

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. TINJAUAN TEORI

1. Tuberkulosis

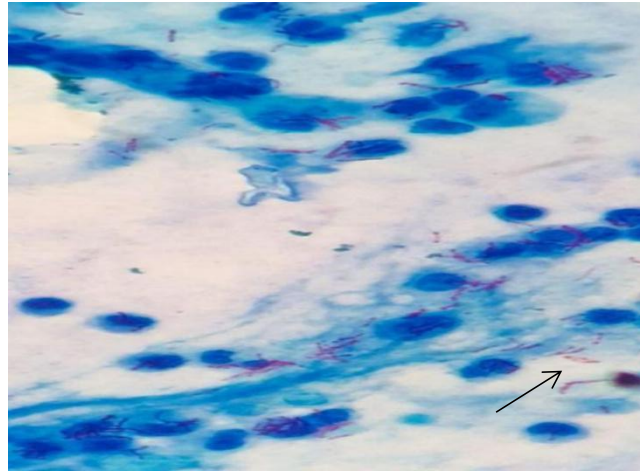
Tuberkulosis disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Kuman ini menyebar melalui udara. Kuman masuk melalui saluran pernafasan, apabila daya tahan tubuh seseorang tersebut bagus maka kuman akan bersifat *dorman*. Gejala yang umum dirasakan oleh orang yang terinfeksi kuman tersebut adalah batuk berdahak terkadang disertai darah, berat badan akan menurun secara drastis, berkeringat dingin pada malam hari meskipun tanpa aktivitas, dan demam. Penularan tergantung pada beberapa faktor seperti daya tahan tubuh, sirkulasi udara / ventilasi, dan frekuensi kontak dengan penderita TB. Jumlah penderita TB bertambah setiap harinya. Pada setiap 30 detik satu orang tertular TB, dan setiap satu jam 8-13 orang meninggal dunia karena TB. Angka ini sangatlah besar, sehingga menempatkan TBC sebagai penyakit infeksi penyebab kematian terbesar di Indonesia (Sembiring, 2019).

a. Morfologi

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang lurus dengan ukuran 2-4 μm dan lebar 0,2-0,5 μm dan tidak berspora, tumbuh secara nonmotil, dinding sel mirip dengan bakteri gram positif, memiliki lapisan lipid yang tebal. Bila dilakukan biakan pada media cair pertumbuhannya bersifat pleomorfik, sel *Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang tunggal seperti filament multiselluler dan bercabang (Widodo *at all*, 2022).

Dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari struktur lipid yang kompleks. Struktur dasarnya adalah peptidoglikan dan arabinogalaktan. Asam mikolat secara kovalen berikatan dengan polimer arabinogalaktan, membentuk lapisan lilin yang tebal. Ikatan rantai carbon kuman ini terdiri dari 70-90 ikatan, dan ini sangat khas bagi *Mycobacterium tuberculosis*. Lapisan lipid kompleksnya terdiri dari glikopeptidolipid, dan trehalose (*lipooligosakarida, sulfolipid, phtiolipid, dimikoserolat dan glikolipid fenolic*). Lapisan luarnya merupakan protein *porin*. *Lipoarabinomikolat* (LAM) tertanam melalui fosfolipid pada bagian

luar membran sitoplasma yang kemudian menjulur melalui dinding terluar sel. Struktur kompleks ini, membuat dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* bersifat impermeabel (Umar, 2023).



Sumber : Schepers, 2023

Gambar 2.1: *Mycobacterium tuberculosis*

a. Taksonomi

Mycobacterium tuberculosis juga dikenal sebagai “*tubercl bacillus*”. Pertama kali diperkenalkan oleh Robert Koch, pada tanggal 24 maret 1882. Dan, sampai sekarang 24 maret diperingati sebagai hari TB sedunia. Berikut adalah taksonomi *Mycobacterium tuberculosis* :

Divisio : Mycobacteria
 Kelas : Actinomycetes
 Ordo : Mycobacteriales
 Falimy : Mycobacteriaceae
 Genus : Mycobacterium
 Species : *Mycobaterium tuberculosis*
 (Cavalier, 2002 dalam Widodo *at all*, 2022)

b. Diagnosa

Prinsip dasar untuk menegakkan diagnosis TB paru secara umum ada 6 (enam). Penegakkan diagnosis penyakit tuberkulosis berdasarkan Standart International Penanganan Tuberkulosis (ISTC) antara lain:

- 1) Diagnosis dini dilakukan terhadap tenaga kesehatan, individu dan kelompok yang beresiko TB berupa pemeriksaan klinis, gejala dan uji diagnostik yang cepat.
- 2) Semua orang termasuk anak-anak yang mengalami gejala batuk lebih dari dua minggu, disertai hasil rontgen yang mendukung harus dihitung sebagai penderita tuberkulosis.
- 3) Semua pasien TB termasuk anak-anak yang sudah bisa mengeluarkan dahak harus diperiksa secara mikroskopis sebanyak dua kali (pagi-sewaktu).
- 4) Semua pasien termasuk anak-anak yang di duga menderita TB ekstra paru, harus dilakukan pemeriksaan mikrobiologis dan histopatologi serta TCM untuk cairan cerebrospinal
- 5) Terduga TB yang hasil mikroskopisnya negatif, harus dilanjutkan dengan pemeriksaan TCM atau kultur biakan.
- 6) Pasien TB anak yang didiagnosa TB intratoraks (paru, pleura, dan hilar limph node atau media astinal) harus dikonfirmasi secara bakteriologis (Alisjahbana *at all*, 2020).

c. Pemeriksaan Mikrobiologi

Pemeriksaan secara mikrobiologi *Mycobacterium tuberculosis* dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain:

1) Mikroskopis

Pemeriksaan secara mikroskopis untuk mendeteksi bakteri tahan asam, namun pemeriksaan ini tidak dapat membedakan bakteri tahan asam dari lingkungan (*Mycobacterium Other Than Tuberculosis/MOTT*).

2) Biakan

Pemeriksaan melalui media biakan adalah menumbuhkan kuman dalam media cair (selama 2-6 minggu) sedangkan pada media padat (2-8 minggu).

3) Tes Cepat Molekuler

Prinsip pemeriksaan secara mikrobiologi dengan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) adalah mendeteksi MTB dan resistensi rifampisin dengan lama waktu pemeriksaan 2 jam dengan *Time Around Time/TAT* selama 1 hari.

4) Uji Kepekaan

Merupakan deteksi resistensi terhadap Obat Anti Tuberkulosis (OAT) dalam bentuk paket SDP (INH high, Maxi high, Amk, PZA, Lzd, Bdq, Lfx). Metode ini dilakukan dalam media padat selama 3-4 minggu dan media cair selama 1-3 minggu.

5) *Line Probe Assay*

Metode pemeriksaan mikrobiologi secara *Line Probe Assay* merupakan lini 2 golongan Fluorokuinolon dan obat injeksi lini kedua (Individual drug), lini-1 INH dan Rifampisin. Lama waktu pemeriksaan 2 hari dan *Time Around Time/TAT* nya selama 7 hari (Kemkes, 2020).

Berdasarkan Surat Edaran (SE) Dirjen No. HK. 02.02/III.I/936/2021 tentang perubahan alur diagnosis dan pengobatan TBC di Indonesia, diantaranya menjelaskan bahwa Tes Cepat Molekuler (TCM) adalah alat diagnosa utama yang digunakan untuk penegakkan diagnosis TBC (Dirjen P2P, 2021). Teknologi molekuler dalam mendiagnosis TB sudah mulai diterapkan di beberapa negara berkembang dan direkomendasikan oleh WHO sejak 2010. Prinsip dasar dari metode pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) adalah deteksi molekuler berbasis *nested real-time PCR*. Dalam prosesnya menggunakan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi sekuen target. Sistem pada TCM dengan GenXpert menunjukkan hasil pemeriksaan melalui sinyal fluoresensi dan algoritma perhitungan semikuantitatif otomatis. Hasil pemeriksaan akan menunjukkan ada atau tidaknya DNA *Mycobacterium tuberculosis* kompleks dan ada atau tidaknya mutasi gen penyandi resistensi rifampisin, serta perhitungan semikuantitatif jumlah kuman pada sampel berdasarkan nilai *Cycle threshold (Ct)*. Nilai CT <16=High, 16-18=Medium, 22-28=Low, dan >28=Very low (Kemkes RI, 2020).

