

BAB 2

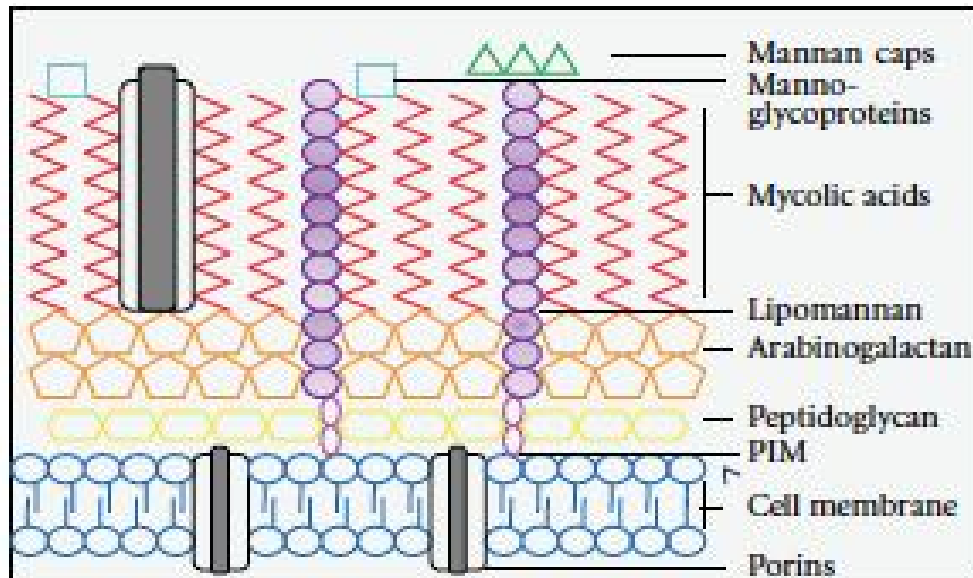
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium tuberculosis* (M. tuberculosis)

Mycobacterium tuberculosis merupakan kuman berbentuk batang lurus (atau sedikit melengkung), tidak berspora, dan bersifat intraselular obligat aerob (Keshavjee dan Farmer, 2012). Kuman ini membelah diri setiap 15-20 jam, lebih lambat dibanding bakteri lain, menyebabkan jumlahnya persisten sehingga membutuhkan terapi yang lama (Barrera, 2007; Lawn dan Zumla, 2011).

Mycobacterium tuberculosis memiliki dinding sel kaya lipid (Mortaz et al., 2012). Dinding sel *M. tuberculosis* kompleks, terdiri dari lapisan luar dan dalam (Gambar 2.1), sulit ditembus antibiotik sehingga relatif resisten terhadap banyak antibiotik. Lapisan luar mengandung lipid (lemak bebas) dan protein, lapisan dalam mengandung peptidoglikan. Komponen lipid berupa *lipoarabinomannan* (LAM), *lipomannan*, *trehalose dimycolate* (TDM), dan *phosphatidylinositol mannosides* (PIM), berperan sebagai molekul efektor dan *signalling* (Hett dan Rubin, 2008; van Crevel et al., 2011). Dinding sel *M. tuberculosis* juga mengandung *mannose-capped lipoarabinoman* (Man-LAM), *lipomannan* (LM), dan *manno-glycoprotein*. Man-LAM, LM, dan *phosphatidyl inositol mannoside* (PIM) membentuk struktur yang disebut *phosphatidyl-myo inositol* (MPI). Man-LAM, *lipomannan* (LM), dan *manno-glycoprotein* merupakan faktor virulensi kuman *M. tuberculosis* (Keshavjee dan Farmer, 2012; Kleinijenhuis et al., 2011). Modifikasi LAM adalah *mannose-capped lipoarabinomanan* (Man-LAM) atau *phosphoinositol lipoarabinomanan*

(PILAM). PILAM adalah prekursor LM yang memacu produksi sitokin Interleukin-12, Interleukin-18, dan TNF- α (Enklund, 2013).



Gambar 2.1. Struktur dinding sel *M. tuberculosis* (Kleinijenhuis et al., 2011).

Keterangan: PIM = *phosphatidyl inositol mannoside*

Komponen dinding *M. tuberculosis* berinteraksi dan memanipulasi lingkungan melalui sekresi protein yang disebut sistem sekresi tipe VII atau (ESX) sistem *early secretory antigenic target* (ESAT-6). *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai 5 sistem ESX dan substrat yang disekresi disebut protein ESX. Selain protein ESX, juga disekresi protein PE dan PPE. Protein ESX-3 bersama substratnya berfungsi pada homeostasis zink dan zat besi. Protein ESX-1 memacu pertumbuhan intraselular dan melisiskan makrofag awal infeksi. ESX-5, protein PE, dan PPE bersama ESX-1 terlibat dalam tahap akhir infeksi-makrofag dan awal pembentukan granuloma (Eklund, 2013).

2.2 Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit akibat infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*) (Isbaniyah et al., 2011; World Health Organization, 2013). *Mycobacterium tuberculosis* lebih sering menyebabkan kelainan di paru (Cruz-Knight dan Blake-Gumbs, 2013). Tuberkulosis menyebar melalui *airborne droplet nuclei*. Infeksi dimulai dengan inhalasi *droplet nuclei* berdiameter 1-5 μm mengandung *M. tuberculosis* yang dibatukkan pasien TB (LoBoue et al., 2008; Ahmad, 2011). *Droplet nuclei* dapat bertahan di udara selama beberapa menit hingga jam setelah dikeluarkan (Kneeckel, 2009). Risiko infeksi tergantung beberapa faktor antara lain sumber yang sangat infeksius (yaitu pasien dengan bakteri tahan asam positif/ BTA (+) atau ada kavitas di gambaran foto toraks), kontak erat dengan sumber infeksi, lama kontak, jumlah bakteri yang diinhalasi, lingkungan, dan status imun pejamu (LoBoue et al., 2008; Ahmad, 2011). *Droplet nuclei* tersebut dapat terhirup sampai alveoli dan menempel di alveoli. Makrofag alveoli akan menelan kuman tersebut untuk dihancurkan tetapi tidak semua *M. tuberculosis* dapat dibersihkan, tergantung dari jumlah dan virulensi kuman (Hopewell dan Maeda, 2010). Tuberkulosis suatu inflamasi eksudatif, inflamasi proliferasif dan inflamasi produktif tergantung urutan waktu. Inflamasi eksudatif timbul 10 hari pertama setelah infeksi diikuti inflamasi proliferasif dengan membentuk granuloma.

Ada 5 tahapan pembentukan granuloma yaitu onset, simbiosis, nekrosis kaseosa tahap awal, kerusakan jaringan oleh *cell-mediated immunity* (CMI) dan reaksi *delayed-type hypersensitivity* (DTH), dan *liquefaction* dan pembentukan kavitas. Tahap satu, *M.tuberculosis* dihancurkan atau dihambat oleh residen

makrofag alveolar matur dengan memakannya. Jika *M.tuberculosis* tidak hancur akan berkembang dan menghancurkan makrofag alveolar. Tahap dua, *M.tuberculosis* tumbuh secara logaritma dalam makrofag imatur non aktif. Makrofag dari darah masuk *M.tuberculosis*. Fase ini disebut simbiosis karena *M.tuberculosis* berkembang lokal tanpa menimbulkan kerusakan jaringan *host* dan terjadi akumulasi makrofag. Tahap tiga, pertama terbentuk nekrosis kaseosa, jumlah *M.tuberculosis* tetap, sebab pertumbuhannya dihambat oleh respons imun dengan antigen seperti tuberkulin dikeluarkan oleh *M.tuberculosis*. Tahap empat, merupakan tahapan klinis. Tahap ini yang berperan CMI. Respons imun DTH sitotoksik membunuh makrofag sehingga center kaseosa membesar dan penyakit menjadi progresif. Tetapi jika respons imun kuat, perlindungan makrofag teraktivasi tinggi jaringan kaseosa menjadi nekrosis. Tahap lima, *M.tuberculosis* menghindari dari pertahanan *host*. Center kaseosa terjadi liquifaksi, mengakibatkan *M.tuberculosis* berkembang secara ekstraselular dalam jumlah besar. *Mycobacterium tuberculosis* memproduksi seperti tuberkulin (reaksi DTH) dalam jumlah besar mengakibatkan kerusakan jaringan meluas ke dinding bronkus membentuk kavitas (Zhang dan Sugawara, 2012). Respons inflamasi di daerah tersebut melibatkan kelenjar limfe, menyebabkan limfangitis, jika diikuti pembesaran kelenjar limfe hilus dinamakan limfadenitis regional. Gambaran inflamasi pneumonia disertai limfadenitis regional disebut kompleks primer (Jeong dan Lee, 2008; Isbaniyah et al., 2011). Kompleks primer ini dapat sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali (restitution ad integrum), sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (dapat berupa sarang *Ghon*, garis fibrotik, sarang perkapuran di hilus), atau menyebar dengan cara perkontinuitatum, secara

bronkogen, baik di paru bersangkutan maupun ke paru sebelahnya atau tertelan, atau penyebaran secara hematogen dan limfogen (Isbaniyah et al., 2011). Jika respons imun tubuh adekuat akan terjadi proses penyembuhan dengan resolusi sempurna atau kalsifikasi membentuk gambaran fokus *Ghon*. Fokus *Ghon* bersama-sama dengan fibrosis di sekitar hilus disebut kompleks *Ranke* (Jeong dan Lee, 2008; Hopewell dan Manaeda, 2010).

