

DISERTASI

**IMUNOPATOGENESIS TUBERKULOSIS PARU :
ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN HIGH-MOBILITY
GROUP BOX 1 (HMGB-1), SOLUBLE PROTEIN HMGB 1,
SOLUBLE PROTEIN TOLL LIKE RECEPTOR 4 (sTLR 4) DAN
INTERLEUKIN 6 (IL 6)**

***IMMUNOPATHOGENESIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS
: ANALYSIS EXPRESSION OF mRNA HIGH-MOBILITY
GROUP BOX 1 (HMGB-1) GENE, SOLUBLE PROTEIN
HMGB 1, SOLUBLE PROTEIN TOLL LIKE RECEPTOR 4
(sTLR 4) AND INTERLEUKIN 6 (IL 6)***

**TRI ARIGUNTAR WIKANNING TYAS
(NPM : P02003140450)**



**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



**IMUNOPATOGENESIS TUBERKULOSIS PARU :
ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN HIGH-MOBILITY
GROUP BOX 1 (HMGB-1), SOLUBLE PROTEIN HMGB 1,
SOLUBLE PROTEIN TOLL LIKE RECEPTOR 4 (sTLR 4) DAN
INTERLEUKIN 6 (IL 6)**

***IMMUNOPATHOGENESIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS
: ANALYSIS EXPRESSION OF mRNA HIGH-MOBILITY
GROUP BOX 1 (HMGB-1) GENE, SOLUBLE PROTEIN
HMGB 1, SOLUBLE PROTEIN TOLL LIKE RECEPTOR 4
(sTLR 4) AND INTERLEUKIN 6 (IL 6)***

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai Gelar Doktor

Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**TRI ARIGUNTAR WIKANNING TYAS
P0200314050**

Kepada:

**SEKOLAH PASCASARJANA
PROGRAM S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**



DISERTASI

**IMUNOPATOGENESIS TUBERKULOSIS PARU :
ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN HIGH-MOBILITY
GROUP BOX 1 (HMGB 1), SOLUBLE PROTEIN HMGB 1, TOLL LIKE
RECEPTOR 4 (TLR 4) DAN INTERLEUKIN 6 (IL 6)**

disusun dan diajukan oleh

**TRI ARIGUNTAR WIKANNING TYAS
P02003140450**

telah dipertahankan dalam sidang ujian disertasi
pada tanggal 6 Februari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Tim Promotor

Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi Ph.D
Promotor

dr. Uleng Bahrun, Ph.D, Sp.PK(K)
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Mukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK (K) **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**



TIM PENILAI UJIAN PROMOSI

Promotor : Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi , Ph.D

Ko-promotor : dr. Uleng Bahrun, Ph. D, Sp.PK(K)

Ko-promotor : Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)

Penilai : Prof. Dr. dr. Muh. Amin, Sp.P(K)

Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam,Sp.BS(K)

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)

Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes

Dr. dr. Nur Ahmad Tabri, Sp.PD(K), Sp.P(K)

Dr. dr. Nursin Abdul Kadir, Sp.PK



PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tri Ariguntar Wikanning Tyas

Nomor Mahasiswa : P0200314050

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penelitian yang saya tulis ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2019

Yang menyatakan

Tri Ariguntar Wikanning Tyas



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillah rabbi'l'alamin, penulis panjatkan ke hadirat **Allah SWT**, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. dengan judul **“IMUNOPATOGENESIS TUBERKULOSIS PARU : ANALISIS EKSPRESI mRNA GEN *HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1* (HMGB1), SOLUBLE PROTEIN HMGB 1, SOLUBLE PROTEIN TOLL LIKE RECEPTOR 4 (sTLR4) DAN INTERLEUKIN 6 (IL6)”** sebagai salah satu persyaratan mencapai gelar Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita **Nabi Besar Muhammad SAW** beserta keluarga, sahabat dan pengikut-Nya hingga akhir zaman.

Pertama-tama penulis haturkan rasa hormat dan terimakasih yang setulus-tulusnya kepada orang tua saya tercinta, Almarhum Bapak **Drs. Gunanto** dan almarhumah Ibunda **Hj. Sutarsih** yang semasa hidupnya memelihara, mendidik dan membesarkan dengan penuh kasih sayang, selalu mendukung dan memotivasi penulis, serta senantiasa mendoakan kami dari kecil hingga mampu seperti sekarang ini. Semoga Allah SWT
t amal ibadahnya dan diberi tempat yang layak disisinya.



Penyusunan dan penyelesaian disertasi ini tidak terlepas dari keterlibatan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan rasa hormat dan terimakasih kasih yang tak terhingga kepada:

Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A., selaku Rektor Universitas Hasanuddin. **Prof. Dr. Budu, Ph.D, SpM-KVR, M.Med.Ed**, selaku dekan Fakultas kedokteran UNHAS dan **Prof. Dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran FK UNHAS periode 2014-2018 atas izin dan dukungannya dalam mengikuti pendidikan doktor. Dan selaku anggota tim penilai, terima kasih yang tidak terhingga atas asupan dan koreksi yang diberikan pada penulisan disertasi ini. **dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK**, selaku ketua Program studi S3 UNHAS dan **Prof. dr. H. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**, selaku Ketua Program Studi S3 Kedokteran UNHAS sebelumnya dan anggota penilai, saya sampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga atas segala bantuan, dorongan, motivasi, bimbingan yang tiada lelah dalam menyelesaikan penelitian ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan mereka.

Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, selaku promotor dan guru yang telah meluangkan waktu mengarahkan, mendorong, memotivasi, memberikan ide dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan dan

penyelesaian disertasi ini. **dr. Ulung Bahrn, Ph.D, Sp.PK(K)** dan **Dr. dr. Djaharuddin, Sp.P(K)**, selaku Co-Promotor dan guru, yang telah



meluangkan waktu dengan penuh kesabaran membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis hingga penyelesaian disertasi ini. Saya ucapkan terimakasih yang tak terhingga dan permohonan maaf yang sebesar-besarnya kepada promotor dan kopromotor, bila selama bimbingan ada kesalahan dan kekhilafan yang penulis perbuat, Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan mereka.

Prof. Dr. dr. Muhammad Amin, Sp.P(K), selaku Penguji Eksternal yang selalu menyempatkan waktu di sela kegiatannya yang padat untuk memberi masukan dan perbaikan sejak persiapan hingga akhir penulisan disertasi ini. Semoga Allah SWT mencatat semua amal kebaikan beliau.

Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.S., selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi, bimbingan dan koreksi khususnya bidang pengolahan statistik dan metodologi penelitian dari awal hingga penyelesaian disertasi ini, **Dr. dr. Nur Ahmad Tabri, Sp.P(K), Sp.PD**, dan **Dr. dr. Nursin Abdul Kadir, Sp.PK**. atas kesediaannya membimbing sekaligus menjadi penguji. Koreksian dan saran yang tajam membangun substansi disertasi ini. Semoga Allah SWT, senantiasa melindungi dan mencatat seluruh amal kebaikan mereka.



Kepada **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku kepala Laboratorium Biomolekuler dan Imunologi FK Unhas beserta staff **H. Romi dan Pak Mus** atas bantuan dan fasilitas selama penelitian. Semoga Allah SWT membalas semua amal kebaikan mereka.

Rektor Universitas Muhammadiyah Jakarta. **Prof. Dr. Syaiful Bahri, S.H., M.H.** dan jajarannya atas dukungan baik moril maupun materi.. Dekan FKK UMJ, **dr. Muhammad Fachri, Sp.P** sekaligus teman seperjuangan dalam menempuh pendidikan S3, terima kasih atas dukungan, motivasi dan bantuannya terutama bantuan dana selama pendidikan dan penelitian, dari awal pendidikan hingga selesainya disertasi ini. Keluarga besar fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Jakarta, **Guru Besar, para Dosen dan seluruh staf** yang selama ini mendoakan dan memotivasi hingga selesainya disertasi ini. Terima kasih yang tak terhingga. Semoga Allah SWT membalas semua amal kebaikan mereka.

Direktur RSIJ Pondok Kopi dan Sukapura atas ijinnya sebagai tempat pengambilan sampel penelitian selama pendidikan, seluruh perawat yang telah membantu pengambilan sampel. **Dr. Murtiyas Galuh, Sp.PK** selaku kepala Laboratorium Patologi Klinik di RSIJ Pondok kopi dan Sukapura dan juga sebagai Ketua PDS PATKLIN cabang Jakarta, yang selalu mendorong dan memotivasi serta membantu selama proses sampling dan penanganan sampel penelitian. Terima kasih yang sebesar-besarnya semoga Allah SWT

as semua amal kebaikan mereka.



Para Direktur dan seluruh analis di RS Karya Medika Bantar Gebang, RS Bhineka Bakti Husada, dan RS Kartika Husada Setu. Terima kasih yang tak terhingga atas dukungan dan ijin selama menempuh pendidikan sehingga penulis dapat mengikuti Program Doktor ini dengan baik.

dr. Amir Syafruddin, M.Med.Ed, dan **dr. Slamet Sudi Santoso, M.Pd.Ked,** selaku rekan kerja sekaligus teman angkatan pendidikan S3 UNHAS, yang selalu memotivasi dan berbagi ilmu. **dr. Indah Pratiwi** yang sangat membantu selama proses pengambilan sampel dan tabulasi data. Terima kasih yang tak terhingga semoga Allah SWT membalas segala amal baik mereka.

Staf Program S3 Ilmu Kedokteran UNHAS, **Pak Akmal, Pak Mumu dan Ibu Nur,** atas dukungan dan bantuannya baik secara moril maupun secara administratif.

Seluruh pasien maupun keluarga pasien serta sukarelawan yang secara ikhlas tanpa paksaan, ikut berpartisipasi dalam penelitian ini.

Secara khusus kami sampaikan rasa terimakasih dan penghormatan tak terhingga kepada Bapak dan ibu mertua saya, almarhum **Prof. Dr. Sudjingga** dan ibunda **Hj. Lasmiyati** atas dukungan moril serta doanya yang senantiasa diberikan. Kepada Kakak-kakak & Adik-adikku yang selalu mendukung dan mendoakan, **Eko Ariguntar P, Dwi Ariguntar S, Catur Ariguntar A, dan Panca Ariguntar W.**

terhingga ungkapkan rasa syukur, telah memiliki **Yoga Fortuna Wardana, S.E., M.M.,** suami tercinta yang penuh pengertian dan



setia mendampingi dalam keadaan susah maupun senang. Kesabaran, pengertian, dorongan serta doa yang senantiasa dipanjatkan yang sangat mendukung terselesainya disertasi ini. Juga untuk ketiga putraku **Muhammad Reynaldi Anandita Ganing, Muhammad Reyzandi Anandita Ganing, dan Muhammad Rafialdi Anandita Ganing** sebagai penyemangat dan penghibur selama menempuh pendidikan doktoral. Semoga perjuangan Ibu dapat menjadi tauladan bagi kalian, serta disertasi ini menjadi motivasi kalian untuk menuntut ilmu setinggi-tingginya karena sesungguhnya “Allah mengangkat derajat orang-orang yang beriman dan berilmu” (QS. Al-Mujadalah 58:11), semoga Ridho Allah senantiasa bersama kalian dan menjadi anak-anak yang soleh dan sukses. *Aamiin*.

Kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Pendidikan Doktor dan penerbitan disertasi ini, yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, dengan ketulusan hati, saya sampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya. Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu, saudara dan saudari sekalian dengan pahala yang berlipat ganda. *Aamiin*.

Saya menyadari bahwa disertasi ini tidak luput dari kekurangan dan keterbatasan, karena itu kritikan dan saran membangun sangat diharapkan dari berbagai pihak untuk penyempurnaan disertasi ini.

Akhir kata, semoga dengan terbitnya disertasi ini dapat bermanfaat

pentingan ilmu pengetahuan dan untuk kepentingan aplikasi klinis



kepada masyarakat, khususnya dalam penanganan, pencegahan dan penanggulangan tuberkulosis di Indonesia.

Aamiin, aamiin, Ya Rabbal Aalamiin.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Makassar, Februari 2019

Tri Ariguntar Wikaning Tyas



ABSTRAK

TRI ARIGUNTAR WIKANNING TYAS. *Imunopatogenesis Tuberkulosis Paru: Analisis Ekspresi mRNA gen High-Mobility Group Box 1 (HMGB1), Soluble Protein HMGB1, Toll Like Receptor 4 (TLR 4) dan Interleukin 6 (IL6)* (dibimbing oleh Muhammad Nasrum Massi, Uleng Bahrin, Irawati Djaharuddin).

Penelitian ini bertujuan melihat perbedaan ekspresi mRNA HMGB 1, kadar soluble protein HMGB 1, TLR 4 dan IL 6 antara TB Aktif dan TB Laten serta peranan mRNA HMGB1, protein HMGB1, TLR 4, dan IL 6 pada imunopatogenesis Tuberkulosis(TB) paru.

Design penelitian *cross sectional*, dilakukan di RS Islam Jakarta Pondok Kopi dan Sukapura pada bulan November 2017 hingga Februari 2018. Sampel penelitian sebanyak 52 sampel terdiri dari 26 sampel TB aktif dan 26 sampel TB laten. Pemeriksaan protein serum HMGB 1, TLR 4 dan IL 6 secara ELISA dan mRNA HMGB 1 menggunakan qRT-PCR di Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin..

Hasil penelitian mendapatkan rerata mRNA HMGB 1 pada TB Aktif ($11,49 \pm 0,86$ kopi/ μ L) lebih tinggi dari TB Laten ($8,40 \pm 0,78$ kopi/ μ L) dengan $p < 0,001$. Kadar protein HMGB1 pada TB Aktif ($1234,87 \pm 105,2$ pg/mL) lebih tinggi daripada TB Laten ($183,66 \pm 110,65$ pg/mL). Kadar reseptor TLR 4 pada TB aktif ($10,42 \pm 0,68$ ng/mL) lebih tinggi daripada TB Laten ($0,94 \pm 0,55$ ng/mL) dan kadar IL 6 pada TB Aktif ($24,32 \pm 1,31$ ng/mL) lebih tinggi daripada TB Laten ($3,38 \pm 1,41$ ng/mL) dengan $p < 0,001$. Nilai rentang mRNA HMGB1 $< 10,27$ kopi/ μ L dan $> 9,87$ kopi/ μ L bukan termasuk ke dalam kelompok TB Aktif maupun TB Laten. Begitu pula kadar HMGB1 < 1070 pg/mL dan $> 372,385$ bukan termasuk kelompok TB Aktif maupun TB Laten. Namun, yang dapat dipakai sebagai pertimbangan pemberian terapi pada TB Laten yakni pada kelompok risiko tinggi.

Kata Kunci: mRNA HMGB1, Protein HMGB1, TLR4, IL 6, TB Aktif, TB Laten



ABSTRACT

TRI ARIGUNTAR WIKANNING TYAS. *Immunopathogenesis of Pulmonary Tuberculosis: Analysis of mRNA of high-Mobility Group Box 1 (HMGB1) Genes Expression, HMGB 1 Soluble Protein, Toll Like Receptor 4 (TLR 4) and Interleukin 6 (IL6)* (Supervised by **Muhammad Nasrum Massi, Uleng Bahrin, and Irawati Djaharuddin**)

This study aims to assess the difference of mRNA HMGB expression, levels of protein HMGB 1, TLR 4 and IL 6 between Active TB and Latent TB and the role of HMGB 1 mRNA, HMGB 1, TLR 4 and IL 6 in immunopathogenesis of pulmonary tuberculosis (TB).

The cross-sectional study design was carried out at the Jakarta Islamic Hospital Pondok Kopi and Sukapura in November 2017 to February 2018. The study samples were 52 samples consist of 26 samples of Active TB and 26 samples of Latent TB Examination of HMGB 1, TLR 4 and IL 6 serum proteins by ELISA and mRNA HMGB 1 using qRT-PCR in the Laboratory of Molecular Biology and Immunology Faculty of Medicine, Hasanuddin University.

The results show that mean of mRNA HMGB 1 in Active TB (11.49 ± 0.86 copies/ μ L) higher than Latent TB (8.40 ± 0.78 copies/ μ L) with $p < 0.001$. HMGB 1 protein levels in Active TB (1234.87 ± 105.2 pg/mL) are higher than Latent TB (183.66 ± 110.65 pg/mL). TLR 4 receptor levels in Active TB (10.42 ± 0.68 ng/mL) are higher than Latent TB (0.94 ± 0.55 ng/mL) and IL 6 levels in Active TB (24.32 ± 1.31 ng/mL) is higher than Latent TB (3.38 ± 1.41 ng/mL) with $p < 0.001$. mRNA HMGB 1 range values < 10.27 copies/ μ L and > 9.87 copies/ μ L are not included in either the active TB or latent TB group. Likewise HMGB 1 protein < 1070 pg/mL and > 372.385 pg/ml are not included in the active TB and latent TB group. Which can be used as a consideration for giving therapy to latent TB in high-risk group.

Keywords : mRNA HMGB 1, HMGB 1 protein, TLR 4, IL 6, Active TB, Latent TB



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
LEMBARAN PENGESAHAN	II
TIM PENILAI PROMOSI	III
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	IV
KATA PENGANTAR	V
ABSTRAK	XII
ABSTRACT	XIII
DAFTAR ISI	XIV
DAFTAR TABEL	XVII
DAFTAR GAMBAR	XVIII
DAFTAR SINGKATAN	XIX
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	
1.3.1. Tujuan Umum	7
1.3.2. Tujuan Khusus	7
1.4. Manfaat Penelitian	
1.4.1. Aspek Pengembangan Ilmu	8
1.4.2. Aspek Aplikasi Klinis	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tuberkulosis	
2.1.1. Definisi Tuberkulosis	10
2.1.2. Etiologi Tuberkulosis	11
2.1.3. Faktor Risiko Tuberkulosis	11
2.1.4. Cara penularan Tuberkulosis	12
2.1.5. Patogenesis Tuberkulosis	13
2.1.6. Klasifikasi TB	17
2.1.7. Gejala Klinis TB	22
2.1.8. Pemeriksaan Fisik TB	23
2.1.9. Pemeriksaan Penunjang TB	24
2.1.10. Diagnosis TB	27
2.1.11. Pengobatan TB	29
2.1.12. Evaluasi Pengobatan TB	35
2.1.13. Pencatatan dan Pelaporan TB	36
Infeksi TB Laten (ITBL)	
2.2.1. Definisi TB Laten	38



2.2.2.	Diagnosis TB Laten	39
2.2.3.	Pemeriksaan TB Laten	40
2.2.4.	Kelompok Risiko TB Laten	44
2.2.5.	Kelompok Risiko Tinggi TB Laten	45
2.3.	Sistem Imunitas Tubuh Terhadap Infeksi	
2.3.1.	Respon Imun Terhadap MTB	46
2.4.	High Mobility Group Box 1 (HMGB1)	
2.4.1.	Definisi HMGB1	51
2.4.2.	Struktur HMGB1	51
2.4.3.	Fisiologi dan Peranan HMGB1	53
2.4.4.	Peran Proimflamatorik HMGB1	56
2.4.5.	Peran HMGB1 pada Infeksi	58
2.4.6.	Peranan HMGB1 pada Infeksi TB	63
2.5.	Penanda Biologis Interleukin 6 (IL6)	
2.5.1.	Definisi	74
2.5.2.	Biosintesis dan Sekresi IL6	74
2.5.3.	Aktivitas Biologi IL6	75
2.6.	Penanda Biologis Toll Like Receptor 4 (TLR4)	
2.6.1.	Definisi	77
2.6.2.	Peranan TLR4 sebagai reseptor transmembran	78
2.6.3.	Peranan TLR4 terhadap Patogen	79
BAB III	KERANGKA TEORI	82
BAB IV	KERANGKA KONSEP	
4.1.	Kerangkap Konsep	83
4.2.	Hipotesis	83
BAB V	METODA PENELITIAN	
5.1.	Disain Penelitian	84
5.2.	Populasi	84
5.3.	Tempat dan Waktu	84
5.4.	Sampel Penelitian	
5.4.1.	Tehnik Sampling	85
5.4.2.	Besar Sampel	85
5.4.3.	Kriteria Sampel	86
5.5.	Cara Kerja	
5.5.1.	Pemilihan Subjek Penelitia	87
5.5.2.	Pengumpulan data Penelitian	88
5.5.3.	Persiapan Alat dan Reagen	89
	Etika Penelitian	103
	Alur Penelitian TB Aktif	104



5.8.	Alur Penelitian TB Laten	105
5.9.	Definisi Operasional	106
5.10.	Metoda Analisis Data	107
BAB VI	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
6.1.	Hasil Penelitian	109
6.2.	Pembahasan	119
6.3.	Keterbatasan Penelitian	130
BAB VII	SIMPULAN DAN SARAN	
7.1.	Ringkasan	131
7.2.	Simpulan	132
7.3.	Saran	133
PUSTAKA		134
LAMPIRAN		143



