



**PENGARUH EKSTRAK ALBUMIN IKAN GABUS (*Chana striata*)
TERHADAP KADAR IFN- γ PASIEN TUBERKULOSIS PARU
DENGAN PENGOBATAN FASE INTENSIF**

SKRIPSI

Oleh:

**Henggar Allest Pratama
NIM 122010101080**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH EKSTRAK ALBUMIN IKAN GABUS (*Chana striata*)
TERHADAP KADAR IFN- γ PASIEN TUBERKULOSIS PARU
DENGAN PENGOBATAN FASE INTENSIF**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

Henggar Allest Pratama
NIM 122010101080

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dengan hidayah yang diberikan dalam setiap langkah pendidikan yang saya ambil;
2. Nabi Muhammad SAW beserta sahabatnya yang telah memberikan pedoman kepada saya berupa agama Islam;
3. Ibu saya Sri Lestari dan simbah putri Sukini yang telah memberikan do'a, dukungan, pengorbanan, kasih sayang, dan didikannya kepada saya;
4. Keluarga besar saya yang memberikan dukungan moril dan materi;
5. Teman-teman yang selalu saling menasihati dalam kebenaran dan saling menasihati dalam kesabaran;
6. Para pahlawan tanpa tanda jasa yang memberikan ilmunya dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

MOTO

Dan barang siapa yang menyerahkan dirinya kepada Allah, sedang dia orang yang berbuat kebaikan, maka sesungguhnya ia telah berpegang kepada buhul tali yang kokoh. Dan hanya kepada Allah-lah kesudahan segala urusan.*)

Cukup Allah sebagai penolong kami dan Dia sebaik-baik pelindung.**)

...Barangsiapa bertakwa kepada Allah niscaya Dia akan membukakan jalan keluar baginya. Dan Dia memberinya rezeki dari arah yang tidak disangka-sangkanya... ***)

*) Qur'an Surat Al Luqman ayat 22

**) Qur'an Surat Al Imran ayat 173

***) Qur'an Surat Ath Thalaq 2,3

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Henggar Allest Pratama

NIM : 122010101080

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*) terhadap Kadar IFN- γ Pasien Tuberkulosis Paru dengan Pengobatan Fase Intensif” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 November 2015

Yang menyatakan,

Henggar Allest Pratama

NIM 122010101080

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ALBUMIN IKAN GABUS (*Chana striata*)
TERHADAP KADAR IFN- γ PASIEN TUBERKULOSIS PARU
DENGAN PENGOBATAN FASE INTENSIF**

Oleh

Henggar Allest Pratama
NIM 122010101080

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Erfan Efendi, Sp. An

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rini Riyanti, Sp. PK

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*) terhadap Kadar IFN- γ Pasien Tuberkulosis Paru dengan Pengobatan Fase Intensif” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 3 Desember 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes
NIP 19690203 199903 1 001

Penguji III,

dr. Erfan Efendi, Sp.An
NIP 19680328 199903 1 001

Penguji II,

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech
NIP 19840819 200912 2 003

Penguji IV,

dr. Rini Riyanti, Sp.PK
NIP 19720328 199903 2 001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*) terhadap Kadar IFN- γ Pasien Tuberkulosis Paru dengan Pengobatan Fase Intensif; Henggar Allest Pratama; 122010101080; 2015; 65 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tuberkulosis (TB) hingga saat ini masih merupakan penyakit dengan jumlah kasus yang sangat besar. TB paru adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis* di jaringan paru. Berdasarkan *Global Tuberculosis Report* 2014, pada tahun 2013 diperkirakan 9 juta orang terinfeksi TB. Indonesia menempati urutan ke tiga dalam jumlah kasus TB terbesar setelah India dan Cina.

Pada tahun 2005, *Center of Disease Control And Prevention* mempublikasikan *guideline* baru tentang upaya diagnosis TB dengan metode IGRA (*Interferon Gamma Release Assay*), yaitu dengan memeriksa kadar IFN- γ dalam darah. *Mycobacterium tuberculosis* akan mempresentasikan antigen spesifik ESAT-6 dan CFP-10 yang akan dipresentasikan ke sel Th untuk memproduksi IFN- γ . IFN- γ akan berikatan dengan IFNGR di permukaan sel makrofag untuk mengaktifasi makrofag membunuh *Mycobacterium tuberculosis*. Namun, *Mycobacterium tuberculosis* dapat melawan proses ini dengan mengaktifasi peningkatan SOCS1 yang mampu menghambat proses signaling IFN- γ . Waktu paruh SOCS1 yang lebih panjang daripada waktu paruh IFN- γ . Selain itu pasien TB sering disertai dengan kondisi hipoalbumin padahal albumin dapat meningkatkan waktu paruh dari IFN- γ . Meningkatnya waktu paruh IFN- γ dapat meningkatkan potensiasinya melawan hambatan dari SOCS1.

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan sumber alternatif albumin berkadar tinggi. Ikan gabus memiliki kandungan protein yang tertinggi dibandingkan dengan ikan sejenisnya. Pemberian ekstrak albumin ikan gabus 1500 mg per hari selama 30 hari dapat memberikan *supply* asam amino yang dibutuhkan untuk sintesis albumin. Meningkatnya albumin dalam darah akan meningkatkan potensiasi IFN- γ dalam membunuh *Mycobacterium tuberculosis*. Semakin sedikit jumlah *Mycobacterium*

tuberculosis maka antigen ESAT-6 dan CFP-10 yang dihasilkan akan semakin sedikit sehingga kadar IFN- γ akan menurun.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus terhadap kadar IFN- γ pada pasien tuberkulosis paru. Jenis penelitian ini adalah *quasy experimental* dengan metode pengambilan sampel *total random sampling* yang berasal dari populasi pasien TB paru 6 puskesmas di Jember yang memenuhi kriteria. Dari populasi tersebut diambil 30 orang yang dibagi menjadi dua kelompok (kontrol dan perlakuan). Selanjutnya dilakukan pretest dilanjutkan pemberian *placebo*/kapsul albumin ikan gabus selama 30 hari kemudian dilakukan posttest. Didapatkan 24 subjek penelitian yang menyelesaikan penelitian (11 orang kelompok perlakuan dan 13 orang kelompok kontrol).

Data yang didapatkan kemudian dianalisis melalui 3 tahapan. Pertama, dilakukan uji *Independent T Test* pada hasil pretest kedua kelompok untuk mengetahui keseragaman kadar IFN- γ . Hasilnya didapatkan nilai signifikansi $p = 0,933$ ($p \geq 0,05$) yang menandakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar IFN- γ pretest antara kedua kelompok. Kedua, dilakukan uji *Paired T Test* pada masing-masing kelompok untuk mengetahui signifikansi perubahan kadar IFN- γ pretest dan posttest pada kedua kelompok. Hasilnya didapatkan nilai signifikansi $p = 0,030$ ($p \leq 0,05$) pada kelompok kontrol dan $p = 0,006$ ($p \leq 0,05$) pada kelompok perlakuan. Hasil ini berarti terdapat perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan dengan kelompok perlakuan lebih signifikan. Ketiga, menguji delta kadar IFN- γ kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan *Independent T Test*. Hasilnya didapatkan nilai signifikansi $p = 0,061$ ($p \geq 0,05$) yang berarti perbedaan delta IFN- γ pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol tidak bermakna. Kesimpulannya, pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) dapat menurunkan kadar IFN- γ pasien tuberkulosis paru lebih signifikan daripada kelompok kontrol namun perbedaan signifikansi tersebut tidak bermakna jika dibandingkan dengan penurunan pada kelompok kontrol.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*) terhadap Kadar IFN- γ Pasien Tuberkulosis Paru dengan Pengobatan Fase Intensif”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Muhammad Hasan, M.Kes, Sp.OT selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya selama penulis menjadi mahasiswa;
3. dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Rini Riyanti, Sp.PK selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Mas Anas Bakhtiar Diyansah, Geraldi Kusuma Wijaya, Aulia Suri Agung, Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra, dan Muhammad Erdian Dwi Ramadhani yang telah membantu dan menginspirasi penelitian ini;
5. Petugas Puskesmas Mayang, Kalisat, Arjasa, Kaliwates, Sumberstri, dan Patrang yang telah membantu terlaksananya penelitian ini;
6. Analis dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, November 2015

Penulis

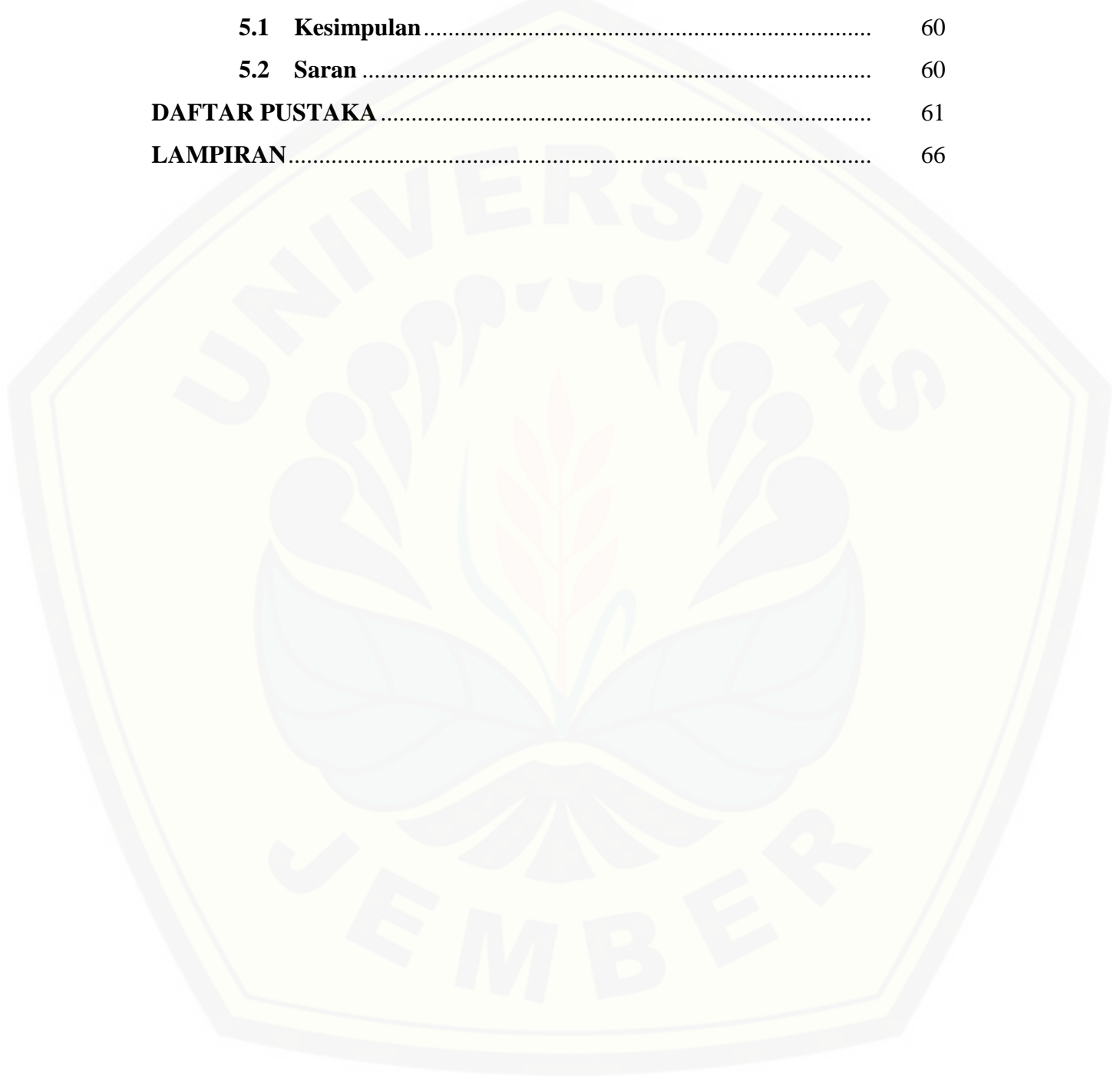
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tuberkulosis	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Patogenesis.....	7
2.1.4 Diagnosis.....	11
2.1.5 Klasifikasi	13