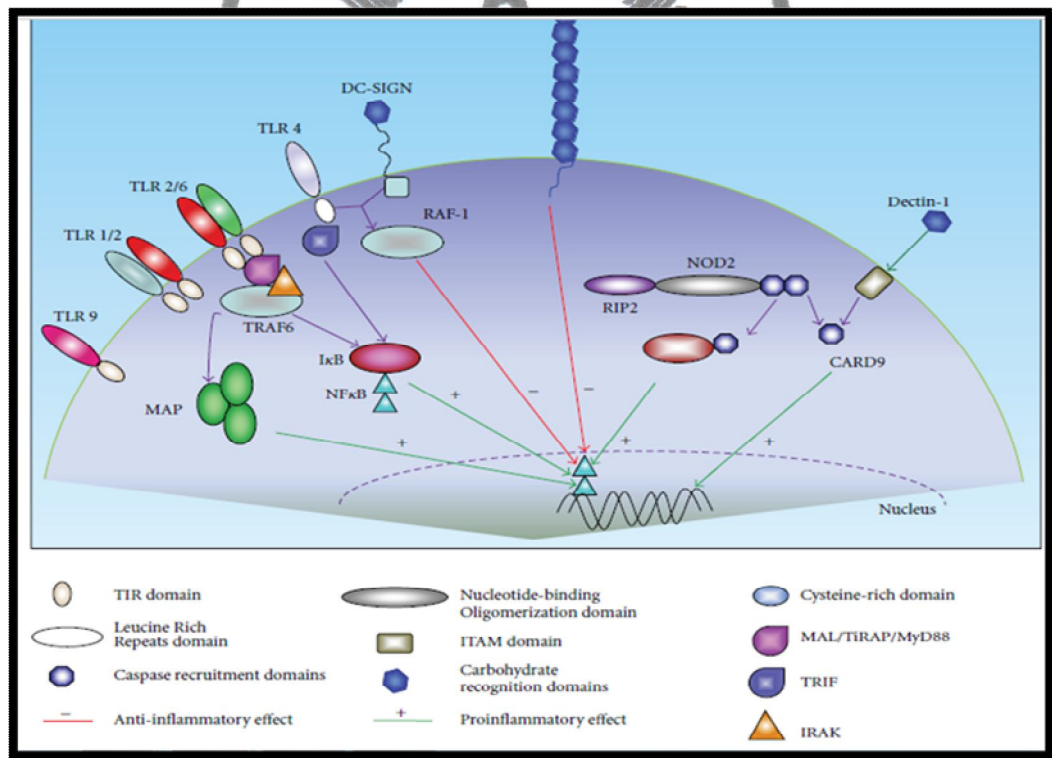
2.3 Imunitas Alamiah Terhadap *M. tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis masuk ke alveolus paru melalui inhalasi dalam bentuk partikel aerosol berukuran 2-5 μm yang berisi bakteri (Etna et al., 2014) akan terdeposit di dalam ruang alveolar kaya oksigen karena bersifat patogen intraselular obligat aerob (Bhunia et al., 2015). Di Lingkungan alveoli *M. tuberculosis* berinteraksi dengan sel epitel jalan napas, *pneumocyt alveolar* tipe II, makrofag alveolar, *dendritic cells* (DCs) dan neutrofil (Etna et al., 2014). Sel makrofag alveolar setempat akan mengenali dan memfagositosis bakteri *M. tuberculosis* tersebut. Sel makrofag alveolar mampu mengenali komponen *M. tuberculosis* (pattern associated molecular pattern/ *PAMP*) seperti lipoprotein, lipoarabinomannan dan *phosphatidylinositol mannoside* melalui berbagai *pattern recognition receptors* (PRRs). *Pattern recognition receptors* pada membran sel seperti *toll like receptors* (TLRs), *mannose receptors* (MRs), *complement receptors* (CRs), *scavenger receptor*, *dectin-1*, *surfactant protein-A* (Sp-A) *receptors*, *dendritic cell-specific intercellular-adhesion-molecule-3-grabbing nonintegrin* (DC-SIGN), dan *vitamin D nuclear receptor* (VDR), sedang PRRs *intracellular cytosolic receptors* adalah *nucleotide binding oligomerization-*
commit to user

domain-(NOD-) like receptors (NLRs) (Dheda et al., 2010, Azad et al., 2012, Hossain dan Norazmi, 2014). Tahap pertama mekanisme pengenalan mengenai struktur dinding sel *M.tuberculosis* yang kontak pertama dengan sistem imun host (Kleinnijenhuis et al., 2011).

Di antara PRRs, TLRs paling banyak berperan pada infeksi *M.tuberculosis*. TLRs diekspresikan oleh sel imun (makrofag, sel dendritik, sel B, dan sel T spesifik) dan sel non imun (fibroblas dan sel epitel) (Ahmad., 2011) Reseptor berinteraksi dengan ligan spesifik *M.tuberculosis* mempermudah *M.tuberculosis* masuk dan mengawali *signaling cascade* intraselular pada sel *host* yang menginduksi produksi sitokin (Hossain dan Norazmi, 2013). *Toll like receptors* diekspresikan permukaan membran sel atau membran vesikel endositik makrofag dan *dendritic cells* (DC). *Toll like receptors* pada infeksi *M.tuberculosis* adalah TLR2, TLR4 dan TLR9. Ligan antigenik yang diekspresikan *M.tuberculosis* berinteraksi dengan TLR2 dan mengaktifkan jalur *signaling mediate MyD88*. LpqH, lipoprotein a 19-kDa yang disekresikan *M.tuberculosis* berinteraksi dengan TLR2 memacu makrofag memproduksi TNF- α dan *nitrit oxide*. LpqH juga memacu monosit memproduksi *Interleukin-12*. *Toll like receptor 2* juga berinteraksi dengan lipomannan dan *phosphatidyl-myo-inositol mannoside* (PIM) memacu respons imun (Hossain dan Norazmi, 2013). *Toll like receptors 2* dapat membentuk heterodimer dengan TLR1 dan TLR6. Heterodimer berimplikasi dalam pengenalan glikolipid dinding *M.tuberculosis* seperti *lipoarabinomannan* (LAM), lipomannan (LM), 38-kDa and 19-kD *mycobacterial glycoproteins*, *phosphatidilinositol mannoside* (PIM), *triacylated* (TLR2/TLR1) atau *diacylated* (TLR2/TLR6) lipoprotein. *Toll like receptors 2* penting dalam

respons imun innate terhadap *M.tuberculosis* (Mortaz et al., 2014). Pengenalan TLR2 terhadap LAM *M. tuberculosis* akan mengawali *signaling cascade* melalui *adapter protein myeloid differentiation 88* (MyD88) *toll-interferon-inducing factor* (TRIF) dan *TRIP-related adapter molecule* (TRAM) menyebabkan perekrutan *interleukin-1 receptor associated kinase* (IRAK) 4, menyebabkan fosforilasi IRAK-1 mengaktifkan jalur *nuclear factor kappa beta* (NF- κ B), sehingga akan diproduksi sitokin pro inflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- α , *Interleukin-1*, dan *Interleukin-6* (Kleinnijenhuis et al., 2011).



