# BAB 2

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Tuberkulosis

### 2.1.1 Definisi

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh *M.tuberculosis*, sebagian besar *M.tuberculosis* menyerang paru. Tuberkulosis paru yang disebabkan oleh *M.tuberculosis* merupakan penyakit kronis (menahun) yang telah lama dikenal oleh masyarakat luas dan ditakuti karena menular. Penyakit ini menjadi tidak terkendali pada sebagian besar dunia, salah satu penyebab utama kematian di negara-negara berkembang termasuk Indonesia (Lyanda, 2012).

Fase infeksi primer pada TB dibagi menjadi 2 tahapan waktu 0-3 minggu (fase awal) dan >3 minggu (fase imunitas). Pada fase awal kuman yang virulen masuk ke rongga alveoli pada orang yang belum terpajan sama sekali, bakteri bebas berkembang biak di rongga udara dan sitoplasma makrofag dikarenakan adanya “manipulasi pH endosom” oleh bakteri sehingga menghambat pematangan fagolisosom. Pada fase imunitas antigen bakteri diproses di kelenjar getah bening dan dipresentasikan oleh makrofag bersama molekul MHC kelas II pada sel CD4+, yang akan merangsang sekresi IFNɣ oleh sel Th1. Kemudian IFNɣ mengaktifkan lebih banyak makrofag untuk memfagosit kuman TB (Robbins *et al*., 2004)

### 2.1.2 Patogenesis Tuberkulosis

#### 2.1.2.1 Tuberkulosis Primer

Kuman TB yang masuk melalui saluran napas akan bersarang di paru sehingga akan terbentuk suatu sarang pneumonik, yang disebut sarang primer atau afek primer. Berbeda dengan sarang reaktivasi, sarang primer ini mungkin timbul di bagian mana saja dalam paru. Dari sarang primer menyebabkan peradangan saluran getah bening kearah hilus (limfangitis lokal). Peradangan tersebut diikuti oleh pembesaran kelenjar getah bening di hilus (limfadenitis regional). Afek primer bersama-sama dengan limfangitis regional dikenal sebagai kompleks primer. Kompleks primer ini dalam perkembangannya, kemungkinan akan mengalami tahapan sebagai berikut :

1. Sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali (*restitution ad integrum*). Sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (antara lain sarang Ghon, garis fibrotik, sarang perkapuran di hilus)
2. Menyebar dengan cara:
   a. Perkontinuitatum, menyebar ke sekitarnya, yang menyebabkan terjadinya epituberkulosis, yaitu suatu kejadian penekanan bronkus. Bronkus lobus medius tertekan oleh kelenjar hilus yang membesar sehingga menimbulkan obstruksi pada saluran napas bersangkutan, dengan akibat atelektasis. Kuman TB akan menjalar sepanjang bronkus yang tersumbat ini ke lobus yang atelektasis dan menimbulkan peradangan pada lobus yang atelektasis tersebut. Fenomena ini dikenal sebagai epituberkulosis.
   b. Penyebaran secara bronkogen, baik di paru bersangkutan maupun ke paru sebelahnya.

c. Penyebaran secara hematogen dan limfogen. Penyebaran ini berkaitan dengan daya tahan tubuh, jumlah dan virulensi kuman. Sarang yang ditimbulkan dapat sembuh secara spontan, akan tetetapi bila tidak terdapat imuniti yang adekuat, penyebaran ini akan menimbulkan keadaan cukup gawat seperti TB milier, meningitis TB, *Typhobacillosis Landouzy*. Penyebaran ini juga dapat menimbulkan TB pada alat tubuh lainnya, misalnya tulang, ginjal, anak ginjal, genitalia dan sebagainya. Komplikasi dan penyebaran ini mungkin berakhir dengan kesembuhan yang meninggalkan sekuele (misalnya pertumbuhan terbelakang pada anak setelah mendapat ensefalomeningitis, tuberkuloma ) atau meninggal (PDPI, 2006)