2.1.6	Penularan dan Penyebaran	14
2.1.7	Terapi	15
2.2	Interferon	15
2.2.1	Pengertian Interferon.....	15
2.2.2	Klasifikasi Interferon	16
2.2.3	Produksi Interferon	16
2.2.4	IFN- γ	17
2.2.5	Penggunaan IFN- γ Dalm Mendiagnosis TB	18
2.2.6	Hambatan Proses Signaling IFN- γ oleh <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	20
2.3	Albumin	21
2.3.1	Pengertian Albumin	21
2.3.2	Hipoalbumin Pada Tuberkulosis	22
2.3.3	Keterkaitan Albumin dengan IFN- γ dan TB.....	22
2.4	Ikan Gabus (<i>Chana striata</i>)	23
2.5	Kerangka Konsep	27
2.6	Hipotesis Penelitian	28
BAB 3.	METODE PENELITIAN	29
3.1	Jenis Penelitian	29
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	29
3.3.1	Populasi Penelitian	29
3.3.2	Kriteria Sampel Penelitian.....	29
3.3.3	Teknik Pengambilan Sampel.....	30
3.4	Rancangan Penelitian	31
3.5	Variabel Penelitian	32
3.5.1	Variabel Bebas.....	32
3.5.2	Variabel Terikat.....	32
3.5.3	Variabel Terkendali	32

3.6	Definisi Operasional	32
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	33
	3.7.1 Alat	33
	3.7.2 Bahan.....	33
3.8	Prosedur Penelitian	33
	3.8.1 Penyediaan Ekstrak Albumin Ikan Gabus (<i>Chana striata</i>).....	33
	3.8.2 Persiapan Dokumen Penelitian.....	34
	3.8.3 Pemeriksaan Skrining.....	34
	3.8.4 Pretest	36
	3.8.5 Pemberian Kapsul Ekstrak Albumin Ikan Gabus (<i>Chana striata</i>).....	37
	3.8.6 Posttest.....	37
3.9	Analisis Data	38
3.10	Alur Kerja Penelitian	39
3.11	Uji Kelayakan Etik	40
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1	Hasil Penelitian	41
	4.1.1 Karakteristik Subjek Penelitian	41
	4.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar IFN- γ	47
4.2	Analisis Data	49
	4.2.1 <i>Independet T Test</i> Hasil Pretest Kedua Kelompok.....	50
	4.2.2 <i>Paired T Test</i> Kelompok Kontrol dan Perlakuan	51
	4.2.3 <i>Independent T Test</i> Delta Kedua Kelompok	51
4.3	Pembahasan	53
	4.3.1 Konsep Perubahan Kadar IFN- γ pada Tuberkulosis Paru dan Pengaruhnya terhadap Pemberian Kapsul Ekstrak Albumin Ikan Gabus (<i>Chana striata</i>)	53
	4.3.2 Intepretasi Karakteristik Subjek Penelitian	55

4.3.3 Penjelasan Analisis Data	56
BAB 5. PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	66



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Perbandingan kandungan protein ikan gabus (<i>Chana striata</i>) dengan ikan lain.....	24
2.2 Perbandingan kandungan protein ikan gabus (<i>Chana striata</i>) dengan makanan lain	25
2.3 Kandungan 100 ml ekstrak ikan gabus (<i>Chana striata</i>)	25
3.1 Perbandingan perlakuan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan....	32
4.1 Tabulasi distribusi subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin	42
4.2 Tabulasi distribusi jenis kelamin kelompok kontrol dan perlakuan.....	43
4.3 Tabulasi distribusi subjek penelitian berdasarkan kelompok usia	44
4.4 Tabulasi distribusi kelompok usia pada kelompok kontrol dan Perlakuan	45
4.5 Tabulasi distribusi subjek penelitian berdasarkan kriteria BMI	46
4.6 Tabulasi distribusi kriteria BMI kelompok kontrol dan perlakuan.....	47
4.7 Pemeriksaan kadar IFN- γ pretest	48
4.8 Pemeriksaan kadar IFN- γ posttest.....	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kemungkinan nasib <i>Mycobacterium tuberculosis</i> setelah difagositosis.	8
2.2 Replikasi dan penghancuran <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dengan presentasi antigen dan sel dendritik (APCs).....	9
2.3 Struktur penyusun granuloma	10
2.4 Skema diagnosis tuberkulosis paru di Indonesia	12
2.5 Mekanisme produksi dan efek interferon.....	17
2.6 Ikan gabus (<i>Chana striata</i>)	24
2.7 Skema kerangka konsep penelitian	27
3.1 Skema rancangan penelitian.....	31
3.2 Skema alur kerja penelitian.....	39
4.1 Grafik distribusi subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin	42
4.2 Grafik distribusi jenis kelamin kelompok kontrol dan perlakuan.....	43
4.3 Grafik distribusi subjek penelitian berdasarkan kelompok usia	44
4.4 Grafik distribusi kelompok usia pada kelompok kontrol dan perlakuan	45
4.5 Grafik distribusi subjek penelitian berdasarkan kriteria BMI.....	46
4.6 Grafik distribusi kriteria BMI kelompok kontrol dan perlakuan	47
4.7 Urutan pelaksanaan uji statistik	50
4.8 Grafik delta IFN- γ kelompok kontrol dan perlakuan.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	66
B. Tabel Jenis Kelamin, Usia, BMI, dan Hasil Skrining Pemeriksaan SGOT SGPT dan Protein Rebus Subjek Penelitian.....	68
C. <i>Informed Consent</i>	70
D. Naskah Persetujuan.....	71
E. Lembar Biodata PMO.....	75
F. Lembar Ketaatan Minum Obat	76
G. Tabel dan Analisis Statistik	81
G.1 <i>Independent T Test</i> Hasil Pretest Kedua Kelompok	81
G.2 <i>Paired T Test</i> Kelompok Kontrol dan Perlakuan	84
G.3 <i>Independent T Test</i> Delta Kedua Kelompok.....	90
H. Perizinan Dinas Kesehatan Kabupaten Jember	92
I. Perizinan Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.....	95

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) hingga saat ini masih merupakan penyakit dengan jumlah kasus yang sangat besar. Berdasarkan Global Tuberculosis Report 2014, pada tahun 2013 diperkirakan 9 juta orang terinfeksi TB (1,5 juta diantaranya kasus baru) dan 1,5 juta diantaranya meninggal akibat TB. Dari 9 juta orang yang terinfeksi TB 56 % diantaranya berasal dari Asia Tenggara. Persentase ini merupakan penyumbang kasus TB tertinggi di dunia. Indonesia menempati urutan ke tiga dalam jumlah kasus TB terbesar setelah India dan Cina (WHO, 2014). Jawa Timur merupakan penyumbang TB terbesar kedua di Indonesia. Kabupaten Jember menduduki peringkat kedua setelah Surabaya sebagai penyumbang TB terbesar di Jawa Timur dengan jumlah 3.104 penderita TB (Kemenkes 2014).

TB adalah suatu penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Diagnosis TB ditentukan berdasarkan adanya gejala klinik dan dipastikan dengan pemeriksaan penunjang. Gejala klinik yang sering menyertai TB adalah berupa gejala respiratorik (batuk produktif disertai darah dan nyeri dada) dan gejala sistemik (anoreksia, malaise, dan keringat malam). Pemeriksaan penunjang yang dapat memastikan diagnosis TB adalah pemeriksaan BTA sputum dan foto rontgen Thorax (Parhusip, 2009).

Penelitian terkait diagnosis TB terus dikembangkan. Hal ini dilatar belakangi oleh adanya kasus TB yang tidak menunjukkan BTA positif dan gambaran rontgen thorax yang tidak jelas. Pada tahun 2005, *Center of Disease Control and Prevention* (CDC) mempublikasikan *guideline* baru tentang upaya diagnosis TB dengan menggunakan QuantiFERON TB Gold Test dengan cara IGRA (*Interferon Gamma Release Assay*). Prosedur diagnostik ini dapat mendeteksi adanya kuman TB di dalam tubuh baik dalam fase infeksi aktif maupun fase laten (Mazurek *et al.*, 2010).

Mycobacterium tuberculosis dapat menurunkan sistem imun tubuh. Ketika tubuh terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, presentasi antigen spesifik ESAT-6 dan CFP-10 akan memicu respon tubuh untuk mengeluarkan Interferon- γ (IFN- γ). IFN- γ inilah yang akan berikatan dengan *Interferon Gamma Reseptor* (IFNGR) di makrofag untuk mengaktivasi makrofag menghancurkan *Mycobacterium tuberculosis* yang masuk. Namun, dalam dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* terdapat lipoarabinomanan dan 19kDa lipoprotein yang mampu menginduksi peningkatan SOCS1 (*Suppressor of Cytokine Signaling*). SOCS1 dapat berikatan dengan reseptor IFN- γ di makrofag dan menghambat ikatan IFN- γ dengan IFNGR di makrofag. Selanjutnya, SOCS1 akan menginaktivasi JAK2 sehingga tidak terjadi efek aktivasi makrofag akibat signaling IFN- γ (Yoshimura *et al.*, 2013). *Mycobacterium tuberculosis* yang belum dapat dihancurkan akan tetap memunculkan ekspresi antigen spesifik ESAT-6 dan CFP-10 sehingga memicu produksi IFN- γ . Akibatnya kadar IFN- γ dalam darah tetap tinggi dan secara tidak langsung dapat dijadikan marker adanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* lewat pemeriksaan IGRA (Pai *et al.*, 2014).

Pasien tuberkulosis paru mengalami hipoalbuminemia. Hal ini karena adanya penurunan sintesis albumin di hepar (Pratomo, 2012). Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dapat memicu produksi sitokin pro-inflamasi (IL-6, TNF- α , IL-1 β) yang dapat menghambat sintesa albumin dengan menghambat pembentukan mRNA dalam proses sintesis albumin. Akibatnya asam amino-asam amino yang diperlukan dalam proses sintesis albumin jumlahnya menurun sehingga terjadi kondisi hipoalbuminemia pada pasien TB (Nicholson dan Wolmarans, 2000).

Albumin memiliki peranan penting dalam patogenesis TB. Albumin dapat mengikat IFN- γ untuk meningkatkan potensiasi IFN- γ dalam berikatan dengan IFNGR. Adanya albumin dapat meningkatkan waktu *clearance* dari IFN- γ sehingga dapat lebih kompetitif melawan hambatan dari SOCS1 yang diinduksi *Mycobacterium tuberculosis* (Miyakawa *et al.*, 2011). Pemberian IFN- γ yang dikombinasi dengan albumin dapat meningkatkan kemampuan eradikasi bakteri *Brucella abortus* yang menginfeksi makrofag secara signifikan (Segura *et al.*, 2007).