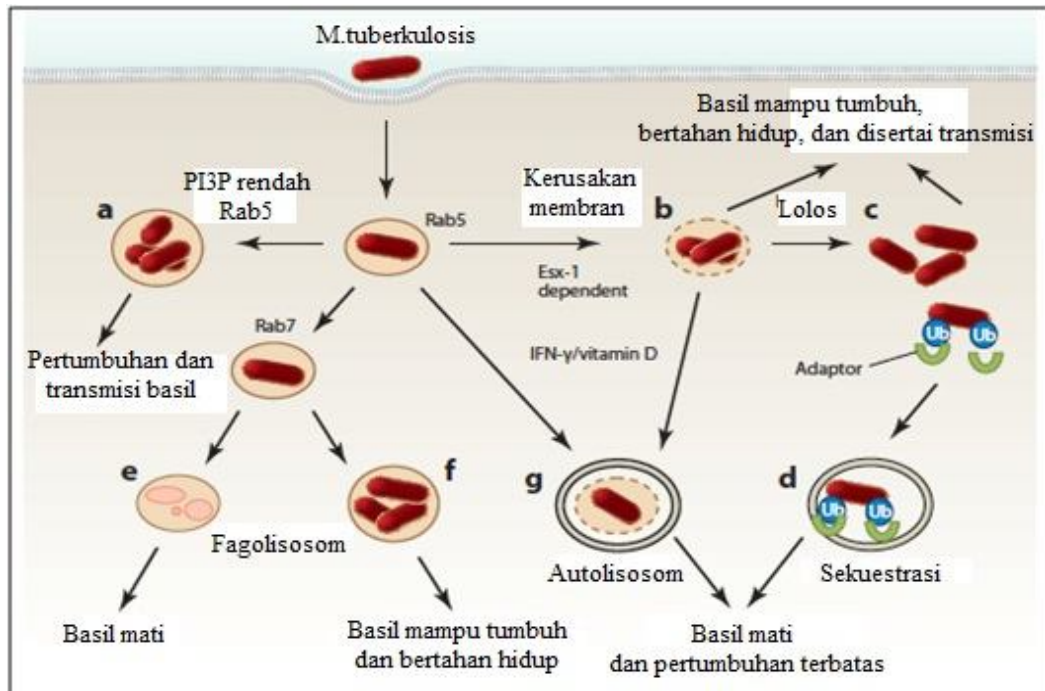
Gambar 2.2. PRRs dalam pengenalan *M.tuberculosis* dan pengaturan jalur signaling. *M.tuberculosis* dikenal melalui PRRs *host* yang berbeda-beda. Reseptor intraseluler dan ekstraseluler terlibat dalam proses tersebut. Setelah mengenal *M.tuberculosis* cascade signaling intraseluler diaktifkan, selanjutnya mengaktifasi transkripsi NF- κ B. Setelah transkripsi produksi sitokin pro dan antiinflamasi di pacu. Tipe cascade signaling tergantung dengan PRRs yang dikenal oleh komponen *M.tuberculosis* (Kleinnijenhuis et al., 2011).

Nucleotide-binding oligomerization domain 2 (NOD2) diekspresikan oleh makrofag alveolar, sel dendritik, dan epitel paru (Leissinger et al., 2014). NOD2 berikatan dengan *muramyl-dipeptide* dinding *M. tuberculosis*, mengaktifasi sekresi $\text{TNF-}\alpha$, *Interleukin-1* β , dan *Interleukin-6* (Handzel, 2013). Ikatan *Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin* (DC-SIGN) dengan Man-LAM merangsang maturasi dan migrasi sel dendritik ke *mediastinal lymph node* (MLN) serta berperan sebagai jembatan dengan respons imun adaptif (Kleinnijenhuis, 2011).

Makrofag mempunyai peran utama pada infeksi *M. tuberculosis*. Interaksi *M. tuberculosis* dengan CR3 di makrofag menghambat maturasi fagosom yang mengandung *M. tuberculosis* sehingga mencegah fusi dengan lisosom. *M. tuberculosis* menghambat maturasi fagosom, tetapi penghambatan ini dicegah oleh *Interferon-}\gamma* dan $\text{TNF-}\alpha$ (Pando et al., 2007). $\text{TNF-}\alpha$ merangsang makrofag membentuk *reactive nitrogen intermediate* (RNI) dan *reactive oxygen intermediate* (ROI) dan berperan mengatur sekresi *Interleukin-1* dan *Interleukin-6* (van Crevel et al., 2002; Zuniga et al., 2012). *Interferon-}\gamma* menginduksi makrofag dan sel NK untuk memproduksi RNI, ROI, dan fusi fagolisosom (Actor, 2012). Hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh makrofag yang diaktifkan oleh *Interferon-}\gamma* dan $\text{TNF-}\alpha$ mempunyai efek membunuh *M. tuberculosis* (Pando et al., 2007).

Fagositosis *M. tuberculosis* oleh sel makrofag diikuti dengan maturasi fagosom yang mengandung patogen. Basil *M. tuberculosis* di dalam fagosom mengalami beberapa proses (Gambar 2.3) sebagai berikut:

- a. *M. tuberculosis* mencegah maturasi fagosom dengan cara menghambat pembentukan *phosphatidylinositol-3-phosphate* (PI3P) dalam fagosom. *M. tuberculosis* mengganggu aktivasi *guanosine triphosphatase (GTP)-bound Rab7* sehingga fagosom tetap mempertahankan Rab5 yang menyebabkan basil *M. tuberculosis* tumbuh di dalam fagosom.
- b. Sistem *Esx1* meningkatkan permeabilitas membran fagosom sehingga basil *M. tuberculosis* memiliki akses ke sitosol.
- c. Proses peningkatan permeabilitas membran fagosom menyebabkan basil *M. tuberculosis* masuk ke sitosol.
- d. Bakteri di dalam sitosol dikenali oleh sistem *ubiquitin* dan mengalami pengasingan.
- e. Sejumlah basil gagal mencegah maturasi fagosom dan dikirim ke lisosom menyebabkan replikasi basil menjadi terbatas.
- f. Beberapa basil mampu bertahan dalam fagolisosom.
- g. Interferon- γ dan vitamin D menghentikan fase endosom awal oleh *M. tuberculosis* dan mendorong pelepasan basil ke autolisosom sehingga pertumbuhan basil *M. tuberculosis* terhenti.



Gambar 2.3. Proses Fagositosis *M. tuberculosis* oleh makrofag (Phillips dan Ernst, 2012).

Interaksi antara PRR dengan *M. tuberculosis* akan mengaktifkan jalur *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) dan *peroxisome proliferator activated receptor gamma* (PPAR γ) sehingga akan diproduksi sitokin proinflamasi (seperti tumor necrosis factor (TNF)- α , *Interleukin-1 β* , *Interleukin-18*, dan *Interleukin-12*), serta kemokin. Sitokin dan kemokin tersebut berkontribusi dalam rekrutmen sel dendritik, sel T, sel neutrofil, sel makrofag, dan sel *natural killer* (NK) ke tempat infeksi. Sel dendritik berperan menjembatani respons imun alami (innate immunity) dan didapat (adaptive immunity) melalui kemampuannya bermigrasi dari tempat infeksi ke nodus limfatikus regional dan menampilkan antigen *M. tuberculosis* antara lain ke sel T naïve CD4 $^{+}$. Pengenalan sel dendritik dengan antigen *M. tuberculosis* dan stimulasi sel dendritik oleh sitokin proinflamasi (seperti TNF- α) menginduksi maturasi sel dendritik yang ditandai dengan peningkatan ekspresi *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II

dipermukaan sel, peningkatan molekul *costimulatory* CD80, CD86, dan CD40, serta peningkatan ekspresi chemokine (C-C motif) receptor (CCR)7. Peningkatan ekspresi CCR7 membantu sel dendritik bermigrasi ke *mediastinal lymph node* (MLN) melalui gradien kemokin CCL19/21 (Sinha et al., 2007).

2.4 Imunitas Adaptif Terhadap *M.tuberculosis*

Respons imun adaptif dimulai dengan fase induksi pengenalan peptida *M.tuberculosis* pada sel dendritik terhadap limfosit T CD4+ melalui MHC kelas II, sedang membran lipid *M.tuberculosis* dipresentasikan MHC kelas I ke sel T CD8+. Peptida yang dominan terhadap imun adaptif adalah *early secreted antigenic target protein 6* (ESAT-6) dan *culture filtrate protein 10* (CFP-10) (Dheda et al., 2010; Handzel, 2013).

