

1. Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* dan masih menjadi salah satu penyebab utama kematian akibat penyakit menular di dunia (World Health Organization, 2023). Penyakit ini terutama menyerang paru-paru sebagai pulmonary TB (PTB), namun juga dapat mengenai organ lain sebagai extra-pulmonary TB (EPTB) (Pai et al., 2016).

Respons imun terhadap infeksi *M. tuberculosis* melibatkan aktivasi makrofag, sel T, serta produksi berbagai sitokin proinflamasi. Proses ini diikuti oleh perubahan ekspresi gen yang berperan dalam mekanisme pertahanan inang dan proses inflamasi (O'Garra et al., 2013). Perubahan ekspresi gen tersebut dapat dipelajari melalui pendekatan transcriptomics untuk memahami mekanisme patogenesis serta respons imun terhadap TB (Berry et al., 2010).

Analisis ekspresi gen berbasis transcriptomics memungkinkan identifikasi differentially expressed genes (DEGs) yang berperan dalam perkembangan penyakit. Dengan membandingkan profil ekspresi gen antara pasien TB aktif dan individu sehat, dapat diidentifikasi gen yang berpotensi menjadi biomarker diagnosis maupun target terapi (Zak et al., 2016).

Berdasarkan hal tersebut, analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen-gen yang berbeda ekspresinya antara pasien TB aktif (gabungan PTB dan EPTB) dan kontrol sehat menggunakan dataset GSE83456 melalui platform GEO2R.

2. Metode

a. Dataset dan Pembagian Grup

Analisis dilakukan menggunakan dataset GSE83456 yang diperoleh dari database Gene Expression Omnibus (GEO), NCBI. Dataset ini berisi data ekspresi gen dari sampel darah dengan beberapa kondisi, yaitu pulmonary TB (PTB), extra-pulmonary TB (EPTB), healthy control (HC), dan sarcoid.

Pada analisis ini, sampel sarcoid tidak disertakan karena bukan termasuk infeksi TB dan berpotensi menimbulkan bias biologis. Sampel kemudian dibagi menjadi dua kelompok, yaitu TB aktif yang merupakan gabungan sampel PTB dan EPTB, serta healthy control yang terdiri dari individu sehat tanpa TB. Penggabungan PTB dan EPTB dilakukan karena keduanya merupakan bentuk TB aktif yang melibatkan respons imun sistemik terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

b. Analisis Differential Expression

Analisis ekspresi gen dilakukan menggunakan GEO2R, yaitu tool berbasis web yang menggunakan paket limma untuk mengidentifikasi gen yang mengalami perubahan ekspresi antar kelompok. Perbandingan dilakukan antara kelompok TB aktif dan healthy control.

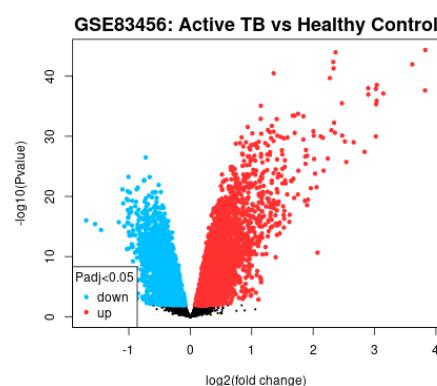
Parameter utama yang digunakan adalah koreksi uji berganda menggunakan metode Benjamini–Hochberg (FDR), dengan kriteria gen signifikan berupa adjusted p-value < 0,05 dan $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$. Gen dengan nilai logFC positif dikategorikan sebagai up-regulated, sedangkan gen dengan logFC negatif dikategorikan sebagai down-regulated pada kondisi TB.

c. Skema Replikasi

Analisis dilakukan sebanyak tiga kali dengan parameter yang sama untuk memastikan konsistensi hasil. Setiap sampel dalam dataset berasal dari individu biologis yang berbeda, sehingga termasuk biological replicates yang dapat meningkatkan keandalan hasil analisis.

3. Hasil dan Interpretasi

Setelah dilakukan analisis differential gene expression menggunakan GEO2R, diperoleh berbagai output visual yang menunjukkan perbedaan profil ekspresi gen antara kelompok TB aktif dan kontrol sehat. Berdasarkan kriteria adjusted p-value < 0,05, diperoleh 10.770 gen signifikan, sedangkan 36.461 gen tidak signifikan. Jumlah gen signifikan yang cukup besar menunjukkan adanya perubahan ekspresi gen secara luas pada kondisi TB aktif.