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan sumber alternatif albumin berkadar tinggi. Ikan gabus memiliki kandungan protein tertinggi dibandingkan dengan ikan sejenisnya. Kandungan protein dalam ikan gabus (*Chana striata*) adalah 16,2% dengan 64,62% dari total protein tersebut adalah albumin (Mustafa *et al.*, 2012). Pemberian albumin ikan gabus dapat memberikan *supply* asam amino-asam amino yang dibutuhkan untuk sintesis albumin di hepar. Sejauh ini belum dilakukan penelitian apakah pemberian ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) dapat meningkatkan kemampuan makrofag dalam membunuh *Mycobacterium tuberculosis* yang ditandai dengan adanya penurunan kadar IFN- γ dalam darah. Maka dari itu, penulis ingin mengetahui apakah pemberian kapsul albumin ikan gabus (*Channa striata*) dapat berpengaruh terhadap kadar IFN- γ pada pasien tuberkulosis paru.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) terhadap kadar IFN- γ pada pasien tuberkulosis paru?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) terhadap kadar IFN- γ pada pasien tuberkulosis paru.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui signifikansi perubahan kadar IFN- γ pasien tuberkulosis paru dengan pengobatan fase intensif setelah pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*).
- b. Mengetahui perbandingan perubahan kadar IFN- γ antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

- c. Mengetahui signifikansi perubahan kadar IFN- γ pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagi penderita tuberkulosis, karya tulis ini dapat dijadikan informasi ilmiah tentang pengaruh konsumsi kapsul albumin ikan gabus (*Chana striata*) terhadap perkembangan penyakit tuberkulosis yang sedang dialami.
- b. Bagi Universitas Jember, karya tulis ini dapat dijadikan sebagai bahan masukan tentang pengembangan produk ikan gabus dan pemanfaatannya.
- c. Bagi Institusi Pelayanan Kesehatan, karya tulis ini dapat dijadikan sebagai bahan masukan pengembangan terapi tambahan terhadap kasus tuberkulosis.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis

2.1.1 Definisi

Tuberkulosis paru adalah infeksi *Mycobacterium tuberculosis* di jaringan paru. Adanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam paru dapat memicu reaksi inflamasi kronik yang menimbulkan gejala klinik. *Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang, tidak berspora, dan tidak berkapsul. Berukuran lebar 0,3-0,6 μm dan 1-4 μm . Dinding *Mycobacterium tuberculosis* tersusun dari lapisan lemak hingga mencapai 60% yang terdiri dari: lipoarabinomanan, asam mikolat yang mengandung glikolipid, sulfolipid, dan 19 kDa lipoprotein yang berperan dalam virulensinya. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam pada pewarnaan Ziehl Nielson (Karakousis *et al*, 2004).

Lipoarabinomanan (LAM) adalah fosfatdilinositol lipoglikan yang tersusun dari manan sebagai pusatnya. LAM adalah penyusun utama dinding *Mycobacterium tuberculosis*. Ada tiga macam dari LAM yaitu ManLAM, PILAM, dan AraLAM. AraLAM dapat menginduksi aktifitas kemotaksis dengan adanya migrasi monosit (juga makrofag) makrofag dan neutrofil di darah tepi ke jaringan paru. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dengan peptidoglikan dan jembatan fosfodiester. Sulfolipid tersusun dari lima sulfat yang saling berikatan. Sulfolipid inilah yang membuat *Mycobacterium tuberculosis* mampu bertahan dalam proses fagolisosom oleh monosit sebelum ada aktivasi superoksida yang diperantarai IFN- γ . 19 kDa lipoprotein adalah salah satu jenis prokariotik lipoprotein yang setengahnya terbenam dalam lipid yang menyusun dinding sel. 19 kDa lipoprotein memiliki peranan dalam menghambat aktivitas imunologi terkait dalam patogenesis *Mycobacterium tuberculosis* (Karakousis *et al*, 2004). Unsur lain yang terdapat dalam dinding bakteri tersebut

adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinonamanan. Komponen antigen yang ditemukan dalam dinding sel dan sitoplasma yaitu komponen lipid, polisakarida, dan protein. Genom *Mycobacterium tuberculosis* memiliki ukuran 4,4 Mb (Mega base) (Mukti, 2002).

Mycobacterium tuberculosis bersifat obligat anaerob dan pertumbuhannya lambat. Diperlukan waktu 18 jam untuk bereplikasi dan dengan metode kultur baru akan terlihat 6-8 minggu. Suhu optimal untuk pertumbuhannya adalah 37 C dengan pH 6,4-7,0. *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tidak tahan panas. Dengan pemanasan 60 C selama 15 – 20 menit akan menyebabkan kematian. Bakteri ini juga sangat rentan dengan sinar ultraviolet dan alkohol. Dengan penyinaran ultraviolet selama 10 menit dan perendaman dalam alkohol 75% selama 3-5 menit akan membunuh kuman ini. Namun, bakteri ini relatif lebih tahan terhadap bahan – bahan kima dan tahan terhadap pengeringan sehingga memungkinkan untuk tetap hidup pada ruangan, tempat tidur, selimut, dan sputum (Garay, 2004).

2.1.2 Epidemiologi

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *mycobacterium tuberculosis*. Menurut Global Tuberculosis Report 2014 di negara maju terjadi 10-20 kasus baru tiap 100.000 penduduk. Namun di Indonesia, angka insidensinya masih tinggi. Tercatat 2013 yang lalu angka insidensinya sebesar 460.000 atau 183/100.000 penduduk. Angka kematiannya pun masih tinggi yaitu 25/100.000 penduduk. Peningkatan kasus HIV juga sangat berpengaruh terhadap peningkatan insidensi TB.

Saat ini Indonesia bahkan lebih tinggi dari China dan India yang sebelumnya berada di atas Indonesia dalam hal insidensi TB. India setiap tahunnya mengalami tren penurunan yang cukup signifikan. Namun, angka insidensi dan mortalitas nya juga masih tinggi. Tercatat pada tahun 2013 insidensi TB di India mencapai 173/100.000 penduduk dengan angka kematiannya 19/100.000 penduduk. Di China, angka insidensi TB semakin menurun hingga hanya 70/100.000 penduduk dengan angka kematian 3/100.000 penduduk. Namun, di wilayah Afrika, angka TB masih tinggi dan

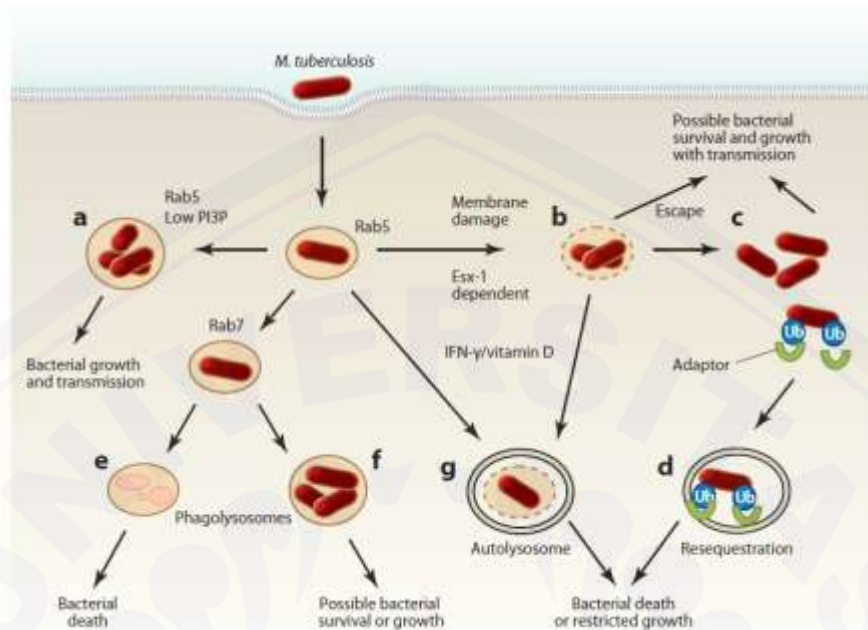
penurunannya dari tahun ke tahun kurang signifikan. Di Kongo misalnya, insidensi TB tahun 2013 mencapai 326/100.000 penduduk dengan angka kematian 68/100.000 penduduk.

Infeksi TB cenderung sering pada negara-negara berkembang yang beriklim tropis. Asia Tenggara menduduki peringkat pertama dalam Insidensi TB. Tingkat sosioekonomi yang rendah dan kepadatan penduduk yang tinggi membuat penyebaran infeksi TB semakin cepat meluas. Resiko penularan di Asia dan Amerika Latin diperkirakan mencapai 2-5 % per tahun (Global Tuberculosis Report, 2014).

2.1.3 Patogenesis

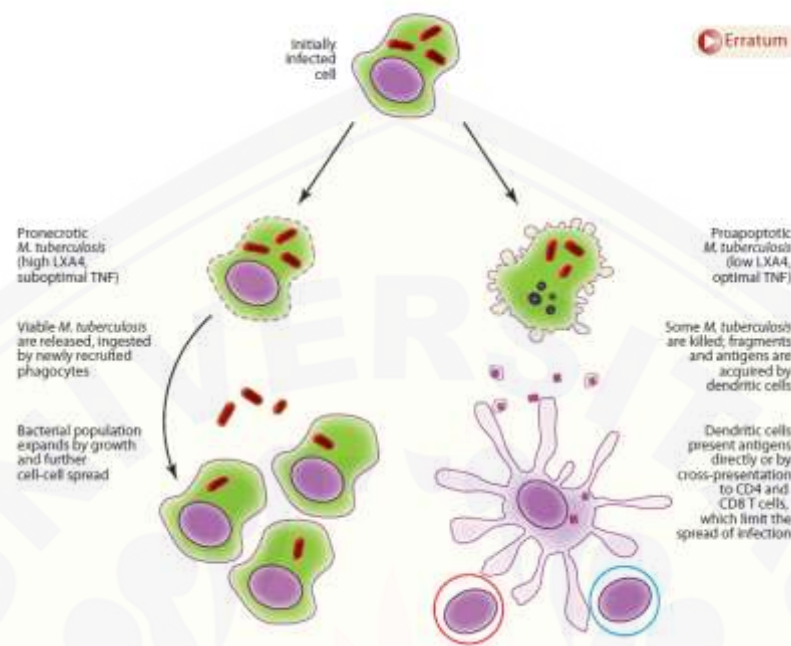
Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai karakteristik *lifelong stand off*. Artinya bakteri hidup dalam tubuh dan melakukan replikasi tanpa ada gejala atau indikasi adanya penyakit kecuali adanya respon imun. Situasi ini disebut laten tuberkulosis. Namun, 5-10% diantaranya berubah menjadi tuberkulosis aktif dengan meningkatnya jumlah bakteri, kemampuan untuk menularkannya dan munculnya gejala klinis (Philips dan Ernst, 2012).

Patogenesis TB diawali oleh adanya *Mycobacterium tuberculosis* yang masuk ke saluran nafas lewat droplet nuclei dan terdeposit di distal alveoli. Makrofag alveolar, neutrofil, monosit, dan dendritik sel akan melakukan fagositosis pada *Mycobacterium tuberculosis*. Dalam hal ini, makrofag mengambil peranan terbesar dalam proses fagositosis. Selanjutnya, *Mycobacterium tuberculosis* dapat mengalami proses fagolisosom, autolisosom, mati, tumbuh, melarikan diri, bertahan hidup dan terus bereplikasi, ataupun mengalami keterbatasan dalam pertumbuhannya tergantung pada kondisi imunitas dan sitokin host (Philips dan Ernst, 2012).