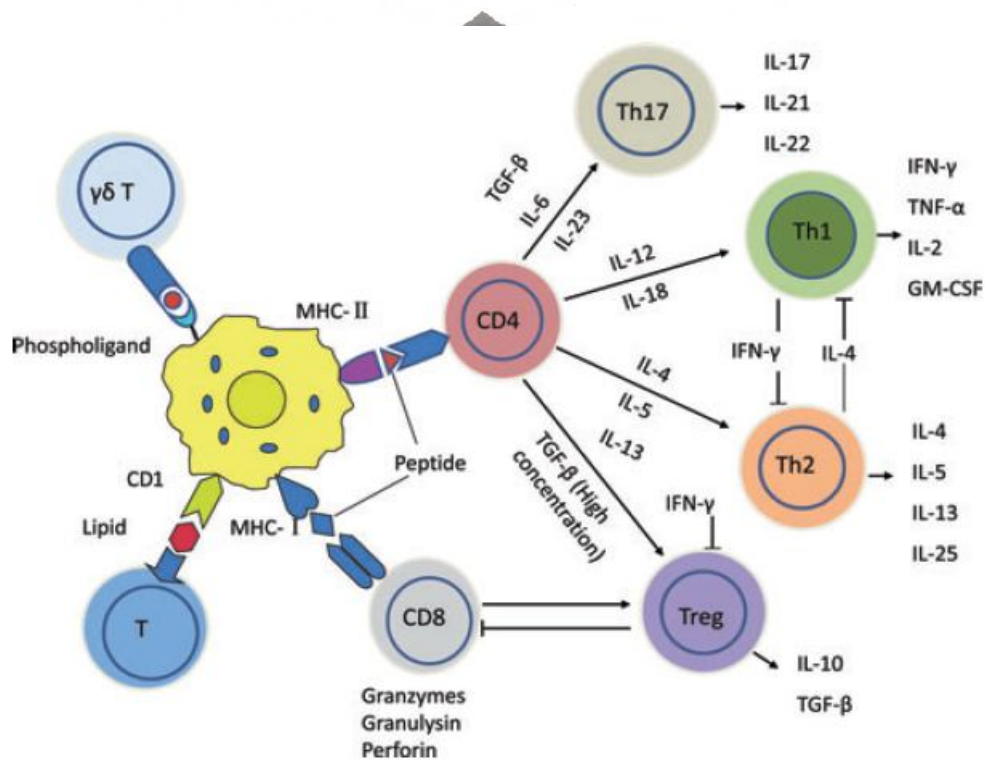
Di MLN, sel dendritik mengaktivasi sel T naïve CD4+ menjadi sel T CD4+ dan mensekresikan sitokin yang berperan dalam polarisasi sel T CD4+. Sekresi sitokin *Interleukin-12*, *Interleukin-23*, *Interleukin-27*, *Interleukin-18*, *Interferon-α*, dan *Interferon-β* oleh sel dendritik memacu polarisasi sel T CD4+ menjadi sel Th1 yang menghasilkan sitokin *Interleukin-2*, *Interferon-γ*, dan TNF-α. Sitokin *Interferon-γ* akan mengaktivasi sel makrofag yang terinfeksi oleh *M.tuberculosis* dan menginduksi maturasi fagosom-lisosom, peningkatan ekspresi MHC kelas II, dan produksi substansi toksik seperti *reactive oxygen substances* (ROS) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI). Sel makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan sitokin *Interleukin-12* yang menginduksi sel Th1 untuk memproduksi lebih banyak sitokin *Interferon-γ*. Namun, sekresi sitokin *Interleukin-4* dan CCL-2 oleh sel dendritik akan menyebabkan polarisasi sel Th

CD4⁺ menjadi sel Th2 yang menghasilkan sitokin *Interleukin-4*, *Interleukin-5*, *Interleukin-6*, *Interleukin-10*, dan *Interleukin-13*. Sel Th 2 pada infeksi TB menyebabkan penurunan repons sel Th1 sehingga mengganggu imunitas seluler melawan bakteri *M. tuberculosis* (Sinha et al., 2007; Dheda et al., 2010)

Sel dendritik juga memiliki kemampuan untuk presentasi silang (cross-presentation) antigen dari luar melalui molekul MHC kelas I. Proses tersebut berperan penting dalam aktivasi sel T naïve CD8⁺ menjadi sel T *cytotoxic* CD8⁺. Sel T *cytotoxic* CD8⁺ mampu membunuh secara langsung sel makrofag yang terinfeksi bakteri *M.tuberculosis* melalui sekresi granul yang mengandung molekul sitotoksik seperti *perforin*, *granzymes*, dan *granulysin*. Sel T *cytotoxic* CD8⁺ juga dapat menginduksi apoptosis sel yang terinfeksi *M.tuberculosis* melalui interaksi *Fas ligand* (FasL) - *Fas receptor* (FasR). Sel T *cytotoxic* CD8⁺ juga memproduksi sitokin *Interferon-γ* namun dalam jumlah sedikit. Sel T CD8⁺ berlimpah menunjukkan bahwa sel T CD8⁺ mampu mengontrol *M.tuberculosis* menjadi infeksi laten (Ahmad, 2011).

Sel Th CD4⁺ berdiferensiasi menjadi Th1, Th2, Th17 dan T *regulatory* (Treg) sesuai sitokin yang diproduksi. Diferensiasi Th1 diperantarai *Interleukin-12*, diferensiasi Th2 diperantarai *Interleukin-4*, diferensiasi Th17 diperantarai *Interleukin-16* dan *Interleukin-23* dan deferensiasi Treg diperantarai *Interleukin-13*. Sel Th1 memproduksi sitokin proinflamasi seperti *Interferon-γ*, TNF- α , *Interleukin-2*, limfotoksin dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) yang merangsang stimulasi sel Th1 sendiri, *cytotoxic lymphocyte* (CTL), maturasi dan aktivasi makrofag (Dheda et al., 2010; Zuniga, 2012). Defek pada *Interleukin-12* dan reseptor *Interleukin-12* menyebabkan gangguan

diferensiasi sel Th1 sehingga produksi sitokin Th1 yang penting untuk melawan *M. tuberculosis* terganggu. Kegagalan sekresi sitokin Th1 menyebabkan kerentanan terhadap infeksi *M. tuberculosis*. *Mycobacterium tuberculosis* dapat menghambat produksi *Interleukin-12* pada sel makrofag terinfeksi (Dwivedi et al., 2012). Sitokin Th1 berperan pada reaksi sitotoksik dan reaksi *delayed type hypersensitivity* (DTH) (Mortaz et al, 2012).



Gambar 2.4. Imunitas adaptif terhadap infeksi *M. tuberculosis*

2.4.1. Peran Interferon- γ pada infeksi Tuberkulosis

Sitokin TNF- α dan *Interferon- γ* yang dihasilkan sel Th1 penting pada imunitas melawan *M. tuberculosis*. *Interferon- γ* mengaktivasi sel makrofag dan sel dendritik sehingga meningkatkan eliminasi basil *M. tuberculosis*. Mekanisme eliminasi oleh *Interferon- γ* dengan meningkatkan maturasi fagosom sel makrofag

commit to user

(Woodworth et al., 2009). Kemampuan *Interferon- γ* untuk mengkoordinasi perubahan imunitas bawaan menjadi imunitas adaptif membedakannya dari *Interferon* yang lain. Mekanisme *Interferon- γ* mengkoordinasi perubahan ini termasuk membantu dalam pengembangan respons Th1 tipe, secara langsung meningkatkan isotype sel B beralih ke IgG2a, dan regulasi interaksi leukosit endotel lokal. *Interferon- γ* membentuk sirkulasi sel imun spesifik menuju lokasi peradangan dengan memicu ekspresi molekul adhesi dan kemokin. Siklus leukosit tidak distimulasi terus-menerus antara darah dan getah bening. *Interferon- γ* dan NO diproduksi di lokasi peradangan menyebabkan pelebaran lokal pembuluh darah, sehingga mengurangi aliran darah lokal dan menyebabkan penumpukan darah di pembuluh darah yang bocor. Subset leukosit spesifik diperintah oleh lingkungan sitokin/ kemokin untuk ekstrasvasi ke jaringan melalui interaksi antara molekul adhesi yang muncul pada leukosit dan permukaan endotel ("diapedesis") (Schroder et al., 2004)

Interferon- γ merupakan sitokin kunci dalam mengontrol infeksi *M. tuberculosis*. *Interferon- γ* diproduksi oleh sel T CD4⁺, sel T CD8⁺, dan sel NK. Sel utama penghasil *Interferon- γ* adalah sel T dan sel NK, berbentuk dimer dengan berat molekul tergantung pola glikolasi (Savan et al., 2009; Garcia, 2012). Produksi *Interferon- γ* dipengaruhi oleh sitokin yang berasal dari APC yaitu *Interleukin-12* dan *Interleukin-18*. *Interferon- γ* merupakan aktivator utama sel makrofag dan meningkatkan presentasi antigen pada sel makrofag sehingga terjadi rekrutmen sel T CD4⁺ dan sel CTL yang meningkatkan eliminasi basil. Produksi *Interferon- γ* saja tidak cukup untuk mengontrol infeksi *M. tuberculosis* tetapi *Interferon- γ* penting untuk respons protektif (Raja, 2004; Leandro et al.,

2009; Ahmad, 2011). *Interferon- γ* (awalnya disebut macrophage-activating factor) merupakan salah satu sitokin yang paling penting. Stimulasi makrofag dengan *Interferon- γ* menginduksi antimikroba dan mekanisme antitumor serta memicu jalur proses dan presentasi antigen. *Interferon- γ* menarik leukosit dan mengarahkan pertumbuhan, pematangan dan diferensiasi berbagai jenis sel, juga meningkatkan aktivitas sel NK serta mengatur fungsi sel B seperti produksi *immunoglobulin* (Ig) dan perpindahan kelas (Schroder et al., 2004),

Interferon- γ pada tuberkulosis mengaktifasi makrofag dalam penghancuran basil TB, memperkuat presentasi antigen melalui MHC I dan II, diferensiasi limfosit T CD4⁺ menjadi subpopulasi Th1 dan menginduksi 200 gen dalam makrofag terutama molekul *oxygen free radical* dan *nitric oxide* dalam mengeliminasi basil *M. tuberculosis* (Cavalcanti et al., 2012). Kompleks MHC kelas I terdiri dari *heavy chain* (terdiri dari domain $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) dan *light chain* ($\beta 2$ mikroglobulin) dan dipicu oleh stimulasi *Interferon- γ* . Tapasin dan GP96 terlibat dalam membantu efisiensi pembentukan peptida: kompleks MHC I juga dipicu oleh *Interferon- γ* (Schroder et al., 2004).