**2.1.2.2 Tuberkulosis Pasca-Primer**

Tuberkulosis pasca-primer dapat terjadi setelah TB primer berlanjut bertahun-tahun dan biasanya terjadi pada usia 15-40 tahun. Tuberkulosis pasca-primer mempunyai nama yang bermacam macam yaitu TB bentuk dewasa, *localized tuberculosis*, TB menahun, dan sebagainya. Bentuk TB 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. Dari sarang pneumonik ini selanjutnya dapat terjadi beberapa kemungkinan, yaitu :

1. Diresopsi kembali, dan sembuh kembali dengan tidak meninggalkan cacat
2. Sarang tadi mula mula meluas, tetapi segera terjadi proses penyembuhan dengan terjadinya fibrosis. Jaringan fibrotik tersebut akan membungkus sarang sehingga konsistensinya menjadi lebih keras. Sarang yang lebih keras dapat

terbentuk dari sarang-sarang fibrosis apabila dalam proses penyembuhan terjadi pengkapuran. Terdapat kemungkinan bahwa sarang- sarang fibrosis menjadi aktif kembali, membentuk jaringan keju dan menimbulkan kaviti bila jaringan keju dibatukkan keluar.

3. Sarang pneumonik meluas, membentuk jaringan keju (jaringan kaseosa). Kaviti akan muncul dengan dibatukkannya jaringan keju keluar. Kaviti awalnya berdinding tipis, kemudian dindingnya akan menjadi tebal (kaviti sklerotik). Kaviti dapat meluas kembali dan menimbulkan sarang pneumonik baru. Sarang pneumonik ini akan mengikuti pola perjalanan seperti yang disebutkan sebelumnya atau memadat dan membungkus diri (*encapsulated*) membentuk tuberkuloma. Tuberkuloma dapat mengapur dan menyembuh, tetapi mungkin pula aktif kembali, mencair lagi dan menjadi kaviti lagi. Kaviti bisa pula menjadi bersih dan menyembuh yang disebut open healed cavity, atau kaviti menyembuh dengan membungkus diri, akhirnya mengecil. Kemungkinan berakhir sebagai kaviti yang terbungkus, dan menciut sehingga kelihatan seperti bintang (PDPI, 2006).

**2.1.2.3 Respon Imun Tuberkulosis**

***a. Innate Immunity***

Merupakan mekanisme pertahanan tubuh non-spesifik yang mencegah masuknya dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Ada beberapa komponen *innate immunity* yaitu :

1. Pemusnahan bakteri intraselular oleh sel poli-morfonuklear (PMN) dan makrofag.
2. Aktivasi komplemen melalui jalur alternatif.
3. Degranulasi sel mast yang melepaskan mediator inflamasi.

4. Protein fase akut: *C-reactive protein* (CRP) yang mengikat mikroorganisme, yang dilanjutkan dengan aktivasi komplemen melalui jalur klasik yang menyebabkan lisis mikroorganisme.

5. Produksi *interferon gama* (IFNγ) oleh leukosit dan *interferon beta* (IFNβ) oleh fibroblast yang mempunyai efek antivirus.

6. Pemusnahan mikroorganisme ekstraselular oleh *natural killer cell* (sel NK) melalui pelepasan granula yang mengandung perforin.

7. Pelepasan mediator eosinofil seperti *major basic protein* (MBP) dan protein kationik yang dapat merusak membran parasit (Munasir, 2001).