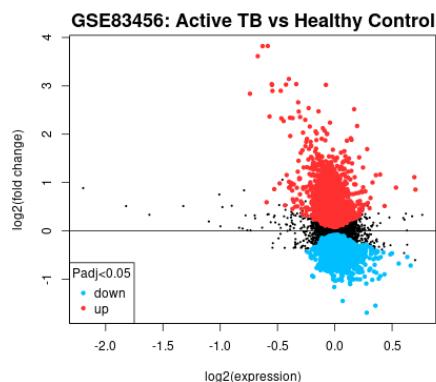


Gambar 1. Volcano Plot

Pada volcano plot terlihat bahwa sebagian gen mengalami peningkatan ekspresi, sedangkan sebagian lainnya mengalami penurunan ekspresi. Gen yang mengalami

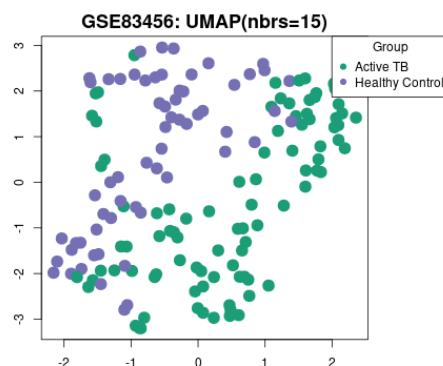
peningkatan ekspresi umumnya berkaitan dengan respons imun, jalur interferon, dan proses inflamasi, yang merupakan mekanisme utama tubuh dalam melawan infeksi M. tuberculosis. Hal ini sesuai dengan karakteristik TB sebagai penyakit infeksi yang memicu aktivasi sistem imun seluler.

Sebaliknya, gen yang mengalami penurunan ekspresi diduga berhubungan dengan fungsi metabolisme dan aktivitas sel normal. Penurunan ini menunjukkan adanya perubahan prioritas sel selama infeksi, di mana energi sel lebih difokuskan pada respons imun dibandingkan fungsi fisiologis biasa.



Gambar 2. Plot Ekspresi Gen

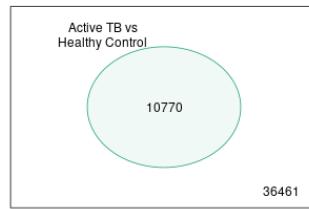
Plot ini memperlihatkan distribusi gen berdasarkan nilai ekspresi dan fold change. Terlihat adanya kelompok gen yang meningkat dan menurun secara signifikan antara TB aktif dan kontrol sehat. Pola ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas gen yang jelas antara kondisi sakit dan sehat.



Gambar 3. UMAP

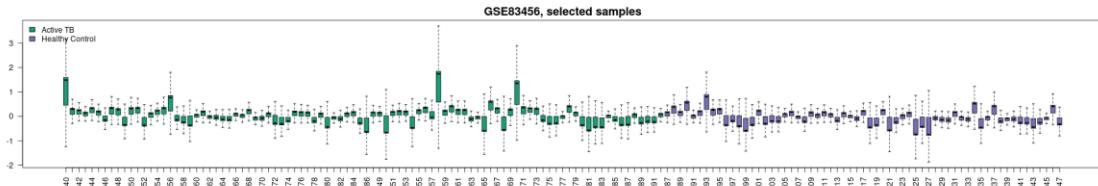
Grafik UMAP menunjukkan pemisahan sampel berdasarkan pola ekspresi gen. Sampel TB aktif dan kontrol sehat terlihat membentuk kelompok yang cukup terpisah. Hal ini menandakan bahwa profil ekspresi gen pada pasien TB berbeda dari individu sehat.

GSE83456: limma, Padj<0.05

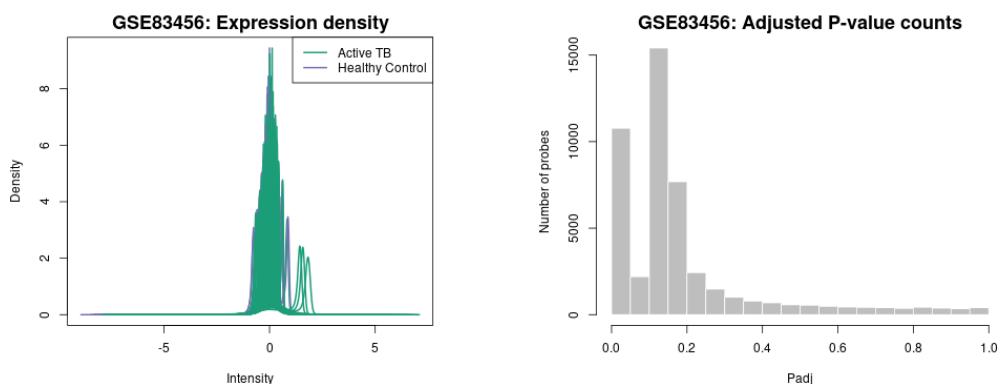


Gambar 4. Ringkasan Gen Signifikan

Berdasarkan kriteria adjusted p-value < 0,05, diperoleh 10.770 gen signifikan dan 36.461 gen tidak signifikan. Jumlah gen signifikan yang cukup besar menunjukkan adanya perubahan ekspresi gen secara luas pada kondisi TB aktif dibandingkan kontrol sehat.

