

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

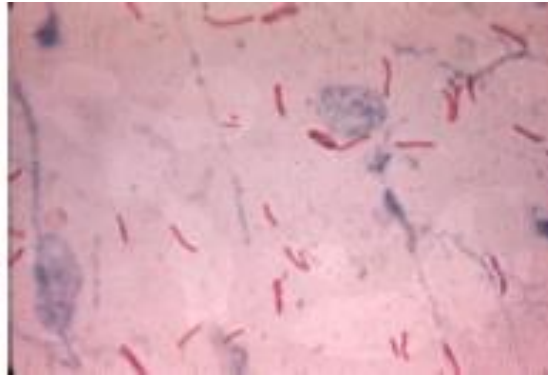
2.1. Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Hampir semua organ tubuh manusia dapat diinfeksi oleh kuman tersebut, tetapi paling banyak adalah paru-paru (TB paru). Bakteri MTB menginfeksi sekitar sepertiga penduduk dunia sehingga TB merupakan masalah kesehatan dunia yang penting (Bahar & Amin, 2014).

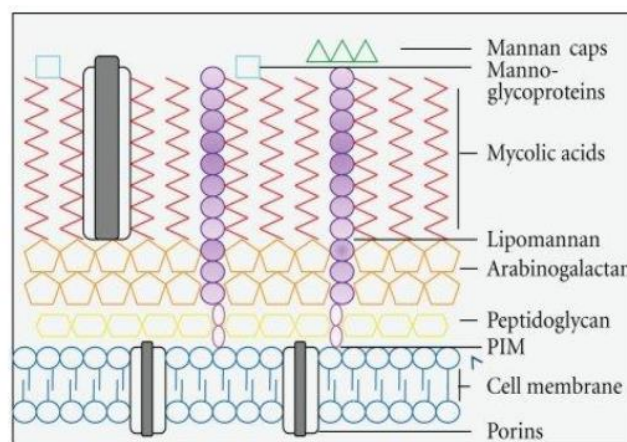
Di Indonesia, TB termasuk dalam satu dari 10 penyebab kematian dan penyebab utama agen infeksius (Kemenkes RI, 2014). Mengacu pada WHO Global TB Report tahun 2020, 10 juta orang di dunia menderita tuberkulosis (TB) dan menyebabkan 1,2 juta orang meninggal setiap tahunnya (Chakaya *et al.*, 2021). Indonesia merupakan salah satu negara dengan beban TB tertinggi di dunia dengan perkiraan jumlah orang yang jatuh sakit akibat TB mencapai 845.000 dengan angka kematian sebanyak 98.000 atau setara dengan 11 kematian/jam (Kemenkes RI, 2021).

2.1.1. Morfologi dan Struktur *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri *M. tuberculosis* memiliki ukuran bakteri lebar 0,3-0,6 μm dan panjang 1-4 μm . Bakteri ini tidak berspora dan tidak memiliki selubung, berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung. Dinding bakteri ini sangat kompleks dan terdiri dari lapisan lemak yang cukup tinggi (60%). Dinding sel *M. tuberculosis* memiliki komponen utama yang terdiri dari asam mikobakteri, lilin kompleks, *trehalosa dimikolat* yang disebut “*cord factor*”, dan *tioester* mikobakteri yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat adalah asam lemak rantai panjang (C60-C90) terkait dengan *arabinogalactan* melalui ikatan *glikolipid* dan *peptidoglikan* melalui jembatan *fosfodiester*. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri adalah polisakarida seperti *arabinogalactan* dan *arabinomannan*. Struktur kompleks dari dinding sel membuat *M. tuberculosis* tahan asam, yaitu, sekali diwarnai, mereka menolak upaya untuk menghilangkan pewarna dengan larutan asam-alkohol (Mertaniasih, 2019)



Gambar 2.1. Bakteri *M. tuberculosis*
(Sumber: Gustiani, 2014)



Gambar 2.2. Struktur Dinding Sel Bakteri *M. tuberculosis*
(Sumber: Hindawi, 2014)