***b. Adaptive immunity***

Bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan nonspesifik/*innate immunity*, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu. Mekanisme imunitas spesifik ini terdiri dari

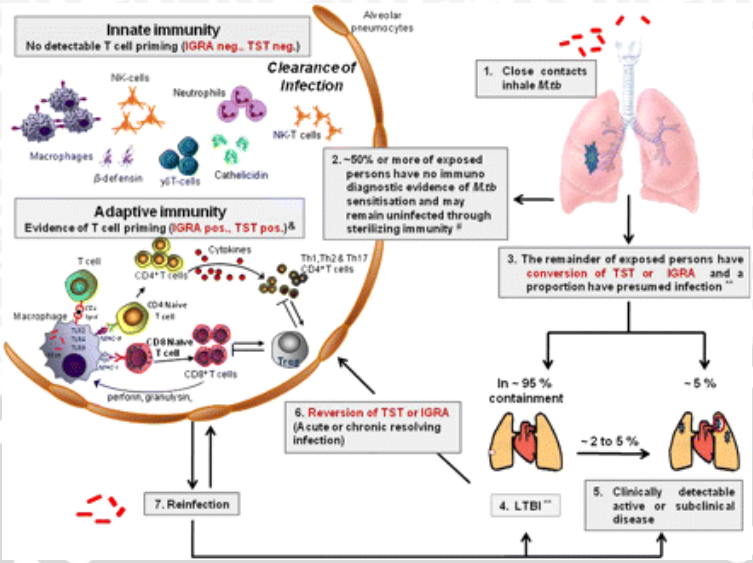
1. Imunitas humoral

Produksi antibodi spesifik oleh sel limfosit B (*T dependent* dan *non-T dependent*).

2. *Cell mediated immunity* (CMI)

Sel limfosit T berperan pada mekanisme imunitas ini melalui:

1. Produksi sitokin serta jaringan interaksinya.
2. Sel sitotoksik matang di bawah pengaruh interleukin 2 (IL-2) (Munasir, 2001).




**Gambar 2.1. Diagram Skematik Respon Imun terhadap *M .tuberculosis* (Schwander, 2010)**

### 2.1.3 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 hygine* 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 (Pedoman Penaggulangan TB Nasional, 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 dkk., 2003).

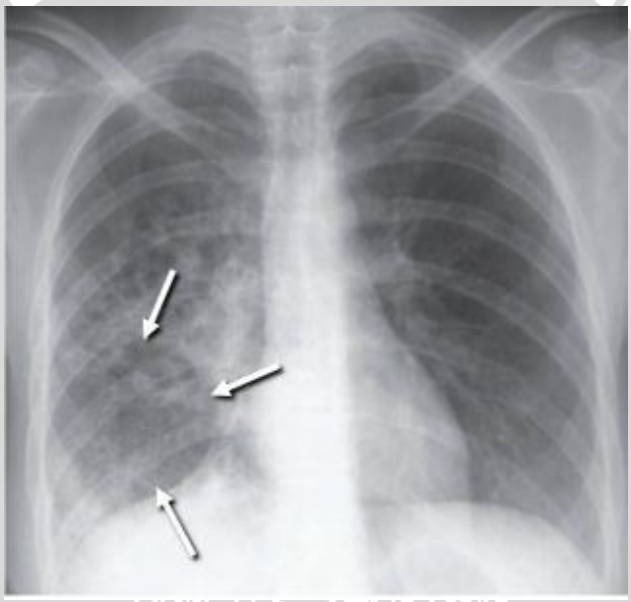
b. Tes serologi menggunakan *Nucleic Acid Amplification* (NAA). *Nucleic Acid Amplification* adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan segmen DNA atau RNA mikroorganisme yang ada pada specimen darah. *Nucleic Acid Amplification test* dapat mendeteksi bakteri *M.tuberculosis* di specimen darah 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 dkk., 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 dimana saja dan bisa berbeda dalam ukuran, bentuk dan densitinya (CDC, 2007).