DAFTAR TABEL

2.1.	Jenis dan dosis obat antituberkulosis (OAT)	32
2.2.	Dosis Panduan OAT KDT kategori 1	33
2.3.	Dosis Panduan OAT KDT kategori 2	34
2.4.	Perbedaan TB Aktif dan TB Laten	40
2.5.	Interpretasi test Tuberkulosis	42
6.1.	Karakteristik dasar subjek penelitian	112
6.2.	Hasil pemeriksaan parameter variabel yang diteliti	113
6.3.	Hubungan antara ekspresi HMGB1, kadar protein HMGB1, kadar TLR4 dan kadar IL6 pada TB aktif dan TB laten	115
6.4.	Nilai rentang ekspresi gen HMGB1 dan kadar protein HMGB1, TLR4 dan IL6 pada TB aktif dan TB laten	119



DAFTAR GAMBAR

1.	Faktor risiko kejadian TB	12
2.	Patogenesis TB	16
3.	Spektrum infeksi MTB dan daur hidup MTB	17
4.	Klasifikasi TB	20
5.	Klasifikasi TB berdasarkan tipe kasus	22
6.	Alur diagnosis TB	29
7.	Imunitas Innate	50
8.	Struktur HMGB1	52
9.	Mekanisme sekresi dan peran HMGB1	55
10.	Reseptor HMGB1 dan pengaktifan jalur transduksi signal	56
11.	Alat Real Time PCR	97
12.	Kurva standar dan siklus amplifikasi RT PCR	98
13.	Prinsip Elisa sanwich	100
14.	Pengenceran sampel pemeriksaan HMGB1, TLR4, IL6	101
15.	Pengenceran standar pemeriksaan HMGB1, TLR4, IL6	102
16.	Mesin ELISA	104
17.	Perbandingan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada TB aktif dan TB laten	114
18.	Perbandingan kadar soluble protein HMGB1 pada TB aktif dan TB laten	114
19.	Perbandingan kadar protein TLR 4 pada TB aktif dan TB laten	117
20.	Perbandingan kadar protein IL6 pada TB aktif dan TB laten	117



DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: <i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>
BCG	: <i>Bacillus Calmette-Guerin</i>
BTA	: Basil Tahan Asam
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DAMPs	: <i>Damaged associated molecular patterns</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Etilen diamin tetra acetat</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
HMGB1	: <i>High mobility group box 1</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IGRA	: <i>Interferon gamma release assay</i>
IRF3	: <i>Interferon respon factor 3</i>
IUATLD	: <i>International Union Against Tuberculosis and Lung Disease</i>
KDT	: Kombinasi Dosis Tetap
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
LTA	: <i>Lipoteichoic acid</i>
MyD 88	: <i>Myeloid differentiation primary response protein 88</i>
MMR	: <i>Macrophage Mannose Receptors</i>
MIP	: <i>Macrophage Inflammatory Protein</i>
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic acid</i>
MTB	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NFκβ	: <i>Nuclear Factor kappa beta</i>
	: <i>Natural Killer</i>
	: Obat Anti Tuberculosis
	: <i>Pathogen associated molecular patterns</i>



PDPI	: Persatuan Dokter Paru Indonesia
PI3K	: <i>Phosphatidyl Inositol 3 Kinase</i>
PMO	: Pengawas Minum Obat
PMN	: <i>Polymorphonuclear neutrophils</i>
RT PCR	: <i>Real time polymerase chain reaction</i>
RAGE	: <i>Receptors for advanced glycation end product</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen spesies</i>
SAA	: <i>Serum Amyloid A</i>
TIR	: <i>Toll interleukin 1 receptor</i>
TLR4	: <i>Toll like receptors 4</i>
TNF α	: <i>tumor necrotig factor alpha</i>
TRIF	: <i>TIR domain containing adapter inducing IFNβ</i>
TST	: <i>Tuberculin Skin Test</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
VDR	: <i>Vitamin D Receptors</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Terutama mengenai paru disebut TB paru tetapi dapat juga mengenai organ lain disebut TB ekstraparu (PDPI., 2011; WHO., 2015). Tuberkulosis merupakan satu dari sepuluh penyakit penyebab kematian dan sebagai agen infeksi tunggal penyebab utama kematian diatas *Human Immunodeficiency Virus* (HIV)/*Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS). *Global Tuberculosis Report 2018* melaporkan terdapat 1,3 juta kematian pada orang dengan HIV negatif dan 300.000 kematian pada orang dengan HIV positif. Diperkirakan terdapat 10 juta penderita TB pada 2017 di dunia: 5,8 juta pada pria, 3,2 juta pada wanita dan 1 juta pada anak-anak dan lebih dari 90% pada orang dewasa, lebih dari 15 tahun (WHO., 2018).

Indonesia menduduki urutan ketiga setelah India dan Cina dengan jumlah penderita TB sekitar 8% dari total jumlah kasus TB paru di dunia (WHO., 2018). Hingga saat ini tuberkulosis masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia walaupun upaya pengendalian TB dengan strategi *Directly Observed Treatment Shortcourse chemotherapy* (DOTS)

terapkan sejak 1995. Laporan kementerian kesehatan Republik Indonesia tahun 2018, mendapatkan jumlah kasus baru TB sebesar 420.994



kasus. Tingkat keberhasilan pengobatan (*success rate*) sebesar 85,1%. Tingginya insiden TB ini akan berdampak terhadap ekonomi maupun sosial yang akan membebani individu maupun negara. Masalah ini bertambah dengan makin meningkatnya kasus HIV dan resistensi terhadap obat antituberkulosis (Kemenkes RI., 2018).

Pasien TB dapat menyebarkan kuman MTB ke udara dalam bentuk percikan dahak, yang sekali batuk dapat menghasilkan sekitar 3000 *droplet nuclei*/percik renik. Dengan Imunitas yang baik seseorang yang terpapar kuman MTB, dapat menghilangkan kuman MTB atau tidak akan bermanifestasi klinik dan tidak menularkan kepada orang lain yang disebut infeksi laten TB, akan tetapi saat imunitas tubuh menurun keadaan ini dapat berkembang menjadi penyakit TB yang berpotensi menjadi sumber penularan (Kemenkes., 2014). Sekitar 2-5% infeksi TB laten ini dapat berkembang menjadi TB aktif dan merupakan reservoir paling besar untuk menularkan kuman MTB. (Druszczynska M et al., 2012; Cliff J. M et al., 2015; PDPI., 2016). Proses imunopatogenesis TB merupakan proses yang dinamis yang melibatkan faktor pejamu dan agen. Faktor pejamu berupa sistem imunitas, genetik, gizi dan lingkungan, sedangkan faktor agen berupa virulensi dan jumlah kuman */bacterial load* (Subowo, 2014). Oleh karena itu perlu pemahaman tentang patomekanisme imun respons pada infeksi TB, dengan harapan dapat mengurangi berkembangnya TB laten

TB aktif dan juga dapat menemukan secara dini kemungkinan
a proses reaktivasi TB laten menjadi aktif.



Sistem imunitas sangat penting pada saat terjadinya infeksi oleh kuman MTB. Mekanisme imun respons baik alami maupun adaptif berperan untuk menentukan seseorang menjadi TB laten atau aktif. Respons inflamasi lokal merupakan hal yang krusial dalam proses imunopatogenesis tuberkulosis (Russel D.G., 2007). Infeksi MTB akan menyebabkan MTB difagositosis oleh makrofag dan sel dendritik melalui berbagai reseptor yang ada pada permukaan membran seperti *Toll Like Reseptor 2 (TLR2)*, TLR4, TLR9 dan *Receptors for Advanced Glycalation End products (RAGE)*. Ikatan dengan reseptor TLR4 yang kemudian akan mengaktifasi jalur signal *Natural Killer Kappa Beta (NK- $\kappa\beta$)* untuk memproduksi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin 6 (IL6)* dan *Tumor Necrosis Factor α (TNF α)* oleh makrofag (Magna M., et al., 2014). Sedangkan respons imun adaptif terstimulasi saat makrofag dan sel dendritik yang terinfeksi MTB mempresentasikan MTB ke sel limfosit T naive. Sel limfosit T kemudian berproliferasi dan berdiferensiasi untuk memproduksi *interferon gamma (IFN γ)* yang berfungsi mematikan mikobakterial intrasel dalam makrofag. Sekresi IFN γ akan mengaktifasi makrofag untuk mengeluarkan berbagai sitokin seperti IL1, TNF α , IL6, IL12 dan berperan dalam pembentukan granuloma pada tempat infeksi (Dheda K et al., 2010; Subowo, 2014., PDPI., 2016). Respons inflamasi lokal berupa perekrutan makrofag maupun sel-sel limfosit T yang kemudian akan memicu pelepasan limfokin dan

yang mengaktifasi pembentukan granuloma (Subowo., 2014; witt., 2009; Van Crevel R., 2002).



Selama proses infeksi MTB, berbagai mediator proinflamasi terlibat dan berkontribusi terhadap pembentukan granuloma pada TB yang merupakan pertahanan tubuh untuk membunuh MTB atau menghambat pertumbuhan MTB oleh makrofag. Selain mengeluarkannya berbagai sitokin, makrofag yang teraktivasi maupun yang nekrosis juga mensekresi *High mobility group box 1* (HMGB1). *High mobility group box 1* adalah protein inti non histon yang bertindak seperti sitokin proinflamasi yang dilepaskan oleh monosit dan makrofag saat teraktivasi. Sel imun alami termasuk makrofag, monosit, sel dendritik, sel mast, neutrofil, eosinofil, dan sel natural killer merupakan produsen utama dari HMGB1 (Zeng JC et al., 2015). Makrofag secara aktif mensekresi HMGB1 sebagai respons terhadap infeksi MTB yang bertindak sebagai sinyal dari jaringan atau sel yang cedera dan mempertinggi respons imun. Sel Nekrotik secara pasif juga melepaskan HMGB1 ditempat kerusakan jaringan yang menginduksi berbagai respons seluler, termasuk ekspresi mediator proinflamasi. Proses ini dimediasi oleh RAGE, TLR2, TLR 4 dan TLR 9. Diantara berbagai reseptor ini, terutama TLR4 menyebabkan aktivasi jalur signaling akhir NF κ B, *interferon regulatory factor-3* (IRF 3) dan fosfatidylinositol 3-kinase (PI3K) yang kemudian mengaktivasi pengeluaran sitokin proinflamasi TNF α , IL 1 dan IL 6 oleh makrofag (Yu Y et al., 2015). Interferon γ tidak hanya menstimulasi fragmentasi caspase yang tergantung

apoptosis pada infeksi berat makrofag, tetapi juga meningkatkan
mitokondria dan pelepasan LDH yang mengindikasikan



nekrosis, dan proses ini juga akan meningkatkan pelepasan protein HMGB1 dan TLR4, sehingga *soluble* protein HMGB1 dan protein TLR4 dapat dipakai sebagai penanda nekrosis atau rusaknya makrofag (Lee J., 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Agnieszka M, dkk menunjukkan bahwa HMGB1 dapat terdeteksi pada aliran darah berbagai penyakit paru dengan konsentrasi tertinggi pada pasien dengan infeksi MTB (aktif dan laten). Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa konsentrasi HMGB1 mengalami peningkatan pada pasien dengan aktif tuberkulosis 47,5 ng/mL dibandingkan pada pasien dengan penyakit paru lainnya 36,87 ng/mL (Magrys A et al., 2013). Penelitian lain oleh Jin-Cheng Zeng, dkk menunjukkan bahwa HMGB1 terdeteksi pada plasma dan sputum pasien yang memiliki hasil kultur MTB positif dan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok sehat selain itu juga terdapat peningkatan kadar IL-6, IL-10, dan TNF- α pada plasma, darah dan sputum subjek dengan infeksi TB (Zeng JC et al., 2015). Penelitian Houben, dkk memperlihatkan sitokin proinflamasi (TNF α , IL 1 dan IL 6) berperan memediasi proses inflamasi dan bertanggung jawab terhadap kerusakan jaringan akibat tuberkulosis pada hewan coba (Grover A. et al., 2008; Houben et al., 2006). Studi in vitro dan studi percobaan hewan menunjukkan bahwa MTB dan *Mycobacterium bovis* BCG dapat secara

menginduksi sekresi HMGB1 yang menyebabkan hiperaktivasi dan kerusakan jaringan paru (Kim SY et al., 2017).



Strategi eliminasi TB yang disebut *End TB Strategy* mempunyai misi untuk mencapai angka *zero TB* pada 2050. Target di 2020 adalah penurunan angka kematian TB 35% dan penurunan angka kejadian TB 20% dibanding tahun 2015. Kecepatan penurunan ini tergantung pada terobosan teknologi yang bisa secara substansial mengurangi risiko berkembangnya infeksi TB laten ke arah penyakit TB aktif. Terobosan teknologi tersebut termasuk pembuatan vaksin yang efektif pasca vaksinasi, pengobatan yang singkat, manjur dan aman untuk infeksi TB laten serta teknologi diagnostik yang cepat dan efektif dalam mendiagnosis TB dan pengembangan regimen obat dan vaksin (WHO., 2018). Sehingga diperlukan penanda/biomarker yang baik, yang dapat menjelaskan proses imunopatogenesis infeksi tuberkulosis, khususnya perubahan TB laten menjadi TB aktif. Ekspresi gen HMGB1 sebagai penanda terstimulasinya makrofag akibat infeksi MTB akan memicu sekresi sitokin proinflamasi IL6 dan antiinflamasi IL10, serta menstimulasi proses apoptosis maupun kerusakan/nekrosis makrofag yang ditandai dengan pelepasan *soluble* protein HMGB1 dan protein TLR4 kedalam serum. Sitokin yang dihasilkan selanjutnya akan menstimulasi kembali makrofag. Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui peranan ekspresi mRNA gen HMGB1, *soluble* protein HMGB1, TLR4 dan IL6 pada imunopatogenesis tuberkulosis serta kemungkinan *soluble* protein HMGB1, protein TLR 4 dan protein IL 6

an sebagai penanda reaktivasi TB.



1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan pada latar belakang masalah tersebut di atas, maka permasalahan penelitian ini, dirumuskan dalam pertanyaan penelitian sebagai berikut :

“ Bagaimanakah peranan ekspresi mRNA gen HMGB1, *soluble* protein HMGB1, TLR4 dan IL6 pada imunopatogenesis tuberkulosis paru baik yang aktif maupun yang laten dan dapatkah dipakai sebagai penanda proses reaktivasi TB? “

Pertanyaan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Apakah ada perbedaan ekspresi mRNA gen HMGB1 antara TB aktif dan TB laten ?
2. Apakah ada perbedaan kadar *soluble* protein HMGB1 antara TB aktif dan TB laten ?
3. Apakah ada perbedaan kadar protein TLR4 antara TB aktif dan TB laten ?
4. Apakah ada perbedaan kadar protein IL 6 antara TB aktif dan TB laten ?
5. Apakah ada korelasi antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dengan kadar *soluble* protein HMGB1 pada infeksi tuberkulosis ?
6. Apakah ada korelasi antara kadar *soluble* protein HMGB1 dengan kadar protein TLR4 pada infeksi tuberkulosis ?



7. Apakah ada korelasi antara kadar *soluble* protein HMGB1 dengan kadar protein IL6 pada infeksi tuberkulosis ?
8. Apakah ada korelasi antara kadar protein IL6 dengan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada infeksi tuberkulosis ?
9. Apakah ekspresi mRNA gen HMGB1, *soluble* protein HMGB1, protein TLR4 dan protein IL6 terlibat pada mekanisme Immunopatogenesis TB dan dapat dipakai sebagai penanda proses reaktivasi TB laten ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Untuk mengetahui imunopatogenesis tuberkulosis baik TB aktif maupun TB laten yang melibatkan ekspresi gen HMGB1, TLR4 dan IL6; serta kemungkinan ekspresi mRNA gen HMGB1, *soluble* protein HMGB1, protein TLR4 dan protein IL6 dijadikan biomarker penanda proses reaktivasi TB laten menjadi TB aktif.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Diketuinya perbedaan ekspresi mRNA gen HMGB1 antara TB aktif dan TB laten.
2. Diketuinya perbedaan kadar *soluble* protein HMGB1 antara TB aktif dan TB laten.

Diketuinya perbedaan kadar protein TLR4 pada TB aktif dan TB laten.



4. Diketuainya perbedaan kadar protein IL 6 pada TB aktif dan TB laten.
5. Diketuainya korelasi antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dengan kadar *soluble* protein HMGB1 pada infeksi Tuberkulosis.
6. Diketuainya korelasi antara kadar *soluble* protein HMGB1 dengan kadar TLR4 pada infeksi Tuberkulosis.
7. Diketuainya korelasi antara kadar *soluble* protein HMGB1 dengan kadar IL6 pada infeksi Tuberkulosis.
8. Diketuainya korelasi antara kadar protein IL6 dengan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada infeksi Tuberkulosis
9. Diketuainya ekspresi mRNA gen HMGB1, kadar *soluble* protein HMGB1, kadar protein TLR4 dan kadar protein IL6 sebagai penanda reaktivasi TB laten.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat dari aspek pengembangan ilmu

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran lebih lengkap tentang peranan mRNA gen HMGB1, *soluble* protein HMGB1, *soluble* protein TLR4 dan IL6 pada respons imun penderita tuberkulosis paru.

1.4.2. Manfaat dari aspek aplikasi klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu klinisi dalam memahami mekanisme molekuler respons imun penderita TB Paru yang melibatkan HMGB1, TLR4 dan IL6, serta membantu klinisi untuk



memperoleh biomarker penanda reaktivasi TB laten untuk pertimbangan pemberian profilaksis antituberkulosis pada penderita TB laten.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tuberkulosis

2.1.1. Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis complex* (PDPI., 2011). Suspek TB adalah seseorang dengan gejala atau tanda TB. Gejala umum TB paru adalah batuk produktif lebih dari 2 minggu yang disertai gejala pernafasan (sesak nafas, nyeri dada, hemoptisis) dan/atau gejala tambahan (tidak nafsu makan, penurunan berat badan, keringat malam dan mudah lelah). Dalam menentukan suspek TB harus dipertimbangkan faktor seperti usia pasien, imunitas pasien, status HIV atau prevalensi HIV dalam populasi (Kemenkes RI., 2014).

Kasus TB adalah seorang pasien yang setelah dilakukan pemeriksaan penunjang untuk TB sehingga didiagnosis TB oleh dokter maupun petugas kesehatan dan diobati dengan paduan dan lama pengobatan yang lengkap (PDPI., 2011).

Kasus TB pasti adalah pasien TB dengan ditemukan *Mycobacterium tuberculosis complex* yang diidentifikasi dari spesimen klinik (jaringan, cairan tubuh, usap tenggorok, dll) dan kultur. Pada negara dengan

asas kapasitas laboratorium dalam mengidentifikasi MTB maka



kasus TB paru dapat ditegakkan apabila ditemukan satu atau lebih dahak dengan BTA positif (PDPI., 2011).

2.1.2. Etiologi Tuberkulosis

Tuberkulosis paru disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang berbentuk batang dengan panjang 1 – 10 mikron dan lebar 0,2 – 0,6 mikron (Kemenkes., 2014). *Mycobacterium tuberculosis* memiliki dinding yang sebagian besar terdiri atas asam lemak (lipid) peptidoglikan dan arabinomannan. Lipid inilah yang membuat kuman ini lebih tahan terhadap asam (asam alkohol) sehingga disebut Basil Tahan Asam (BTA), serta lebih tahan terhadap gangguan kimia dan fisis (Amir B., 2014). *Mycobacterium tuberculosis* sangat peka terhadap panas, sinar matahari dan sinar ultraviolet/UV (paparan langsung dari sinar UV dapat membunuh kuman dalam waktu beberapa menit), tetapi dapat bertahan hidup dalam jangka waktu lama pada suhu 4⁰C sampai minus 70⁰ C (Kemenkes RI., 2014).