Gambar 2.1 Kemungkinan nasib *Mycobacterium tuberculosis* setelah difagositosis (Sumber: Philips dan Ernst, 2012)

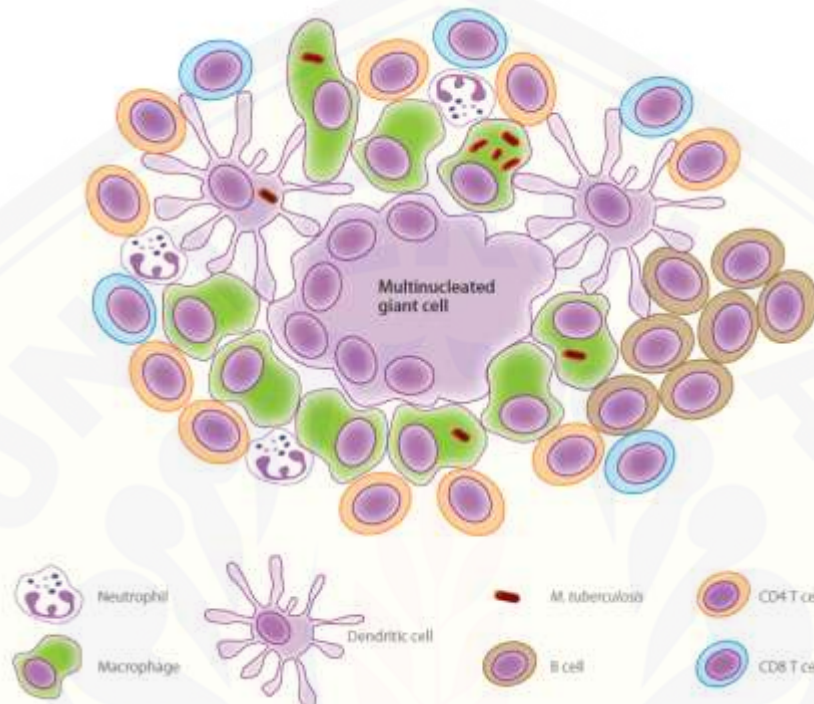
Mycobacterium tuberculosis yang bereplikasi tanpa bisa dihancurkan dalam satu sel makrofag dapat keluar dari makrofag kemudian menginfeksi makrofag yang lain. *Mycobacterium tuberculosis* yang berhasil menghancurkan membran sel makrofag akan mensekresikan antigen spesifik yang akan dikenali sel T. Selanjutnya sel T CD4⁺ dan CD8⁺ akan meresponnya dengan mengeluarkan IFN- γ (Philips dan Ernst, 2012).



Gambar 2.2 Replikasi dan penghancuran *Mycobacterium tuberculosis* dengan presentasi antigen oleh sel dendritik (APCs) (Sumber: Philips dan Ernst, 2012)

Mycobacterium tuberculosis yang tumbuh dan bereplikasi di dalam makrofag merupakan ancaman bagi tubuh. Dalam hal ini tubuh mempunyai mekanisme untuk membatasi proses replikasi dan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan cara membentuk granuloma. Granuloma adalah bentukan histopatologi dari lesi tuberkulosis yang dibentuk dari sel – sel imunitas. Selain menghambat pertumbuhan dan replikasi, granuloma juga dapat menghambat proses perkejuan. Terbentuknya granuloma diawali oleh adanya agregasi makrofag yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan makrofag yang tidak terinfeksi. Ketika *Mycobacterium tuberculosis* bereplikasi dan keluar dari makrofag asalnya, makrofag lain yang berada di sekitarnya akan memfagositosis *Mycobacterium tuberculosis* tersebut sehingga membatasi area infeksi. Selanjutnya, diperantarai sel limfosit B dan T, sel imunitas lain mulai mengumpul di sekitarnya untuk membentuk granuloma. Granuloma akan mengoptimalkan interaksi

antara *Mycobacterium tuberculosis* dan APC yang telah terinfeksi dengan sel T untuk mengontrol infeksi dan penyebarannya. (Philips dan Ernst, 2012)



Gambar 2.3 Struktur penyusun granuloma (Sumber: Philips dan Ernst, 2012)

Dalam granuloma terjadi reaksi antara *Mycobacterium tuberculosis* dan epitelium yang menyelubungi granuloma. *Mycobacterium tuberculosis* dapat menyekresikan *Early Secretory Antigenic 6 kDa* (ESAT-6) dan *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10), dua protein kecil yang berfungsi untuk mencegah adanya fagolisosom dan endolisosom serta menginduksi sel epitelium memproduksi *Matriks Metalloproteinase-9* (MMP-9). MMP-9 mempunyai efek pembentukan granuloma baru dan menarik makrofag yang tidak terinfeksi untuk mendekat ke arah granuloma. Hal ini sebagai upaya *Mycobacterium tuberculosis* melarikan diri dari granuloma (Volkman *et al.*, 2010). ESAT-6 dan CFP-10 ini akan disampaikan oleh APC menuju

sel T melalui MHC kelas 2. Sel T yang telah tersensitisasi antigen yang dibawa oleh MHC akan memproduksi IFN- γ (Pai *et al.*, 2014).

2.1.4 Diagnosis

Diagnosis TB Paru berdasarkan pada anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis dilakukan untuk mencari gejala klinis yang khas pada TB dan faktor resiko yang ada pada pasien. Pemeriksaan fisik ditujukan untuk menilai kondisi umum pasien namun sulit menilai kerusakan yang ada di dalam paru secara palpasi, perkusi, dan auskultasi (Depkes RI, 2011).

Gejala klinis pada TB paru meliputi gejala sistemik dan gejala respiratorik.

a. Gejala sistemik

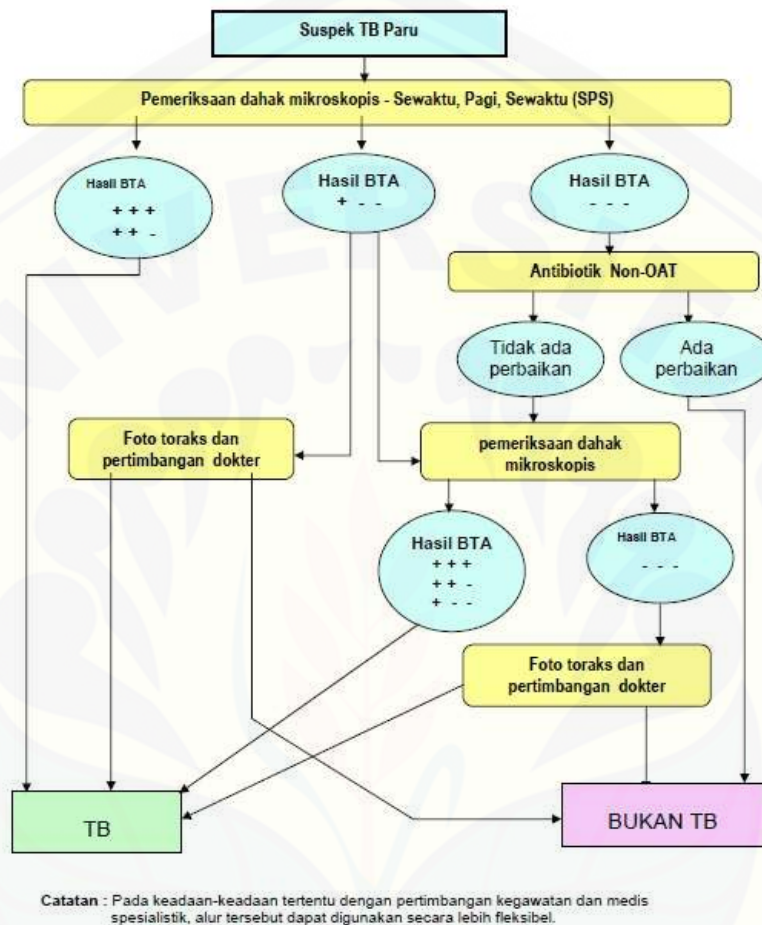
Gejala klinik yang sering menyertai TB adalah demam, malaise, keringat malam, anoreksia, dan penurunan berat yang signifikan.

b. Gejala respiratorik

Gejala respiratorik yang sering menyertai TB adalah batuk lebih dari 2 minggu, batuk darah, sesak nafas, dan nyeri dada. Gejala ini sangat bervariasi tergantung pada luas lesi yang terdapat pada paru. Manifestasi batuk timbul saat bronkus mengalami iritasi oleh karena adanya sekret yang dihasilkan dari inflamasi *Mycobacterium tuberculosis* (Depkes RI, 2011).

Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan sputum dan foto toraks. Pemeriksaan sputum menggunakan metode sewaktu pagi sewaktu (SPS) dilakukan untuk mendiagnosis, menilai keberhasilan pengobatan, dan menentukan potensi penularan. Apabila dalam 3 kali pemeriksaan didapatkan 3 kali positif, 2 kali positif, atau 1 kali positif dalam 2 kali pengulangan maka dapat diagnosis positif TB. Namun, apabila tidak memenuhi kriteria tersebut namun gejala klinis mendukung TB maka dapat dilakukan pemeriksaan penunjang berupa pemeriksaan radiologik berupa foto rontgen thorax PA. Apabila ditemukan gambaran radiologi yang dicurigai sebagai lesi TB aktif (cavitas, bercak milier, nodul segemn apikal atau superior tiap lobus)

maka dapat didiagnosis BTA negatif dengan rontgen positif yang merupakan diagnosis positif TB.



Gambar 2.4 Skema diagnosis tuberkulosis paru di Indonesia (Sumber: Depkes RI, 2011)

IFN- γ dapat digunakan sebagai diagnosis TB. Keunggulan IFN- γ sebagai alat untuk mendiagnosis TB adalah dapat mendeteksi adanya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* meski dalam jumlah yang kecil dan dapat mendeteksi adanya laten tuberkulosis. IFN- γ diproduksi oleh sel T yang telah tersensitisasi oleh antigen ESAT-6 dan CFP10 yang disandi oleh gen RD1 pada *Mycobacterium tuberculosis*. Antigen ini jauh lebih spesifik karena tidak terdapat dalam substrain kuman BCG dan sebagian

besar kuman *Non Tuberculosis Mycobacteria* (NTM) kecuali pada *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*, dan *Mycobacterium szulgani* (Kusuma, 2007). Namun, pemeriksaan IFN- γ dengan metode Quantiferon Test-Interferon Gamma Relative Assay (QFT-IGRA) belum bisa dilakukan di Indonesia karena biayanya yang mahal dan peralatan yang tidak tersedia di layanan primer. QFT-IGRA direkomendasikan oleh WHO untuk mendeteksi adanya infeksi TB lebih baik daripada tes Mantoux ataupun BTA. Dinyatakan positif TB apabila ditemukan kadar IFN- $\gamma \geq 0,35$ IU/ml dalam serum. (Mazurek, 2010).

2.1.5 Klasifikasi

Berdasarkan hasil pemeriksaan dahak, tuberkulosis paru dibagi menjadi :

a. TB Paru BTA negatif

TB Paru dinyatakan negatif jika pada pemeriksaan sputum sebanyak 3 kali tidak ditemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* namun gejala klinis dan pemeriksaan radiologis menunjukkan tuberkulosis aktif.

b. TB Paru BTA positif

TB Paru dinyatakan positif jika sekurang-kurangnya 2 dari 3 pemeriksaan sputum ditemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* atau ada 1 pemeriksaan sputum yang positif disertai pemeriksaan radiologi yang menunjukkan TB paru aktif atau didaptkannya biakan pada kultur sputum.

Hasil pemeriksaan BTA dapat bernilai negatif walaupun sebenarnya terdapat *Mycobacterium tuberculosis* di dalam paru. Hal ini karena pemeriksaan BTA akan bernilai positif jika bakteri yang ada dalam tubuh lebih dari atau sama dengan 10^5 bakteri.