**Gambar 2.3. Gambaran Radiologis Pasien dengan Tb Paru (CDC, 2007)**

### 2.1.4 Penatalaksanaan Tuberkulosis

Sesuai dengan konsep yang terbaru DOTS terdapat 5 elemen yang menentukan dalam penatalaksanaan TB, yaitu :

1. Keinginan politik dan dukungan keuangan.
2. Deteksi kasus melalui pemeriksaan bakteri yang baik.
3. Tatalaksana yang terstandar dengan supervisi dan dukungan pasien.
4. Pemberian obat yand adekuat dengan manajemen yang baik.
5. Sistem monitoring dan evaluasi yang baik.

**Tabel 2.1 Regimen Pengobatan TB Sesuai Kriteria Diagnosis (WHO, 2003)**

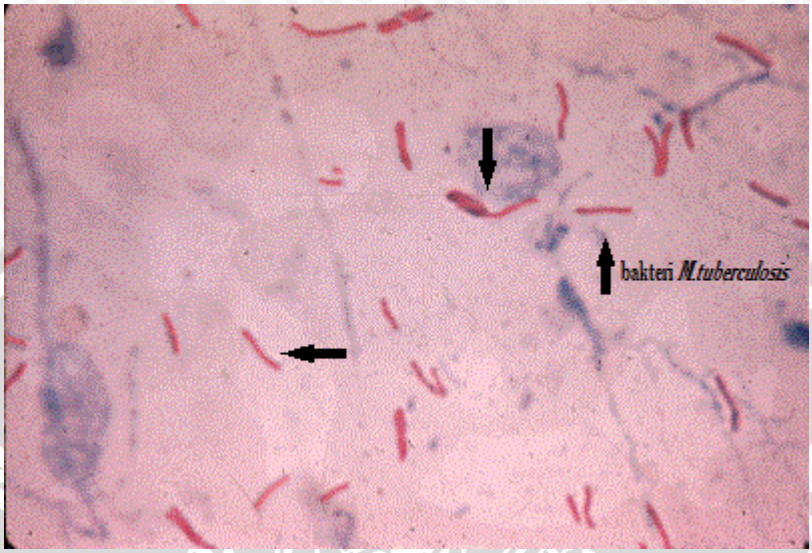
| TB DIAGNOSTIC CATEGORY | TB PATIENTS | TB TREATMENT REGIMENS | |
|---|---|---|---|
| | | INITIALPHASE (DAILY ) | CONTINUATION PHASE (DAILY OR 3 TIMES WEEKLY) |
| I | New smear-positive patients; New smear-negative PTB w/ extensive parenchymal involvement; Severe concomitant HIV disease or severe forms of EPTBd | 2 HRZE | 4 HR2 or 6 HE daily |
| II | Previously treated sputum smear-positive PTB : - relapse; - treatment after interruption; - treatment failure | 2HRZES/ 1 HRZE | 5 HRE |
| III | New smear-negative PTB (other than in Categoryl); Less severe forms of EPTB | 2 HRZE | 4 HR Or 6 HE daily |
| IV | Chronic and MDR-TB cases ( still sputum-positive after supervised re-treatment) | Specially designed standardized or individualized regimens are suggested for this category | |

## 2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

### 2.2.1 Morfologi

*Mycobacteriun tuberculosis* merupakan bakteri berbentuk basil, langsing, lurus atau sedikit bengkok dengan lebar 0,2-0,6 micrometer dan panjang 1-10 micrometer. Bakteri ini merupakan aerob mutlak , tidak berkapsul, tidak berspora. Tumbuh optimal pada suhu 37°C. 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 dkk., 2003). Tidak

dapat diklasifikasikan secara Gram positif atau Gram negatif (Jawetz *et al*., 2007).