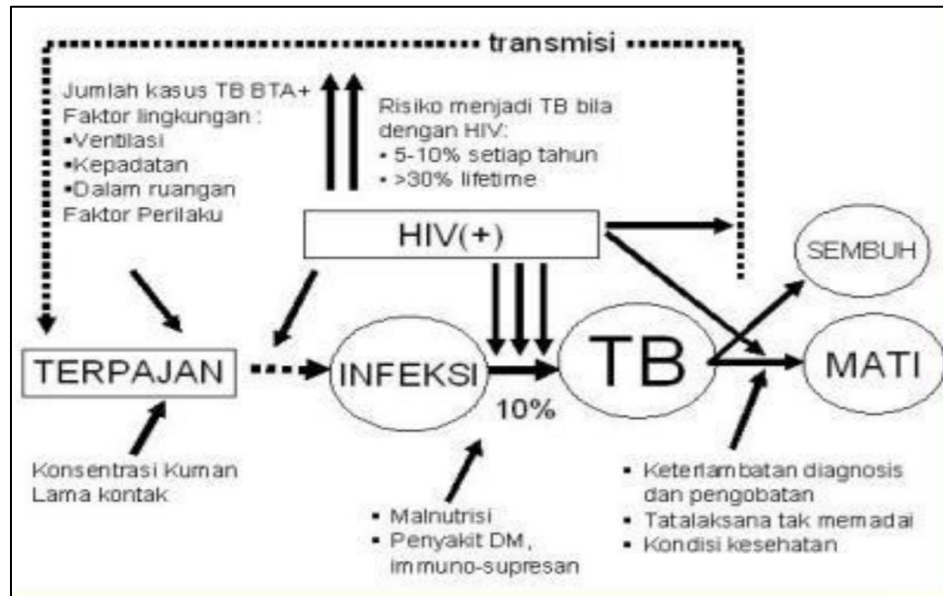
2.1.3. Faktor Risiko Tuberkulosis

Faktor risiko terjadinya TB paru adalah usia produktif 15 – 50 tahun, daya tahan tubuh rendah (HIV/AIDS), malnutrisi/gizi buruk, DM, pemakaian immunosupresan, jumlah/konsentrasi kuman dan lama kontak dengan penderita TB paru. Selain itu, faktor perilaku hidup bersih dan sehat serta faktor lingkungan seperti ventilasi, kepadatan penduduk dan keadaan dalam ruangan juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi

terjadinya penyakit TB paru (Kemenkes RI., 2011; Kemenkes RI., 2014).



Faktor risiko kejadian TB secara ringkas dapat dijelaskan pada gambar berikut:



Gambar 1. Faktor risiko kejadian TB (Kemenkes RI, 2011)

2.1.4. Cara Penularan Tuberkulosis

Sumber penularan adalah pasien TB paru BTA positif yang pada saat batuk atau bersin dapat menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk percikan dahak (*droplet nuclei*/percik renik), sekali batuk dapat menghasilkan sekitar 3000 percikan dahak. Infeksi akan terjadi apabila orang lain menghirup udara yang mengandung percik renik dahak yang infeksius tersebut. Pasien TB paru dengan BTA negatif juga masih memiliki kemungkinan untuk menularkan penyakit TB. Tingkat penularan pasien TB paru BTA positif adalah 65%, pasien TB BTA negatif dengan hasil kultur adalah 26% dan pasien TB dengan hasil kultur negatif dan foto toraks adalah 17% (Kemenkes RI., 2014).



2.1.5. Patogenesis Tuberkulosis

Setelah terhirup, droplet infeksius berada pada seluruh saluran pernafasan. Sebagian besar basil terjebak di bagian atas saluran pernafasan di mana sel goblet akan mensekresi mukus. Mukus yang dihasilkan akan menangkap benda asing, dan silia pada permukaan sel bergerak secara terus menerus untuk mengeluarkan mucus yang berisi benda asing tersebut (Frieden TR et al., 2003). Tubuh mempunyai sistem pertahanan fisik awal yang dapat mencegah infeksi pada kebanyakan individu yang terpapar kuman tuberculosis (Jensen PA et al., 2005).

Bakteri dalam droplet menembus sistem mukosiliar dan mencapai alveoli, kemudian secara cepat akan dikelilingi dan difagosit oleh makrofag alveolar, sebagai efektor imun paling banyak pada daerah alveolar tersebut (CDC.,2009; Frieden TR et al.,2003). Makrofag, merupakan pertahanan tubuh berikutnya, yang merupakan bagian dari sistem imun alami/innate yang memberikan tubuh kemampuan untuk menghancurkan mikrobakteri yang menyerang dan mencegah infeksi akibat mikrobakteri tersebut (Van Crevel R., 2002).

Makrofag merupakan sel fagosit yang tersedia dalam melawan banyak patogen tanpa membutuhkan paparan sebelumnya dengan patogen. Beberapa mekanisme dan reseptor makrofag terlibat dalam proses fagositosis mikobakterium (Van Crevel R., 2002).

Binomannan mikobakteri adalah ligan kunci untuk reseptor g. Sistem komplemen juga berperan dalam fagositosis bakterial



(Nicod LP., 2007). Komplemen protein C3 mengikat dinding sel dan meningkatkan pengenalan MTB oleh makrofag. Oponisasi oleh C3 berlangsung cepat, bahkan di rongga udara tubuh tanpa paparan sebelumnya oleh MTB (Ferguson JS., 2004). Proses fagositosis oleh makrofag berikutnya menginisiasi kaskade yang menyebabkan suksesnya kontrol terhadap infeksi, diikuti dengan TB laten, atau pengembangan menjadi penyakit aktif, yang disebut tuberkulosis progresif primer. Hasil infeksi MTB pada dasarnya ditentukan oleh kualitas pertahanan tubuh dan keseimbangan yang terjadi antara pertahanan tubuh dan invasi MTB (van Crevel R., 2002; Goyot-revol V., 2006). Setelah difagosit oleh makrofag, mikobakteri terus untuk memperbanyak diri secara lambat. dengan pembelahan sel bakteri terjadi setiap 25-32 jam (CDC., 2009).

Terlepas dari apakah infeksi terkontrol atau menjadi progresif, perkembangan awal akan melibatkan produksi enzim proteolitik dan sitokin oleh makrofag dalam upaya untuk menghilangkan bakteri (van Crevel R., 2002; Nicod LP., 2007). Sitokin yang dikeluarkan akan menarik limfosit T ketempat infeksi, sel-sel ini merupakan bagian dari imunitas seluler. Makrofag kemudian mempresentasikan antigen mikobakterium permukaan selnya ke sel limfosit T (van Crevel R., 2002). Proses imunitas awal berlangsung selama 2 sampai 12 minggu; mikroorganisme terus tumbuh sampai mereka mencapai jumlah yang cukup untuk sepenuhnya

atkan respons imun seluler dan dapat dideteksi dengan saan skin test (Freiden TR et al., 2003; van Crevel R., 2002). Pada

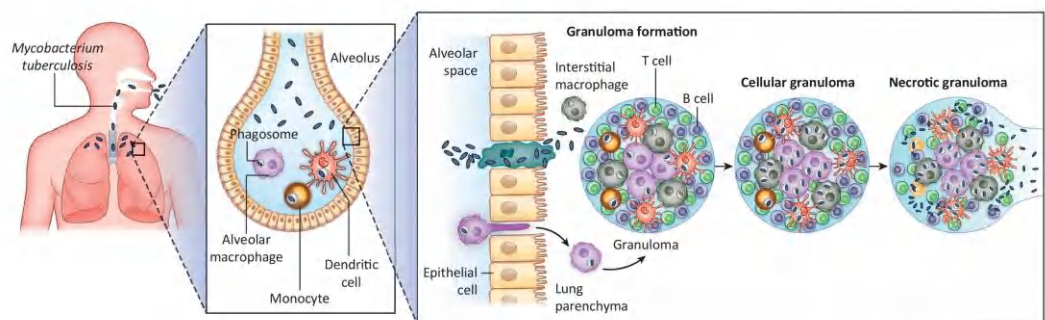


orang dengan imunitas seluler yang baik, tahap pertahanan selanjutnya adalah pembentukan granuloma yang mengelilingi MTB terlihat pada Gambar 1. Lesi tipe nodular ini terbentuk dari akumulasi limfosit T yang teraktivasi dan makrofag, yang membuat lingkungan mikro yang membatasi replikasi dan penyebaran mikobakterium (Frieden TR et al.,2003; Nicod LP., 2007). Lingkungan ini menghancurkan makrofag dan menghasilkan awal nekrosis padat di pusat lesi. Basil dapat beradaptasi untuk bertahan hidup, bahkan MTB dapat mengubah ekspresi fenotip mereka, seperti regulasi protein, untuk meningkatkan hidupnya (Dheda K et al., 2005). Lingkungan nekrotik dalam 2 atau 3 minggu, menjadi menyerupai keju lembut, sering disebut nekrosis caseous, dan ditandai dengan tingkat oksigen rendah, pH rendah, dan nutrisi yang terbatas. Kondisi ini membatasi pertumbuhan lanjut dan keadaan laten yang tetap yang berupa infeksi TB laten. Lesi pada orang dengan sistem imunitas tubuh baik secara umum akan menjadi fibrosis dan kalsifikasi, keberhasilan mengendalikan infeksi yang menjadikan basil menjadi dorman, dan lesi hilang . Orang dengan kekebalan tubuh yang kurang efektif, akan menjadi tuberkulosis progresif primer (Frieden TR.,2003; Dheda K.,2005). Orang dengan imunokompeten, pembentukan granuloma dimulai, namun akhirnya tidak berhasil membendung basil tuberkulosis. Jaringan nekrotik mengalami pencairan, dan hilangnya integritas struktur dinding fibrous. Bahan nekrotik

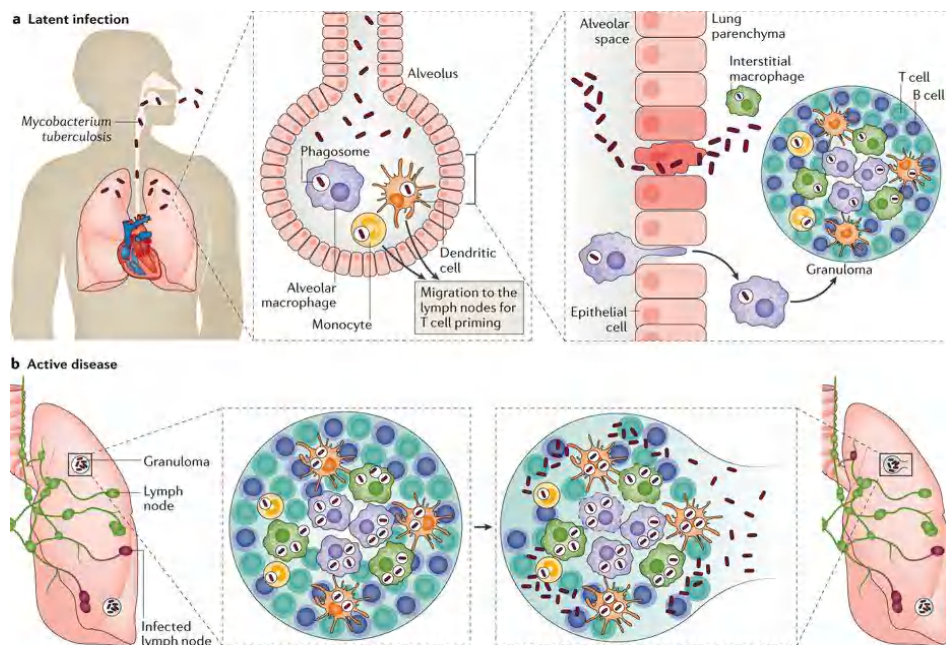
kemudian mengalir ke dalam bronkus atau pembuluh darah di
a, meninggalkan rongga/ cavitas berisi udara di tempat asal. Pada



pasien yang terinfeksi dengan MTB, droplet dapat dibatukkan dari bronkus dan menginfeksi orang lain. Jika cairan masuk ke pembuluh darah dapat terjadi tuberkulosis ekstrapulmoner. Basil juga dapat masuk ke sistem limfatik dan berkumpul di kelenjar getah bening trakeobronkial yang mempengaruhi paru-paru, di mana organisme dapat membentuk granuloma caseous baru (Dheda K.,2005).



Trends in Microbiology

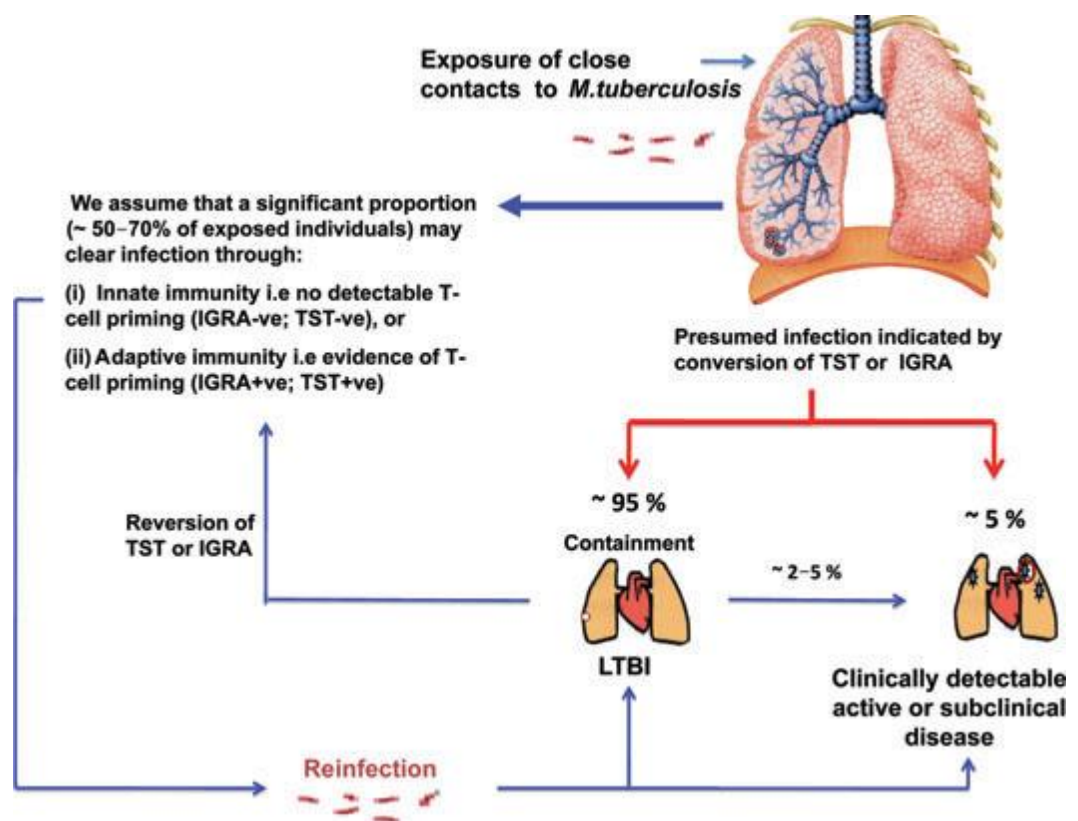


Nature Reviews | Disease Primers

gambar 2. Patogenesis tuberkulosis: A. Infeksi Laten, B. Tuberkulosis Aktif (Koch A et al.,2018).



Lima puluh sampai 70% individu yang terpajan MTB diperkirakan dapat mengatasi infeksi tersebut melalui mekanisme imun bawaan atau adaptif. Sisanya 30-50% akan berkembang menjadi TB aktif (5%) dan TB laten (95%). Infeksi TB laten sekitar 2-15% dapat berkembang menjadi TB aktif (PDPI. ,2016; Getahun H., 2015).



Gambar 3. Spektrum infeksi MTB dan daur hidup MTB (Dheda K.,2010).

2.1.6. Klasifikasi Tuberkulosis

Kasus TB diklasifikasikan berdasarkan:

berdasarkan letak anatomi penyakit



- a) Tuberkulosis paru adalah kasus TB yang mengenai parenkim paru. TB milier diklasifikasikan sebagai TB paru karena lesinya yang terletak dalam paru.
- b) Tuberkulosis ekstraparu adalah kasus TB yang mengenai organ lain selain paru seperti pleura, kelenjar getah bening (termasuk mediastinum dan/atau hilus), abdomen, traktus genitourinarius, kulit, sendi, tulang dan selaput otak (PDPI., 2011).

2) Berdasarkan hasil pemeriksaan dahak atau bakteriologi

- a) Tuberkulosis paru BTA positif, apabila :

Minimal satu dari sekurang-kurangnya dua kali pemeriksaan dahak menunjukkan hasil positif pada laboratorium yang memenuhi syarat *quality external assurance* (EQA). Sebaiknya satu kali pemeriksaan dahak tersebut berasal dari dahak pagi hari. Saat ini Indonesia sudah memiliki beberapa laboratorium yang memenuhi syarat EQA. Pada negara atau daerah yang belum memiliki laboratorium dengan syarat EQA, maka TB paru BTA positif adalah:

1. Dua atau lebih hasil pemeriksaan dahak BTA positif, atau
2. Satu hasil pemeriksaan dahak BTA positif dan didukung hasil pemeriksaan foto toraks sesuai dengan gambaran TB yang ditetapkan oleh klinisi, atau
3. Satu hasil pemeriksaan dahak BTA positif ditambah hasil kultur MTB positif (PDPI., 2011).



b) Tuberkulosis paru BTA negatif, apabila :

Hasil pemeriksaan dahak negatif (sedikitnya dua hasil pemeriksaan dahak BTA negatif pada laboratorium yang memenuhi syarat EQA) tetapi hasil kultur positif (dianjurkan pemeriksaan kultur pada hasil pemeriksaan dahak BTA negatif untuk memastikan diagnosis terutama pada daerah dengan prevalensi HIV > 1% atau pasien TB dengan kehamilan $\geq 5\%$).

1. Jika hasil pemeriksaan dahak BTA dua kali negatif di daerah yang belum memiliki fasilitas kultur MTB.
2. Jika hasil foto toraks sesuai dengan gambaran TB aktif dan disertai salah satu dibawah ini : Hasil pemeriksaan HIV positif atau secara laboratorium sesuai HIV, atau jika HIV negatif (atau status HIV tidak diketahui atau prevalensi HIV rendah), tidak menunjukkan perbaikan setelah pemberian antibiotik spektrum luas (kecuali antibiotik yang mempunyai efek anti TB seperti fluorokuinolon dan aminoglikosida) (PDPI., 2011).

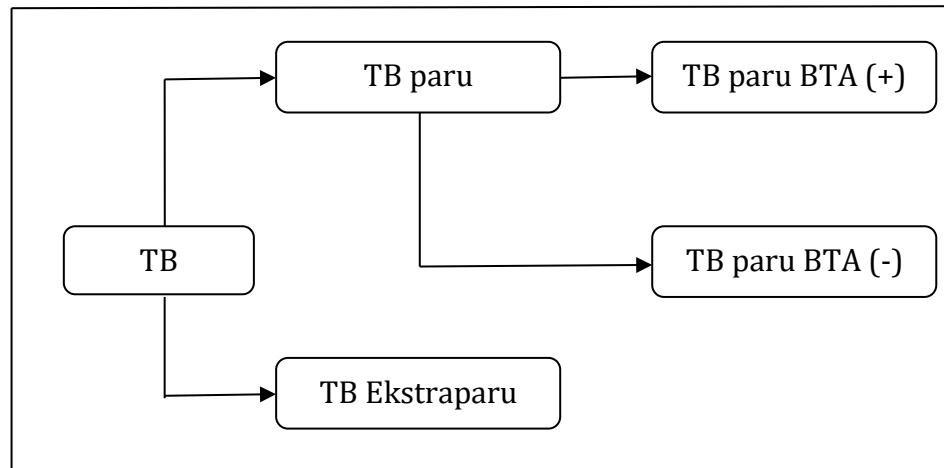
c) Kasus bekas TB, apabila :

Hasil pemeriksaan BTA negatif (biakan juga negatif bila ada) dan gambaran radiologi paru menunjukkan lesi TB yang tidak aktif atau foto serial (dalam 2 bulan) menunjukkan gambaran yang menetap. Riwayat Pengobatan OAT adekuat akan lebih mendukung. Pada kasus dengan

an radiologi meragukan dan telah mendapat pengobatan OAT 2



bulan tetapi pada foto toraks ulang tidak ada perubahan gambaran radiologi. (PDPI., 2011).



Gambar 4. Klasifikasi TB (PDPI., 2011).