2.1.2. Biomolekuler *Mycobacterium tuberculosis*

Genom *M. tuberculosis* berukuran 4,4 Mb (*megabase*), dengan kandungan *guanin* (G) dan *sitosin* (C) tertinggi. Dari hasil pemetaan gen, lebih dari 165 gen dan penanda genetik telah teridentifikasi yang terbagi dalam 3 kelompok. Gen kelompok 1 adalah urutan DNA mikobakteri yang selalu ada sebagai DNA target, kelompok II adalah urutan DNA yang mengkode antigen protein total, dan kelompok III adalah urutan DNA berulang seperti elemen penyisipan. Gen *pab* dan *groEL* mengkode protein pengikat fosfat seperti protein 38 kDa dan protein *heat shock* seperti protein 65 kDa masing-masing, gen *katG* mengkode *katalase-peroksidase*, gen *16SrRNA* (*rrs*) mengkode protein ribosom S12, dan kemudian *rpoB* gen mengkode RNA polimerase. Urutan penyisipan DNA (IS) adalah elemen genetik bergerak. Lebih dari 16 spesies IS ada di mikobakteri, termasuk

IS6110, IS1081, dan elemen mirip IS. Deteksi gen ini dapat dilakukan dengan teknik PCR dan RFLP (Abbas, 2017).

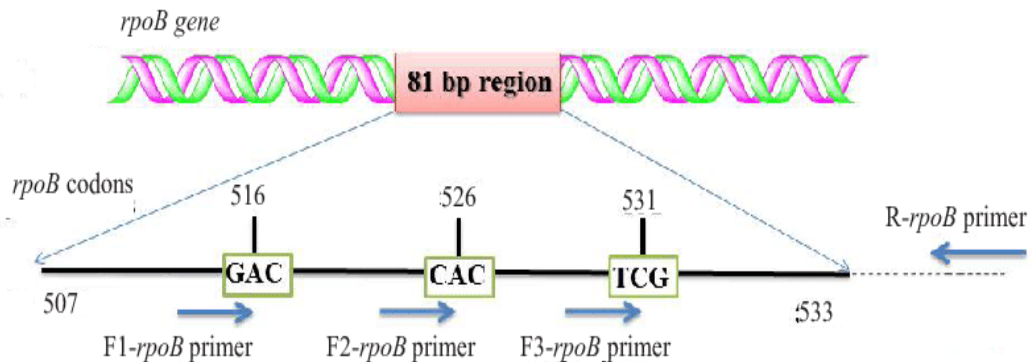
2.1.3. Metode Pemeriksaan Tuberkulosis

Metode pemeriksaan yang banyak digunakan di negara-negara endemis TB adalah mikroskopis. Namun, sensitivitas metode ini rendah, dan tidak mampu dalam menentukan kepekaan obat, serta memiliki kualitas yang berbeda-beda karena pengaruh tingkat ketrampilan teknisi dalam pengujian yang tidak sama. Diagnosis yang biasanya untuk mendeteksi TB resistan obat (TB RO) bergantung pada kultur dan uji kepekaan obat, yang membutuhkan waktu lama dan prosedur khusus untuk isolasi bakteri dari spesimen klinik, identifikasi *M.tuberculosis* (MTB) kompleks, dan pemeriksaan in vitro dalam uji kepekaan obat anti Tuberkulosis (OAT). Selama pemeriksaan, pasien mungkin menerima pengobatan yang tidak tepat, meningkatkan kemungkinan berkembangnya jenis TB yang resistan terhadap obat dan mengembangkan resistensi obat (Kurniawan *et al.*, 2015).

Penggunaan TCM Xpert MTB/RIF memungkinkan identifikasi cepat keberadaan MTB dan resistensi rifampisin secara bersamaan, yang mengarah pada inisiasi pengobatan yang lebih akurat dan pengurangan insiden TB secara keseluruhan. Berdasarkan studi skala besar yang telah dilakukan, tes TCM Xpert MTB/RIF mendekati kualitas diagnostik tes kultur dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik daripada mikroskop untuk mendiagnosis TB (Kusumawati, 2020).

Saat ini, pemeriksaan TCM dengan Xpert MTB/RIF adalah satu-satunya uji molekuler yang mencakup semua elemen reaksi yang diperlukan dalam satu *catridge*. Uji Xpert MTB/RIF memungkinkan deteksi kualitatif DNA MTB kompleks dari spesimen langsung, termasuk sputum dan non-sputum. Selain mendeteksi MTB kompleks, tes Xpert MTB/RIF juga mendeteksi mutasi pada gen *rpoB* yang menyebabkan resistensi terhadap *rifampisin*. Tes Xpert MTB/RIF dapat dengan cepat dan akurat mendiagnosis resistensi TB dan *rifampisin*, tetapi tidak dapat digunakan sebagai tes lanjutan (*Follow up*) pada pasien yang sedang menjalani pengobatan (Sirait *et al.*, 2013).