Pemeriksaan TCM dengan GenXpert dapat mendeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis* kompleks sekaligus mengetahui resistensinya terhadap rifampisin menggunakan lima *probe molecular beacon (probe A-E)*. *Cycle threshold (Ct)* maksimal yang valid untuk analisis hasil pada *probe A, B dan C* melalui 39 kali siklus, sedangkan pada *probe D dan E* yaitu 36 kali siklus. Hasil akan diinterpretasikan sebagai berikut:

- a) *Mycobacterium tuberculosis* terdeteksi bila terdapat dua *probe* yang menunjukkan hasil nilai *Ct* dalam batas valid dan delta *Ct* minimal (selisih / perbedaan *Ct* terkecil antar pasangan *probe*) < 2.0
- b) Rifampisin Resistan tidak terdeteksi apabila delta *Ct* maksimal (selisih/perbedaan antara *probe* yang paling awal muncul dengan paling akhir muncul) ≤ 4.0
- c) Rifampisin Resistan terdeteksi apabila delta *Ct* maksimal > 4.0
- d) Rifampisin Resisten intermediate bila ditemukan , dua kondisi yaitu:
 - (1) Nilai *Ct* pada *probe* melebihi nilai valid maksimal (atau nilai 0)
 - (2) Nilai *Ct* pada *probe* yang paling awal muncul $>$ (nilai *Ct* valid maksimum delta *Ct* maksimal *cut-off* 4.0
- e) Tidak terdeteksi *Mycobacterium tuberculosis* apabila terdapat satu atau tidak ada *probe* yang positif (Kemkes, 2020)

Struktur *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) atau asam ribonukleat daripada *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari 165 gen dengan komposisi terbanyak adalah *guanin* (G) dan *sitosin* (C). Secara umum gen tersebut dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama adalah gen sekuen target, kelompok kedua merupakan gen penyandi antigen protein, dan kelompok ketiga adalah gen elemen sisipan. Gen *pab* berfungsi sebagai penyandi protein yang berikatan dengan fosfat seperti protein dengan berat molekul 38 kDa (*kilo Dalton*). Gen *groEL* sebagai penyandi *heat shock protein* pada protein dengan berat molekul 65 kDa. Gen *katG* sebagai penyandi bagi katalase-peroksidase. Gen 16SrRNA (*rrs*) berfungsi menyandi protein ribosomal-S₁₂ dan yang selanjutnya adalah gen *rpoB* berfungsi menyandi RNA polimerase. RNA polimerase ini sebagai penanda rifampisin resistance, artinya bila gen *rpoB* terdeteksi bisa dipastikan kuman *Mycobacterium tuberculosis* tersebut resistance terhadap rifampisin (Pebriyani, 2021).

2. Leukosit

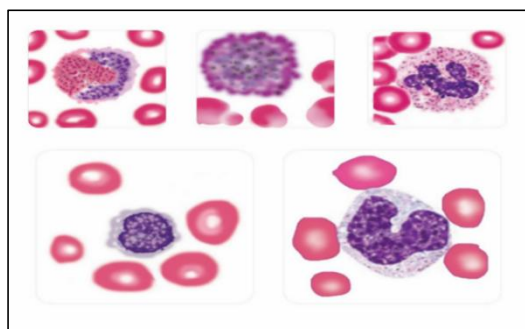
Leukosit berasal dari kata *leuko* yang artinya putih dan *cyte* yang berarti sel. Leukosit secara harfiah dapat disebut juga sebagai sel darah putih. Sel leukosit tidak sama dengan sel eritrosit yang tidak mempunyai inti sel. Sel leukosit mempunyai inti sel. Jumlah normal leukosit dalam tubuh manusia berkisar antara $4,3-10,8 \times 10^9/L$.

Secara keseluruhan, neutrofil merupakan sel terbanyak dari seluruh komponen leukosit, yakni sebesar 45-74%. Komposisi limfosit sebanyak 16-45%. Monosit 4-10%, eosinofil 0-7%, dan sisanya adalah basofil sebanyak 0-2% (Rosita *at al*, 2019).