3) Berdasarkan riwayat pengobatan sebelumnya

Riwayat pengobatan sangat penting diketahui untuk melihat risiko resistensi obat atau MDR. Pada kelompok ini perlu dilakukan pemeriksaan kultur dan uji kepekaan OAT. Tipe pasien berdasarkan riwayat pengobatan sebelumnya, yaitu :

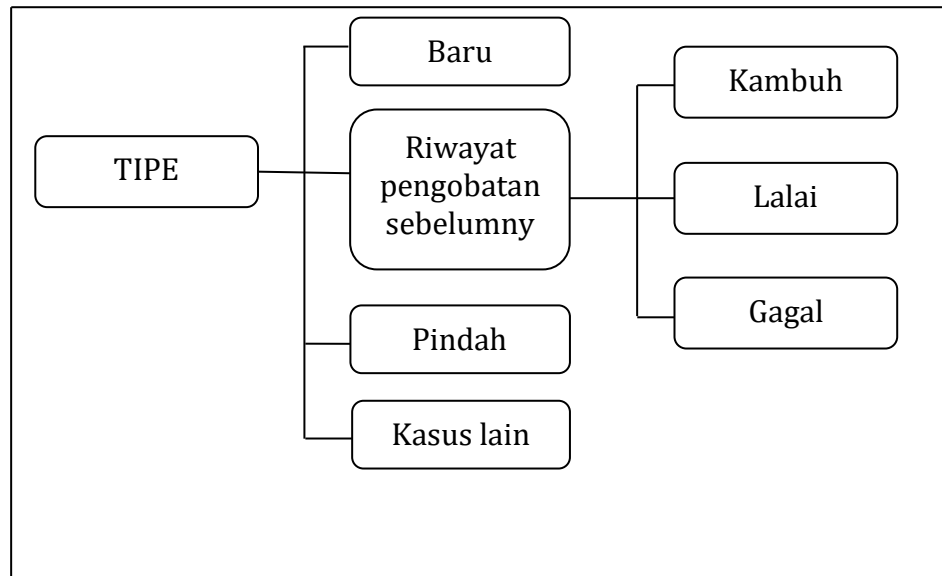
- a) Pasien baru adalah pasien yang belum pernah mendapatkan pengobatan TB sebelumnya atau sudah pernah mendapatkan OAT kurang dari satu bulan. Pasien dengan hasil dahak BTA positif atau negatif dengan lokasi anatomi penyakit dimanapun.
- b) Pasien dengan riwayat pengobatan sebelumnya adalah pasien yang sudah pernah mendapatkan pengobatan TB sebelumnya minimal selama satu bulan, dengan hasil dahak BTA positif atau negatif dengan lokasi anatomi penyakit dimanapun (PDPI., 2011).



3. Kasus kambuh adalah pasien yang pernah dinyatakan sembuh atau pengobatan lengkap dan saat ini didiagnosis TB berdasarkan hasil pemeriksaan bakteriologis atau klinis (baik karena benar-benar kambuh atau karena reinfeksi).
 4. Pasien lalai/putus berobat (*default/lost to follow-up*) adalah pasien yang pernah diobati dan dinyatakan *lost to follow-up*.
 5. Pasien gagal (*failure*) adalah pasien TB yang pernah diobati dan dinyatakan gagal pada pengobatan terakhir. (Kemenkes., 2011; Kemenkes., 2014).
- c) Pasien pindah (*transfer in*) adalah pasien yang dipindahkan ke register lain untuk melanjutkan pengobatannya (Kemenkes., 2011).
- d) Kasus lain adalah semua kasus yang tidak memenuhi kriteria diatas (Kemenkes., 2011; Kemenkes., 2014; PDPI., 2011).
- 4) Berdasarkan status HIV

Status HIV pasien merupakan hal yang penting untuk keputusan pengobatan





Gambar 5. Klasifikasi TB berdasarkan tipe kasus (PDPI, 2011).

2.1.7. Gejala Klinis Tuberkulosis

Gejala klinis TB dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu gejala lokal sesuai organ yang terlibat dan gejala sistemik. Bila organ yang terkena adalah paru maka gejala lokal ialah gejala respiratori (PDPI., 2011).

1) Gejala respiratori

Batuk \geq 2 minggu, Batuk darah, Sesak nafas, Nyeri dada. Gejala respiratori ini sangat bervariasi, dari mulai tidak ada gejala sampai gejala yang cukup berat tergantung dari luas lesi. Kadang pasien terdiagnosis pada saat *medical check up*. Bila bronkus belum terlibat dalam proses penyakit, maka pasien mungkin tidak ada gejala batuk. Batuk yang pertama terjadi karena iritasi bronkus dan selanjutnya batuk diperlukan untuk membuang dahak keluar (PDPI., 2011).

Gejala sistemik



Demam , Gejala sistemik lain adalah malaise, keringat malam, anoreksia dan berat badan menurun (PDPI., 2011).

2.1.8. Pemeriksaan Fisik Tuberkulosis

Pada pemeriksaan fisik kelainan yang akan dijumpai tergantung dari organ yang terlibat. Pada TB paru, kelainan yang didapat tergantung luas kelainan struktur paru. Pada awal perkembangan penyakit umumnya tidak (atau sulit sekali) menemukan kelainan. Kelainan paru pada umumnya terletak di daerah lobus superior terutama daerah apeks dan segmen posterior (S1 dan S2), serta daerah apeks lobus inferior (S6). Pada saat inspeksi dapat ditemukan tanda-tanda penarikan paru, diafragma dan mediastinum, sedangkan saat auskultasi dapat ditemukan suara nafas *bronchial* yang melemah, ronki basah dan amforik (PDPI., 2011). Ronki basah muncul karena terbentuknya sekret dan jaringan nekrotik (semakin banyak sekret dan semakin besar bronkus tempat sekret berada, semakin kasar suara ronki yang terdengar, sedangkan amforik timbul karena terbentuknya kavitas pada jaringan paru biasanya disertai dengan suara timpani pada saat perkusi kedua lapang paru (Danusantoso., 2014).

2.1.9. Pemeriksaan Penunjang Tuberkulosis

Diagnosis TB melalui pemeriksaan kultur atau biakan dahak merupakan metode baku emas (gold standard), namun pemeriksaan kultur merlukan waktu lebih lama, paling cepat sekitar 6 minggu dan

hal. Pemeriksaan 3 spesimen dahak secara mikroskopis nilainya antik dengan pemeriksaan dahak secara kultur atau biakan.



Pemeriksaan dahak mikroskopis merupakan pemeriksaan yang paling efisien, mudah, murah, bersifat spesifik, sensitif dan hanya dapat dilaksanakan di semua unit laboratorium. Untuk mendukung kinerja penanggulangan TB, diperlukan ketersediaan laboratorium TB dengan manajemen yang baik agar terjamin mutu laboratorium tersebut (Kemenkes., 2011).

1) Pemeriksaan bakteriologi

a) Bahan pemeriksaan bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi untuk menemukan kuman TB mempunyai arti yang sangat penting dalam menegakkan diagnosis (PDPI., 2011).

b) Cara pengumpulan bahan pemeriksaan bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi dengan menggunakan dahak sebagai bahan pemeriksaan untuk penegakan diagnosis dilakukan dengan mengumpulkan 3 contoh uji dahak yang berupa dahak sewaktu-pagi-sewaktu (Kemenkes., 2014). Pemeriksaan bakteriologi terbaru sesuai dengan kemenkes 2018 pemeriksaan sputum hanya 2 kali yaitu sputum sewaktu dan pagi hari (Kemenkes., 2018)

c) Cara pemeriksaan bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi dari spesimen dahak dan bahan lain (cairan pleura, *liquor cerebrospinal*, bilasan bronkus, bilasan lambung, BAL, urin, feses dan jaringan biopsi (termasuk BJH)) dapat dilakukan dengan cara :



1. Pemeriksaan mikroskopis MTB

Pemeriksaan mikroskopis biasa yaitu pewarnaan Ziehl-Nielsen.

2. Pemeriksaan mikroskopis fluoresens yaitu pewarnaan auramin-rhodamin (PDPI., 2011).

Menurut rekomendasi WHO, interpretasi pemeriksaan mikroskopis dibaca dengan skala *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* (IUATLD). Skala IUATLD yaitu :

- a. Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang disebut negatif.
- b. Ditemukan 1 – 9 BTA dalam 100 lapang pandang, ditulis jumlah kuman yang ditemukan.
- c. Ditemukan 10 – 99 BTA dalam 100 lapang pandang disebut + (1+).
- d. Ditemukan 1 – 10 BTA dalam 1 lapang pandang disebut ++ (2+).
- e. Ditemukan > 10 BTA dalam 1 lapang pandang disebut +++ (3+).

3. Biakan MTB

4. Uji molekular MTB

5. Uji kepekaan MTB

6. Uji serologi MTB

2) Pemeriksaan radiologi

Pemeriksaan standar ialah foto toraks PA. Pemeriksaan lain sesuai indikasi yaitu foto lateral, *top-lordotic*, oblik atau CT-scan.

ada pemeriksaan foto toraks, TB dapat memberi gambaran bermacam-macam bentuk (multiform). Gambaran radiologi yang



dicurigai sebagai lesi TB aktif adalah : Bayangan berawan/nodular di segmen apikal dan posterior lobus atas paru dan segmen superior lobus bawah. Kavitas, terutama lebih dari satu, dikelilingi oleh bayangan opak berawan atau nodular. Bayangan bercak milier. Umumnya Efusi pleura unilateral atau bilateral tetapi jarang. Gambaran radiologi yang dicurigai lesi TB inaktif adalah : Fibrotik, Kalsifikasi, *Schwarte* atau penebalan pleura (PDPI., 2011).

Gambaran luluh paru (*destroyed lung*) adalah gambaran radiologi yang menunjukkan kerusakan jaringan paru yang berat. Gambaran radiologi luluh paru terdiri dari atelektasis, ektasis/multikavitas dan fibrosis parenkim paru. Sulit untuk menilai aktivitas lesi atau penyakit hanya berdasarkan gambaran radiologi tersebut. Perlu dilakukan pemeriksaan bakteriologi untuk memastikan aktivitas proses penyakit (PDPI., 2011).

3. Pemeriksaan Penunjang Lain

a) Analisis cairan pleura

Pemeriksaan analisis cairan pleura dan uji rivalta cairan pleura perlu dilakukan pada pasien efusi pleura untuk membantu menegakkan diagnosis. Interpretasi hasil analisis yang mendukung diagnosis TB adalah uji rivalta positif dan kesan cairan eksudat, serta pada analisis cairan pleura terdapat sel limfosit dominan dan glukosa rendah (PDPI, 2011).

Pemeriksaan histopatologi jaringan



Pemeriksaan histopatologi dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis TB. Pemeriksaan yang dilakukan ialah pemeriksaan histopatologi. Pada pemeriksaan biopsi sebaiknya diambil 2 sediaan, satu sediaan dimasukkan ke dalam larutan salin dan dikirim ke laboratorium mikrobiologi untuk dikultur serta sediaan yang kedua difiksasi untuk pemeriksaan histologi (PDPI., 2011).

c) Pemeriksaan darah

Hasil pemeriksaan darah rutin kurang menunjukkan indikator yang spesifik untuk TB. Laju endap darah (LED) jam pertama dan kedua dapat digunakan sebagai indikator penyembuhan pasien. LED sering meningkat pada proses aktif, tetapi laju endap darah yang normal tidak menyingkirkan TB. Limfosit juga kurang spesifik (PDPI., 2011).

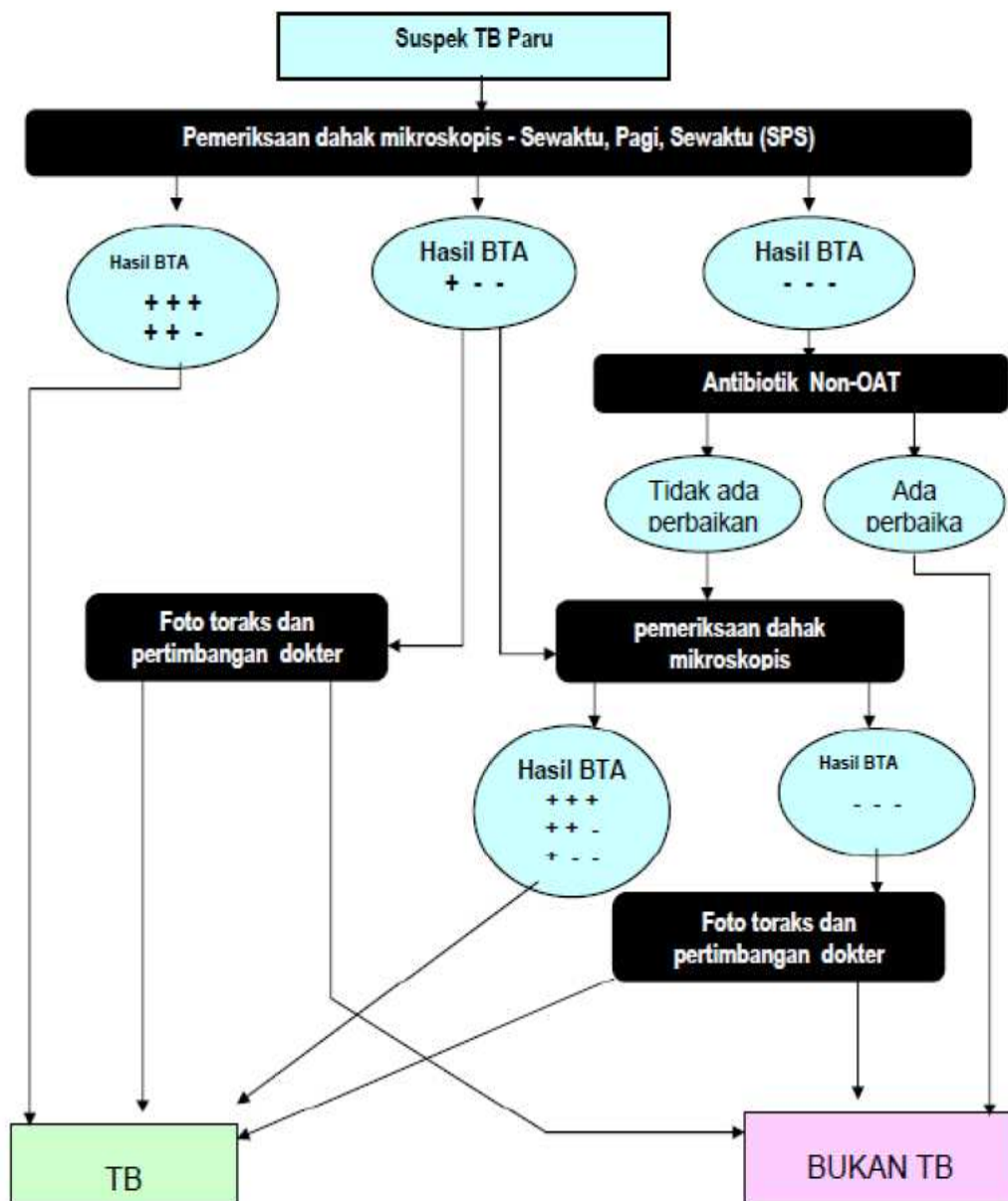
2.1.10. Diagnosis Tuberkulosis

Dalam upaya pengendalian TB secara nasional, maka diagnosis TB paru pada orang dewasa harus ditegakkan terlebih dahulu dengan pemeriksaan bakteriologis. Pemeriksaan bakteriologis yang dimaksud adalah pemeriksaan mikroskopis langsung, biakan dan tes cepat molekular. Apabila pemeriksaan bakteriologis hasilnya negatif, maka penegakkan diagnosis TB paru dapat dilakukan secara klinis menggunakan hasil pemeriksaan klinis dan penunjang (setidak-tidaknya pemeriksaan foto rontgen) yang sesuai dan ditetapkan oleh dokter yang telah terlatih TB. Pada



rumah sakit dengan sarana yang terbatas untuk penegakkan diagnosis secara klinis, penegakkan diagnosis dapat dilakukan setelah pemberian terapi antibiotika spektrum luas (non OAT dan non kuinolon) yang tidak memberikan perbaikan klinis. Tidak dibenarkan mendiagnosis TB paru hanya dengan pemeriksaan uji tuberkulin, pemeriksaan serologis, atau hanya berdasarkan pemeriksaan foto toraks. Foto toraks tidak selalu memberikan gambaran yang spesifik pada TB paru, sehingga dapat menyebabkan terjadi *overdiagnosis* ataupun *underdiagnosis* (Kemenkes., 2014).





Gambar 6 Alur Diagnosis Tuberkulosis Paru (Kemenkes., 2011).

2.1.10. Pengobatan Tuberkulosis

1) Tujuan pengobatan TB (PDPI., 2011)

- a. Menyembuhkan pasien dan mengembalikan kualitas hidup dan produktivitas.



- b. Mencegah kematian karena penyakit TB aktif atau efek lanjutannya
 - c. Mencegah kekambuhan.
 - d. Mengurangi transmisi atau penularan kepada yang lain.
2. Mencegah terjadinya resistensi obat serta penularannya. Prinsip pengobatan TB :
- a. Pengobatan diberikan dalam bentuk paduan OAT yang tepat mengandung minimal 4 macam obat untuk mencegah terjadinya resistensi.
 - b. Diberikan dalam dosis yang tepat.
 - c. Ditelan secara teratur dan diawasi secara langsung oleh PMO (Pengawas Minum Obat) sampai selesai pengobatan.
 - d. Pengobatan diberikan dalam jangka waktu yang cukup terbagi dalam tahap awal serta tahap lanjutan (intensif) untuk mencegah kekambuhan (Kemenkes., 2014).
3. Tahapan pengobatan TB

Pengobatan TB harus selalu meliputi pengobatan tahap awal dan tahap lanjutan dengan maksud :

- a) Tahap awal (fase intensif)

Pengobatan pada tahap ini diberikan setiap hari dengan tujuan untuk secara efektif menurunkan jumlah kuman yang ada dalam tubuh pasien dan meminimalisir pengaruh dari sebagian kecil kuman yang mungkin sudah resisten sejak sebelum pasien



mendapatkan pengobatan. Pengobatan pada tahap awal pada semua pasien baru harus diberikan selama 2 bulan.

b) Tahap lanjutan

Pengobatan tahap lanjutan merupakan tahap yang penting untuk membunuh sisa-sisa kuman yang masih ada dalam tubuh khususnya kuman persisten sehingga pasien dapat sembuh dan mencegah terjadinya kekambuhan (Kemenkes., 2014).

4. Obat Anti Tuberkulosis (OAT)

a) Jenis obat lini pertama adalah :

INH, Rifampisin, Pirazinamid, Etambutol dan Streptomisin.

b) Jenis obat lini kedua adalah :

Kanamisin, Kapreomisin, Amikasin, Kuinolon, Sikloserin, Etionamid/Protionamid, Para-Amino Salisilat (PAS), Obat-obatan yang efikasinya belum jelas (Makrolid, Amoksisilin + Asam Klavulanat, Linezolid, Clofazimin) (PDPI., 2011).

Obat Anti Tuberkulosis lini kedua hanya digunakan untuk kasus resistensi obat, terutama TB *multidrug resistant* (MDR). Beberapa obat seperti kapreomisin, sikloserin, etionamid dan PAS belum tersedia di pasaran Indonesia tetapi sudah digunakan pada pusat pengobatan TB-MDR (PDPI., 2011).

Obat Anti Tuberkulosis (OAT) terdiri dari dua kemasan yaitu:



- a. Obat tunggal yaitu obat yang disajikan secara terpisah, masing-masing INH, rifampisin, pirazinamid, etambutol dan streptomisin.
- b. Obat Kombinasi Dosis Tetap/KDT (*Fixed Dose Combination/FDC*) adalah obat dengan kombinasi dosis tetap yang terdiri dari 2 – 4 obat dalam satu tablet (PDPI., 2011).

Tabel 2.1. Jenis dan Dosis Obat Anti Tuberkulosis (OAT)

Obat	Dosis (mg/kgBB/hari)	Dosis yang dianjurkan		Dosis maks/hari (mg)	Dosis (mg)/berat badan (kg)/hari		
		Harian (mg/kgBB/hari)	Intermitten (mg/kgBB/hari)		<40	40 – 60	>60
R	8 – 12	10	10	600	300	450	600
H	4 – 6	5	10	300	300	300	300
Z	20 – 30	25	35		750	1000	1500
E	15 – 20	15	30		750	1000	1500
S*	15 – 18	15	15	1000	Sesuai BB	750	1000

*pasien berusia lebih dari 60 tahun tidak bisa mendapatkan dosis lebih dari 500 mg perhari Sumber: (PDPI, 2011)

c. Paduan Obat Anti Tuberkulosis (OAT)

Paduan yang digunakan oleh Program Nasional Pengendalian Tuberkulosis di Indonesia (sesuai dengan rekomendasi WHO dan ISTC) yang terdiri dari 2 kategori, yaitu

Kategori 1 (2RHZE/4H3R3)

Paduan OAT kategori ini diberikan untuk pasien baru :



1. Pasien TB paru yang terkonfirmasi bakteriologis
2. Pasien TB paru terdiagnosis klinis
3. Pasien TB ekstra paru (Kemenkes., 2014).

Tabel 2.2. Dosis Paduan OAT KDT Kategori 1

Berat Badan	Tahap Intensif (setiap hari selama 56 hari)	Tahap Lanjutan (3 kali seminggu selama 16 minggu)
	RHZE (150/75/400/275)	RH (150/150)
30 – 37 kg	2 tablet 4 KDT	2 tablet 2 KDT
38 – 54 kg	3 tablet 4 KDT	3 tablet 2 KDT
55 – 70 kg	4 tablet 4 KDT	4 tablet 2 KDT
≥ 71 kg	5 tablet 4 KDT	5 tablet 2 KDT

Sumber: (Kemenkes, 2014)

4. Kategori 2 (2HRZES/HRZE/5HR3E3)

Paduan OAT kategori ini diberikan untuk pasien BTA positif yang pernah diobati sebelumnya (pengobatan ulang) :

- a. Pasien kambuh
- b. Pasien gagal pada pengobatan dengan OAT kategori 1 sebelumnya
- c. Pasien yang diobati kembali setelah putus berobat (Kemenkes., 2014).