**Gambar 2.4 Gambaran bakteri *M.tuberculosis* dengan pengecatan BTA menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 40x (CDC, 2007)**

### 2.2.2 Struktur Antigen

Beberapa bagian dari *M.tuberculosis* bersifat antigenik seperti dinding sel mengandung polisakarida, protein, dan polipeptida. Juga pada sitoplasma terdapat protein yang bersifat antigenik. Ada beberapa antigen yang bersifat spesifik dan yang lain bersifat common antigen. *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari 5 fraksi, 4 fraksi merupakan protein (A, B, C, dan D) 1 fraksi berupa polisakarida. Dimana protein A, B,dan C mempunyai sifat antigenik. Fraksi polisakarida yang terdiri dari polisakarida I dan II juga mempunyai sifat antigenik, yang tersusun dari senyawa arabinogalaktan dan arabinomanan yang berasal dari dinding sel (Dzen dkk., 2003).

## 2.3 Bacillus Calmette-Guerin (BCG)

Bacillus Calmette-Guerin adalah vaksin TB yang ditemukan oleh Camille Guerin dan Albert Calmette pada sekitar tahun 1920. Vaksin BCG terbuat dari

*M.bovis* yang dilemahkan. Sampai sekarang vaksin BCG masih digunakan oleh lebih dari 80% balita dan anak-anaki di seluruh dunia. Vaksin pada anak dapat mencegah anak terkena meningitis dan penyakit TB, tetapi pemberian vaksin BCG tidak memberikan perlindungan terhadap infeksi primer dan reaktivasi infeksi laten TB pada orang dewasa (WHO, 2013).

Vaksin BCG sudah tidak lagi efektif untuk mencegah penyakit TB. Banyak teori yang menjelaskan tentang efektifitas BCG yang berkurang dalam menghadapi infeksi TB, salah satunya adalah diduga adanya delesi pada sejumlah lokus galur vaksin BCG. Lokus yang diidentifikasi hilang di antaranya adalah RD1-RD16. Lokus ini penting karena di dalamnya terdapat sejumlah gen yang diketahui berperan dalam menentukan virulensi kuman mikobakterium. Kemungkinannya, lokus ini hilang selama proses pasasi (penumbuhan secara berulang) untuk mendapatkan galur vaksin yang tidak lagi virulen. Pada saat *M. Bovis* pertama kali di isolasi di Institut Pasteur, Paris tahun 1908, dilakukan 230 kali pasasi untuk mendapatkan galur vaksin yang kemudian menjadi induk BCG. Jenis mutasi-mutasi lain yang dialami galur vaksin BCG juga diduga menjadi penyebab bervariasinya efektivitas BCG di berbagai belahan dunia. Proses evolusi pada vaksin BCG terjadi karena masing-masing laboratorium di berbagai negara mengembangkan teknik (protokol) yang berbeda untuk membiakkan galur vaksin tersebut sehingga menghasilkan generasi baru yang bervariasi secara genetik (Raekiansyah, 2005)

### 2.4 Protein 38 kDa *M.tuberculosis*

Protein 38 kDa *M.tuberculosis* adalah salah satu antigen dari *M.tuberculosis* yang mempunyai sensifitas 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 bertanggung jawab dalam pengikatan karbohidrat ke protein. Pembuatan rekombinan protein 38 kDa saat ini banyak dilakukan dengan cara diklon ke plasmid pGEM-Teasy menjadi pMB38 pada bakteri *E.coli* DH5α (Yudani, 2011), *phospate-binding protein* dari protein 38 kDa hampir sama dengan *phospate binding protein* bakteri *E.coli* (Chand *et al*., 1993). Pada penelitian yang dilakukan oleh Yudani (2011) pencocokan sekuen gen pab dari klon *E.coli* DH5α berwarna putih dengan gen pab dari *M.tuberculosis* H37Rv memperlihatkan homologi sebesar 98%. Protein rekombinan yang sudah dihilangkan sinyal peptidanya ditemukan di sitoplasma.

Protein 38 kda mempunyai struktur yang dapat berinteraksi dengan *Toll-like receptor* 2 (TLR2) dan TLR4, dan juga intak dengan protein ini dapat menginduksi sitokin pro-inflamasi, TNF-α dan IL-6 untuk aktivasi monosit primer. protein ini mempunyai peran dalam respon inflamasi awal jika ada infeksi TB (Forrellad, 2013). Protein ini juga dapat menginduksi respon sel T dengan sepsifitas tinggi infeksi *M.tuberculosis* (Chand *et al*., 1993). 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).