Berdasarkan pasien, tuberkulosis paru dibagi menjadi:

a. Kasus Baru

Kasus baru adalah pasien yang belum pernah mendapat terapi OAT atau mendapat terapi OAT kurang dari 1 bulan.

b. Kasus Kambuh

Kasus kambuh adalah pasien yang sebelumnya pernah mendapatkan terapi OAT dan dinyatakan sembuh namun kembali lagi berobat dengan hasil diagnosa positif.

c. Kasus Drop Out

Kasus drop out adalah pasien yang telah menjalani terapi selama ≥ 1 bulan namun tidak kembali lagi untuk mengambil obat 2 bulan lebih sebelum masa pengobatannya selesai.

d. Kasus Gagal

Kasus gagal adalah pasien yang masih tetap positif atau kembali positif di akhir masa pengobatan.

e. Kasus Kronik

Kasus kronik adalah pasien yang masih tetap positif setelah menjalani pengobatan ulang kategori 2 dengan pengawasan baik.

f. Kasus Bekas TB

Kasus bekas TB adalah pasien yang terdiagnosa TB dengan BTA negatif rontgen positif namun setelah menjalani pengobatan lengkap gambaran rontgen tidak mengalami perbaikan (Konsensus TB, 2006).

2.1.6 Penularan dan Penyebaran

Tuberkulosis ditularkan melalui “droplet nuclei”. Droplet adalah partikel kecil berukuran 1-5 μm yang di dalamnya berisi kuman-kuman TB. Droplet nuclei ini akan keluar dari jaringan paru penderita TB melalui batuk, bersin, berteriak, atau berbicara. Droplet nuclei ini jika terhirup akan masuk ke paru kemudian sampai di alveoli. Pasien TB yang batuk lebih dari 48 kali setiap hari (terutama pada malam hari) berpeluang 48% menginfeksi keluarga atau orang yang kontak dengan pasien tersebut. Sedangkan orang yang batuk kurang dari 12 kali dalam semalam berpeluang 28% menginfeksi orang yang kontak dekat dengan pasien tersebut. Selain melewati saluran nafas, *Mycobacterium tuberculosis* dapat menular melalui luka pada mukosa dan kulit namun penularan dengan cara ini sangat jarang. Jika dari penularan tersebut terbentuk satu

lokus infeksi maka dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui darah, limfe, dan intestinal (bila dahak tertelan), dan bisa juga menetap di paru (Werdhani, 2002).

2.1.7 Terapi

Pengobatan TB diberikan dalam 2 tahap, yaitu tahap intensif dan lanjutan.

a. Tahap awal (intensif)

- Tahap intensif (awal) pasien mendapat obat setiap hari dan perlu diawasi secara langsung untuk mencegah terjadinya resistensi obat.
- Bila pengobatan tahap intensif tersebut diberikan secara tepat, biasanya pasien menular menjadi tidak menular dalam kurun waktu 2 minggu.
- Sebagian besar pasien TB BTA positif menjadi BTA negatif (konversi) dalam 2 bulan.

b. Tahap Lanjutan

- Pada tahap lanjutan pasien mendapat jenis obat lebih sedikit, namun dalam jangka waktu yang lebih lama.
- Tahap lanjutan penting untuk membunuh kuman *persisten* sehingga mencegah terjadinya kekambuhan.

2.2 Interferon

2.2.1 Pengertian Interferon

Interferon ditemukan pada tahun 1957. Isaac dan Lindeman melakukan pengamatan pada sel ayam yang diinkubasi dengan virus influenza inaktif kemudian diamati. Hasilnya ditemukan suatu substansi yang melindungi sel dari infeksi virus yang lain. Fenomena ini oleh Isaac dan Newton disebut fenomena interferensi dan substansi aktif yang melindungi sel tersebut dinamakan interferon (Jonasch dan Haluska, 2001)

Interferon adalah kelompok sitokin yang memiliki aktivitas sebagai antivirus, antibakteri, antiproliferatif, dan antimodulasi yang disintesis sebagai respon adanya

induksi virus, bakteri, antigen, dan asam nukleat asing. Interferon dapat digunakan dalam pengobatan tumor, kanker, dan penyakit kelainan darah (Steward, 2013).

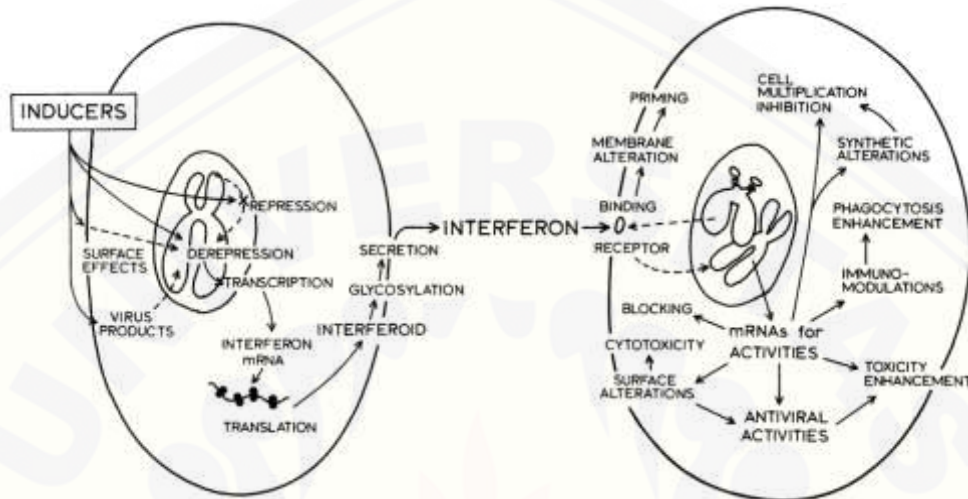
2.2.2 Klasifikasi Interferon

Berdasarkan tipe reseptor nya Interferon diklasifikasikan menjadi 2 yaitu IFN tipe 1 dan tipe 2. IFN tipe 1 terdiri dari IFN- α (dengan 14-20 subtipe), IFN- β , IFN- ω , dan IFN- τ , yang memiliki heterodimer reseptor (yaitu IFNAR 1 dan IFNAR 2). IFN tipe 1 hampir disekresikan oleh semua sel dalam jumlah yang sedikit. Sekresi IFN- α dan IFN- β distimulasi oleh adanya infeksi virus sedangkan IFN- τ hanya ditemukan pada ruminansia. IFN- γ adalah satu-satunya IFN tipe 2. Strukturnya tidak berhubungan dengan IFN tipe 1, berikatan dengan reseptor yang berbeda, dan dikode oleh kromosom yang berbeda. IFN- γ disekresikan oleh sel CD4⁺ T helper tipe 1 (Th1), CD8⁺ sitotoksik (sel T sitotoksik), dan sel *Natural Killer* (NK) yang secara eksklusif memproduksi IFN- γ (Schroder *et al.*, 2004).

2.2.3 Produksi Interferon

Produksi Interferon diinisiasi oleh interaksi antara *interferon inducer* dengan sel penghasil interferon. *Interferon inducer* dapat berupa virus, mikroorganisme, produk bakteri, asam nukleat (baik sintesis maupun alami), beberapa substansi kecil molekuler, mitogen, dan berbagai imun respon. Perubahan seluler yang dapat menginduksi interferon antara lain resistensi virus, multiplikasi sel yang tidak bisa dihambat, antigen asing spesifik, kerusakan membran sel, dan imunoregulasi sitokin yang berpengaruh pada sintesis interferon. Adanya *Interferon inducer* ini memicu mekanisme induksi yang mengaktifkan gen yang memproduksi interferon membentuk *Interferon Messenger RNA(s)*. Selanjutnya akan dilakukan sintesis protein dengan hasil protein yang dimodifikasi dan disekresikan dalam bentuk interferon. Interferon yang disekresikan akan berikatan dengan reseptornya kemudian akan memodulasi aktivitas mRNA di sel target. Aktivitas mRNA di sel target dapat mengaktifkan fungsi

peningkatan fagositosis, imunomodulasi, aktivitas antivirus, peningkatan toksisitas, dan sitotoksik pada sel target (Steward, 2013).



Gambar 2.5 Mekanisme produksi dan efek interferon (Sumber: Steward, 2013).

2.2.4 IFN- γ

Produksi IFN- γ diinisiasi oleh adanya antigen spesifik yang dipresentasikan ke sel Th 1 melalui *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas 2. Ada dua macam MHC yaitu MHC kelas 1 dan MHC kelas 2. MHC kelas 1 terdapat dalam permukaan sel yang memiliki inti sedangkan MHC kelas 2 hanya dimiliki oleh APC. MHC kelas 2 adalah molekul glikoprotein yang terdapat di permukaan sel APC yang berfungsi mempresentasikan antigen yang ditangkap oleh APC kepada sel T CD4⁺ (Reith *et al.*, 2005).

Antigen spesifik yang ditangkap APC akan dipresentasikan melalui MHC kelas 2 ke sel T CD4⁺. Selanjutnya akan terjadi maturasi sel T CD4⁺ ke arah sel Th 1. Sel Th1 inilah yang akan aktif memproduksi IFN- γ . IFN- γ yang diproduksi oleh sel Th1 akan berdistribusi dalam darah untuk berikatan dengan reseptor IFN- γ . Reseptor IFN- γ disebut sebagai *Interferon Gamma Receptor* (IFNGR) terdiri dari dua ligan yang saling mengikat, yaitu IFNGR1 dan IFNGR2. IFNGR termasuk dalam tipe 2 reseptor

sitokin. Ketika IFN- γ berikatan dengan IFNGR di permukaan sel target maka, maka akan mengaktifkan mekanisme *JAK-STAT Signaling Pathway*. *Janus Protein Kinase* (JAK) adalah protein yang menempel dengan IFNGR di sitosol. Adanya IFN- γ yang berikatan dengan IFNGR akan memicu terjadinya autofosforilasi dan aktivasi JAK2 yang menyebabkan transfosforilasi JAK1. Transfosforilasi JAK1 akan mengaktifkan *Signal Transducers and Activators of Transcription 1* (STAT1) yang sebelumnya inaktif di dalam nukleus. Aktifnya STAT1 akan memicu terjadinya aksi sel terkait induksi IFN- γ , yaitu bisa berupa peningkatan adhesi molekul, produksi monokin, ataupun pembentukan nitrit oxide dan superoxide yang berguna dalam proses membunuh bakteri penyebab infeksi. IFN- γ mempunyai aktifitas imunomodulasi terhadap bakteri yang lebih kuat dari pada IFN tipe 1 (Schroder *et al.*, 2004).

2.2.5 Penggunaan IFN- γ Dalam Mendiagnosis TB

IFN- γ memegang peranan penting dalam patogenesis dan diagnosis TB. IFN- γ adalah respon imun humoral yang diproduksi oleh sel Th 1 sebagai respon adanya presentasi antigen ESAT-6 dan CFP-10 yang dikeluarkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Sejauh ini, diketahui bahwa antigen ini dikeluarkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* dalam dua kondisi, yaitu saat *Mycobacterium tuberculosis* dalam proses melarikan diri (*escaping*) dari dalam makrofag dengan tujuan memicu kerusakan membran pada sel makrofag dan pada saat terbentuknya granuloma lewat interaksi dengan sel epitelium granuloma untuk memicu peningkatan MMP-9 untuk melepaskan diri dari granuloma yang dibentuk dari sel-sel imunitas (Philips dan Ernst, 2012). Antigen ini sangat spesifik pada *Mycobacterium tuberculosis* karena tidak terdapat dalam substrain kuman BCG dan sebagian besar kuman *Non Tuberculosis Mycobacteria* (NTM) kecuali pada *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*, dan *Mycobacterium szulgani* (Pai *et al.*, 2014).