Tabel 2.3. Dosis Paduan OAT KDT Kategori 2

Berat Badan	Tahap Intensif (setiap hari) RHZE (150/75/400/275) + S		Tahap lanjutan 3 kali seminggu RH (150/150) + E (400)
	Selama 56 hari	Selama 28 hari	Selama 20 minggu
30 – 37 kg	2 tab 4 KDT + 500 mg Streptomisin inj.	2 tab 4 KDT	2 tab 2 KDT + 2 tab Etambutol
38 – 54 kg	3 tab 4 KDT + 750 mg Streptomisin inj.	3 tab 4 KDT	3 tab 2 KDT + 3 tab Etambutol
55 – 70 kg	4 tab 4 KDT + 1000 mg Streptomisin inj.	4 tab 4 KDT	4 tab 2 KDT + 4 tab Etambutol
≥ 71 kg	5 tab 4 KDT + 1000 mg Streptomisin inj.	5 tab 4 KDT	5 tab 2 KDT + 5 tab Etambutol

Sumber: (Kemenkes, 2014)

d. Efek samping OAT

Sebagian besar pasien TB dapat menyelesaikan pengobatan tanpa efek samping. Namun sebagian kecil dapat mengalami efek samping, oleh karena itu pemantauan kemungkinan terjadinya efek samping sangat penting dilakukan selama pengobatan (PDPI., 2011).

e. Terapi pembedahan

Indikasi mutlak dilakukannya terapi pembedahan/operasi pada pasien TB paru adalah:

1. Pasien batuk darah masif yang tidak dapat diatasi dengan cara konservatif.
2. Pasien dengan fistula bronkopleura dan empiema yang tidak dapat diatasi secara konservatif.



Indikasi relatif dilakukannya terapi pembedahan/operasi pada pasien TB paru adalah :

- a. Pasien dengan dahak negatif tetapi mengalami batuk darah berulang.
- b. Kerusakan satu paru atau lobus dengan disertai keluhan.
- c. Sisa kavitas yang menetap (PDPI., 2011).

2.1.11. Evaluasi Pengobatan Tuberkulosis

Evaluasi pasien meliputi evaluasi klinis, bakteriologi, radiologi dan efek samping obat, serta evaluasi keteraturan berobat.

1) Evaluasi klinis

- a. Pasien dievaluasi secara periodik.
- b. Evaluasi terhadap respons pengobatan dan ada tidaknya efek samping obat serta ada tidaknya komplikasi penyakit.
- c. Evaluasi klinis meliputi keluhan, berat badan dan pemeriksaan fisis (PDPI., 2011).

2) Evaluasi bakteriologi (0 – 2 – 6/8 bulan pengobatan)

- a. Tujuan untuk mendeteksi ada tidaknya konversi dahak.
- b. Bila ada fasilitas biakan, dilakukan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan.
- c. Pemeriksaan dan evaluasi pemeriksaan mikroskopis yaitu pada saat sebelum pengobatan dimulai, setelah 2 bulan pengobatan (setelah fase intensif) dan pada akhir pengobatan (PDPI., 2011).



- 3) Evaluasi radiologi (0 – 2 – 6/8 bulan pengobatan)
 - a. Sebelum pengobatan.
 - b. Setelah 2 bulan pengobatan (kecuali pada kasus yang juga dipikirkan kemungkinan keganasan dapat dilakukan 1 bulan pengobatan).
 - c. Pada akhir pengobatan (PDPI., 2011)
- 4) Evaluasi pasien yang telah sembuh

Pasien TB yang telah dinyatakan sembuh sebaiknya tetap dievaluasi minimal dalam 2 tahun pertama setelah sembuh, hal ini dimaksudkan untuk mengetahui kekambuhan. Hal yang dievaluasi adalah mikroskopis BTA dahak dan foto toraks (sesuai indikasi/bila ada gejala) (PDPI., 2011).

2.1.13. Pencatatan dan Pelaporan Tuberkulosis

Dalam pelaksanaan monitoring dan evaluasi program TB paru, diperlukan suatu sistem pencatatan dan pelaporan baku yang dilaksanakan dengan baik dan benar dengan maksud mendapatkan data yang valid untuk diolah, dianalisis, diinterpretasi, disajikan dan disebarluaskan untuk dimanfaatkan sebagai dasar perbaikan program. Data yang dikumpulkan harus memenuhi standar yang meliputi:

1. Lengkap, tepat waktu dan akurat.
2. Data sesuai dengan indikator program.



3. Jenis, sifat, format, basis data yang dapat dengan mudah diintegrasikan dengan sistem informasi kesehatan yang generic (Kemenkes., 2014).

Dasar untuk program pengendalian TB diperoleh dari sistem pencatatan dan pelaporan TB. Pencatatan menggunakan formulir standar secara manual didukung dengan sistem informasi secara elektronik, sedangkan pelaporan TB menggunakan sistem informasi elektronik. Penerapan sistem informasi TB secara elektronik disemua fasilitas kesehatan dilaksanakan secara bertahap dengan memperhatikan ketersediaan sumber daya di wilayah tersebut. Sistem pencatatan dan pelaporan TB secara elektronik menggunakan Sistem Informasi TB Terpadu yang berbasis web dan terintegrasi dengan sistem informasi kesehatan secara nasional (Kemenkes., 2014). Dinas kesehatan Kab/Kota menggunakan formulir pencatatan dan pelaporan : Register TB Kab/Kota (TB.03). Laporan triwulan penemuan dan pengobatan pasien TB (TB.07). Laporan triwulan hasil pengobatan (TB.08). Laporan triwulan hasil konversi dahak akhir tahap intensif (TB.11). Formulir pemeriksaan sediaan untuk uji silang dan analisis hasil uji silang kabupaten (TB.12) dan Laporan OAT (TB.13).

Dinas kesehatan Provinsi menggunakan formulir pelaporan sebagai berikut :Rekapitulasi penemuan dan pengobatan pasien TB per Kab/Kota.

Rekapitulasi hasil pengobatan per Kab/Kota. Rekapitulasi hasil pengobatan TB dan TB resistan obat di tingkat Provinsi. Rekapitulasi hasil



konversi dahak per Kab/Kota.Rekapitulasi analisis hasil uji silang provinsi per Kab/Kota.Rekapitulasi laporan OAT per Kab/Kota.Rekapitulasi data situasi *public-private* mix (PPM) dalam pelayanan TB (Kemenkes., 2014).

2.2. Tuberkulosis Laten (ITBL)

2.2.1 Definisi Infeksi TB Laten (ITBL)

Infeksi tuberkulosis Laten adalah suatu kondisi adanya infeksi MTB tanpa adanya tanda dan gejala klinik serta tidak dapat menularkan kepada orang lain. Hasil foto toraks paru normal dan hasil uji imunologik seperti tes uji tuberkulin atau *interferon Gamma Release Assay* (IGRA) positif..Tidak ada gejala dan tanda Klinis TB aktif di paru maupun ekstraparu (PDPI.,2016; CDC., 2013; WHO., 2015).

Setelah terpapar MTB diperkirakan 30% dari individu akan berkembang menjadi ITBL berdasarkan diagnosis tes kulit tuberkulin (*tuberculin skin test/TST*) positif. Lima sampai 10% dari orang sehat dengan TST positif akan berkembang dari ITBL menjadi TB aktif (reaktivasi) (Kahwati L C et al., 2016).

2.2.2. Diagnosis Infeksi TB Laten (ITBL)

Pada infeksi TB laten tidak didapatkan adanya gejala sehingga Diagnosis ITBL dilakukan melalui tes kulit tuberkulin atau IGRA. Sebagai penanda infeksi TB dilakukan pemeriksaan imunologis pada individu ITBL pada kondisi tersebut terjadi induksi imun respons seluler Th-1 yang kuat dan merupakan penanda(marker) yang sensitif terhadap bakteri



tuberkulosis yang dorman (CDC., 2013; WHO., 2015). Saat ini pemeriksaan imunologi untuk ITBL ada 2 cara yaitu pemeriksaan “in vivo” berupa uji tuberkulin dan pemeriksaan “ex vivo” yaitu IGRA (PDPI., 2016).

Diagnosis ITBL juga harus dilakukan untuk menyingkirkan tidak terdapatnya gambaran TB aktif melalui anamnesis, riwayat pengobatan, foto thorax, pemeriksaan fisik dan pada kondisi tertentu sputum mikrobiologi, selain TST atau IGRA. Untuk penegakan Diagnosis ITBL baik IGRA maupun uji tuberkulin memiliki kemampuan yang sama tetapi tidak untuk diagnosis TB aktif (PDPI., 2016).

Tabel 2.4. Perbedaan TB aktif dan ITBL (WHO ., 2015)

TB Aktif	Infeksi TB Laten
1. Memiliki gejala sakit yaitu demam, batuk, nyeri dada, berat badan menurun, keringat malam, hemoptisis, lemah dan nafsu makan menurun	Tidak ada gejala
2. Merasa sakit	Tidak merasa sakit
3. Tes Tuberkulin atau IGRA positif	Tes tuberkulin atau IGRA positif
4. Dapat menular	Tidak menular
5. Foto thoraks abnormal tetapi bisa normal pada orang imunokompromis atau TB ekstraparu	Foto thoraks normal
6. Hasil pemeriksaan Mikrobiologi dapat positif atau negatif, termasuk TB ekstraparu	Hasil pemeriksaan mikrobiologi (BTA, kultur dan gene Xpert) negatif
7. Perlu pengobatan sesuai standar terapi TB	Perlu terapi pencegahan pada kondisi tertentu



2.2.3. Pemeriksaan Infeksi TB Laten (ITBL)

Untuk penegakan diagnosis ITBL dapat dilakukan tes tuberkulin dan IGRA, yang mempunyai kemampuan yang sama (CDC., 2013).

2.2.3.1. Tes Tuberkulin

Merupakan pengukuran Imunitas seluler *delayed type hypersensitivity* (DTH) terhadap *purified protein derevative* (PPD) tuberkulin, yang merupakan antigen berbagai mikobacteria termasuk MTB, BCG MTB, BCG M bovis dan berbagai mikobakteria di lingkungan. Reaksi DTH ini terjadi 2-3 minggu setelah seseorang terinfeksi bakteri TB. Pengukuran reaksi pada manusia dilakukan dengan mengukur diameter indurasi yang terjadi pada kulit 48-72 jam setelah penyuntikan antigen (PDPI., 2016).

Tes tuberkulin dilakukan dengan menyuntikkan tuberkuloprotein 0.1 mL PPD 5 TU, secara intradermal menggunakan jarum yang kecil pada daerah volar lengan bawah (PDPI.,2016). Prosedur tindakan tes tuberkulin :

1. Bersihkan sepertiga tengah sisi volar lengan bawah menggunakan akuabides steril, kemudian keringkan dengan menggunakan kasa steril.
2. Suntukkan 0,1 mL PPD 5 TU secara intradermal dari arah distal sampai terjadi benjolan dengan diameter \pm 5 mm



kemudian buat tanda melingkari benjolan tersebut menggunakan spidol tahan air

3. Bekas suntikan jangan ditekan atau diusap dengan kapas alkohol atau kasa steril
4. Baca Indurasi yang terjadi setelah 48-72 jam dengan mengukur diameter transversal dan lihat terjadi bula atau tidak. Tes tuberkulin positif bila terjadi bula atau vesikel atau terjadi konversi.

Tabel 2.5. Interpretasi Tes Tuberkulin (PDPI.,2016)

Hasil Uji Tuberkulin positif	Kelompok Pasien
Indurasi > 5 mm	<ul style="list-style-type: none"> • Pasien HIV • Kontak dengan TB aktif yang infeksius (BTA positif) dalam waktu dekat • Pasien dengan gambaran fibrotik pada foto toraks disertai riwayat TB sebelumnya • Pasien dengan Transpalantasi organ dan pasien dengan gangguan sistem imun
Indurasi > 10 mm	<ul style="list-style-type: none"> • Pasien dari negara endemik TB dalam 5 tahun terakhir • Pengguna narkoba suntik • Individu atau pekerja ditempat dengan kepadatan tinggi (RS, Penjara, rumah singgah, panti) • Pekerja Laboratorium Mikrobiologi • Pasien dengan risiko tinggi menjadi TB aktif (DM, malnutrisi) • Anaka yang kontak dengan individu berisiko TB
Indurasi > 15 mm	<ul style="list-style-type: none"> • Individu dengan risiko rendah terinfeksi TB (untuk skrining atau syarat masuk sekolah atau bekerja)



2.2.3.2. *Interferon-Gamma Release Assays (IGRA)*

Interferon Gamma Release Assay adalah pemeriksaan laboratorium diagnostik in vitro dengan cara *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) yang mengukur reaksi pembentukan interferon- γ dalam darah pasien dikaitkan dengan infeksi kuman MTB. Dilakukan untuk menentukan ITBL dengan mengukur respons imun seluler terhadap antigen spesifik MTB dalam darah. Termasuk *early secretory antigenic target-6* (ESAT-6), *culture filtrate protein 10* (CFP-10), dan antigen TB7.7. Saat ini terdapat 2 jenis pemeriksaan IGRA yang terdapat dipasaran yaitu QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay (QFT-GIT) dan T-SPOT-TB . (ECDC Guidance.,2011). Hasil pemeriksaan IGRA adalah berdasarkan jumlah IFN γ yang dikeluarkan.

Cara Pemeriksaan QFT- GIT (brosur QFT.,2014) :

- a. Siapkan 3 tabung darah yaitu tabung Nil, tabung TB Antigen, dan tabung Mitogen. Tabung TB Antigen berisikan campuran cocktail peptida yang menyerupai protein-protein ESAT-6, CFP-10, dan TB7.7 (p4) untuk merangsang sel limfosit T yang memproduksi IFN γ dalam darah heparin tersebut.
- b. Tabung-tabung tersebut kemudian segera diinkubasi pada suhu 37 °C dalam jangka waktu 16 jam sejak pengambilan. Inkubasi selama 16-24 jam, lalu plasma dipisahkan dengan cara pemusingan

(sentrifuge). Tabung Mitogen menjadi kontrol positif dan juga untuk mengetahui apakah prosedur penanganan spesimen darah serta



inkubasi sudah benar. Plasma diperiksa dengan cara ELISA terhadap kadar interferon- γ (IFN- γ) yang dikaitkan dengan infeksi MTB.

Interpretasi hasil QFT :

Pemeriksaan IGRA menggunakan purified antigens M. Tuberculosis untuk menstimulasi limfosit darah perifer memproduksi IFN- γ . Interpretasi pemeriksaan IGRA Quantiferon (QFT) berdasarkan jumlah IFN- γ yang dikeluarkan menggunakan ELISA. Pada T-SPOT TB dengan menghitung jumlah sel yang mengeluarkan IFN- γ menggunakan ELISPOT (PDPI., 2016).

Uji dianggap positif bila kadar IFN- γ yang terbentuk pada tabung TB Antigen lebih banyak secara bermakna (dalam IU/mL) daripada tabung Nil. Tabung Mitogen dapat dipakai sebagai kontrol positif. Bila respons rendah terhadap Mitogen dan hasil tabung TB Antigen juga negatif maka dinyatakan sebagai *indeterminate*. Ini dapat dijumpai pada keadaan limfosit sedikit, keaktifan limfosit rendah karena penanganan spesimen yang kurang baik. Tabung kosong dipakai untuk menilai latar belakang (background), pengaruh antibodi heterofil, atau IFN- γ tidak spesifik dalam darah. Hasil **positif** menunjukkan amat mungkin ada infeksi TB (baik TBC aktif maupun LTBI). Hasil **negatif** menunjukkan tidak sesuai dengan infeksi TB dan Hasil *indeterminate* memerlukan penilaian lebih lanjut atau uji

(Brosur QFT., 2014).



Laboratorium harus melaporkan kedua data kuantitatif (berupa angka meliputi antigenrespons antigen, nil dan mitogen) dan kualitatif (berupa positif, negatif dan intermediate atau borderline (PDPI., 2016).

2.2.4. Kelompok risiko infeksi TB laten

Terdapat kelompok orang yang berisiko untuk menjadi ITBL, kelompok tersebut adalah mereka yang berhubungan erat dengan penderita TB aktif atau tersangka TB, berada pada tempat berisiko tinggi untuk tertular TB seperti lembaga pemasyarakatan, penampungan tunawisma, bangsal perawatan jangka panjang untuk penderita TB. Kelompok risiko tinggi yang lain adalah bayi, anak-anak dan dewasa muda yang terpajan atau terpapar orang dewasa yang berisiko tinggi terinfeksi TB aktif (CDC., 2010; PDPI., 2016).

2.2.5. Kelompok risiko tinggi TB laten menjadi TB aktif

Proses reaktivasi ITBL menjadi Tb aktif membutuhkan keadaan bakteri M.tb tidak berada dalam fase dorman. Ada beberapa sebab yang dapat memicu proses reaktivasi ini. Keadaan tersebut antara lain (PDPI., 2016; WHO., 2015)

1. Infeksi HIV
2. Bayi dan anak usia < 5 tahun
3. Pasien yang mendapat pengobatan immunoterapi misal Tumor Necrosis Faktor-alfa (TNF α) antagonis, kortokosteroid sistemik, terapi immunosupresi pada transplantasi organ



4. Individu dengan riwayat terinfeksi tuberkulosis pada 2 tahun terakhir
5. Individu tidak pernah mendapatkan pengobatan TB tetapi pada foto thorax ada fibrotik
6. Pasien diabetes mellitus, silikosis, gagal ginjal kronik, leukemia, limfoma atau kanker kepala, leher atau paru
7. Pasien yang telah dilakukan operasi gastrektomi atau by pass usus halus
8. Individu yang berat badannya < 90% berat ideal
9. Tuna wisma, perokok, peminum alkohol atau penyalahgunaan obat
10. Warga binaan lembaga pemasyarakatan
11. Petugas dan tenaga medis

2.3. Sistem Imunitas Tubuh pada Infeksi

Tubuh manusia mengembangkan mekanisme yang cukup canggih untuk menghadapi patogen yang memiliki potensi invasi ke dalam tubuh. Mekanisme tersebut merupakan bentuk dasar dari pertahanan alami, sistem kekebalan alami (nonspesifik) adalah pertahanan lini pertama tubuh terhadap infeksi yang diaktifkan bila patogen masuk ke dalam tubuh manusia melewati barier pertahanan fisik, mekanik dan kimiawi tubuh. yang dimaksud termasuk endotoksin *lipopolysaccharida* (LPS), *peptidoglycan* (PG), *lipoteichoic acid* (LTA), *flagelin*, *mannan*, *Zymosan* dan



RNA virus. Sistem kekebalan yang didapat (spesifik) akan membantu sistem kekebalan alami melalui aktivitas sel limfosit. Limfosit T bersifat seluler dan limfosit B bersifat humoral.

2.3.1. Respons imun terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Respons imun terhadap infeksi tuberkulosis ada 2 macam yaitu respons imun seluler (sel T dan makrofag yang teraktivasi) bersama sejumlah sitokin dan respons imun humoral (antibodi-mediated). Respons imun seluler memegang peranan utama sebagai pertahanan tubuh terhadap infeksi tuberkulosis, sedangkan respons imun humoral tidak bersifat protektif (Bothamley G.H., 1995). Tuberkulosis merupakan penyakit yang unik respons seluler baru terdeteksi cukup lama setelah 2-12 minggu setelah infeksi (Fogel N., 2015).

Saat MTB masuk ke paru-paru melalui inhalasi aerosol *droplet nuclei* yang selanjutnya akan berinteraksi dengan berbagai reseptor termasuk *pattern recognition receptors* seperti *toll-like receptors* (TLR), *complement receptor*, *mannose receptor*, *scavenger receptor*. *DC-specific intercellular-adhesion-molecule-3-grabbing non-integrin*, pada permukaan makrofag dan sel dendritik. Reseptor ini mengenali komponen MTB seperti lipoprotein, *CpG-containing DNA*, *mannose-capped lipoarabinomannan* dan *phosphatidylinositol mannoside*. Protein D surfaktan paru berikatan *lipoarabinomannan* permukaan MTB dan menghambat penebaran intraselular dari MTB dengan peningkatan fusi fagosom-Selain itu, ikatan *cytosolic nucleotide* dan oligomerisasi reseptor



seperti NOD2 yang mengenali *muramyl peptide* dan juga *C-type lectin dectin-1* yang berinteraksi dengan MTB bekerja sama dengan TLR-2 untuk mengaktivasi NF-kB dan aktivasi jalur vitamin D (Dheda K et al., 2010).