Pemeriksaan TCM dengan Xpert MTB/RIF merupakan metode deteksi molekuler berbasis *nested real-time* PCR untuk diagnosis TB. Primer PCR yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen *rpoB* MTB kompleks, sedangkan *probe* dirancang untuk membedakan sekuen *wild type* dan mutasi pada daerah inti yang berhubungan dengan resistansi terhadap rifampisin (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 2.3. Gambaran Skematis Gen *rpoB*
(Sumber: Tajbakhsh *et al.*, 2018)

Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan alat GeneXpert, yang menggunakan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi sekuen target. Sistem tersebut terdiri atas alat GeneXpert, komputer dan perangkat lunak. Setiap pemeriksaan menggunakan katrid sekali pakai dan dirancang untuk meminimalkan kontaminasi silang. *Cardtrige* Xpert MTB/RIF juga memiliki *Sample Processing Control* (SPC) dan *Probe Check Control* (PCC). *Sample processing control* berfungsi sebagai control proses yang adekuat terhadap bakteri target serta untuk memonitor keberadaan penghambat reaksi PCR, sedangkan PCC berfungsi untuk memastikan proses rehidrasi reagen, pengisian tabung PCR pada katrid, integritas *probe*, dan stabilitas *dye* (Utami *et al.*, 2021).

Sejak tahun 2010, WHO merekomendasikan penggunaan alat Xpert MTB/RIF sebagai pemeriksaan awal untuk diagnosis TB RO dan TB pada pasien HIV. Pemeriksaan Xpert MTB/RIF merupakan pemeriksaan molekuler dengan teknologi *Nucleic Acid Amplification Technology* (NAAT) yang dapat mendiagnosis TB dan resistansi terhadap Rifampisin dalam waktu 2 jam. Pada

tahun 2013, terdapat rekomendasi WHO yang menambahkan pemeriksaan TCM dapat dilakukan pada *Liquor Cerebro Spinalis* (LCS) untuk mendiagnosis meningitis TB dan tambahan rekomendasi untuk diagnosis TB pada anak dan dewasa, serta diagnosis TB Ekstra Paru. Pemeriksaan laboratorium dengan menggunakan alat TCM relatif lebih cepat dan mudah dibandingkan dengan pemeriksaan biakan dan uji kepekaan dengan metode konvensional yang membutuhkan waktu 3 - 4 bulan (Kusumawati, 2020).



Gambar 2.4. Alat TCM dan Perangkatnya (1. Buffer, 2. Cardtrige, 3. Alat TCM)
(Sumber: Kusumawati, 2020)

Penggunaan TCM untuk TB diatur melalui Permenkes No. 67 tahun 2016 tentang Penanggulangan TB dan Rencana Aksi Nasional Penanggulangan TB Melalui Penguatan Laboratorium TB 2016-2020. Fasilitas layanan kesehatan yang dilengkapi dengan TCM dapat menggunakan alat tersebut untuk diagnosis TB Sensitif Obat dan TB Resistan Obat (RO) (Kemenkes RI, 2021).

Pemeriksaan Xpert MTB/RIF dapat mendeteksi MTB kompleks dan resistansi terhadap rifampisin secara simultan dengan mengamplifikasi sekuen spesifik gen *rpoB* dari MTB kompleks menggunakan lima *probe* molecular beacons (*probe* A – E) untuk mendeteksi mutasi pada daerah gen *rpoB*. Setiap *molecular beacon* dilabel dengan *dye* *florofor* yang berbeda. *Cycle threshold* (Ct) maksimal yang valid untuk analisis hasil pada *probe* A, B dan C adalah 39 *cycle*, sedangkan pada *probe* D dan E adalah 36 *cycle* (Zhang *et al.*, 2018).

Pemeriksaan Xpert MTB/RIF sudah diatur secara otomatis sesuai dengan protokol kerja dan tidak dapat dimodifikasi oleh pengguna (Kusumawati, 2020). Pasien dianggap menderita tuberkulosis bila hasil MTB terdeteksi baik rifampisin

resistan tidak terdeteksi ataupun rifampisin resisten terdeteksi (de Mendonça *et al.*, 2021).

Pemeriksaan TB dengan TCM menggunakan sistem GeneXpert memberikan hasil pemeriksaan melalui pengukuran sinyal fluoresensi dan algoritma perhitungan otomatis. Hasil pemeriksaan TCM akan menunjukkan ada tidaknya DNA *M. tuberculosis* kompleks dan ada tidaknya mutasi penyandi resistensi rifampisin, serta perhitungan semikuantitatif berdasarkan jumlah basil pada spesimen berdasarkan nilai Ct (*high*, <16; *medium*, 16-22; *low* 22-28; *very low*, >28) (Kemenkes RI, 2020).