Pemeriksaan IFN- γ pertama kali diperkenalkan oleh Rothel JS *et al.*, pada tahun 1990. Sebagai respon, penelitian terkait deteksi TB dengan menggunakan pemeriksaan

IFN- γ terus menerus dilakukan. Pengujian mengenai sensitifitas dan spesifitas sulit dilakukan karena sejauh ini tidak ada pemeriksaan *GOLD Standart* dalam pemeriksaan TB. Pada tahun 1998, Streeton JA *et al.*, melakukan penelitian dengan menguji sensitifitas dan spesifitas pemeriksaan IFN- γ dengan menggunakan *Purified Protein Derivate* (ekstrak protein dari *Mycobacterium tuberculosis*) sebagai protein uji untuk mengetahui kenaikan IFN- γ . Hasilnya didapatkan sensitifitas 90% dan spesifitas 98%. Setelah digunakannya antigen ESAT-6 dan CFP-10 yang merupakan antigen spesifik pada *Mycobacterium tuberculosis* maka spesifitasnya meningkat menjadi 99%. Pada tahun 2001, FDA menerima *Quantiferon Test-Interferon Gamma Release Assay* sebagai salah satu alat pemeriksaan untuk mendiagnosis infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan mulai dikomersilkan tahun 2005 untuk dilakukan penelitian di berbagai negara (Mazurek *et al.*, 2010).

Penelitian terus dilanjutkan untuk mengetahui apakah kelebihan dan kekurangan IGRA dibandingkan dengan pemeriksaan *Tuberkulin Skin Test* (TST) yang digunakan saat ini. Dari sistematik review dan metanalisis yang dilakukan Diel *et al.*, 2014, menyimpulkan bahwa IGRA memiliki lebih baik dalam mendeteksi dan mengeksklusi infeksi laten tuberkulosis. Hal ini karena meskipun *Mycobacterium tuberculosis* tidak aktif berplikasi (dorman) namun antigen ESAT-6 dan CFP-10 masih terus dikeluarkan ke ekstraseluler untuk selanjutnya ditangkap APCs dan memicu produksi IFN- γ oleh sel Th1. Selanjutnya, Zhou J *et al.*, 2014 menyatakan bahwa IGRA memiliki sensitifitas dan spesifitas tertinggi dan dapat digunakan sebagai pilihan pertama dalam mendeteksi adanya tuberkulosis pada anak. Namun, IGRA juga memiliki kekurangan, pada pasien TB dengan HIV terjadi ketidaksesuaian antara hasil TST dan IGRA yang menunjukkan sensitifitasnya yang rendah (Parrella *et al.*, 2015), begitu pula dengan pasien tuberkulosis dengan diabetes melitus (Walsh *et al.*, 2011). Hal ini karena pada HIV dan DM terjadi kelemahan pada sel T CD4⁺ sehingga terjadi hambatan pada produksi IFN- γ .

Penelitian tentang IFN- γ terhadap tuberkulosis juga sebelumnya pernah dilakukan di Indonesia. Penelitian yang dilakukan oleh Indreswari dan Suharyo (2013)

didapatkan peningkatan kadar IFN- γ pada orang yang serumah dengan pasien TB dan menurun kadarnya ketika dievaluasi kembali setelah pasien tersebut sembuh. Hal ini semakin menguatkan kesimpulan bahwa IFN- γ dapat dijadikan sebagai parameter dalam mengamati perjalanan infeksi *Mycobacterium tuberculosis* mulai dari fase dini.

2.2.6 Hambatan Proses Signaling IFN- γ Oleh *Mycobacterium tuberculosis*

IFN- γ yang disekresikan oleh sel Th 1 akan menginisiasi peningkatan kemampuan fagositosis makrofag dalam membunuh *Mycobacterium tuberculosis* di dalamnya. IFN- γ yang berikatan dengan reseptornya di makrofag akan menginduksi ekspresi iNOS (*inducible nitric oxide synthase*), yang akan menghasilkan nitrit oksida dan ROS (*reactive oxygen species*). Kedua zat ini penting dalam fungsinya membunuh *Mycobacterium tuberculosis* yang mempunyai struktur dinding dengan lipid yang kompleks (Yoshimura *et al.*, 2007).

Hambatan utama yang mampu menghambat proses signaling IFN- γ adalah *Suppressor of Cytokine Signalling 1* (SOCS-1). SOCS adalah protein intraseluler yang mampu menghambat jalur signaling sitokin. Ada 8 jenis SOCS yaitu SOCS1-SOCS7 dan CIS. Masing mampu menghambat proses signaling sitokin melalui mekanisme yang berbeda dengan sitokin yang berbeda pula (Alexander, 2002). Normalnya, SOCS dapat berfungsi sebagai *negative feedback* terhadap produksi sitokin. Namun, adanya keadaan patologi yang menyebabkan produksi SOCS meningkat dapat menyebabkan hambatan yang bermakna pada fungsi sitokin dalam mengeradikasi penyebab keadaan patologis. SOCS1 menghambat IFN- γ dengan cara berikatan dengan IFNGR yang mengakibatkan tidak terjadinya autofosforilasi dan aktivasi JAK2 sehingga JAK1 tidak ter-transfosforilasi. Akibatnya tidak terjadi aktivasi STAT1 sehingga makrofag tidak dapat memproduksi iNOS yang mampu meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag (Yoshimura *et al.*, 2007).

Mycobacterium tuberculosis mempunyai mekanisme untuk menghambat aktivasi makrofag yang diperantarai IFN- γ . *Mycobacterium tuberculosis* mampu menginduksi pengeluaran SOCS1 dengan memanfaatkan lipoarabinomanan dan 19

kDa lipoprotein yang terdapat dalam dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*. 19 kDa lipoprotein mampu menginduksi pengeluaran SOCS1 dan SOCS3 tanpa menghambat proses aktivasi dan fosforilasi STAT1. Meski begitu, SOCS1 dan SOCS3 (dengan aktivitas SOCS1 yang jauh lebih dominan) yang dihasilkan pada akhirnya tetap akan menghambat jalur JAK-STAT (Pai *et al.*, 2003). Sementara lipoarabinomanan mampu menginduksi pengeluaran SOCS1 lewat jalur berantai yang melibatkan *Interleukin 6* (IL-6). Lipoarabinomanan akan menginduksi pengeluaran sel fagosit mononuklear untuk menghasilkan IL-6 (Zhang *et al.*, 1996). IL-6 yang dihasilkan dapat menginduksi pengeluaran SOCS1 dan menginduksi maturasi sel T ke arah sel Th2 daripada sel Th1 yang akan menghambat produksi IFN- γ (Diehl *et al.*, 2000).

Adanya SOCS1 yang berlebihan karena pengaruh patologi dari *Mycobacterium tuberculosis* akan menyebabkan hambatan yang signifikan terhadap proses signaling IFN- γ . Carew *et al.*, 2011 membuktikan adanya ekspresi dari SOCS1 yang dengan cepat meningkat pada infeksi TB akan menurunkan kadar IFN- γ begitupula sebaliknya. SOCS1 mempunyai potensi dan keuntungan dalam berkompetisi dengan IFN- γ . Waktu paruh dari SOCS1 adalah sekitar 1,5 jam (Pai *et al.*, 2003), sedangkan waktu paruh dari IFN- γ adalah 25-30 menit (Younes dan Amsden, 2001). Ditambah dengan meningkatnya jumlah SOCS1 akibat induksi *Mycobacterium tuberculosis*, potensi IFN- γ semakin kecil yang berakibat pada menurunnya kemampuan makrofag untuk mengeradikasi infeksi.

2.3 Albumin

2.3.1 Pengertian Albumin

Albumin merupakan protein plasma yang paling banyak dalam tubuh manusia, yaitu sekitar 55-60% dan total kadar protein serum normal adalah 3,8-5,0 g/dl. Albumin terdiri dari rantai tunggal polipeptida dengan berat molekul 66,4 kDa dan terdiri dari 585 asam amino. Pada molekul albumin terdapat 17 ikatan disulfida yang menghubungkan asam-asam amino yang mengandung sulfur. Molekul albumin berbentuk elips sehingga dengan bentuk molekul seperti itu tidak akan meningkatkan

viskositas plasma dan larut sempurna. Kadar albumin serum ditentukan oleh fungsi laju sintesis, laju degradasi, dan distribusi antara kompartemen intravaskular dan ekstrasvaskular. Cadangan total albumin 3,5-5,0 g/kg BB atau 250-300 g pada orang dewasa sehat dengan berat 70 kg, dari jumlah ini 42% berada di kompartemen plasma dan sisanya di dalam kompartemen ekstrasvaskular (Evans, 2002).

2.3.2 Hipoalbumin Pada Tuberkulosis

Malnutrisi adalah kondisi yang sering menyertai TB. Kondisi malnutrisi ini dapat tercermin dari penurunan berat badan dan albumin serum pada penderita TB. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* akan merangsang pembentukan sitokin – sitokin untuk melawan infeksi. Pembentukan sitokin-sitokin ini akan menginduksi *down regulation* sintesis albumin. Infeksi TB meningkatkan kebutuhan energi untuk mempertahankan fungsi normal tubuh ini ditandai dengan peningkatan penggunaan energi saat istirahat resting energy expenditure (EEE). Peningkatan ini mencapai 10-30% dari kebutuhan energi orang normal. Proses ini menimbulkan anoreksia akibat peningkatan produksi leptin sehingga terjadi penurunan asupan dan malabsorpsi nutrisi. Penderita TB juga mengalami peningkatan proteolisis dan lipolisis yang akan memperburuk malnutrisi yang terjadi (Pratomo, 2012).

Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* akan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1. Produksi sitokin pro-inflamasi ini akan mempunyai efek menghambat sintesis mRNA di hepar pada proses transkripsi dalam penyusunan polipeptida dari asam amino pembentuk albumin. Hambatan sintesis mRNA di hepar ini akan menyebabkan jumlah asam amino yang diperlukan untuk menyusun albumin menjadi berkurang sehingga akan berdampak pada kondisi hipoalbuminemia (Nicholson dan Wolmarans, 2000).

2.3.2 Keterkaitan Albumin dengan IFN- γ dan TB

Interferon baik tipe 1 maupun tipe 2 digunakan sebagai terapi dalam berbagai penyakit. Interferon tipe 1 mempunyai aktivitas anti tumor dan antivirus yang lebih

besar daripada interferon tipe 2 sehingga interferon tipe 1 sering digunakan sebagai terapi hepatitis B dan C serta kanker hati. Sedangkan interferon tipe 2 memiliki aktivitas antibakteri dan imunomodulasi yang lebih besar sehingga digunakan sebagai terapi SLE, infeksi dan keganasan namun penggunaannya belum seluas interferon tipe 1. Albumin biasa digunakan untuk mendampingi terapi interferon. Albumin dapat memperkuat efektifitas terapi interferon yang diberikan dengan tujuan meningkatkan waktu paruh dari. Hal ini dapat meningkatkan kesempatan interferon untuk berikatan dengan reseptornya melawan hambatannya. Molekul albumin mampu berikatan dengan interferon untuk memperlama waktu *clearance* dari interferon (Younes dan Amsden, 2001). Terapi IFN- α yang dikombinasikan dengan albumin pada Hepatitis C kronik dapat meningkatkan waktu *clearance* nya selama 7 hari (Rustgi *et al.*, 2009). Pemberian IFN- γ yang dikombinasikan dengan albumin dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *Brucella abortus* yang menginfeksi makrofag secara signifikan (Segura *et al.*, 2007). Penelitian yang dilakukan Miyakawa *et al.*, 2010 menyatakan bahwa pemberian interferon pada tikus dapat meningkatkan waktu paruhnya (0,937 jam tanpa tambahan albumin dan 4,04 jam dengan tambahan albumin).