Aktivasi dari jalur TLRs - NFkB mempromosikan translokasi nukleus NF-kB dan aktivasi jalur vitamin D yang menyebabkan :

1. Aktivasi NF-kB menyebabkan produksi dan sekresi dari berbagai mediator proinflamasi termasuk sitokin TNF- α , IL-1, IL-12, IL-18 dan kemokin yang akan mengundang neutrofil, sel NK, sel T, sel dendritik, dan makrofag ke lokasi infeksi
2. Aktivasi TLR juga melakukan upregulasi ekspresi reseptor vitamin D (VDR) yang selanjutnya menyebabkan induksi dari peptida *antimicrobial cathelicidin* dan *beta-defensin* untuk membunuh *mycobacteria* intraselular (Dheda K et al., 2010).

Interferon- γ yang disekresikan dari sel T yang teraktivasi dan sel NK memiliki kemampuan untuk aktivasi makrofag dan mempromosikan pembunuhan bakteri dengan cara melakukan maturasi fagosomal dan produksi *intermediate nitrogen antimicrobial reaktive* dan *intermediate oksigen reaktive*. Studi terkini juga menemukan bahwa IFN- γ dan jalur sinyal TLR menginduksi autofagi pada makrofag yang akan meningkatkan kemampuan lisosom. Sitokin Th1 IFN- γ memfasilitasi fusi fagosom-lisosom (autofagi) melalui jalur sinyal sel IRGm1 (LRG-47) dan PI3K dimana sitokin

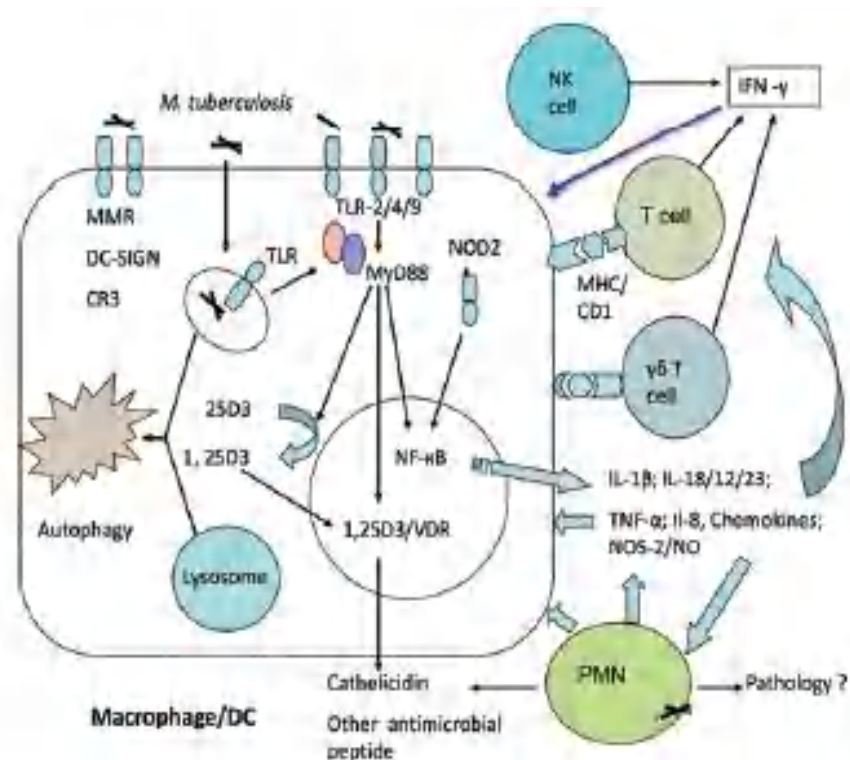
4 dan IL-13 memfasilitasi autofagi dan autofagi yang memediasi pembunuhan MTB. Selain IFN- γ , TNF- α juga berperan dalam membunuh



MTB intraselular melalui intermediate nitrogen reaktif bersamaan dengan IFN- γ dan terlibat dalam pembentukan granuloma. TNF dibutuhkan untuk mengontrol infeksi laten tuberkulosis sebagai antibodi anti-TNF infliximab yang meningkatkan risiko aktivasi infeksi TB laten melalui netralisasi langsung TNF dan juga deplesi subset *granulysin-expressing CD45RA+* dari sel T CD8+ memori efektor yang berkontribusi dalam membunuh MTB intraselular (Dheda K et al., 2010).

Peran neutrofil dalam pertahanan host melawan MTB masih kontroversial. *Polymorphonuclear neutrophils* (PMN) merupakan sel pertama yang direkrut ke lokasi masuknya mikroba dan mengekspresikan sejumlah reseptor dan molekul efektor pada makrofag. Sebagian besar percobaan pada PMN manusia menyebutkan bahwa PMN dapat teraktivasi dalam respon terhadap MTB dan memiliki kemampuan untuk membatasi pertumbuhan mikobakterial secara *in vitro*. Sebagai contoh, PMN memproduksi *human neutrophil peptides 1–3* dan *cathelicidin LL-7* dan *lipocalin 2* yang memiliki kemampuan untuk membatasi pertumbuhan MTB. Selanjutnya PMN akan mengaktivasi makrofag melalui pelepasan protein granulasi dan *heat shock protein 72* dari neutrofil apoptotic (Dheda K et al., 2010).





Gambar 2.7. Imunitas *innate* terhadap infeksi tuberculosis. *Mycobacterium tuberculosis* difagosit oleh makrofag dan sel dendritik melalui reseptor-terikat membran seperti CR3, reseptor *scavenger*, MMR, TLR, NOD2 dan DC-SIGN. Hal ini menyebabkan aktivasi dari jalur pesinyal makrofag (NF-κB), yang menyebabkan sekresi dari sitokin pro-inflamatorik, kemokin, molekul antimikrobal, dan aktivasi VDR yang mana menginduksi ekspresi dari peptide antimikrobal cathelicidin dan β-defensin. Selain itu, induksi autofagi memediasi aktivitas antimikrobal. Sel PMN mengenali dan memakan *M.tuberculosis* dan mensekresikan peptide antimikrobal untuk membunuh bakteri. Sel NK, sel T γδ dan sel *CD1-restricted* juga diaktivasi oleh ligan spesifik dan sitokin, menghasilkan faktor sitotoksik dan mensekresikan IFN-γ yang mengaktivasi makrofag. CR3 : reseptor komplemen 3; DC-SIGN : sel dendritik-intraselular spesifik-molekul-adesi-3-grabbing-non-integrin; INF : *interferon*; MMR : *macrophage mannose receptor*; NK : *natural killer*; PMN : *polymorphonuclear neutrophils*; TLR : *Toll-like receptors*; TNF : *tumour necrosis factor*; VDR : *vitamin D receptor* (Pheda K et al. 2010).



2.4. High Mobility Group Box 1 (HMGB 1)

2.4.1. Definisi HMGB 1

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) merupakan protein pengikat DNA nuklear. HMGB1 merupakan salah satu *Danger Associated Molecular Patterns* (DAMPs) yang mengaktivasi sistem imun bawaan dan bagian dari keluarga *High Mobility Group* (Kang R et al., 2014).

2.4.2. Struktur HMGB 1

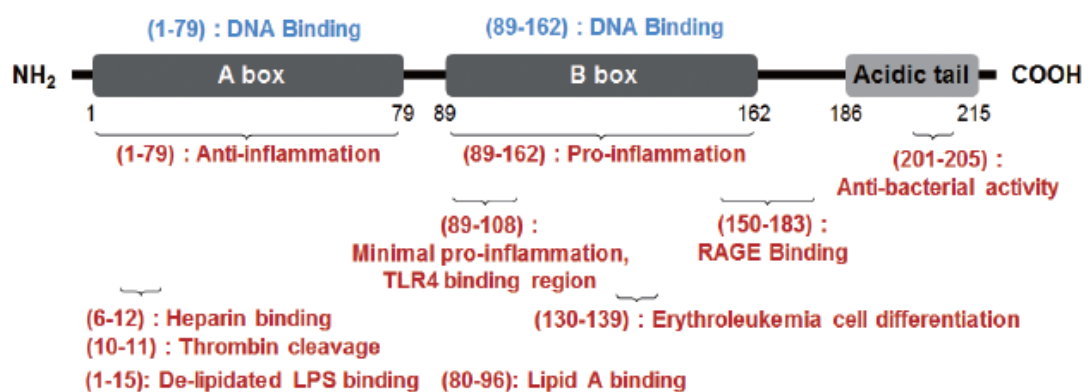
Gen HMGB1 manusia terletak di kromosom 13q12 dan enam lokus polimorfik di seluruh lokus gen yang diidentifikasi baru-baru ini (Chen Q et al., 2016). Protein HMGB1 mempunyai berat molekul 25--30 kDa terdiri dari dua domain DNA-binding homolog yaitu kotak A dan kotak B, masing-masing terdiri dari sekitar 80 residu asam amino dan ujung C terminal asam bermuatan negatif yang terdiri dari sekitar 30 residu asam aspartat dan glutamat. Struktur HMGB1 pada Gambar 2.8 memperlihatkan protein HMGB1 terdiri dari 215 asam amino dalam tiga domain struktural: kotak A (1--79), kotak B (89--162), dan ujung C terminal asam (186--215). Fungsi Kotak A adalah pengikatan DNA dan menginduksi efek anti-inflamasi, sedangkan domain kotak B memainkan peran penting dalam pengikatan DNA dan merangsang respons proinflamasi. Domain kotak B terdiri dari dua tempat pengikatan penting untuk TLR4 dan RAGE yang memediasi pelepasan sitokin proinflamasi. Secara khusus, 20 asam amino tempat

TLR4 (89--108) adalah urutan minimal yang diperlukan untuk



menginduksi aktivitas sitokin. Dua wilayah peptida (1--15, 80--96) dari HMGB1 mengikat LPS dan LPA (Lee SA et al., 2014).

Domain Box A dari HMGB1 berperan dalam pengikatan HMGB 1 dengan DNA yang rusak dan bertindak sebagai antagonis spesifik HMGB 1, menunjukkan efek antiinflamasi. Hal ini juga terlihat pada domain pengikatan heparin dan tempat pemecahan yang dimediasi thrombin. Disisi lain, domain box B berhubungan dengan aktivitas sitokin pada sepanjang lengan HMGB 1 yang distimulasi oleh pelepasan *Tumor necrosis factor α* (TNF α) dan berbagai sitokin proinflamasi dalam makrofag, selain perannya dalam pengikatan DNA. Terdapat dua tempat pengikatan penting yaitu *Toll like receptor4* (TLR4) (89 - -108) dan *Receptor for advanced glycalation end products* (RAGE) (105 - -183) yang krusial dalam aktivasi pelepasan sitokin oleh makrofag, dimana 20 residu pertama mewakili jumlah minimum peptida yang diperlukan untuk menginduksi respons inflamasi (Lee SA., 2014).



Gambar 8. Struktur HMGB 1 (Lee SA.,2014)



2.4.3. Fisiologi dan Peranan HMGB 1

HMGB1 merupakan bagian dari keluarga HMG. Beberapa Keluarga HMG diantaranya adalah HMGA, HMGN, dan HMGBs. HMGB1 termasuk pada kelompok HMGB yang paling banyak diespresikan (Kang R et al., 2014).

Peran HMGB1 ada tiga bentuk nuklear, sitosol/sitoplasma dan ekstraseluler. Bentuk HMGB1 nuklear memiliki peran pada banyak kegiatan DNA, yaitu replikasi, perbaikan, rekombinasi, transkripsi DNA serta stabilitas genomic (Kang R et al., 2014). Dalam sitoplasma, HMGB1 mengambil bagian dalam mengatur *autophagy* dan menjaga keseimbangan antara *autophagy* dan apoptosis (Tang D et al., 2010). Selain itu HMGB 1 juga mempromosikan proses autofagi melalui jalur degradasi lisosom. Dalam beberapa kasus HMGB 1 yang berada di membran sel berkontribusi pada aktivasi trombosit dan adesi sel (Yu Y et al., 2015).

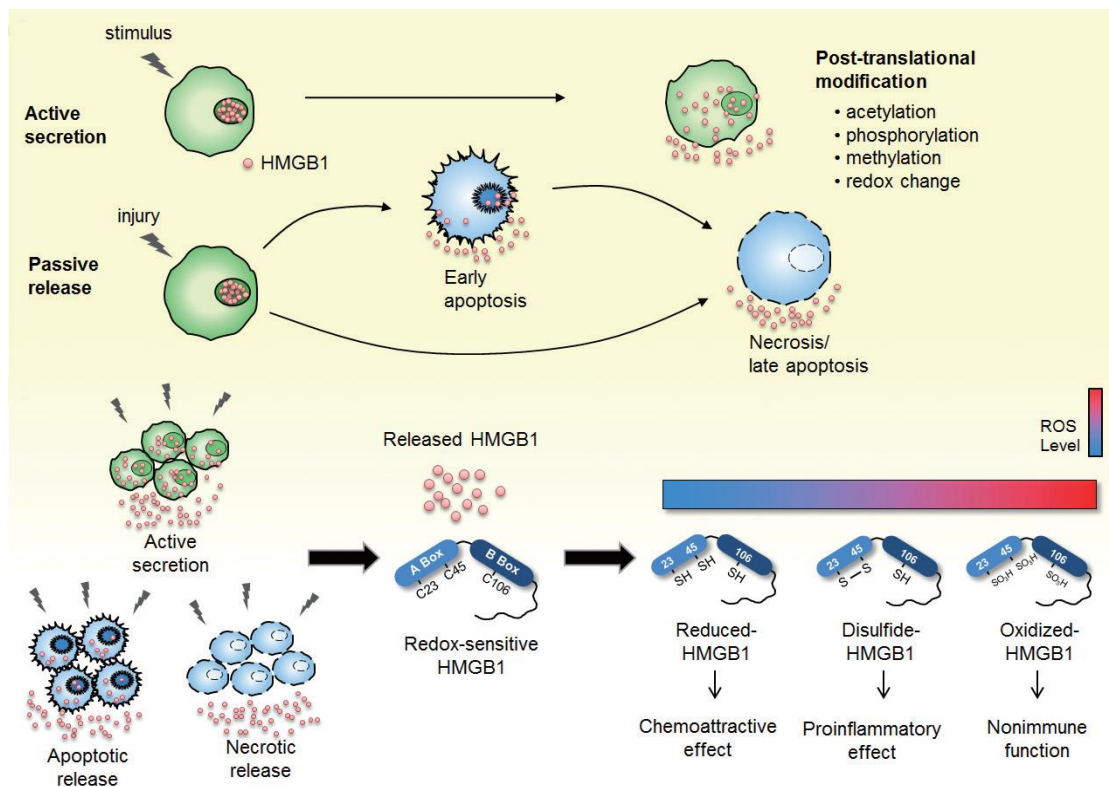
High Mobility Group Box 1 ekstraseluler memiliki peranan pada proses inflamasi, imunitas, pertumbuhan sel, proliferasi dan kematian sel. Fungsi HMGB 1 ekstraseluler untuk aktivasi sitokin dan kemokin, dimediasi oleh RAGE dan *toll like receptors* seperti TLR2, TLR 4 dan TLR 9, untuk mengaktivasi jalur signaling akhir seperti *nuclear factor kappa β* (NFκβ), *interferon regulatory factor-3* (IRF 3) dan *phosphatidylinositol 3-kinase* yang kemudian mengaktivasi pengeluaran sitokin proinflamasi *Tumour necrosis*

(TNF α), interleukin 1 (IL 1) dan interleukin 6 (IL 6) oleh makrofag al., 2015).



Translokasi HMGB1 ke lingkungan ekstraseluler melalui dua mekanisme sekresi: sekresi aktif oleh sel inflamasi atau sekresi pasif oleh sel nekrotik atau apoptosis. Secara aktif HMGB1 dalam nukleus disekresi ketika sel-sel imunokompeten diaktifkan oleh stimulus inflamasi dan mengalami modifikasi paska-translasi seperti asetilasi, fosforilasi, metilasi, dan perubahan redoks. Sekresi pasif HMGB1 dimediasi oleh kematian sel nekrotik dan apoptosis yang disebabkan oleh cedera, salah satunya akibat infeksi MTB. Sekresi HMGB1 memicu respons inflamasi dalam tubuh. Aktivitas inflamasi akibat sekresi HMGB1 ekstraseluler tergantung pada keadaan redoksnya. Bentuk HMGB1 terdiri dari tiga residu sistein yaitu C23, C45 dan C106 yang dimodifikasi selama perubahan redoks pada Gambar 2.9. Bentuk HMGB1 tereduksi pada semua kelompok tiol mendefinisikan aktivitas kemokin dari HMGB1, sedangkan bentuk disulfida HMGB1 pada C23 dan C45, membentuk ikatan disulfida antarmolekul, menginduksi aktivitas sitokin. Bentuk teroksidasi penuh dari HMGB1 dengan sistein bentuk sulfonat berfungsi sebagai imunitas tubuh dalam sel (Lee SA., 2014).



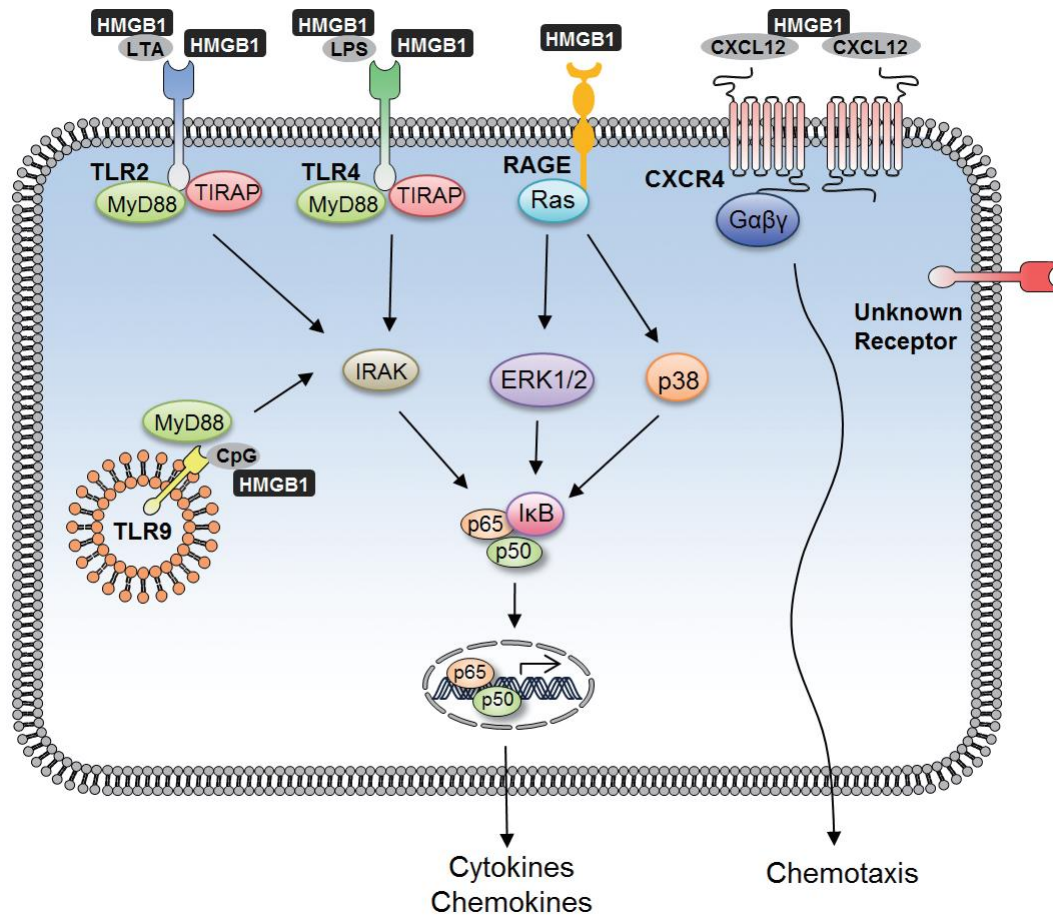


Gambar 9. Mekanisme sekresi dan peranan HMGB1 (Lee SA.,2014)

Interaksi HMGB1 dengan transduksi signal selular RAGE, TLR2, TLR4, dan TLR 9 melalui jalur umum yang selanjutnya akan mengaktifasi NF- κ B pada gambar 2.10.. Interaksi HMGB1 dengan LPS, LTA, dan CpG meningkatkan signal yang dimediasi TLR4, TLR2, dan TLR9 dan mengarah ke signal akhir aktivasi NF- κ B dan produksi sitokin proinflamasi. Diaktifkannya NF- κ B akan melepaskan I κ B, kemudian akan bertranslokasi ke nukleus dan berikatan dengan DNA dalam bentuk bentuk heterodimer p65 / p50. Interaksi HMGB1 dengan CXCL12, yang mengikat CXCR4 akan

duksi kemoattractis dan perekrutan sel inflamasi (Lee S. A.,2014).