Leukosit adalah sel yang berperan dalam imunitas tubuh. Secara umum leukosit terbagi menjadi dua jenis yakni granulosit dan agranulosit. Granulosit artinya sel leukosit yang memiliki granula yang khas, sedangkan agranulosit berarti sel leukosit yang tidak memiliki granula. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil. Sedangkan yang termasuk agranulosit yakni monosit dan limfosit. Apabila terjadi infeksi maka sel leukosit akan bergerak menuju jaringan yang terinfeksi (Sari *at all*, 2022).

a) Basofil

Basofil berukuran 12-17 μm , pada pemeriksaan hapusan darah dengan pewarnaan Giemsa, sel basofil nampak berbentuk bulat, nukleus bulat dengan kromatain yang kasar dan bergranula. Sitoplasma berwarna biru tua (Firani, 2018). Basofil terbentuk di sel punca hematopoetik dibawah pengaruh sitokin. Granula dari basofil berbentuk bulat dengan ukuran yang bervariasi. Basofil bersifat basa atau basofilik. Basofil akan berwarna biru keunguan dengan pengecatan dasar. Granula basofil mengandung senyawa histamin, trombosit-activating factor, leukotrin C4, IL-4, IL-3, vascular endothelial growth factor A (VEGF A), VEGF B, dan kondroitin sulfates (heparan). Basofil melakukan sintesis protein granula karena adanya sinyal aktivasi. Kondisi ini membuat basofil mampu menghasilkan mediator peradangan. Basofil jumlahnya akan meningkat pada reaksi alergi, leukimia, kanker atau hipotiridisme. Basofil akan menurun jumlahnya pada ovulasi dan stres. Sel mast dapat menginduksi basofil untuk memproduksi dan melepaskan asam retinoat, pengatur sel imunitas dan residen pada reaksi alergi (Rosita *at al*, 2019).

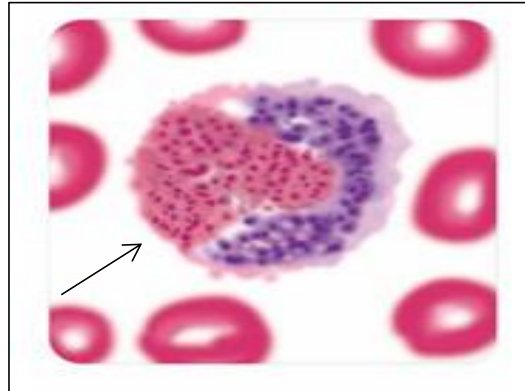


Sumber : Rosita *at al*, 2019

Gambar 2.3 Basofil

b. Eosinofil

Eosinofil merupakan sel leukosit yang berinti dan memiliki dua lobus yang berwarna merah orange. Warna merah orange ini menandakan lobus sel eosinofil mengandung histamin. Eosinofil berperan dalam repon terhadap penyakit yang disebabkan oleh parasit dan reaksi alergi. Eosinofil akan melepaskan isi granula terhadap patogen yang lebih besar seperti cacing, sehingga mampu membantu proses destruksi dan fagositosis (Aliviameita, 2019).