2.4 Ikan Gabus (*Chana striata*)

Ikan Gabus (*Chana striata*) adalah ikan air tawar yang banyak terdapat di Indonesia. Persebaran ikan gabus di Indonesia tersebar mulai dari Jawa, Sulawesi, Bali, Nusa Tenggara, dan Ambon. Ikan gabus merupakan karnivora dengan bentuk ramping, panjang, dan di bagian punggung lebih ramping. Berikut adalah gambar dan taksonomi ikan gabus.



Gambar 2.6 Ikan gabus (*Chana striata*) (Sumber: Mustafa *et al.*, 2012)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Famili	: Channidae
Genus	: <i>Channa</i>
Spesies	: <i>C. Striata</i> (Putra, 2009)

Ikan gabus memiliki kadar protein yang tinggi dibandingkan dengan ikan lain. Kandungan ikan gabus hanya kalah dengan ikan patin.

Tabel 2.1 Perbandingan kandungan protein ikan gabus (*Chana striata*) dengan ikan lain

Fish	Protein (g%)
Patin	17.0
Snakehead	16.2
Gold fish	16.0
Sepat (<i>trichogaster trichopterus</i>)	15.2
Baung	15.1
Belida	14.7
Eel	14.6
Rabbit fish	14.5
Tongkol	13.7
Teri	10.3

Sumber: Mustafa *et al.* (2012)

Selain itu, dibandingkan dengan jenis makanan tinggi protein yang lain, ikan gabus juga memiliki kandungan protein dan albumin yang relatif lebih tinggi.

Tabel 2.2 Perbandingan kandungan protein ikan gabus dengan makanan lain

Food	Albumin (%TP) [10]	Protein (%) [23]
Soybean	10	40.4
Groundnut	15	27.9
Rice (dehulled)	21	7.8
Rice (milled)	10.8	8.4
Sticky white rice (dehulled)	20.2	7.4
Wheat flour	14.7	9.0
White egg (oval and conal)	73	10.8
Snakehead fish	2.17	16.2

Sumber: Mustafa *et al.* (2012)

Dalam ekstrak 100 ml ikan gabus tidak hanya terdapat protein saja. Namun, ada pula mikronutrien yang lain seperti zinc, lemak, dan besi.

Tabel 2.3 Kandungan 100 ml Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*)

Nutrient	Value
Protein (g)	3,36 ± 0,29
Albumin (g)	2,17 ± 0,14
Total fat (g)	0,77 ± 0,66
Total glucose (g)	0,07 ± 0,02
Zn (mg)	3,34 ± 0,8
Cu (mg)	2,34 ± 0,98
Fe (mg)	0,20 ± 0,09

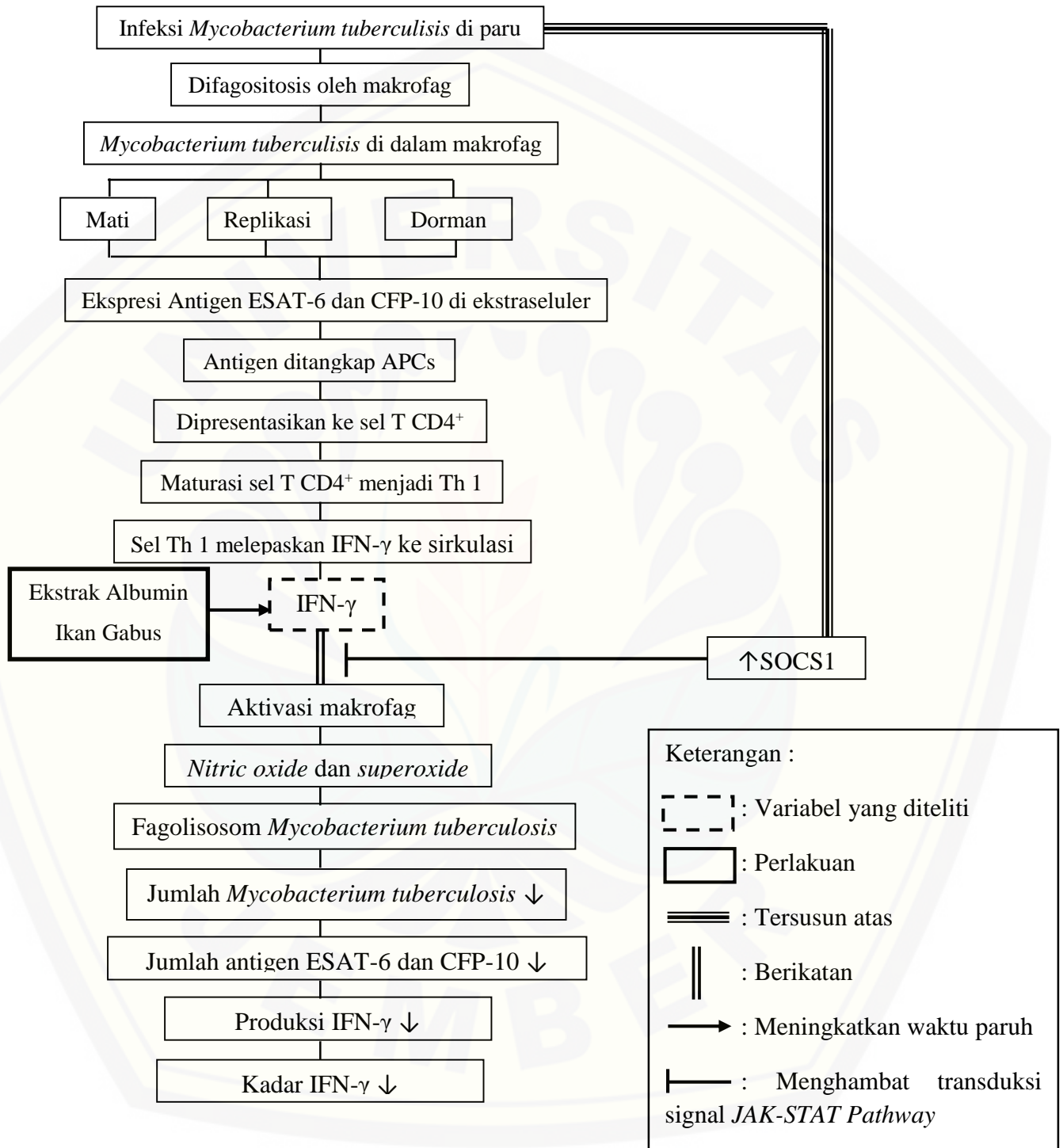
Sumber: Mustafa *et al.* (2012)

Ikan Gabus (*Channa striata*) merupakan sumber alternatif albumin berkadar tinggi. Ikan gabus memiliki kandungan protein yang tinggi dibandingkan dengan ikan lain. Selain itu, kandungan albumin pada ikan gabus memiliki sifat degibilitas yang

lebih baik dibandingkan sumber protein nabati karena tidak mengandung serat (Gilda, 2014).

Pemberian ekstrak albumin ikan gabus diharapkan dapat menyediakan asupan asam amino pembentuk albumin yang menurun produksinya karena hambatan pada mRNA pada proses sintesis albumin sehingga akan meningkatkan kadar albumin serum pada pasien tuberkulosis. Kenaikan albumin serum akan meningkatkan sistem signaling IFN- γ untuk mengaktivasi makrofag. Semakin efektif proses aktivasi makrofag maka proses pembentukan iNOS akan meningkat. Akibatnya *nitric oxide* dan superoxide yang dihasilkan untuk membunuh *Mycobacterium tuberculosis* akan semakin optimal sehingga efek fagositosis meningkat. Meningkatnya efek fagositosis akan menyebabkan jumlah *Mycobacterium tuberculosis* penyebab infeksi semakin turun sehingga IFN- γ juga akan menurun karena ekspresi antigen ESAT-6 dan CFP-10 juga menurun. Penurunan kadar IFN- γ menandakan adanya perbaikan dalam proses penyembuhan TB.

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Skema kerangka konsep penelitian

2.6 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Pemberian kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) akan menurunkan kadar IFN- γ yang terdapat dalam plasma darah.
- b. Penurunan kadar IFN- γ pada pasien tuberkulosis yang mengkonsumsi kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) lebih signifikan daripada pasien tuberkulosis yang tidak mengkonsumsi kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*).
- c. Perbandingan penurunan kadar IFN- γ antara pasien tuberkulosis yang mengkonsumsi kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) dibandingkan dengan pasien tuberkulosis yang tidak mengkonsumsi kapsul ekstrak albumin ikan gabus (*Chana striata*) memiliki perbedaan yang bermakna.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah desain *quasi experimental*

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di 6 Puskesmas Kabupaten Jember (Mayang, Kalisat, Arjasa, Kaliwates, Sumpalsari, Patrang) untuk pendataan subjek penelitian dan pengambilan sampel penelitian serta Laboratorium Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan SGOT SPGT, uji protein urin, dan IFN- γ . Waktu pelaksanaan penelitian adalah Februari 2015 – Juni 2015

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien tuberkulosis paru di 6 Puskesmas Jember tersebut di atas yang sedang menjalankan rawat jalan dan masuk dalam fase pengobatan intensif sejak bulan Maret.

3.3.2 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel Penelitian adalah pasien tuberkulosis yang sedang menjalankan rawat jalan dan masuk dalam fase pengobatan intensif yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Pasien TB paru kasus baru yang telah menjalani masa pengobatan intensif 1 bulan.

- 2) Usia 18 - 60 tahun dan bersedia menjadi subjek penelitian.
- 3) Terdiagnosis positif TB dengan BTA + oleh puskesmas.
- 4) Minum OAT secara teratur.
- 5) BMI 18 – 25.
- 6) Memiliki nilai SGOT SGPT yang normal dan proteinuria (-) pada pemeriksaan *screening*.

b. Kriteria Eksklusi

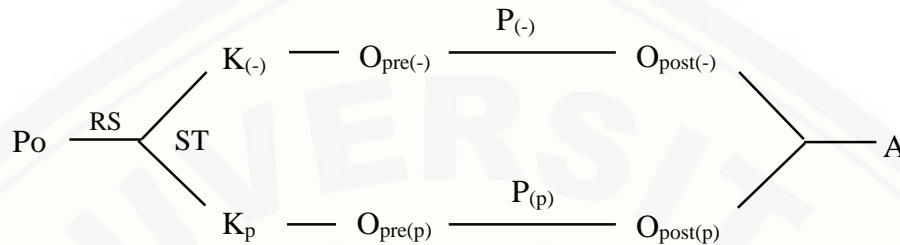
- 1) Pasien TB yang menolak ikut penelitian.
- 2) Pasien TB MDR (*Multi Drug Resistance*) atau TB milier.
- 3) Pasien TB dengan HIV positif.
- 4) Pasien TB yang meninggal, *drop out*, atau ada sebab lain sehingga tidak bisa melanjutkan penelitian.
- 5) Ada komplikasi penyakit lain dan penyebaran TB ekstra paru.
- 6) Memiliki alergi terhadap makanan berprotein tinggi (telur, ikan, dll).