Interferon- γ merupakan produk utama sel Th1, menyebabkan kekebalan sitotoksik spesifik meningkat melalui mekanisme langsung dan tidak langsung. *Interferon- γ* meningkatkan kekebalan sitotoksik spesifik melalui mekanisme langsung, seperti menghambat pertumbuhan populasi Th2 dan memicu proses, presentasi antigen, serta molekul APC *costimulatory*, sehingga meningkatkan diferensiasi CD4⁺. *Interferon- γ* juga mempengaruhi diferensiasi sel CD4⁺ menuju fenotip Th1 langsung. Fenotip diambil oleh sel T selama aktivasi sel T sangat dipengaruhi oleh lingkungan sitokin yang muncul saat keterlibatan reseptor sel T.

Interferon- γ dan *Interleukin-12* merupakan sitokin *prototypic* yang mengarahkan diferensiasi Th1 selama merespons antigen, sedangkan *Interleukin-4* mengarahkan diferensiasi populasi Th2. *Interferon- γ* meningkatkan produksi *Interleukin-12* dalam kemampuan fagositnya dan menghambat sekresi *Interleukin-4* melalui populasi Th2, yang selanjutnya dapat memicu diferensiasi Th1 *in vivo* (Schroder et al., 2004).

Mekanisme eliminasi basil oleh *Interferon- γ* terjadi dengan beberapa cara terutama dengan meningkatkan ekspresi NOD2 dan produksi RNI. *Interferon- γ* juga meningkatkan maturasi fagosom berhubungan dengan aktifitas GTP-ase. *Interferon- γ* akan merubah lingkungan *M. tuberculosis* intraselular, menghambat penggunaan zat besi, dan menghambat pemakaian sumber karbon. Basil *M. tuberculosis* hidup dengan sistem pengambilan zat besi dan bergantung pada kolesterol pejamu sebagai sumber karbon. *Interferon- γ* meningkatkan fusi fagosom dan lisosom sehingga terjadi aktivasi proses hidrolitik dan proteolitik. Hal yang paling menarik pada *Interferon- γ* adalah stimulasi sel makrofag pada fase awal dapat mengganggu kecepatan fusi fagosom dan lisosom. Gangguan fusi pada awal masuknya basil ke dalam sel makrofag menguntungkan pejamu karena dapat memberikan waktu meningkatkan presentasi antigen oleh makrofag (Phillip dan Ernst, 2012).

2.4.2. Peran *Interleukin-10* pada Infeksi Tuberkulosis

Interleukin-10 adalah sitokin pleiotropik diproduksi oleh sel Th2 dan Treg namun juga oleh sel Th1, Th9, Th17 dan sel T CD8+ terutama yang memiliki waktu aktif panjang (Silva et al., 2015)

Struktur kompleks intermediate *Interleukin-10* dengan domain ekstraselular *Interleukin-10R1* (sIL-10R1) terdiri dari satu molekul *Interleukin-10* dan dua kopi ikatan reseptor pada masing-masing domain dimer *Interleukin-10*. Struktur *Interleukin-10* bebas dan terikat reseptor sama (Mege et al., 2006; Liang et al., 2014) Gambar struktur utama adalah suatu bundel empat heliks anti paralel di sisi kiri. Sub-keluarga seluler dari molekul ini meliputi *Interleukin-10*, yang awalnya disebut sebagai faktor inhibitor sintesis sitokin, dan lima paralog yang disebut sebagai *Interleukin 19, 20, 22* (Interleukin-10-related T cell derived inducible factor), 24 (melanoma differentiation-associated antigen 7), dan 26 (AK155). *Interleukin-10* manusia merupakan protein dari 160 asam amino dengan berat molekuler 18,5 kilodalton (kDa) ditemukan dalam bentuk homodimer 37 kDa (Mege et al., 2006).

Sel Th2 memproduksi sitokin antiinflamasi seperti *Interleukin-4*, *Interleukin-5*, *Interleukin-6*, *Interleukin-10* dan *Interleukin-13*. Sel Th2 mengaktivasi produksi antibodi oleh sel B penting untuk melawan patogen ekstra seluler. Sel Th1 dan Th2 saling menghambat. Perkembangan Th1 dihambat oleh *Interleukin-10* yang diproduksi oleh sel Th2. Aktivasi Th2 dihambat oleh *Interferon- γ* yang diproduksi oleh sel Th1 (Mortaz et al., 2012; Phillips et al., 2012). Gangguan respons sel Th1 meningkatkan progresiviti penyakit tuberkulosis berhubungan dengan meningkatnya respons Th2. Respons sel Th2 merupakan antagonis regulasi respons proteksi sel Th1 (Dwivedi et al., 2012). *Interleukin-10* adalah sitokin pleiotropik yang diproduksi oleh banyak sel hematopoietik (monosit, makrofag teraktivasi, sel dendritik, sel B dan sel T) . Sel Treg CD4⁺ yang terbentuk secara alamiah dan mengekspresikan CD25 membran

serta menekan proses transkripsi FOXP3 dan *antigen-specific inducible Treg* yang tidak mengekspresikan CD25 sampai diaktivasi melalui reseptor sel T. FOXP3 Treg selama infeksi *M. tuberculosis* membatasi akumulasi sel T *host* pada paru dan membatasi respons efektor (Mege et al., 2006; Redford et al., 2011). Produksi *Interleukin-10* diregulasi pada tingkat transkripsi dan translasi. Subset sel T penghasil *Interleukin-10* adalah sel Th2, sel Th0, dan sel Treg. Fungsi utama *Interleukin-10* adalah antiinflamasi dan immunosupresif. Penelitian dengan manipulasi *Interleukin-10* menunjukkan peran menguntungkan yang membatasi perluasan inflamasi pada penyakit infeksi (Mege et al., 2006; Sasindran dan Torrelles, 2011). *Interleukin-10* menghambat monosit dan makrofag mempresentasikan antigen ke sel T melalui penghambatan ekspresi *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II, kostimulatori molekul CD80 dan CD86 menurunkan ekspresi *Interleukin-1*, *Interleukin-12* dan $\text{TNF-}\alpha$. *Interleukin-10* pada sel B mencegah apoptosis meningkatkan proliferasi sel (Trifunovic et al., 2014)

Interleukin-10 dalam sel mieloid diinduksi oleh ligasi TLR dalam respons terhadap produk patogen yang berlebihan. Besarnya induksi *Interleukin-10* dalam sel mieloid berbeda tergantung kekuatan relatif dari aktivasi *extracellular signal-related kinase 1 dan 2* (ERK1/2). Induksi *Interleukin-10* oleh ligasi TLR membutuhkan adaptor sinyal *Myeloid differentiation primary response gene 88* (MyD88), *Toll-IL-1 receptor* (TIR) *domain-containing adaptor inducing IFN- β* (TIR- containing adaptor molecule-1) dan sejumlah jalur yang dimediasi faktor autokrin/parakrin. MyD88 sangat penting dalam pengendalian infeksi *M. tuberculosis*. *Interleukin-10* menghambat aktivasi makrofag oleh *Interferon- γ* ,

produksi *reactive oxygen intermediate* (ROI) dan *reactive nitrogen intermediate* (RNI) untuk membunuh *M. tuberculosis* melalui mekanisme MyD88-dependent (Ahmad et al., 2006; Redford et al., 2011).

Produksi *Interleukin-10* oleh sel T CD4+ setelah diferensiasi membutuhkan fosforilasi ERK1/2. Ekspresi *Interleukin-10* berhubungan dengan sitokin dari subset Th antara lain Th1-*Interferon- γ* , Th2-*Interleukin-4*, dan Th17-*Interleukin-17* (Redford et al., 2011). Produksi *Interleukin-10* mengikuti fagositosis *M. tuberculosis* dengan makrofag dapat terjadi sebagai respons antimikroba bawaan pejamu. Sitokin *Interleukin-10* mencegah maturasi fagosom dengan STAT3-dependent dan mekanisme p38-independent sehingga *M. tuberculosis* untuk bertahan dan tumbuh. STAT3 adalah satu-satunya STAT yang diperlukan untuk menghasilkan sinyal inhibisi *Interleukin-10* (Redford et al., 2011). Produksi *Interleukin-10* selama fagositosis juga berfungsi menghambat presentasi antigen melalui pengaturan dari molekul MHC. *Dendritic cells* dapat terinfeksi *M. tuberculosis* tetapi tidak mampu membunuh basil terfagosit. Fungsi utama DCs setelah infeksi *M. tuberculosis* adalah memproses antigen dan migrasi ke limfonodi regional. Proses ini tergantung pada *Interleukin-12p40* 106 dan dapat dihambat oleh *Interleukin-10* menyebabkan progresiviti penyakit. *Dendritic cells* mengatur diferensiasi sel T dan menarik sel Th1 kembali ke paru. *Dendritic cells* yang tidak ada selama infeksi awal *M. tuberculosis* menyebabkan kegagalan respons Th1 dengan peningkatan jumlah *M. tuberculosis* (Ahmad et al., 2006).