Gambar 10. Reseptor HMGB1 dan pengaktifan jalur transduksi signal (Lee S. A., 2014)

2.4.4. Peran pro-inflamatorik HMGB1

Interaksi HMGB1 dengan molekul lainnya (contoh LPS bakterial) atau berikatan ke reseptor untuk mengaktifasi berbagai gen proinflamatorik. HMGB1 dihasilkan oleh sel hidup maupun sel mati pada berbagai jaringan. Sekresi HMGB1 ke lingkungan ekstraselular dari sel

maupun makrofag yang teraktivasi, akan menginduksi berbagai proinflamatorik termasuk *tumor necrosis factor (TNF)-α*, *interleukin*



(IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 α , dan MIP-1 β , yang akan mempromosikan terjadinya proses inflamasi kronik. Sekresi HMGB1 disebut juga mediator fase lambat dari inflamasi yang diinduksi oleh sitokin proinflamatorik dini dan memicu efek immunosupresif dan patologikal yang mengikuti pengeluaran sitokin selanjutnya seperti TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 selama infeksi (Kim SY et al., 2017).

Peran proinflamatorik yang kuat dari HMGB1 ditunjukkan pada penyakit autoimun, trauma, sepsis, pneumonia bakterialis dan kondisi patologis termasuk aterosklerosis, arthritis, cedera paru akut seperti infeksi TB. Studi ilmiah menunjukkan bahwa kadar serum HMGB1 mengalami peningkatan pada pasien dengan tuberkulosis (TB). Sekresi HMGB1 yang oleh makrofag paru merupakan mediator inflamatorik yang penting dan terlibat dalam sekresi sitokin proinflamatorik dan pengeluaran *Nitric Oxide* (NO) selama TB paru. Sebagai tambahan terhadap pelepasan sitokin inflamatorik contohnya TNF- α , HMGB1 akan mengaktifasi fungsi sel imun dan menginduksi maturasi sel tersebut seperti monosit dan sel dendritik myeloid/plasmacytoid (Kim SY et al., 2017).

Selama awal infeksi, makrofag yang teraktivasi akan memproduksi NO yang akan menghasilkan lingkungan oksidasi tinggi. Produksi NO oleh makrofag yang teraktivasi akan mengoksidasi HMGB1 dan secara temporer menekan inflamasi yang berlebih dan menurunkan imunitas protektif.

nya, lingkungan oksidatif mengalami penurunan yang diakibatkan lemahnya aktivasi makrofag, produksi NO yang menurun dan



penurunan apoptosis makrofag, menyebabkan penurunan produksi HMGB1 (Kim SY et al., 2017).

2.4.5. Peran HMGB1 pada infeksi dan cedera

Pelepasan HMGB1 terjadi selama infeksi atau cedera dengan mekanisme aktif dan pasif. Pengeluaran pasif diinisiasi oleh adanya kerusakan pada integritas selular yang terjadi secara langsung. Pengeluaran aktif diinisiasi oleh transduksi sinyal selular melalui interaksi reseptor membrane plasma dengan produk ekstraselular yang terjadi lebih lambat. Sekresi aktif dari HMGB1 terjadi ketika monosit, makrofag, sel *Natural-killer*, sel dendritik, sel endothelial, platelet, dan sel komponen imunologis lainnya yang terpajan *microbe associated molecular patterns* (MAMPs), *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs), dan mediator inflamasi yang berasal secara endogen termasuk TNF, IL-1 dan INF- γ (Anderson U et al., 2011). Sebagai salah satu mediator proinflamasi responss lambat HMGB1 disekresi oleh makrofag 20 jam setelah aktivasi oleh LPS dari bakteri (Wang et al., 1999).

Sel lainnya yang dapat menstimulasi pelepasan HMGB1 secara aktif termasuk neurons, astrosit, sel eritroleukemia, sel neuroblastoma, dan sel tumor lainnya. Sebagian besar sel termasuk monosit dan makrofag dapat mengekspresikan protein HMGB1 dan mRNA HMGB1 pada kondisi basal.

Akibat aktivasi makrofag oleh LPS, kadar mRNA HMGB1 akan meningkat beberapa jam dan akan tetap terus meningkat selama 24 hingga 48 jam. Sekresi aktif HMGB1 ke ekstraselular dimulai 8 – 12 jam setelah ligasi



dengan TLRs dan terus meningkat selama 18-36 jam (Anderson U et al., 2011).

Pelepasan HMGB1 yang terjadi selama kematian sel terprogram berasal dari paling tidak 2 sumber : 1) Secara langsung dari sel apoptotik dan 2) Oleh monosit yang teraktivasi untuk mensekresikan HMGB1 mengikuti pajanan terhadap sel apoptotik. Bukti terakhir menunjukkan bahwa sel yang mengalami apoptosis dapat menghasilkan sejumlah HMGB1 yang *immunodetectable* namun secara imunologikal bersifat inaktif, oleh karena itu makrofag yang berkaitan akan gagal menstimulasi pengeluaran TNF dibandingkan dengan saat terjadinya pengeluaran HMGB1 secara pasif selama nekrosis sel. Hal ini disebabkan adanya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh miktokondria pada sel apoptotik yang dapat menekan aktivitas inflamatorik dari HMGB1 dengan mengoksidasi cystein pada posisi 106. Mekanisme ini memberikan pemahaman yang penting mengapa apoptosis gagal untuk mengaktivasi responns inflamatorik yang bermakna karena adanya hambatan pada tahapan oksidasi HMGB1 yang penting dalam responns inflamatorik. Hasil sebelumnya yang menunjukkan bahwa HMGB1 endogen (yang didapat dari sel nekrotik) dibutuhkan untuk stimulasi pengeluaran TNF monosit dan HMGB1 rekombinan (rHMGB1) yang secara imunologis bersifat inaktif mengonfirmasi pentingnya C106 pada mekanisme molekular dari inflamasi

mediasi oleh HMGB1. Peran fungsional HMGB1 endogen sangat sebagai molekul pemberi sinyal yang menginformasikan sel lain



bahwa kerusakan atau invasi patogen telah terjadi (Anderson U et al., 2011).

Reseptor pertama yang diimplikasikan merupakan binding-partner untuk HMGB1 adalah *Receptor for advanced glycation end products* (RAGE). Reseptor RAGE merupakan anggota superfamili immunoglobulin transmembran, berada di permukaan sel. Ikatan HMGB1 dengan RAGE memberikan sinyal untuk memediasi kemotaksis dan stimulasi pertumbuhan sel, diferensiasi sel imun, migrasi sel imun dan sel otot polos serta up-regulasi reseptor sel permukaan termasuk RAGE dan TLR4. Ikatan HMGB1 dengan TLR4-MD2 melalui transduksi sinyal yang akan menstimulasi pengeluaran TNF dari makrofag. Pengikatan dan sinyal keduanya membutuhkan suasana redoks-sensitif pada cystein posisi 106 dan penggantian pada posisi cystein ini akan mencegah pengikatan HMGB1 terhadap TLR4. Reseptor TLR4 merupakan reseptor primer dari HMGB1 dalam memediasi aktivasi makrofag, pengeluaran sitokin, dan kerusakan jaringan (Anderson U et al., 2011).

High Mobility Group Box 1 merupakan mediator awal pada injuri steril dan merupakan mediator lanjut pada infeksi. Infeksi akan mengaktivasi sel imun bawaan untuk memproduksi HMGB1 yang bermakna dan kemudian akan menurun pada kemunculan responss TNF awal. Selama iskemia dan bentuk lain dari kerusakan sel steril, HMGB1 dihasilkan sebagai mediator

akan mengaktivasi pengeluaran lanjut TNF dan sitokin lainnya (Anderson U et al., 2011).



High Mobility Group Box 1 merupakan protein nuklear non-histon yang memiliki peran penting sebagai *minor-groove binding enhancer*. Secara struktural, HMGB1 terdiri dari 2 kotak dasar yang berperan dalam pengikatan DNA dan ujung terminal C yang bersifat asidik. (Keyel et al., 2011) Berkebalikan dengan sitokin, HMGB1 berikatan dengan banyak reseptor, yang paling utama adalah TLR4 dan *receptor for advanced glycation end products (RAGE)*. Dalam banyak kasus, pengikatan ini ditingkatkan atau dipotensiasi oleh ikatan pada *pathogen associated molecular patterns (PAMPs)* seperti LPS dan sitokin, termasuk IL-1. Walaupun HMGB1 berikatan dengan berbagai macam reseptor, namun bersifat spesifik dan memiliki interaksi afinitas yang rendah. Sebagai contoh, HMGB1 tidak berikatan dan tidak bersinergi dengan IL-18. Hal ini disebabkan oleh modifikasi post-translasi dan status redoks (Keyel et al., 2011).

2.4.5.1 Aktivitas sitokin oleh HMGB1

High Mobility Group Box 1 secara aktif dihasilkan dari sel imun termasuk makrofag, monosit, sel NK, sel dendritik, sel endothelial, dan platelet. Sekresi HMGB1 secara pasif dihasilkan dari sel nekrotik dan sel yang rusak. Kedua mekanisme dapat memproduksi pengeluaran sejumlah HMGB1 ekstraselular (Yang H et al., 2010). *High Mobility Group Box 1* ekstraseluler mempunyai banyak fungsi seperti aktivasi sitokin dan

, dimana proses ini dimediasi oleh *receptor for advanced glycation products (RAGE)* dan *toll like receptors* TLR2, TLR 4 dan TLR 9 untuk



mengaktivasi jalur signaling akhir seperti NF κ B, *interferon regulatory factor-3* (IRF 3) dan *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) yang kemudian mengaktivasi pengeluaran sitokin proinflamasi (*Tumour necrosis factor α* (TNF α), interleukin 1 (IL 1) dan interleukin 6 (IL 6) oleh makrofag (Yu Y et al., 2015). Aktivitas inflamatorik dari HMGB1 bergantung pada status oksidasi dari cysteine 106 yang terletak pada *B box DNA-binding domain* dari HMGB1, yaitu wilayah yang penting dalam stimulasi pengeluaran sitokin dan inflamasi. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa cysteine 106 dibutuhkan untuk proses sinyal HMGB1 melalui TLR4 untuk menstimulasi pengeluaran sitokin dan inflamasi (Yang H et al., 2010).

2.4.5.2. Reseptor yang memediasi aktivitas HMGB1

High Mobility Group Box 1 dapat berikatan dengan reseptor permukaan sel termasuk RAGE, TLR2, TLR4 dan TLR9. Interaksi HMGB1 dengan reseptor ini menyebabkan transduksi sinyal intraselular dan memediasi responss selular termasuk perpindahan sel kemotaktik dan pelepasan sitokin pro inflamatorik (misalnya TNF dan IL-1) secara *in vitro* dan inflamasi akut secara *in vivo* (Yang H et al., 2010). Target utama dari HMGB1 ekstraseluler adalah TLR4, yang mengarahkan translokasi faktor nuklir kappa B (NF κ B) ke nukleus, dan aktivasi faktor regulasi interferon 3 (IRF3) dan activator protein 1 (AP-1) untuk menghasilkan repertoar sitokin inflamasi. HMGB1 adalah mediator lambat dari kerusakan infeksi, tetapi adalah satu kerusakan steril. Selama aktivasi sel imunitas, HMGB1 disintesis dan disekresi sekitar 8-12 jam. Umpan positif HMGB1



memperkuat respons imun melalui induksi sitokin selama stres, infeksi, atau hipoksia (Asavarut P et al., 2013).

Receptor for Advanced Glycation End products (RAGE) merupakan protein transmembran dan diekspresikan pada sel endothelial, sel otot polos vascular, neurons, dan makrofag/monosit. Percobaan in vivo menunjukkan bahwa interaksi HMGB1/RAGE penting dalam pembentukan tumor dan proliferasi. Terdapat 2 jenis *Toll-like receptors* (TLRs) yang terlibat dalam sinyal HMGB1, yaitu TLR2 dan TLR4. TLR4 berperan sebagai reseptor primer dalam memediasi aktivasi makrofag, pelepasan sitokin dan injuri jaringan. Sinyal HMGB1 melalui TLR4 pada sel darah manusia dan makrofag primer akan menginduksi pelepasan sitokin. HMGB1 dapat juga menghasilkan sinyal selular melalui TLR2. Park, dkk mengamati bahwa TLR2 dan TLR4 terlibat dalam aktivasi seluler oleh HMGB1. *Fluorescent resonance energy transfer* (FRET) dan analisis immuno-presipitasi pada makrofag menunjukkan bahwa HMGB1 berikatan dengan TLR2 dan TLR4 pada permukaan sel namun bukan pada RAGE (Yang H et al., 2010).

2.4.6. Peranan HMGB 1 pada Infeksi tuberkulosis

Infeksi MTB berhubungan erat dengan respons inflamasi lokal yang mungkin merupakan hal yang krusial dalam proses imunopatogenesis tuberkulosis (Russel D.G et al., 2007). Selain berperan sebagai mediator pada penyakit infeksi, HMGB1 juga memiliki peran pada Tuberkulosis. Berbagai mediator proinflamasi terlibat dan



berkontribusi terhadap pembentukan granuloma pada TB, salah satu yang terdeteksi dan disekresi jika terjadi infeksi MTB adalah HMGB 1 (Orme I.M et al., 2001). Sel imunitas bawaan (innate) aktif mensekresi HMGB1 sebagai respons terhadap infeksi mikobakterial yang menstimulasi mediator proinflamasi. HMGB1 yang disekresi oleh makrofag selama tuberkulosis dapat bertindak sebagai sinyal dari jaringan atau sel yang cedera dan mempertinggi respons imun. Sel Nekrotik juga melepaskan HMGB1 ditempat kerusakan jaringan yang menginduksi berbagai respons seluler, termasuk ekspresi mediator proinflamasi (Grover A. et al.,2008). Studi in vitro dan studi percobaan hewan menunjukkan bahwa MTB dan M.bovis BCG dapat secara efektif menginduksi sekresi HMGB1 yang menyebabkan hiperaktivasi sitokin dan kerusakan jaringan paru (Kim SY et al., 2017).

Penelitian Houben dkk memperlihatkan sitokin proinflamasi (TNF α , IL 1 dan IL 6) mempunyai peran memediasi proses inflamasi dan bertanggung jawab terhadap kerusakan jaringan oleh tuberkulosis pada hewan coba (Houben et al.,2006). Penelitian Grover A dkk memperlihatkan pelepasan HMGB 1 oleh makrofag paru merupakan mediator penting dari respons inflamasi dan membantu sekresi sitokin proinflamasi (TNF α dan IL 1 β) dan pelepasan NO selama tuberkulosis. Interaksi berbagai mediator proinflamasi ini berkontribusi pada pembentukan granuloma pada paru (Grover A et al.,2008).



Studi yang dilakukan oleh Kim Su Young, dkk menunjukkan bahwa terdapat peningkatan sitokin pro-inflamatorik dan aktivasi dari jalur sinyal HMGB1/RAGE pada tuberkulosis paru aktif, yang mana berkorelasi dengan keparahan klinik/radiologi. Stimulasi HMGB1 oleh antigen MTB akan meningkatkan respons inflamasi. Penelitian tersebut juga mendapatkan adanya jalur sinyal HMGB1/RAGE pada tuberkulosis paru aktif. Gen HMGB1 dan RAGE keduanya mengalami upregulasi begitu pula ekspresi transmembran RAGE pada permukaan sel imun, juga mengalami peningkatan pada infeksi TB aktif. Walaupun hanya terjadi peningkatan sedikit pada kadar HMGB1 yang bersirkulasi hal ini tetap dapat terdeteksi, sedangkan reseptor RAGE larut dan hilang disirkulasi. Ekspresi RAGE meningkat begitu pula kadar sitokin plasma pada perluasan konsolidasi paru, hasil serupa di dapat untuk HMGB1. Pada analisis multivariat yang terkontrol untuk *cofounder* klinis dan kadar sitokin, HMGB1 diketahui menjadi prediktor independen untuk hasil yang buruk (Kim Sy et al., 2017).

Kadar HMGB1 serum/plasma dalam banyak studi, dilaporkan sebesar 1,12 - 3,9 ng/mL lebih besar dibandingkan dengan rerata atau median subjek kontrol yang sehat (Kim SY et al., 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Jin-Cheng Zeng et al., menunjukkan bahwa kadar plasma HMGB1 pasien tuberkulosis aktif lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok sehat. Penelitian tersebut juga

menunjukkan bahwa adanya peningkatan kadar plasma dari IL-6 dan TNF- α pada pasien tuberkulosis aktif yang konsisten dengan studi pada



pasien TB sebelumnya. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kadar HMGB1 dan TNF- α pada sputum secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok sehat (Zeng JC et al., 2015). Temuan tersebut menunjukkan bahwa HMGB1, IL-10 dan TNF- α mungkin terlibat dalam respons inflamatorik dinamik terhadap infeksi TB pada darah dan jalan napas atau parenkima paru. Utamanya pada jalan napas, pelepasan HMGB1, IL-10 dan TNF- α dapat menjadi penanda yang berguna untuk menilai jalur napas atau respons inflamasi parenkima paru terhadap infeksi TB (Zeng JC et al., 2015).

Sel innate termasuk makrofag, monosit, sel dendritik, sel mast, neutrofil, eosinofil, dan sel natural killer merupakan produsen utama dari HMGB1, IL-10, TNF- α dan IL-6 pada infeksi pulmonal. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jin-Cheng Zeng et al., menunjukkan bahwa HMGB1 terdeteksi pada plasma dan sputum pasien yang memiliki hasil positif pada kultur MTB sputum dan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok sehat. Terlebih lagi, peningkatan kadar IL-6, IL-10, dan TNF- α juga terdeteksi pada plasma, darah dan sputum subjek dengan infeksi TB (Zeng JC et al., 2015).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar HMGB1 secara positif berkorelasi dengan kadar IL-6 baik pada plasma dan sputum dari pasien tuberkulosis aktif, pada saat yang sama, baik HMGB1 dan IL-6

berkorelasi dengan monosit namun tidak dengan respons dinamik atau limfosit pada pasien tuberkulosis aktif. Hal ini menunjukkan



bahwa HMGB1 berperan pada keterlibatan IL-6 dalam respons inflamatorik dinamis monosit terhadap infeksi TB (Zeng JC et al., 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Rogelio,dkk menunjukkan bahwa adanya sekresi aktif dan tinggi dari HMGB1 selama infeksi awal dari TB paru yang diikuti dengan produksi yang rendah dan konstan selama fase lanjut. Sekresi aktif dari HMGB1 terlihat pada banyak jenis sel seperti monosit, makrofag, sel dendritik, hepatosit, sel endothelial, sel glial dan neuron. Sekresi HMGB1 mengalami peningkatan ke puncak tertingginya setelah hari pertama infeksi diikuti dengan penurunan tajam pada hari ketiga dan meningkat lagi pada hari ketujuh namun 3 kali lipat lebih kecil dibandingkan dengan hari pertama dan konsentrasi rendah ini terjaga konstan hingga tahapan lanjut penyakit. *Immunostaining* HMGB1 paling jelas terlihat selama infeksi awal yang ditunjukkan oleh sejumlah makrofag yang teraktivasi sehingga elemen dari imunitas bawaan seperti epitelium bronchial dan makrofag merupakan sumber yang penting dari HMGB1 selama infeksi TB dini dan epitelium jalan napas dipertimbangkan sebagai sel yang aktif mensekresikan protein ini (Hernandez-Pando R et al., 2015).

Secara khusus, ketika HMGB1 dilepaskan dari sel nekrotik dan setelah berikatan dengan RAGE dan TLR4 maka akan menginduksi maturasi dari sel dendritik dan sekresi IL-12 dan IFN- γ . Interaksi HMGB1 dengan TLR4 dibutuhkan untuk aktivasi pelepasan sitokin dari makrofag.

Di neutrofil dan monosit oleh HMGB1 akan menginduksi pelepasan



sitokin dan mempromosikan migrasi sel ke jaringan yang mengalami inflamasi seperti aktivasi endotelium (Hernandez-Pando R et al., 2015).