## 2.5 Interleukin-4 (IL-4)

### 2.5.1 Deskripsi

Interleukin-4 adalah salah satu grup sitokin yang merupakan sitokin utama yang diproduksi oleh sel Th2. Tidak hanya oleh Th2, IL-4 juga diproduksi oleh beberapa sel lain seperti sel mast, eusinofil dan sebagainya. Dalam sistem imun

spesifik IL-4 mempunyai fungsi dalam diferensiasi CD4+ menjadi sel Th2, menghambat aktivasi makrofag agar tidak terjadi kerusakan jaringan dan juga stimulasi produksi antibodi IgE oleh sel B (Abbas dan Litchman, 2004).

Interleukin-4 labil, bioaktif tinggi, biasanya hadir dalam kuantitas yang rendah, menjadikan pengukurannya sulit, tetapi hal itu dapat diatasi dengan dua cara, yaitu: penggunaan penanda untuk IL-4 seperti IgE atau CD30 soluble dan penggunaan teknik yang sensitive (Demissie *et al*., 2004), karena IL-4 dapat menstimulasi terjadinya *switching antibody* yang diproduksi oleh sel B ke arah IgE, sehingga jumlah IgE dalam darah dapat dijadikan acuan terhadap jumlah IL-4.

### 2.5.2 Fungsi

Interleukin-4 adalah sitokin yang merupakan produk utama dari subset Th2 CD4+ sel T helper yang mempunyai fungsi dalam diferensasi sel Th2 dari CD4+ naif, stimulasi produksi IgE oleh sel B dan penekanan makrofag dependen IFNγ (Abbas *et al*,. 2007).

Dalam kasus TB paru terjadi peningkatan IL-4 yang berkorelasi dengan meningkatnya IgE dalam darah. Ekspresi IL-4 juga dapat dideteksi pada beberapa lesi paru dengan *in situ hybridation*. Khusus TB paru selain sel Th2 beberapa sel seperti *Eosinophil, basophil, Mast cell* dan *NK cell* juga dapat memproduksi IL-4. Suatu penelitian di Gambia, membuktikan bahwa pada pasien kronis dan pasien yang sedang progres terjadi peningkatan IL-4 secara signifikan (Rook *et al*., 2004).

## *2.6 Flow cytometry*

### 2.6.1 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*. Oleh karena itu, instrumen dapat mengidentifikasi setiap jenis aktivitas sel dan menghitung jumlah masih-masing dalam suatu populasi campuran (Koeswardani, 2001).

### 2.6.2 Fungsi

*Flow cytometry* digunakan untuk melihat ekspresi permukaan sel dan molekul selular termasuk sitokin. Selain itu *flow cytometry* juga dapat menggolongkan dan mendeskripsikan tipe sel yang berbeda dalam populasi sel yang heterogen, menaksirkan kemurnian subpopulasi yang terisolasi, dan menganalisis ukuran dan jumlah sel.

*Flow cytometry* dengan *cell sorting* memiliki aplikasi dalam sejumlah bidang, termasuk biologi molekuler, patologi, imunologi, biologi tanaman, dan biologi kelautan. Beberapa di antaranya, meliputi:

a. Analisis dan pemisahan subpopulasi limfosit dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan yang diberi label dengan zat warna fluorokrom.
b. Pemisahan limfosit yang memproduksi berbagai kelas imunoglobulin dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap kelas dan subkelas Ig spesifik dan tipe *L-chain*.

c. Memisahkan sel hidup dari sel mati.

d. Analisis kinetik atau siklus sel dan kandungan DNA atau RNA (Koeswardani, 2001).