Interleukin-10 berfungsi membatasi respons imun *M. tuberculosis* dan berperan pada patogenesis TB. Pemeriksaan *bronkoalveolar lavage* (BAL) pada pasien TB paru terdapat peningkatan *Interleukin-10*, faktor imunosupresif lain,

TGF- β dan sebagian besar terdiri dari makrofag dan neutrofil. Penelitian pada tikus bahwa tidak adanya *Interleukin-10* menunjukkan peningkatan resistensi terhadap infeksi *M. tuberculosis* aerosol dengan penurunan *load* bakteri. Seiring dengan penurunan *load* bakteri akan meningkatkan produksi *Interferon- γ* dan meningkatnya kadar sitokin terkait dengan pembentukan granuloma dini (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, *granulocyte colony-stimulating factor*, TNF- α dan *Interleukin-17A*) dan perekrutan sel T pada paru dan serum (Redford et al., 2011).

Induksi *Interleukin-10* selama vaksinasi atau kemoterapi dapat membelokkan *priming* atau klirens *M. tuberculosis* dan ketiadaan *Interleukin-10* dapat menghasilkan prognosis yang lebih baik pada *host* dan dapat membantu menghilangkan infeksi TB-MDR. Respons imun terhadap infeksi *M. tuberculosis* mencegah perkembangan penyakit menjadi aktif dapat dikaitkan dengan keseimbangan mekanisme proinflamasi dan immunoregulasi (Redford et al., 2011).

2.5. Multi Drug Resistant Tuberkulosis (TB-MDR)

Multi drug resistant tuberculosis (TB-MDR) adalah TB akibat *M. tuberculosis* resisten terhadap Isoniazid (INH) dan Rifampisin (R) secara bersamaan dengan atau tanpa OAT lini pertama lainnya (Isbaniyah et al., 2011; World Health Organization, 2012). Resistensi OAT dapat bersifat primer (apabila pasien sebelumnya tidak pernah mendapat pengobatan OAT atau pernah mendapat OAT <1 bulan), insial (apabila riwayat pengobatan OAT sebelumnya tidak diketahui secara pasti), maupun sekunder (apabila pasien mempunyai

riwayat pengobatan OAT minimal 1 bulan) (Isbaniyah et al., 2011). TB-MDR dapat ditularkan langsung dari individu yang terinfeksi strain TB resisten kepada orang lain atau dapat terjadi akibat pemberian terapi yang tidak adekuat (Chen-Yuan et al., 2008; Matteelli et al., 2008). Pemberian obat pada pasien TB yang tidak adekuat menyebabkan strain resisten obat menjadi strain dominan (Santos, 2012).

Seseorang disebut “Suspek TB-MDR” adalah jika mempunyai gejala TB yang memenuhi satu atau lebih kriteria pasien TB gagal pengobatan kategori 2, pasien TB pengobatan kategori 2 yang tidak konversi setelah 3 bulan pengobatan., pasien TB yang mempunyai riwayat pengobatan TB yang tidak standar serta menggunakan kuinolon dan obat injeksi lini kedua selama satu bulan, pasien TB pengobatan kategori 1 yang gagal pasien TB pengobatan kategori 1 yang tidak konversi, pasien TB kambuh (relaps) kategori 1 dan 2, pasien TB yang kembali setelah *loss to follow up* (lalai berobat/ default) pasien terduga TB yang mempunyai riwayat kontak erat dengan pasien TB-MDR. Dan pasien koinfeksi TB-HIV yang tidak respons secara klinis maupun bakteriologis terhadap pemberian OAT bila penegakkan awal tidak menggunakan *gene expert* (Xpert® MTB/RIF, Cepheid, USA) (Kementerian Kesehatan, 2013).

2.5.1. Faktor yang mempengaruhi terjadinya resistensi

Faktor yang mempengaruhi terjadinya TB-MDR ada lima faktor yaitu faktor mikrobiologi, klinis, program, HIV/AIDS, dan kuman. Faktor mikrobiologi adalah resistensi natural, resistensi didapat, adanya *amplifier effect*, virulensi kuman, dan tertular galur MDR. Faktor klinis berasal dari penyelenggara

kesehatan, obat, dan pasien. Faktor dari penyelenggara kesehatan berupa keterlambatan diagnosis, pengobatan tidak sesuai standar, pedoman, tidak ada pemantauan pengobatan dan fenomena *addition syndrome* (penambahan OAT pada paduan OAT standar). Faktor klinis dari obat berupa lamanya pengobatan TB, toksisitas obat, kualitas obat buruk, harga obat mahal, dan ketersediaan obat terputus. Faktor dari pasien berupa tidak ada pengawas menelan obat, kurang pengetahuan tentang TB, efek samping obat, tidak ada dana dan gangguan absorpsi obat. Faktor program penyebab resistensi obat anti tuberkulosis (OAT) antara lain program *directly observed treatment shortcourse* (DOTS) yang tidak dilaksanakan, tidak ada program DOTS-PLUS (program DOTS untuk pasien TB-MDR), tidak ada fasilitas biakan dan tes sensitivitas. Faktor kuman terdiri dari virulensi dan daya tahan hidup *M. tuberculosis* yang tinggi (Isbaniyah et al., 2011). Faktor HIV/ AIDS karena diagnosis terlambat, terapi awal tidak adekuat dan infeksi yang berkepanjangan (Wells et al., 2007). Faktor utama penyebab terjadinya resistensi kuman terhadap OAT adalah tatalaksana TB yang tidak baik. Tatalaksana TB yang tidak baik dapat berasal dari petugas kesehatan, pasien dan program pengendalian TB (Burhan et al., 2013).

Secara alamiah *M. tuberculosis* resisten terhadap sebagian besar antibiotik dan hanya beberapa obat efektif dalam pengobatan. Resistensi alamiah ini dikarenakan *M. tuberculosis* tersusun oleh dinding kuman tebal yang kaya lemak sehingga penetrasi antibiotik sulit (Santos, 2012). Mekanisme resistensi pada rifampisin secara spesifik akan terikat dengan subunit β RNA polymerase. Gen *rpoB* berperan memberi kode terikatnya rifampisin dengan sub unit β RNA polymerase. Proses ini dapat menghambat transkripsi karena kegagalan

perpanjangan mRNA. Mutasi pada gen *rpoB* akan menyebabkan perubahan konfirmasi pada tempat ikatan antara rifampisin dan sub unit β . Mutasi gen *rpo B* terjadi diantara kodon 507-533 dan lebih dari 70% terjadi pada kodon 531 dan 526 dari isolat resisten rifampisin. Perubahan pada tempat ikatan ini menyebabkan rifampisin tidak dapat terikat pada sub unit β sehingga proses transkripsi RNA tidak akan terganggu dan mengakibatkan kuman menjadi resisten terhadap rifampisin (Johnson et al., 2009).

Isoniazid adalah *prodrug* yang diaktifkan oleh enzim *KatG*. Bentuk aktif dari isoniazid membentuk kompleks kovalen dengan *acyl carrier protein* (AcpM) dan β -ketoacyl-acyl carrier protein synthases (*KasA*), suatu protein pembawa *beta-ketoacyl* yang menghambat sintesis asam mikolat dan membunuh sel. Resistensi terhadap isoniazid dikaitkan dengan mutasi yang mengakibatkan ekspresi berlebihan dari *InhA* yang memberi kode *NADH-dependent acyl carrier protein reductase*, mutasi atau penghapusan gen *KatG*, mutasi yang mengakibatkan ekspresi berlebihan *alkyl hydroperoksidase* (*AhpC*) serta adanya gen virulensi yang terlibat dalam perlindungan sel dari stres oksidatif dan mutasi pada gen *KasA*. Resistensi terhadap INH yang berbasis molekuler dipengaruhi oleh mutasi beberapa gen yaitu *KatG*, *InhA*, *AhpC*, *KasA*, dan *nikotinamid dehydrogenase* (*ndh*) (Zhang. 2004; Deck et al., 2012).