Selama fase awal infeksi MTB, kondisi lingkungan oksidatif pada paru akan membantu produksi dari HMGB1 yang teroksidasi dengan aktivitas immune-toleragenik. Hal ini terkonfirmasi dengan pemberian antibodi yang menghambat secara spesifik sejak hari pertama infeksi. Aktivitas hambatan pada HMGB1 selama minggu pertama infeksi menginduksi ekspresi yang lebih rendah dari TNF- α , IFN- γ dan IL-17, menunjukkan aktivitas pro-inflamatorik HMGB1 tertentu namun pada hari ke-14, ketika bentuk teroksidasi dari HMGB1 dihasilkan dan aktivitasnya dihambat, terdapat penurunan yang signifikan pada muatan basil di paru serta adanya ekspresi yang lebih tinggi dari sitokin pro-inflamatorik. Respons berkebalikan terlihat ketika rekombinan HMGB1 diberikan selama infeksi awal maka akan menginduksi peningkatan yang signifikan dari muatan basil seiring dengan ekspresi rendah dari sitokin proinflamatorik dan ekspresi yang tinggi mendadak dari IL10 pada sejumlah sel. Hal ini mengonfirmasi efisiensi HMGB1 dalam melakukan rekrutmen dan aktivasi dari jenis sel (Hernandez-Pando R et al., 2015).

Selama fase lanjut infeksi, pada hari ke-28 dan hari ke-60, area ekstensif dari pneumonia, epithelium bronchial pada zona ini menunjukkan adanya penurunan immunostaining HMGB1 dan didapatkan makrofag

sel imunoreaktif yang paling banyak dan padat. Pemberian antibodi pada hari ke-60 infeksi menginduksi adanya



peningkatan yang signifikan dari beban basil paru seiring dengan ekspresi rendah dari sitokin pro-inflamatorik. Hal ini menunjukkan bahwa produksi dari HMGB1 pada fase lanjut infeksi memiliki aktivitas proinflamatorik dan berkontribusi dalam melakukan kontrol pada pertumbuhan basil. Menariknya, pemberian rekombinan HMGB1 dengan konsentrasi tinggi menginduksi muatan basil yang lebih tinggi dan signifikan, kerusakan jaringan yang lebih ekstensif, ekspresi yang lebih rendah dari sitokin proinflamatorik dengan ekspresi yang tinggi dari IL-10, seiring dengan sejumlah sel T regulatorik, menunjukkan bahwa tidak hanya jenis HMGB1, reduksi atau oksidasi, namun juga jumlah protein penting untuk meregulasi responns imun dan interaksinya dengan subtype sel T spesifik. Reseptor RAGE diekspresikan lebih banyak pada sel T regulatorik dibandingkan pada sel T konvensional sehingga HMGB1 menginduksi migrasi dan memperpanjang ketahanan hidup dari sel T regulatorik dengan meningkatkan pelepasan IL-10. Sebagai tambahan, HMGB1 dapat menekan secara langsung pelepasan IFN- γ dengan sel T efektor dan menghambat proliferasinya melalui TLR4 pada kondisi inflamatorik kronis seperti yang dihasilkan oleh infeksi MTB. Oleh karena itu, HMGB1 dilepaskan selama infeksi TB dan dapat memodifikasi respon imun, mempromosikan atau menekan inflamasi bergantung pada keadaan redoks dan konsentrasinya (Hernandez-Pando R et al., 2015).



nelitian yang dilakukan oleh Grace Lui et al., menunjukkan bukti adanya aktivasi jalur sinyal HMGB1/RAGE pada tuberkulosis aktif.

Peningkatan ekspresi RAGE dan HMGB1 berkorelasi dengan kadar sitokin plasma, dan perluasan konsolidasi paru. Pada percobaan hewan dengan TB aktif, peningkatan ekspresi dari HMGB1 sebagai sitokin pro-inflamtorik terlihat pada paru, berkorelasi dengan derajat kerusakan jaringan. Sebagai reseptor terhadap HMGB1, sinyal melalui RAGE akan mengaktifasi jalur NF- κ B (mungkin melalui ERK dan p38-mAPK) yang mana akan mempromosikan transkripsi dari gen pro-inflamatorik (contohnya IL8 / CXCL8 / IL6 / TNF- α) pada paru dan sel imun. Selain itu, data percobaan hewan terkini menunjukkan bahwa RAGE berperan penting dalam kontrol mikobakterial. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa mekanisme imun bawaan memiliki peran patogenik penting pada TB aktif (Lui G et al., 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Agnieszka et al., menunjukkan bahwa HMGB1 dapat terdeteksi pada aliran darah berbagai penyakit paru dengan konsentrasi tertinggi pada pasien dengan infeksi MTB aktif dan laten. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa konsentrasi HMGB1 mengalami peningkatan pada pasien dengan tuberculosis aktif 47,5 ng/mL dibandingkan pada pasien dengan penyakit paru lainnya 36,87 ng/mL (Magrys A et al., 2013).

Pada grup pasien dengan penyakit paru non-TB, hasil menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang secara statistik signifikan pada konsentrasi TNF- α dan HMGB1 antara pasien dengan infeksi TB laten dan pasien tanpa

TB laten ($p < 0,05$). Penelitian tersebut juga menunjukkan adanya positif yang bermakna secara statistik antara TNF- α dan HMGB1



pada pasien dengan infeksi TB Laten, $r = 0.7$, $p = 0.04$. Korelasi positif yang bermakna juga terlihat jika membandingkan HMGB1 serum dan kadar TNF- α pada pasien penyakit paru non-TB, $r = 0.71$, $p = 0.0006$ (Magrys A et al., 2013).

Penelitian tersebut dapat dilihat bahwa HMGB1 serum secara substansial mengalami peningkatan pada TB aktif dan laten bahkan setelah dilakukan penyesuaian terhadap usia dan jenis kondisi penyerta yang mengindikasikan peran mediator ini pada tuberkulosis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar HMGB1 serum secara bermakna meningkat pada pasien dengan TB dibandingkan pada pasien dengan penyakit paru lainnya dan subjek sehat. Telah diketahui bahwa subjek sehat memiliki ekspresi HMGB1 yang sangat rendah bahkan tidak ada namun akan mengalami peningkatan secara dramatis selama kondisi patologis tertentu (Magrys A et al., 2013).

Beberapa studi sebelumnya menunjukkan adanya peningkatan kadar HMGB1 pada kondisi inflamasi seperti kanker, COPD, atau asthma. Penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar HMGB1 dan peningkatan jumlah sel yang menghasilkan HMGB1 telah teridentifikasi pada lokasi spesifik inflamasi dan pada plasma (Hernandez-Pando R et al., 2015). Tidak ada peningkatan yang signifikan pada konsentrasi HMGB1 pada pasien dengan penyakit paru non-TB. Oleh karena itu, kami

pulkan bahwa peningkatan kadar HMGB1 pada kelompok



tuberkulosis aktif sebagaimana dengan kasus infeksi TB laten merupakan hasil dari infeksi MTB (Magrys A et al., 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Qiu-yue Liu et al., menunjukkan bahwa sebanyak 124 pasien dengan TB paru menunjukkan adanya upregulasi sel imun pada serum. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa kadar konsentrasi serum dari limfosit, plasmasit, neutrofil, dan monosit secara signifikan meningkat pada pasien dengan infeksi MTB dibandingkan dengan subjek kontrol sehat ($p < 0,01$). Sebagai tambahan, hasil studi juga mengindikasikan bahwa makrofag, sel mast dan sel endothelial juga mengalami peningkatan pada jaringan paru pasien dengan infeksi MTB dibandingkan dengan subjek kontrol sehat. (Liu QY et al., 2016) Selanjutnya, studi tersebut juga menunjukkan bahwa kadar ekspresi HMGB1 yang tinggi secara signifikan mengalami upregulasi pada jaringan paru pasien dengan infeksi MTB dibandingkan dengan subjek sehat ($p < 0,01$) yang mana hal ini merupakan kontribusi inflamasi pada pasien. tersebut juga menunjukkan bahwa adanya asosiasi antara faktor inflamasi dan MTB, kadar serum faktor inflamasi yang diukur pada pasien dengan TB paru di ICU dengan subjek sehat sebagai kontrol. Kadar konsentrasi serum dari IL-1, IL-6, IL-10 dan IL-12 secara signifikan mengalami upregulasi pada pasien dengan TB paru di ICU dibandingkan dengan subjek sehat ($p < 0,01$).

Akan tetapi, kadar serum dari IL-2 dan IL-15 secara bermakna lebih rendah pasien dengan TB paru dibandingkan dengan subjek sehat ($p < 0,01$).

menunjukkan bahwa faktor inflamasi mengalami peningkatan pada



serum sementara faktor anti-inflamasi mengalami penurunan pada pasien dengan infeksi TB paru di ICU (Lui G et al., 2016).

Faktor inflamasi yang dihasilkan dari sel inflamatorik dilaporkan berhubungan dengan patogenitas dan keparahan dari TB paru dan mungkin menginduksi penyakit yang berhubungan dengan tuberkulosis lainnya. Kadar ekspresi dari IL-1, IL-6, IL-10 dan IL-12 diinvestigasi pada pasien dengan TB paru. Studi tersebut menunjukkan bahwa kadar serum dari IL-6 berperan sebagai biomarker yang potensial dari kemajuan penyakit pada tuberkulosis paru setelah terapi obat anti tuberkulosis. Dari studi tersebut juga diketahui adanya peningkatan kadar serum IL-6 pada pasien dibandingkan dengan subjek control (Liu QY et al., 2018).

High Mobility Group Box 1 yang secara pasif dihasilkan oleh sel apoptotik dan secara aktif dihasilkan oleh sel imun yang teraktivasi memiliki perbedaan yang signifikan pada modifikasi molekular dan menunjukkan fungsi yang berbeda. Pelepasan HMGB1 secara pasif dapat menginduksi toleransi imun sementara HMGB1 yang dilepaskan secara aktif memiliki efek proinflamatorik (Ding J et al., 2017).

Bacillus Calmette–Guerin (BCG) dapat secara efektif menginduksi produksi HMGB1 pada sel *phorbol myristate acetate* (PMA)-treated THP-1. Penelitian terkini menunjukkan bahwa HMGB1 dapat menjadi adjuvant untuk subunit vaksin tuberkulosis untuk meningkatkan efikasi protektif dan

imun seluler dan efek ini tidak bergantung pada interaksi antara dan reseptor. Hal ini menunjukkan bahwa HMGB1 dapat bertindak



sebagai biomarker untuk diagnosis aktif tuberkulosis dan prognosis dan meningkatkan efikasi subunit vaksin sebagai adjuvant (Ding J et al., 2017).

2.5. Penanda biologis IL-6

2.5.1. Definisi

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin proinflamatorik dan sitokin immunoregulatorik yang berperan dalam pertahanan host dalam melawan infeksi dan cedera jaringan. Interleukin IL-6 disebut juga sebagai faktor stimulator sel-B yang meningkatkan sintesis immunoglobulin oleh sel B yang teraktivasi (Kishimoto T et al., 2015).

2.5.2. Biosintesis dan Pengeluaran IL 6

Interleukin 6 manusia merupakan glikoprotein yang memiliki 212 asam amino. Pada kondisi inflamasi infeksi, IL-6 dihasilkan oleh monosit dan makrofag setelah stimulasi terhadap *Toll-like receptors* (TLRs) dengan pola molekular terkait patogen yang berbeda sementara pada kondisi inflamasi non-infeksi seperti luka bakar atau cedera trauma, *damage associated molecular patterns* (DAMPs) dari sel yang rusak atau mati menstimulasi TLRs untuk memproduksi IL-6. Sebagai tambahan, IL-6 dapat diproduksi oleh sel dendritik, sel T dan sel B, neutrofil, sel mast, fibroblast, sel epitelial, keratinosit, sel endotelial, sel stromal, sel mesangial, sel glia, kondrosit, osteoblast, sel otot polos, adiposit, dan sel lainnya termasuk sel tumor (Kishimoto T et al., 2015).



Sintesis IL-6 secara ketat diregulasi oleh mekanisme transkripsional dan post-transkripsional. Faktor transkripsional meliputi *Nuclear factor kappa B* (NF- κ B), *nuclear factor IL-6* (NF-IL6), *activation protein 1*, and *interferon regulatory factor 1* mengaktivasi gen IL-6. Sementara itu, glukokortikoid, estrogen, *aryl hydrocarbon* menekan ekspresi gen IL-6 (Tanaka T et al., 2014).

2.5.3. Aktivitas Biologis IL 6

Interleukin 6 merupakan mediator inflamasi yang penting. Diproduksi oleh lesi infeksi atau lesi yang mengalami kerusakan dan memberikan sinyal ke seluruh tubuh. Ketika IL-6 memberikan stimulasi terhadap hepatosit, IL-6 secara kuat akan menginduksi protein fase akut spectrum luas seperti *C-reactive protein (CRP)*, *serum amyloid A (SAA)*, *fibrinogen*, *hepcidin*, *haptoglobin*, dan *antichymotrypsin* dimana protein ini akan menurunkan albumin, *cytochrome p450*, *fibronectin*, dan transferin. Protein CRP merupakan biomarker inflamasi yang cukup dikenal dan digunakan untuk mengevaluasi keparahan inflamasi dimana peningkatan IL-6 ditemukan sebelum adanya peningkatan serum CRP yang mengikuti infeksi akut dan operasi abdominal. Kadar hepsidin tinggi akan menghambat ferroportin pada makrofag, hepatosit, dan sel epithelial usus yang menyebabkan hipoferremia dan anemia yang berkaitan dengan inflamasi (Cantz T et al., 2011). Interleukin IL-6 berperan penting dalam inflamasi

dengan stimulasi produksi IL-8 oleh sel endothelial, protein aktan monosit, dan ekspresi molekul adesi yang menyebabkan



rekrutmen leukosit ke lesi inflamasi. Pada respons imun *acquired*, IL-6 menginduksi diferensiasi sel B menjadi sel *immunoglobulin-producing* dan mempromosikan pertumbuhan plasmablast dan sel myeloma, selain itu IL-6 juga berperan dalam diferensiasi *naïve CD4 positive T cells* menjadi sel T efektor spesifik. Bersama dengan TGF- β , IL-6 mempromosikan diferensiasi menjadi sel yang memproduksi IL-17 (Th-17) dimana IL-6 menghambat perkembangan *TGF- β -induced regulatory T cell (T-reg)*. Ketidakseimbangan antara Th17/Treg menyebabkan eradikasi dari toleransi imunologis dan kepentingan patologikal untuk perkembangan autoimun dan penyakit inflamasi kronik. Selanjutnya, IL-6 mempromosikan perkembangan dari *T follicular helper cell* dan produksi IL-21 yang berperan dalam meningkatkan sintesis immunoglobulin (Awasthi A. Et al., 2009).

2.6. Penanda Biologis TLR4

2.6.1. Definisi

Toll-like Receptors (TLRs) merupakan pola reseptor pengenal yang merupakan bagian dari imunitas bawaan yang dapat mengenali dan menyerang mikroorganisme yang melakukan invasi. Reseptor TLRs dapat berikatan dengan *damage-associated molecular patterns (DAMPs)* yang dihasilkan oleh sel yang mengalami apoptosis atau jaringan yang rusak. Reseptor TLRs dapat membangun koneksi antara imunitas bawaan dan



autoimunitas. Terdapat 5 adaptor terhadap TLRs yaitu *Myeloid differentiation factor 88* (MyD88), *TIR-related adaptor protein inducing interferon* (TRIF), *TIR domain containing adaptor protein* (TIRAP)/ *MyD88 adaptor like* (MAL), *TRIF-related adaptor molecule* (TRAM) dan *Sterile-alpha and Armadillo motif-containing protein* (SARM). Reseptor TLRs merekrut adaptor spesifik untuk menginisiasi jalur sinyal sehingga terjadi produksi sitokin dan kemokin inflamasi (Liu Y et al., 2014).

2.6.2. Peranan TLR4 sebagai reseptor transmembran

Toll Like Receptors dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu TLR transmembran dan TLR intraselular (Portou MJ et al., 2015). Reseptor TLRs secara efisien dapat mengenali berbagai komponen patogen yang berperan dalam metabolisme patogen tersebut, mencegah mutasi yang menyebabkan patogen menjadi tidak terdeteksi. Reseptor TLRs 1,2, dan 6 mampu mengenali dinding sel bakteri gram positif seperti lipoprotein, peptidoglikan, asam *lipotechoic*. Reseptor TLR4 diaktivasi oleh komponen dinding sel bakteri gram negatif yaitu Lipopolisakarida (LPS) dan *flagelin bacterial*. Reseptor TLRs intraselular 3, 7, dan 8 mampu mengenali RNA virus ds dan ss, dan TLR9 mengenali *non-methylated CpG dinucleotides* yang terdapat pada DNA bakteri (Mukherjee S et al., 2016).

Toll Like Receptor 4 merupakan bagian dari sub-kelompok TLR transmembran. Reseptor TLRs transmembran atau TLRs yang berada di membran menunjukkan domain ekstraselular yang kaya akan domain yang dapat mengenali PAMPs yang berbeda dan domain *toll-*



interleukin 1 (IL-1) receptor (TIR) yang dapat mengaktivasi *transcription factor nuclear factor-B (NF-B)* dalam menginduksi sitokin pro-inflamatorik dan kemokin serta melakukan up-regulasi molekul co-stimulator pada sel antigen-presenting atau APC seperti makrofag, sel dendritik yang pada akhirnya dapat mensensitisasi aktivasi sel-T (Portou MJ et al., 2015).

2.6.3. Peran TLR4 terhadap patogen

Peran TLR-4 mampu mensensitisasi PAMPs dari berbagai organisme mikro dan makro. Penjelasan yang paling mungkin dari aktivasi TLR pada permukaan sel adalah adanya presentasi dan pengikatan Lipopolisakarida (LPS) terhadap TLR4. Kompleks LPS-LPB akan bersatu dengan *glycosyl phosphatidyl inositol linked CD14* yang kemudian akan berikatan dengan kompleks TLR4-MD2. Reseptor TLR4 akan membentuk kompleks dengan MD2 pada permukaan sel yang berperan dalam komponen pengikatan LPS yang utama. Kompleks TLR4-MD2-LPS menyebabkan inisiasi transduksi sinyal dengan cara rekrutmen molekul adaptor intrasel seperti MyD88, TRIF, TRAM, TIRAP atau MAL dan SARM (Portou MJ et al., 2015).

Toll Like Receptor 4 diekspresikan pada berbagai sel imun termasuk neutrofil, monosit dan DCs. Diantara sel-sel ini, neutrofil pertama kali akan bermigrasi ke lokasi infeksi, melakukan sensitisasi patogen dan menghasilkan respons imun. Akan tetapi, aktivasi respons adaptif yang

inisiasi dimediasi melalui ikatan pada ligan spesifik pada monosit atau juga dimediasi oleh TLR2 dan TLR4. Setelah mengenali PAMPs



oleh TLR2 dan 4 pada jenis sel tertentu, domain TIR dan adaptor terkait (MyD88, TRIF, SARM) teraktivasi yang selanjutnya akan mengarahkan pada aktivasi dari faktor transkripsi termasuk NF-kB dan atau IRF3. Aktivasi dari TLRs ini mendorong 2 jalur pesinyal yang berbeda yaitu MyD88 depended dan MyD88 independen atau jalur dependen TRIF. MyD88, TRIF, TRAM, MAL dan SARM merupakan 5 adaptor yang penting dalam aktivasi TLR. Adaptor MyD88 merupakan adaptor pertama yang digunakan oleh semua TLRs kecuali TLR3. Pada aktivasi TLR, MyD88 merekrut *interleukin 1 receptor associated kinase 4 (IRAK-4)* yang memfosforilasi IRAK1 yang mana akan mengaktivasi *TNF Receptor-Associated Factor 6 (TRAF6)*. Kedua protein tersebut meninggalkan kompleks reseptor dan berinteraksi dengan TGF activated kinase 1 (TAK1) dan 2 protein pengikat TAK1 yaitu TAB1 dan TAB2. Protein TAK1 terfosforilasi dan selanjutnya akan mengaktivasi kompleks I-kB kinase (IKK) sehingga akan terjadi translokasi NF-kB ke nukleus dan menginduksi ekspresi sitokin IL-6, IL-12 dan TNF- α (Oeckinghaus A et al., 2011; Kagan JC et al.,2006). Adaptor MAL dan TIRAP merupakan adaptor kedua yang mentransmisikan sinyal dari TLR4 an TLR2 dengan cara memfasilitasi perpindahan MyD88 ke TLR4 untuk mengaktivasi faktor transkripsi seperti NF-kB, JNK, dan *Extracellular regulated kinases 1(ERK-1)*. Adaptor TRIF merupakan adaptor ketiga pada TLR4 yang mengaktivasi *Interferon regulatory factor 3 (IRF3)* dengan cara

aktivasi kinase TBK1 dan I-kB kinase. Adaptor TRAM merupakan ke 4 yang terlibat dalam transmisi sinyal TLR4 dan menyebabkan



produksi dari MyD88 *independent interferon- β* . Adaptor kelima adalah SARM yang terutama akan berinteraksi dengan TRIF dan secara negatif meregulasi NF-kB dan mengaktivasi IRF3 (Babu S et al., 2011; Carpenter S et al., 2007) .