2.1.4. Keterbatasan Alat TCM

Disamping mempunyai berbagai kelebihan, alat TCM mempunyai keterbatasan antara lain:

- Pemeriksaan TCM dengan Xpert MTB/RIF tidak ditujukan untuk menentukan keberhasilan atau pemantauan pengobatan.
- Hasil negatif tidak menyingkirkan kemungkinan TB. Pemeriksaan tersebut harus dilakukan sejalan dengan pemeriksaan biakan MTB untuk menghindari risiko hasil negatif palsu dan untuk mendapatkan isolat MTB sebagai bahan identifikasi dan uji kepekaan.
- Hasil positif tidak selalu mengindikasikan keberadaan mikroorganisme hidup/*viable*.
- Deteksi MTB kompleks dipengaruhi oleh jumlah mikroorganisme dalam spesimen. Hasil sangat dipengaruhi cara pengumpulan, pengolahan, dan penyimpanan spesimen.
- Dokter yang mengambil keputusan medis harus menginterpretasi hasil pemeriksaan Xpert MTB/RIF sesuai dengan riwayat medis pasien, gejala, dan tanda yang ditemukan serta hasil dari uji diagnostik lainnya.
- Interferensi pemeriksaan dapat terjadi akibat keberadaan *lidocaine* (>20% v/v), *mucin* (>1.5% w/v), *ethambutol* (>5 µg/mL), *guaifenesin* (>2.5 mg/mL), *phenylephrine* (>25% v/v), atau *tea tree oil* (>0.008% v/v) (Kusumawati, 2020).

2.2. Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) adalah suatu *metaloprotein* yaitu protein yang mengandung zat besi di dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru paru keseluruh tubuh (Fitriany & Saputri, 2018). Hemoglobin merupakan penyusun eritrosit berupa protein yang mengandung zat besi dan memiliki afinitas terhadap oksigen untuk membentuk *oksihemoglobin*. Dari mekanisme afinitas tersebut maka akan dapat berlangsung proses distribusi oksigen dari *pulma* menuju jaringan (Atkinson *et al.*, 2018).

Pada hemoglobin manusia dewasa normal (*hemoglobin A*), terdapat 2 jenis rantai polipeptida yang dinamakan rantai α dan rantai β . Pada rantai α , masing-masing mengandung 141 gugus *asam amino*, sedangkan pada rantai β masing-masing mengandung 146 rantai *asam amino*. Sehingga *hemoglobin A* dinamai $\alpha_2\beta_2$. Akan tetapi tidak semua hemoglobin dalam darah dewasa normal merupakan *hemoglobin A*, sekitar 2,5% hemoglobin merupakan *hemoglobin A2*, tempat rantai β diganti oleh rantai δ ($\alpha_2\delta_2$) (Rujito, 2019).

Adanya hemoglobin dalam darah ini menyebabkan eritrosit berwarna merah, karena hemoglobin merupakan penyusun 30% dari total isi eritrosit. Hemoglobin mempunyai berat molekul penyusun 64.450 dan merupakan suatu molekul yang dibentuk oleh 4 rantai polipeptida, dimana pada tiap polipeptida melekat pada gugus *heme*. *Heme* adalah suatu turunan *porfirin* yang mengandung besi (*Fe*). Polipeptida ini dinamai secara bersama sebagai bagian dari *globin* dari molekul hemoglobin. Adapun fungsi dari hemoglobin ini sebagai alat transportasi O_2 serta membawa hasil akhir proses respirasi CO_2 (Hasdianah & Suprpto, 2016).

2.2.1. Pengukuran Kadar Hemoglobin

Penentuan kadar Hb dengan kolorimetrik visual seperti cara sahli, cara *oksihemoglobin* (HbO_2), cara *cyanmethemoglobin* ($HiCN$) dan *sodium laury sulfat* ($Hb SLS$). ICSH menganjurkan *Cyanmethemoglobin*. Metode sahli tidak disarankan, sebab galat besar, alat tidak distandarisasi dan jenis hemoglobin tidak semua diubah menjadi hematin asam, seperti *karboksihemoglobin*, *methemoglobin*, dan *sulhemoglobin* (Ashish, 2017).