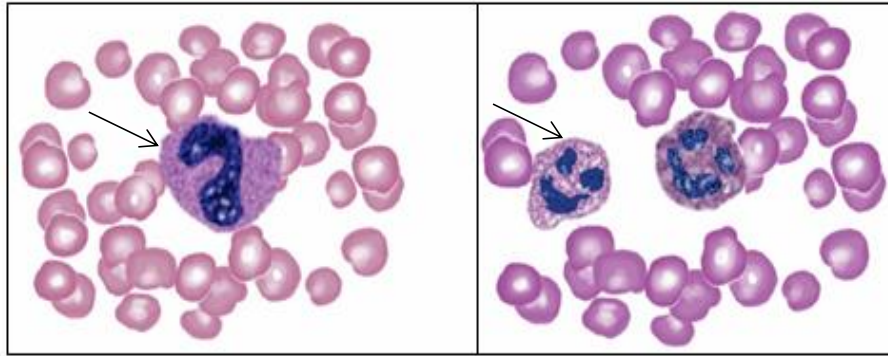


Sumber : Rosita at al, 2019

Gambar 2.2 Eosinofil

b) Neutrofil

Neutrofil merupakan sel yang berperan dalam sistem imunitas atau pertahanan tubuh pertama pada saat terjadi infeksi. Neutrofil merespon lebih cepat terhadap inflamasi dan cedera jaringan dibandingkan sel leukosit yang lain. Neutrofil segmen merupakan neutrofil yang matang (matur), sedangkan neutrofil batang/ staff merupakan neutrofil yang belum matang (immatur) sehingga dapat bermultiplikasi dengan cepat pada infeksi akut. Jumlah neutrofil akan menurun pada infeksi bakteri, luka bakar, stress dan inflamasi. Namun akan meningkat jumlahnya pada paparan radiasi, keracunan obat, kekurangan vitamin B12, atau SLE / *Systemic Lupus Erythematosus* (Tirtana at al, 2023). Siklus hidup neutrofil setelah dari sumsum tulang (*bone marrow*) tidak lama, dalam darah hanya sekitar 4 sampai 8 jam, sebelum akhirnya masuk kedalam jaringan tubuh selama 4 sampai 5 hari. Neutrofil merespon faktor kemotaktik dan bermigrasi kedalam jaringan untuk selanjutnya mendekati pathogen selama proses inflamasi. Sitoplasma neutrofil mengandung enzim untuk memfagosit pathogen (Siagian, 2018).

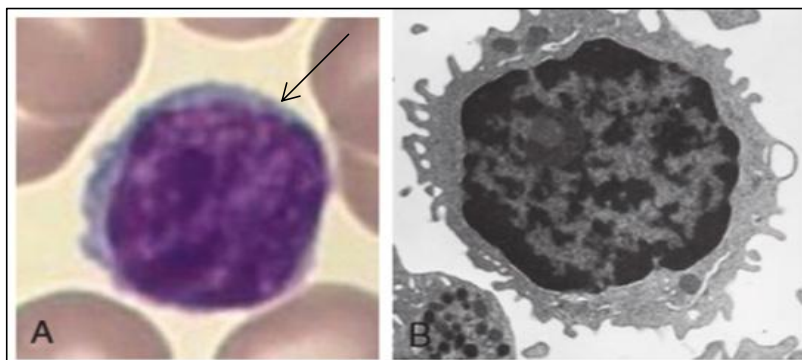


Sumber : Rosita, *at al* 2019

Gambar 2.4 Neutrofil batang (kiri) dan Neutrofil bersegmen (kanan)

c) Limfosit

Limfosit berkembang dari sel progenitor limfoid (*Common Lymphoid Progenitor/CLP*) pada sumsum tulang. Limfosit mempunyai nukleus yang berwarna gelap dan berbentuk bulat. Sitoplasma sel limfosit berwarna biru langit dan membentuk lingkaran mengelilingi nukleus. Limfosit berukuran 10-14 μm . Secara umum limfosit dibagi menjadi dua, yaitu limfosit B dan limfosit T yang berperan dalam respon imun adaptif. (Rosita *at al* 2019). Limfosit berperan penting dalam respon imunitas tubuh. Jumlah normal limfosit dalam darah adalah 25-35%. Limfosit mengalami penurunan jumlahnya pada kondisi infeksi virus, leukemia atau infeksi mononukleus. Sedangkan jumlahnya akan meningkat pada penyakit yang berkepanjangan, seperti infeksi HIV, immunosupresi atau pengobatan dengan kortisol (Tirtana *at all*, 2023).



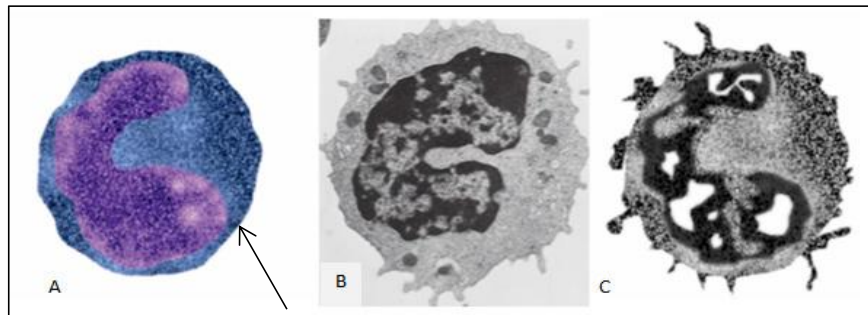
Sumber : Rosita *at all*, 2019

Gambar 2.5 Limfosit dengan pengamatan melalui (A) mikroskop cahaya dan (B) mikroskop elektron

