkinkan pengenalan dan fagositosis dini tanpa pelepasan mediator proinflamasi. Sehingga proses lebih efisien dan sel mati menghilang tanpa meninggalkan bekas (Kumar *dkk.*, 2007).