Hemoglobin sangat baik ditentukan menggunakan darah vena yang diantikoagulasi menggunakan *etilendiamin tetraacetic acid* (EDTA). Darah kapiler telinga, ujung jari, dan tumit dapat digunakan tetapi hasil tidak akurat karena cairan intestinal dapat mengakibatkan terjadinya pengenceran sampel darah kapiler, sehingga hasil pengukuran Hb yang diperoleh dari metode tersebut cenderung lebih besar. Metode *cyanmethemoglobin* adalah metode yang direkomendasikan oleh ICSH dan dianggap paling teliti berdasarkan anjuran WHO (Erzsebet, 2016).

2.2.2. Prinsip Metode Pemeriksaan Hemoglobin Cyanmeth

Hemoglobin (Hb) akan diubah menjadi *Karboxylhemoglobin* dan *Methemoglobin*. Kecuali *Sulfhemoglobin* diubah menjadi *Cyanmethemoglobin* dalam larutan *drabkins* yang terdapat kalium sianida dan kalium *Fery Cyanide*. Ekstensi larutan atau absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Dilanjutkan pengisian tabung kolorimetri dengan 5 ml larutan *drabskins*. Dengan pipet Hb diambil 20 ul darah EDTA. Larutan dicampur dan dibiarkan selama 5 menit. Hal tersebut akan merubah Hb menjadi *cyanmethemoglobin*. Kemudian larutan dibaca dengan blanko menggunakan larutan *drabkins*. Kadar Hb ditentukan dengan banding absorbansi standart *cyanmethemoglobin* atau kurva tera. Hemoglobin oleh $K_3Fe(CN)_6$ diubah menjadi *methemoglobin* yang kemudian akan menjadi Hb *sianida* (HiCN) oleh KCN. Penambahan KH_2PO_4 mengatur pH larutan. Penambahan *non ionic* detergen bertujuan mengurangi kecepatan lisis sel darah merah dan kekeruhan HiCN (Gandasoebrata, 2013)

Nilai batas normal hemoglobin dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 2.1. Nilai Normal Kadar Hemoglobin

Umur	Kadar Hemoglobin
Bayi baru lahir	16-23 g/dL
Anak - anak (<14 th)	10-14 g/dL
Laki - laki dewasa	13-17 g/dL
Wanita dewasa tidak hamil	12-16 g/dL
wanita dewasa hamil	11-13 g/dL

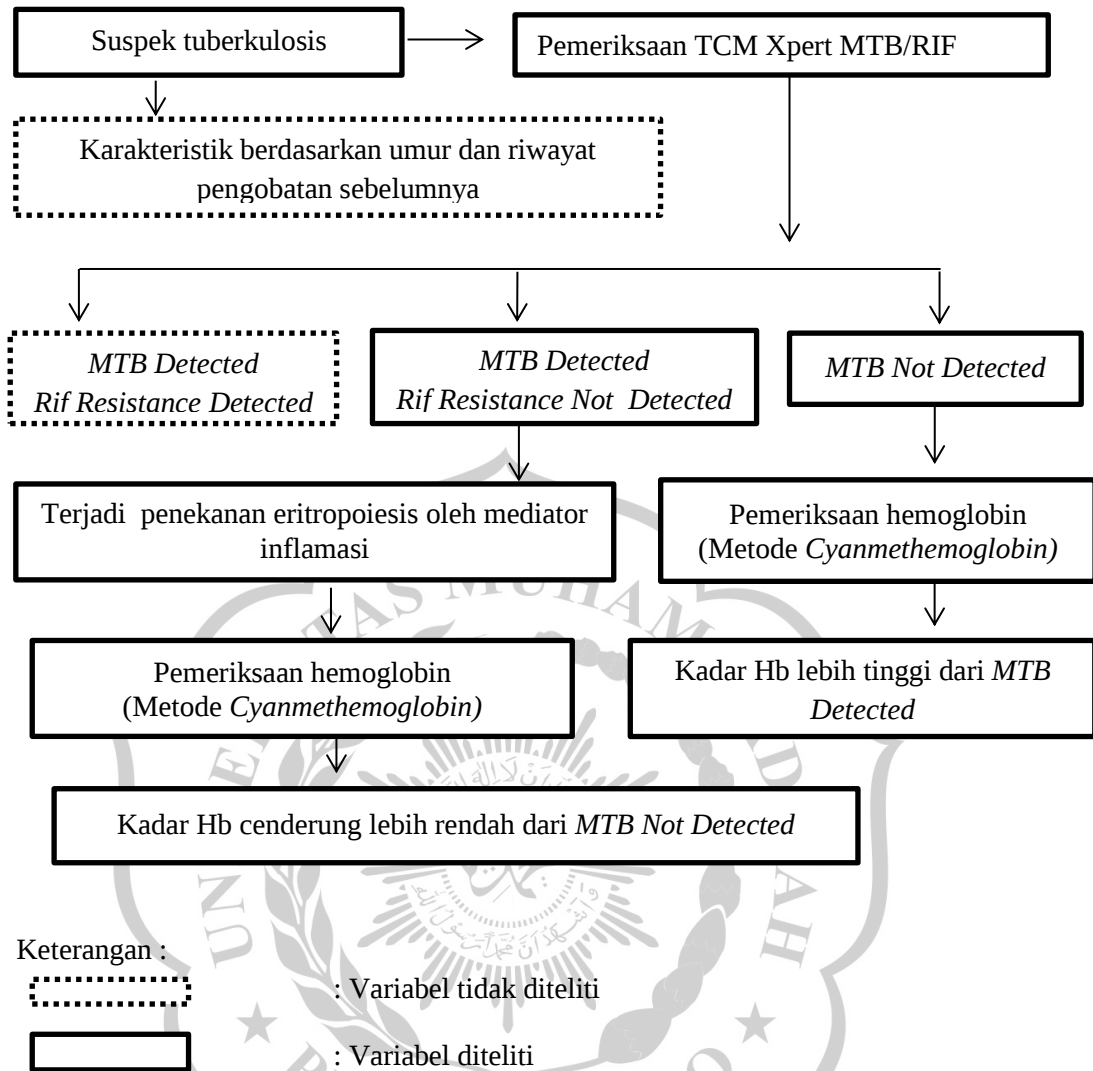
(Sumber: Estrige & Reynolds, 2012)