Resistensi pirazinamid terjadi karena mutasi gen *pncA*. Gen *pncA* berfungsi untuk memberi kode enzim pirazinamidase sehingga tidak dapat merubah pirazinamid menjadi bentuk aktif. Mutasi gen *pncA* berupa mutasi *missense* dapat menyebabkan substitusi asam amino, insersi atau delesi nukleotida, dan mutasi terminasi. Mutasi tersebut ditemukan pada isolat klinik

Mycobacterium tuberculosis dengan frekuensi bervariasi antara 70-100%. Mutasi gen *pncA* menyebabkan *pyrazinoic acid* tidak terbentuk sehingga tidak dapat mengganggu sintesis asam lemak dan menyebabkan resistensi pirazinamid terhadap kuman *Mycobacterium tuberculosis* (Kolyva dan Karakousis, 2012; Zhang et al., 2014).

Mutasi gen *embB* kodon 306 menyebabkan resistensi terhadap etambutol. Gen *embB* kodon 306 berperan memberi kode enzim *arabinosyl transferase*. Mutasi tersebut menyebabkan perubahan pada enzim *arabinosyl transferase* sehingga mengakibatkan perubahan target etambutol. Lima mutasi pada kodon 306 [(ATG-GTG), (ATG-CTG), (ATG-ATA), (ATG-ATC) dan (ATG-ATT)] mengakibatkan substitusi asam amino yang berbeda sehingga etambutol tidak dapat mengganggu kerja enzim *arabinosyl transferase* dalam pembentukan arabinan dan pembentukan dinding sel tidak terganggu. Hipereksresi enzim *arabinosyl transferase* juga dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap etambutol (Johnson, 2009).

Resistensi streptomisin berawal dari adanya mutasi pada ribosom. Gen *rpsL* berperan memberi kode terjadinya mutasi protein ribosom S12. Mutasi ini terjadi pada sebagian isolat klinis yang ditemukan. Gen *rrs* memberi kode terjadinya mutasi pada 16S rRNA di sekitar nukleotida 530 atau 912. Dua puluh persen mutasi pada ribosom terjadi pada 16S rRNA dan menyebabkan proses substitusi asam amino tunggal yang akan mempengaruhi struktur 16S rRNA. Perubahan struktur 16S rRNA menyebabkan mRNA tidak terganggu sehingga proses sintesis protein tidak terganggu dan terjadi resistensi terhadap streptomisin (Kolyva dan Karakousis, 2012).

Resistensi kuman *M. tuberculosis* terhadap OAT adalah kuman *M. tuberculosis* sudah tidak dapat lagi dibunuh dengan OAT lini I. Kasus TB resisten obat berdasarkan hasil uji resistensi OAT dari isolat *M. tuberculosis* diklasifikasikan menjadi enam kasus, yaitu:

- 1) Monoresisten adalah isolat *M. tuberculosis* resisten terhadap salah satu OAT lini pertama.
- 2) Poliresisten adalah isolat *M. tuberculosis* resisten terhadap dua atau lebih dari OAT lini pertama selain kombinasi isoniazid dan rifampisin.
- 3) *Multi drug resistant tuberculosis* (TB-MDR) adalah isolat *M. tuberculosis* resisten minimal terhadap isoniazid dan rifampisin dengan atau tanpa disertai OAT lini pertama lain.
- 4) *Extensively drug resistant tuberculosis* (TB-XDR) adalah isolat *M. tuberculosis* resisten minimal terhadap rifampisin dan isoniazid ditambah salah satu obat golongan fluorokuinolon dan salah satu OAT injeksi lini kedua.
- 5) Resistensi rifampisin (RR) adalah isolat *M. tuberculosis* resisten terhadap rifampisin yang terdeteksi menggunakan metode fenotipe atau gen dengan atau tanpa disertai resistensi terhadap OAT lain.
- 6) *Totally drug resistant* adalah isolat *M. tuberculosis* yang resisten terhadap semua OAT lini pertama dan lini kedua (Burhan et al., 2013; Kementerian Kesehatan, 2013).

2.5.2. Pengobatan TB-MDR

Pengobatan pasien TB-MDR menggunakan paduan OAT yang terdiri dari OAT lini pertama dan lini kedua, yang dibagi dalam 5 kelompok berdasar potensi dan efikasinya. Pilihan paduan OAT TB-MDR saat ini adalah paduan terstandar, yang pada permulaan pengobatan akan diberikan sama kepada semua pasien TB-MDR (*standardized treatment*). Adapun paduan yang akan diberikan adalah : Km-Eto-Lfx-Cs-Z-(E) / Eto-Lfx-Cs-Z-(E) (Kementrian Kesehatan, 2013).

Paduan ini diberikan pada pasien yang sudah terkonfirmasi TB-MDR secara laboratoris. Paduan pengobatan ini diberikan dalam dua tahap yaitu tahap awal dan tahap lanjutan. Tahap awal adalah tahap pemberian suntikan dengan lama paling sedikit 6 bulan atau 4 bulan setelah terjadi konversi biakan. Apabila hasil pemeriksaan biakan bulan ke-8 belum terjadi konversi maka disebut gagal pengobatan. Tahap lanjutan adalah pemberian paduan OAT tanpa suntikan setelah menyelesaikan tahap awal. Etambutol tidak diberikan jika terbukti sudah resisten atau riwayat penggunaan sebelumnya menunjukkan kemungkinan besar terjadinya resistensi terhadap etambutol.

Paduan OAT akan disesuaikan paduan atau dosis pada: Pasien TB-MDR yang diagnosis awal menggunakan *rapid test*, setelah ada konfirmasi hasil uji resistensi *M. tuberculosis* dengan cara konvensional, paduan OAT akan disesuaikan. Bila ada riwayat penggunaan salah satu obat tersebut di atas sebelumnya sehingga dicurigai telah ada resistansi, misalnya : pasien sudah pernah mendapat kuinolon pada pengobatan TB sebelumnya, maka diberikan levofloksasin dosis tinggi. Apabila sudah terbukti resisten terhadap levofloksasin

maka paduan pengobatan ditambah PAS dan levofloksasin diganti dengan moksifloksasin, hal tersebut dilakukan dengan pertimbangan dan persetujuan dari tim ahli klinis atau tim *ad hoc*.

Terjadi efek samping yang berat akibat salah satu obat yang sudah dapat diidentifikasi sebagai penyebabnya. Terjadi perburukan keadaan klinis, sebelum maupun setelah konversi biakan. Hal-hal yang harus diperhatikan adalah kondisi umum, batuk, produksi dahak, demam, penurunan berat badan. Penentuan perpindahan ke tahap lanjutan ditentukan oleh tim ahli klinis. Jika terbukti resistan terhadap kanamisin, maka paduan standar disesuaikan sebagai berikut: Cm-Lfx-Eto-Cs-Z-(E) / Lfx-Eto-Cs-Z-(E). Jika terbukti resistan terhadap kuinolon, maka paduan standar disesuaikan sebagai berikut: Km-Mfx-Eto-Cs-PAS-Z-(E) / Mfx-Eto-Cs-PAS-Z-(E). Jika moxifloksasin tidak tersedia maka dapat digunakan levofloksasin dengan dosis tinggi. Pada penggunaan levofloksasin dosis tinggi harus dilakukan pemantauan ketat terhadap kondisi jantung pasien dan kemungkinan terjadi tendinitis/ ruptur tendon. (Kementrian Kesehatan, 2013).

Pengobatan pasien TB-MDR dimulai bila sudah terkonfirmasi TB-MDR berdasarkan hasil uji kepekaan *M. tuberculosis*. Selama menjalani pengobatan, pasien harus dipantau secara ketat untuk menilai respons pengobatan dan identifikasi efek samping sejak dini. Gejala TB pada umumnya (batuk, berdahak, demam dan BB menurun) pada umumnya membaik dalam beberapa bulan pertama pengobatan. Konversi dahak dan biakan merupakan indikator respons pengobatan. Pemeriksaan dahak dan biakan dilakukan setiap bulan sampai terjadi konversi biakan dan setiap 2 bulan sekali setelah terjadi konversi biakan (Kementrian Kesehatan, 2013).

Selama pengobatan, dilakukan pemantauan oleh petugas kesehatan dilakukan setiap hari. Keadaan klinis, berat badan, berkurangnya keluhan atau gejala klinis dipantau setiap bulan. Pemeriksaan dahak dan biakan dilakukan setiap bulan selama tahap awal dan setiap 2 bulan selama tahap lanjutan. Uji kepekaan *M. tuberculosis* dapat dilakukan kembali bila diperlukan, misalkan bila setelah lebih dari 4 bulan tidak terjadi konversi biakan. Foto toraks dilakukan setiap 6 bulan atau bila terjadi komplikasi (batuk darah masif, kecurigaan pneumotoraks, dll). Kreatinin serum dan kalium serum dilakukan setiap bulan selama mendapat obat suntikan. Tiroid stimulating hormon (TSH) dilakukan pada bulan ke 6 pengobatan dan diulangi setiap 6 bulan atau bila muncul gejala hipotiroidisme. Enzim hati (SGOT, SGPT) dilakukan setiap 3 bulan atau bila timbul gejala *drug induced hepatitis* (DIH). Tes kehamilan dilakukan bila ada indikasi.