d) Monosit

Monosit adalah sel leukosit yang mempunyai nukleus. Nukleus berbentuk seperti ginjal atau tapal kuda. Sitoplasma berwarna biru keabu abuan. Monosit mempunyai granula azurophilic yang sangat halus, yang sesungguhnya adalah lisosom (Rosita *at all*, 2019). Monosit berada dalam peredaran darah selama 20-40 hari selama peradangan. Selanjutnya monosit akan masuk kedalam jaringan, dan berubah menjadi makrofag. Monosit akan mengalami proses maturasi untuk selanjutnya melakukan fungsi utamanya yaitu fagositosis dan destruksi (Aliviameita, 2019). Jumlah monosit akan menurun pada infeksi virus, infeksi jamur, tuberkulosis, leukemia atau mononukleosis. Namun, jumlah monosit akan meningkat pada supresi sumsum tulang atau pengobatan dengan kortisol (Tirtana *at all*, 2023).

Monosit menghasilkan berbagai enzim diantaranya, lisozim, protease netral, asam hidrolase, arginase dan sitokin (TNF- α ; IL-1,IL-8, IL-12, IL-18). IL-1 berfungsi menginisiasi demam pada hipotalamus, serta membantu mobilisasi leukosit dari sumsum tulang, juga mengaktifasi limfosit dan neutrofil.



Sumber : Rosita *at all*, 2019

Gambar 2.6. Sel mononuklear fagositik. (A) Monosit yang diamati dengan mikroskop cahaya, (B) monosit yang diamati dengan mikroskop elektron, (C) makrofag di dalam jaringan yang diamati dengan mikroskop cahaya

3. Hubungan antara Tuberkulosis dengan Sel Leukosit

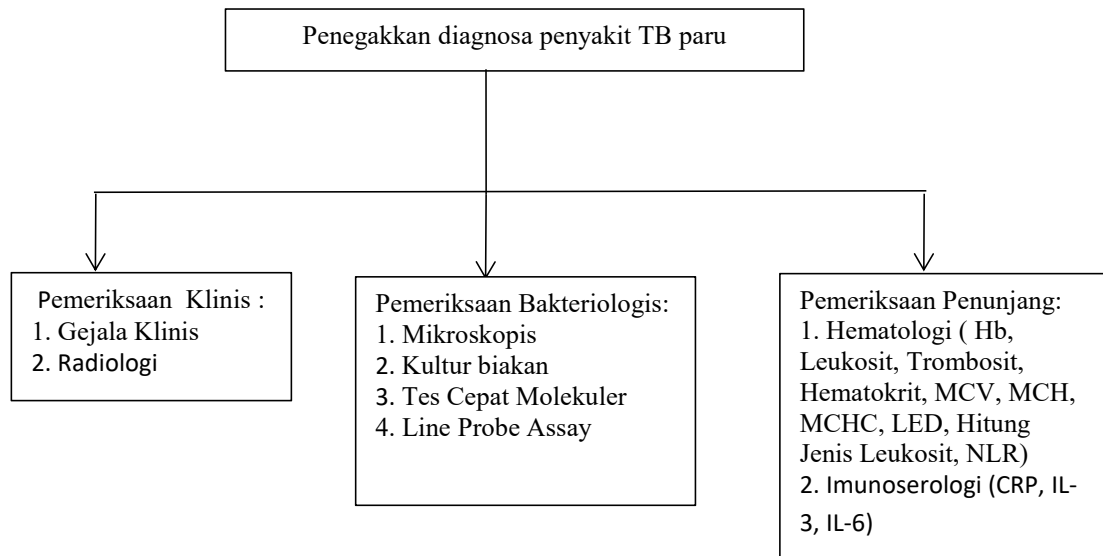
Tuberkulosis (TBC) paru merupakan penyakit infeksi yang menyerang jaringan parenkim paru(Wahdi & Puspitosari, 2021). Fase awal infeksi terjadi ketika kuman masuk melalui aerosol sampai terbentuknya reaksi imunitas. Melalui proses fagositosis *Mycobacterium tuberculosis* masuk kedalam tubuh, yang dibantu oleh reseptor *mannose binding lectin* dan CR3. Selanjutnya terbentuk fagosom, pada fase ini *Mycobacterium tuberculosis* mengeluarkan faktor yang menghambat pematangan fagosom dan mencegah pembentukan fagolisosom. Bakteri mengalami replikasi atau

berkembang biak. Bersamaan dengan proses proliferasi, maka terjadi bakteremia yang menyebar ke berbagai organ. Setelah proses proliferasi, sistem imun mulai bekerja. Molekul dari *Mycobacterium tuberculosis* seperti lipoprotein dan glikolipid dideteksi oleh sistem *innate immunity* termasuk *toll-like* receptor seperti TLR2, yang pada akhirnya terbentuk respon imun adaptif terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (Sobur, 2020).