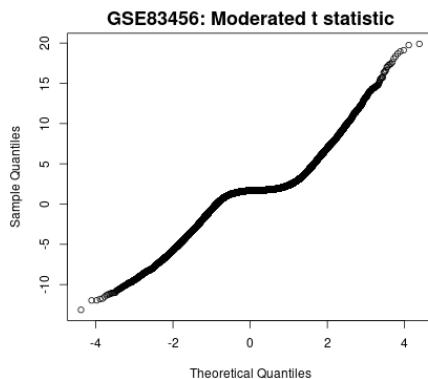


Gambar 5. Boxplot Ekspresi Sampel

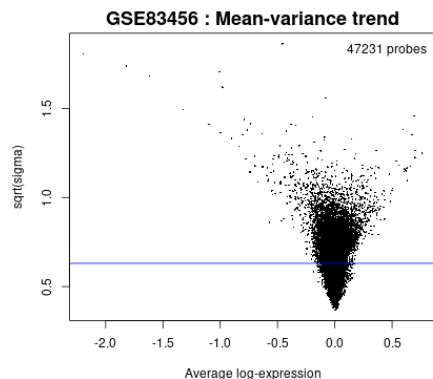


Gambar 6. Density Plot

Gambar 7. Histogram Adjusted P-value



Gambar 8. QQ Plot



Gambar 9. Mean–Variance Trend

Serangkaian plot pada gambar 5–9 digunakan untuk mengevaluasi kualitas data serta kesesuaian model statistik yang digunakan. Boxplot menunjukkan distribusi ekspresi gen antar sampel yang relatif seragam, yang menandakan proses normalisasi berjalan dengan baik dan tidak terdapat penyimpangan ekstrem.

Hal tersebut diperkuat oleh density plot yang memperlihatkan pola distribusi ekspresi gen yang serupa antar sampel, sehingga data dianggap cukup homogen untuk analisis lanjutan. Histogram adjusted p-value menunjukkan adanya akumulasi gen dengan nilai p kecil, yang menandakan keberadaan gen-gen yang berubah secara signifikan antara dua kelompok.

QQ plot memperlihatkan sebagian besar titik mengikuti garis diagonal, yang menunjukkan bahwa distribusi statistik uji sesuai dengan model yang digunakan. Selain itu, plot mean–variance menunjukkan hubungan yang stabil antara rata-rata ekspresi gen dan variansinya, yang menandakan model limma mampu menangani variasi data dengan baik.

Secara keseluruhan, hasil pada gambar 5–9 menunjukkan bahwa kualitas data dan pendekatan analisis yang digunakan sudah memadai, sehingga hasil identifikasi gen signifikan dapat dianggap cukup reliabel.

4. Kesimpulan

Analisis ekspresi gen pada dataset GSE83456 menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pasien TB aktif dan individu sehat. Gen yang meningkat ekspresinya umumnya berperan dalam respons imun dan inflamasi, sedangkan gen yang menurun berkaitan dengan fungsi metabolismik sel. Hasil ini menunjukkan bahwa pendekatan transcriptomics dapat digunakan untuk mengidentifikasi gen penting yang berpotensi menjadi biomarker maupun target terapi pada penyakit tuberkulosis.

Daftar Pustaka

- Berry, M. P. R., et al. (2010). An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature*, 466(7309), 973–977.
<https://doi.org/10.1038/nature09247>
- O'Garra, A., et al. (2013). The immune response in tuberculosis. *Annual Review of Immunology*, 31, 475–527.
<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095939>
- Pai, M., et al. (2016). Tuberculosis. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16076.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.76>
- Ritchie, M. E., et al. (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, 43(7), e47.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- World Health Organization. (2023). *Global tuberculosis report 2023*.
<https://doi.org/10.52549/9789240083851>
- Zak, D. E., et al. (2016). A blood RNA signature for tuberculosis disease risk. *The Lancet*, 387(10035), 2312–2322.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01316-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01316-1)