Tabel 2.1. Pengelompokan OAT

Golongan	Jenis	Obat
Golongan1	Obat Lini Pertama	Isoniazid (H) Rifampisin (R) Etambutol (E) Pirazinamid (Z) Streptomisin (S)
Golongan2	Obat suntik lini kedua	Kanamisin (Km) Amikasin (Am) Kaproemisin (Cm)
Golongan3	Golongan Floroquinolone	Levofloksasin (Lfx) Moksifloksasin (Mfx) Ofloksasin (Ofx)
Golongan4	Obat bakterostatik lini kedua Obat yang belum	Etionamid (Eto) Protionamid (Pto) Sikloserin (Cs)
Golongan5	Terbukti efikasi-nya dan tidak direkomendasikan oleh WHO	Clofazimin (Cfz) Linezolid (Lzd) Amoksilin/ Asam Klavulanat (Amx/Clv) Claritromisin Imipenem

Kementrian Kesehatan, 2014

2.6. Konversi Biakan Sputum

Konversi biakan sputum adalah pemeriksaan biakan dua 2 kali berurutan dengan jarak pemeriksaan 30 hari menunjukkan hasil negatif (tidak ditemukan kuman Bakteri Tahan Asam/ BTA). Tanggal konversi adalah tanggal pengambilan dahak pertama untuk biakan yang hasilnya negatif. Tanggal ini digunakan untuk menentukan lamanya pengobatan tahap awal dan lama pengobatan selanjutnya. Pemeriksaan biakan sputum dilakukan setiap bulan untuk terapi tahap awal dan setiap 2 dua bulan untuk terapi tahap lanjutan (Kementrian Kesehatan, 2013).

Pemeriksaan biakan dilakukan media padat *Lowenstein-Jensen* (LJ) atau cair MGIT (*Mycobacterium Growth Indicator Tube*). Secara konvensional biakan bakteri dilakukan dalam media LJ. Kelebihan dari biakan konvensional ini adalah biaya yang murah dengan prosedur sederhana. Sedangkan kelemahannya adalah dibutuhkan waktu yang lama. Biakan menggunakan medium LJ membutuhkan waktu sekitar 20-56 hari untuk diagnosis dan 4-6 minggu follow up (Guillerm et al., 2006). Hal ini berdampak pada penundaan terapi TB bagi pasien yang positif biakan bakteri. *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT) merupakan media tumbuh untuk bakteri *Mycobacterium* sp. termasuk *M. tuberculosis*. Kelebihan MGIT adalah waktu biakan yang relatif lebih singkat dibandingkan biakan dalam medium LJ. Rata-rata pertumbuhan *M. tuberculosis* pada BACTEC MGIT 960 adalah 4,6 hari, sementara pada medium LJ dibutuhkan waktu rata-rata 37 hari (Hannan et al., 2008). Selain itu, rata-rata waktu yang dibutuhkan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada medium BACTEC MGIT 960 adalah 16 hari, sementara itu dibutuhkan waktu rata-rata 32 hari pada medium LJ (Setiarsih et al., 2012).

Biakan biakan *M. tuberculosis* dengan metode LJ maka identifikasi *M. tuberculosis* harus dikerjakan pada isolat subbiakan yang berumur 2-3 minggu. Bila koloni terkontaminasi, lakukan dekontaminasi dan subbiakan ulang atau subbiakan saja jika koloni terduga *M. tuberculosis* terpisah dari koloni cemar. Tidak satupun uji tunggal yang dapat dengan pasti membedakan *M. tuberculosis* dengan *Mycobacteria* lainnya, teknik molekuler paling spesifik untuk hal ini. Jika kondisi laboratorium masih tidak memadai, identifikasi *M. tuberculosis* minimal

didasarkan pada hasil pewarnaan, kecepatan tumbuh, morfologi koloni, uji PNB dan uji niasin (Kementrian Kesehatan, 2013)

Mycobacterium growth indikator tube adalah metode biakan menggunakan media cair yang mengandung 4 ml kaldu *middlebrook* 7H9. Senyawa fluoresensi dilekatkan dengan silicon pada dasar tabung berukuran 16-100 mm. Senyawa yang berfluoresensi tersebut sensitif bila terdapat oksigen yang larut dalam kaldu. Sejumlah besar oksigen terlarut dapat memadamkan emisi dari senyawa, sehingga fluoresensi dapat terdeteksi. Mikroorganisme hidup menggunakan oksigen untuk bernapas sehingga dapat menimbulkan fluoresensi tersebut dengan fluoresensi dan pertumbuhan kuman dapat dengan menggunakan lampu ultra violet (UV) gelombang panjang atau *transiluminator* UV 365nm. Tampak kekeruhan yang tidak homogen dengan butiran-butiran kecil atau lempeng andalam medium biakan (Ardito et al., 2001).

Komponen medium terdiri dari senyawa yang sangat penting untuk pertumbuhan mikrobakterium secara cepat. *Oleic acid* berperan penting dalam metabolisme mikobakterium. Albumin sebagai bahan pelindung dengan cara mengikat asam lemak bebas yang toksik terhadap mikobakterium. Dekstrose sebagai sumber energi, katalase sebagai penghancur peroksida bila ada dalam media. Kontaminasi dapat diatasi dengan menambahkan antibiotik MGIT PANTA (campuran antibiotik Polimyxin B, Amphotericin B, Nalidixic acid, Trimetoprim, Azlocillin) sebelum inokulasi (Ardito et al., 2001).

2.7. Polimorfisme Gen *Interferon- γ* pada Tuberkulosis

Produksi *Interferon- γ* dikontrol secara genetik, dan terdapat dua polimorfisme *Interferon- γ* . Alel berulang 12 CA mikrosatelit di non-koding intron pertama berhubungan dengan tingginya produksi sitokin secara in vitro. Hubungan kelengkapan alel berulang 12 CA dan alel T pada posisi *Interferon- γ* +874 T/A pada awal translasi. Polimorfisme ini mengikat faktor transkripsi NF-kB dan dengan elektroforesis menunjukkan ikatan spesifik NF-kB dengan sekuens alel yang mengandung alel T *Interferon- γ* +874. Faktor transkripsi menginduksi ekspresi *Interferon- γ* , masing-masing alel T dan A *Interferon- γ* +874 berhubungan dengan tinggi rendahnya ekspresi *Interferon- γ* (Lendro et al., 2009). Faktor transkripsi menginduksi ekspresi *Interferon- γ* jika berikatan dengan alel T sehingga produksi interferon- γ tinggi, sedangkan jika berikatan dengan alel A produksi *Interferon- γ* rendah (Savan et al., 2009; Leandro et al., 2009)

2.8. Polimorfisme Gen *Interleukin-10* pada Tuberkulosis

Sejalan dengan penelitian polimorfisme manusia tentang keragaman genetik pada lokus *Interleukin-10* di antara populasi geografis berbeda, kerentanan terhadap TB berbeda (Redford et al., 2011). Gen *Interleukin-10* berlokasi pada kromosom 1 1q31-32, rentang 4,7 kb berisi empat entron dan lima exon. Penelitian paling sering pada pengulangan dua dinucleotida (mikrosatelit) *Interleukin-10* G dan *Interleukin-10* R. Produksi *Interleukin-10* diatur pada level translasi dan transkripsi. Gen *Interleukin-10* manusia didapatkan perbedaan polimorfisme pada regio 5', termasuk dua tempat pengulangan mikrosatelit (1,2 kb dan 4 kb awal transkripsi) dan tiga titik mutasi (-1082G/A, -819C/T dan -

592C/A) dengan tiga haplotype dominan (GCC, ACC, ATA) (Trifunovic et al., 2014). Mutasi -1082 berkaitan dengan peningkatan produksi *Interleukin-10* pada sel T dan monosit. *Interleukin-10* meningkatkan susceptibiliti host terhadap mikroorganisme intraseluler *M.bovis* (basil Camette-Guerin) dan *M.avium* pada model binatang, peningkatan jumlah *Interleukin-10* meningkatkan pertahanan host terhadap infeksi dan peningkatan jumlah *Interleukin-10* mengganggu pertahanan host terhadap infeksi. Polimorfisme *Interleukin-10* -1082 berkaitan dengan susceptibiliti TB pada pasien di Kamboja, tetapi tidak pada pasien Spanyol atau Gambian (Mege et al., 2006). *Single nucleotide polymorphysme* (SNPs) *Interleukin-10* (-1082G/A dan -592A/C) berkaitan dengan peningkatan ekspresi protein. Penelitian gen dengan marker mikrosatelit, gen *Interleukin-10* berimplikasi pada klinis tuberkulosis (Azad et al., 2012).