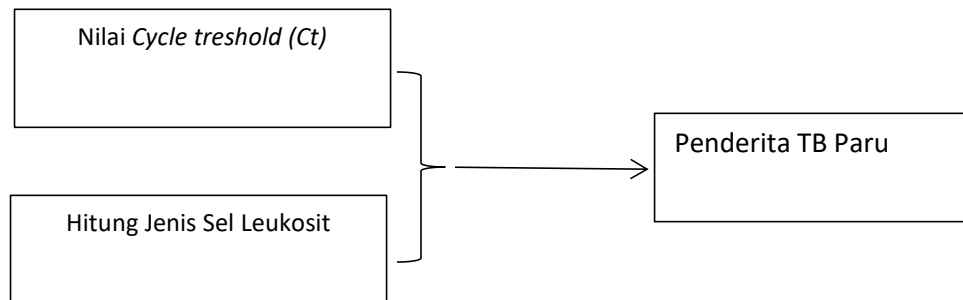
Respon imun bawaan (*Innate Imun Respon*) pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, dimulai pada saat bakteri masuk ke alveoli dan difagosit oleh makrofag alveolar, kemudian memicu aktifnya kekebalan bawaan. Monosit berpindah dengan cepat dan berubah menjadi makrofag untuk memfagosit *Mycobacterium tuberculosis* di alveoli yang terinfeksi. Sel yang teraktifasi diantaranya adalah neutrofil, makrofag alveoli, sel Natural Killer (NK) dan sistem komplemen. Neutrofil diketahui berperan penting pada sistem imunitas untuk melawan tuberkulosis melalui IL-8 yang disekresikan oleh makrofag. Selain respon imun bawaan, pada infeksi tuberkulosis juga terjadi respon imun adaptif (*Adaptif Immune Response*). Pada respon imun adaptif, imunitas seluler yang dibantu oleh limfosit T sedangkan imunitas humoral dibantu oleh Limfosit B. Respon imun adaptif pada tuberkulosis sangat tergantung pada imunitas yang dimediasi oleh sel T CD4⁺. Sel T CD4⁺ mengenali molekul MHC yang ada pada sitosol, fagosom dan vesikel endositik. *Mycobacterium tuberculosis* ada dalam fagosom makrofrag, maka akan mudah dideteksi oleh sel T CD4⁺ (Yanti & Faizal, 2023).

Pemeriksaan hitung jenis leukosit merupakan pemeriksaan yang menghitung persentase masing-masing leukosit dalam 100 sel leukosit. Data ini memberikan gambaran nilai absolut pada masing-masing jenis sel leukosit dengan mengalikan jumlah total sel leukosit. Ada dua metode pemeriksaan yang dapat digunakan pada pemeriksaan hitung jenis leukosit, yaitu metode manual dan metode automatic. Pada metode manual, hitung jenis sel leukosit dilakukan dengan membuat slide apusan darah yang selanjutnya diperiksa dengan mikroskop. Pada metode automatic prinsip yang digunakan adalah *flow cytometric*. Sel leukosit disuspensikan dengan pengencer selanjutnya melewati *optical flow cell*. Hasil akhirnya berupa histogram yang menampilkan dan mengklasifikasikan sel sesuai karakteristiknya (Smok KJ, 2019 dalam Hermayanti, 2023).

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

H0 : Tidak ada hubungan antara nilai *Cycle treshold (Ct)* pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) dengan hitung jenis sel leukosit pada penderita TB Paru di Kabupaten Mesuji

H1 : Ada hubungan antara nilai *Cycle treshold (Ct)* pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) dengan hitung jenis sel leukosit pada penderita TB paru di Kabupaten Mesuji