2.2.3. Hemoglobin dan Tuberkulosis

Pada penderita TB, anemia merupakan komplikasi yang bisa terjadi. Pemantauan terjadinya anemia dapat dilakukan dengan pemeriksaan hemoglobin, jumlah eritrosit, hematokrit, dan indeks eritrosit. Anemia dan malnutrisi juga menjadi faktor resiko untuk kegagalan terapi, rekurensi dan kematian (Nasution, 2015). Ada bukti anemia lebih sering terjadi pada pasien tuberkulosis daripada pada kontak tuberkulosis yang terinfeksi mikobakteri tuberkulosis dan kontrol sehat. Derajat anemia diklasifikasikan menurut kriteria WHO yaitu anemia ringan bila kadar hemoglobin: 11,0-12,9 g/dL (pria) dan 11,0–11,9 g/dL (wanita), anemia sedang: 8,0-10,9 g/dL (kedua jenis kelamin), dan anemia berat: <8,0 g/dL (kedua jenis kelamin) (de Mendonça *et al.*, 2021).

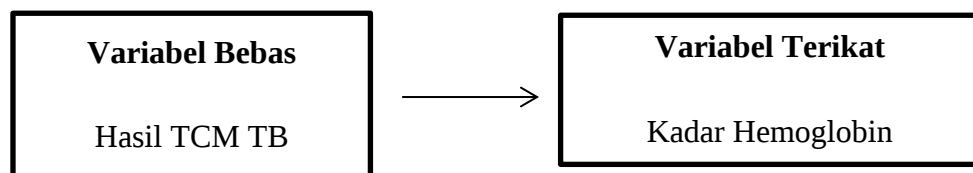
Ketika *M. tuberculosis* menginfeksi satu organ seperti paru-paru menyebabkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin yang dapat menyebabkan anemia dalam waktu beberapa minggu setelah terjadinya infeksi dan kemudian perlahan berkembang selama beberapa bulan (Bashir *et al.*, 2015). Anemia pada penderita tuberkulosis paru terjadi karena terjadinya penekanan eritropoiesis oleh mediator inflamasi. Kekurangan nutrisi dan sindrom malabsorpsi juga dapat memperparah anemia pada penderita tuberkulosis paru (Nasution, 2015).

2.2. Kerangka Teori



Gambar 2.5. Kerangka Teori
(Sumber: Nasution, 2015)

2.3. Kerangka Konsep



2.4. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

H_0 =tidak ada hubungan hasil TCM tuberkulosis dengan kadar hemoglobin pada suspek tuberkulosis.

H_a = ada hubungan hasil TCM tuberkulosis dengan kadar hemoglobin pada suspek tuberkulosis.