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel yang dilakukan adalah *total random sampling*, yaitu sampel yang digunakan adalah total populasi yang telah memenuhi kriteria penelitian. Sampel diambil dari total kasus yang termasuk kriteria inklusi pada 6 puskesmas di Jember yang memiliki jumlah kasus TB terbesar. Puskesmas tersebut diantaranya puskesmas Mayang, Kalisat, Arjasa, Patrang, Sumpalsari, dan Kaliwates. Dari jumlah total kasus TB yang didapatkan pada bulan Maret 2015, didapatkan jumlah 40 pasien TB yang termasuk dalam kriteria penelitian. Kemudian, dari jumlah tersebut didapatkan 30 pasien bersedia mengikuti penelitian. Metode ini diperbolehkan karena jumlah populasi yang terbatas atau kurang dari 100 orang (Sugiyono, 2007). Penggunaan total populasi diharapkan akan lebih mewakili fakta yang ada (Notoatmodjo, 2002).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini *pretest-posttest controlled group design* dengan 1 kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- Po = populasi pasien TB
- RS = *random sampling*
- ST = *screening test*
- K₍₋₎ = kelompok kontrol
- K_(p) = kelompok perlakuan
- O_{pre(-)} = observasi *pretest* kelompok kontrol
- O_{pre(p)} = observasi *pretest* kelompok perlakuan
- P₍₋₎ = perlakuan kelompok kontrol
- P_(p) = perlakuan kelompok perlakuan
- O_{post(-)} = observasi *posttest* kelompok kontrol
- O_{post(p)} = observasi *posttest* kelompok perlakuan
- A = analisis data

Tabel 3.1 Pembagian kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok kontrol	Obat Anti-TB (OAT) + <i>placebo</i> (kapsul gelatin yang diisi tepung terigu)
Kelompok perlakuan	Obat Anti-TB (OAT) + kapsul ekstrak albumin ikan gabus (<i>Chana striata</i>)

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak albumin ikan gabus 1500 mg.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IFN- γ dalam darah.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian adalah lama menjalani terapi OAT, BMI, jenis kelamin, dan lama perlakuan.

3.6 Definisi Operasional

- a) Ekstrak albumin ikan gabus merupakan ekstrak albumin ikan gabus yang dikemas dalam bentuk kapsul 500mg dengan merk dagang "PROCENA". Ekstrak albumin ikan gabus diproduksi di Solo oleh Perusahaan Jaya Natural dan telah mendapatkan ijin dari Badan POM. Menurut informasi produsen, metode pembuatan ekstrak albumin ikan gabus diawali dengan cara pengukusan dari daging ikan gabus selama 10-15 menit pada suhu 35-40°C. Hasil ekstraksi awal ini disebut *crude albumin*. *Crude albumin* dikeringkan dengan suhu 37°-53° C sampai kering kemudian diblender sampai berbentuk serbuk. Serbuk albumin yang telah jadi dimasukkan ke dalam kapsul berbahan gelatin dengan berat masing-masing kapsul 500mg.

- b) Pengobatan fase intensif TB adalah fase dimana pengobatan berlangsung selama 2 bulan pertama dengan regimen terapi 2(HRZE).
- c) IFN- γ adalah sitokin yang diproduksi oleh sel T helper, sel NK, dan makrofag yang berfungsi untuk mengaktivasi makrofag melakukan proses penghancuran terhadap bakteri patogen.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain suntik set, tabung EDTA, sentrifuge, pipet, spektrofotometer, *freezer*, vorteks, inkubator, dan ELISA reader.

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain ELISA kit Human IFN- γ , reagen SGOT SGPT, asam asetat 6%, dan alkohol 90%

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Penyediaan Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*)

Penyediaan ekstrak albumin ikan gabus didapatkan dari pembelian kapsul 500mg dengan merk dagang "PROCENA". Ekstrak albumin ikan gabus ini diproduksi di Solo oleh Perusahaan Jaya Natural dan telah mendapatkan ijin dari Badan POM. Menurut informasi produsen, metode pembuatan ekstrak albumin ikan gabus diawali dengan cara pengukusan dari daging ikan gabus selama 10-15 menit pada suhu 35-40°C. Hasil ekstraksi awal ini disebut *crude albumin*. *Crude albumin* dikeringkan dengan suhu 37-53°C sampai kering kemudian diblender sampai berbentuk serbuk. Serbuk albumin yang telah jadi dimasukkan ke dalam kapsul berbahan gelatin dengan berat masing-masing kapsul 500 mg.

3.8.2 Persiapan Dokumen Penelitian

Persiapan penelitian dilaksanakan dengan memberikan *Inform Consent* (Lampiran C) dan Naskah Persetujuan (Lampiran D) kepada subjek penelitian. Penjelasan tentang tindakan, pemeriksaan dan keamanan penelitian akan dijelaskan sejas mungkin kepada subjek penelitian. Selanjutnya subjek penelitian menandatangani *Inform Consent* dan Naskah Persetujuan.

3.8.3 Pemeriksaan skrining

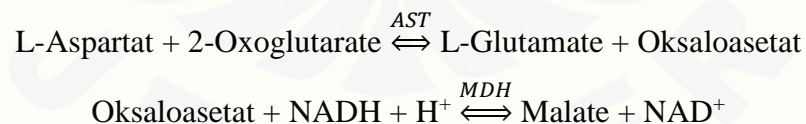
Pemeriksaan skrining dilakukan untuk menilai sampel penelitian layak masuk ke dalam penelitian. Adapun hal yang diukur beserta prosedur pengukurannya sebagai berikut:

a. Pemeriksaan SGOT

Pemeriksaan SGOT dilakukan dengan metode kinetik-IFCC (tanpa pyridoksal 5-phosphate) yaitu darah vena penderita diambil 3 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000-1500 rpm. Serum darah 100 µl dan reagen SGOT 1000 µl dimasukkan dalam tabung reaksi serta dihomogenkan. Selanjutnya dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 365nm. Kemudian, catat nilai absorbansi pada menit I, II, dan III. Selanjutnya, dilakukan penghitungan nilai SGOT berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$GOT = \Delta A / \text{min} \times \text{Factor}$$

Nilai normal pemeriksaan SGOT adalah 3 – 45 U/L Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu:



Aminotransferasi (AST) mengkatalis transaminasi dari L aspartate dan α-ketoglutarate membentuk L-glutamate dan oxaloacetate. Oxaloacetate direduksi menjadi malate oleh enzim malate oleh enzim malate dehydrogenase (MDH) dan nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya

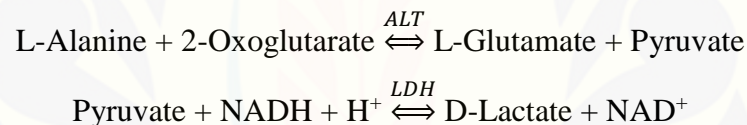
NADH yang teroksidasi, berbanding langsung dengan aktivitas AST dan diukur secara fotometrik.

b. Pemeriksaan SGPT

Pemeriksaan SGPT dilakukan dengan metode kinetik-IFCC (tanpa pyridoksal 5-phosphate) yaitu darah vena penderita diambil 3 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1000-1500 rpm. Serum darah 100 µl dan reagen SGPT 1000 µl dimasukkan dalam tabung reaksi serta dihomogenkan. Selanjutnya dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang. Kemudian, catat nilai absorbansi pada menit I,II, dan III. Selanjutnya, dilakukan penghitungan nilai SGPT berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$GPT = \Delta A / \text{min} \times \text{Factor}$$

Nilai normal pemeriksaan SGPT adalah 0-35 U/L. Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu:



Alanine aminotransferase (ALT) mengkatalis transaminasi dari L-alanine dan α-ketoglutarate membentuk α-glutamate dan pyruvate, pyruvate yang terbentuk di reduksi menjadi laktat oleh enzim laktat dehidrogenase (LDH) dan nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidasi hasil penurunan serapan (*absorbance*) berbanding langsung dengan aktivitas ALT dan diukur secara fotometrik.

c. Pemeriksaan protein rebus

Pemeriksaan dimulai dengan memasukkan 2 ml urine bersama dengan 3 tetes asam asetat 6%. Kemudian, dipanaskan dan dilihat apakah ada kekeruhan yang timbul sebagai akibat adanya protein dalam urin. Normalnya, pemeriksaan protein rebus bernilai negatif.

d. Pengukuran BMI

Pengukuran BMI dilakukan dengan mengukur tinggi badan dan berat badan kemudian dihitung dengan rumus: berat badan (kg) / tinggi badan (m) x tinggi badan (m).

3.8.4 Pretest

Pretest dilakukan dengan mengukur variabel terikat sebelum diberikan perlakuan. Adapun variabel terikat beserta prosedur pengukurannya sebagai berikut.

a. Pengambilan darah dan penyimpanan sampel

Darah vena penderita diambil 3 ml dari vena mediana cubiti kemudian dimasukkan dalam tabung EDTA. Selanjutnya sampel disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Plasma darah diambil dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu 4°C.

b. Pemeriksaan IFN- γ

Pemeriksaan IFN- γ dilakukan dengan metode *Sandwich*-ELISA dengan menggunakan Human IFN- γ ELISA kit produksi ELABSCIENCE. Prinsip kerja pemeriksaan ini adalah dengan menempelkan antibodi spesifik IFN- γ pada *plate* / dasar *well* yang selanjutnya akan berikatan dengan IFN- γ yang ada pada sampel (plasma darah pasien). Selain itu ditambahkan pula *HRP Conjugated* dan *Biotinylated Antibodi*. Diperiksa pula standar dan blanko untuk membuat kurva standar. *Well* yang memiliki IFN- γ , *HRP Conjugated* dan *Biotinylated Antibodi* akan menampilkan warna biru untuk kemudian dibaca absorbansinya pada spektrofotometer. Pengukuran konsentrasi IFN- γ dapat dilakukan dengan membandingkan absorbansi sampel dan kurva standar.

Prosedur pemeriksaannya diawali dengan melakukan *thawing* pada plasma darah yang telah disimpan sampai mencair. Selanjutnya masing-masing sampel plasma darah diambil 100 μ l dan dituangkan ke *well* bersama larutan standart dan blanko dengan jumlah yang sama (satu *well* hanya untuk satu sampel, standart, atau blanko). Langkah selanjutnya adalah ditutup dengan plastik dan diinkubasi selama 90 menit dalam suhu 37°C. Penutupan dengan plastik bertujuan untuk mencegah penguapan

akibat proses inkubasi. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian ditambahkan 100 µl *Biotinylated Detection Antibody* dan diinkubasi kembali selama 60 menit dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian dicuci dengan *wash buffer* 3 kali. Selanjutnya ditambahkan 100 µl *HRP Conjugate* dan diinkubasi kembali selama 30 menit dalam suhu 37°C. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian dicuci dengan *wash buffer* 5 kali. Selanjutnya ditambahkan 90 µl *Substrate Reagent* dan diinkubasi kembali 15 menit dalam suhu 37°C. Pada fase ini tidak boleh terkena cahaya secara langsung sehingga harus dilakukan dalam keadaan gelap. Terakhir ditambahkan *Stop Solution* 50 µl dan sesegera mungkin dibaca di *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Hasilnya nanti berupa absorbansi yang akan diketahui kadar nya dengan membandingkannya dengan kurva standar yang dibuat berdasarkan nilai standart dan blanko.

3.8.5 Pemberian Kapsul Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Chana striata*)

Ekstrak albumin ikan gabus diberikan dalam bentuk kapsul 500 mg dengan dosis konsumsi harian 1500 mg. Dosis harian tersebut terbagi dalam 3 dosis yaitu 500 mg pada pagi, siang, dan sore hari selama 30 hari. Kapsul diminum pada pagi, siang dan sore hari. Pemberian kapsul akan dicatat oleh PMO TB.

3.8.6 Posttest

Posttest dilakukan dengan mengukur variabel terikat setelah diberikan perlakuan. Sebelum dilakukan posttest terlebih dahulu peneliti menanyakan Lembar Ketaatan Minum Obat yang diisi PMO. Apabila presentase minum obat kurang dari 80% maka subjek penelitian dinyatakan *drop out* dan tidak bisa dilakukan posttest.

a. Pengambilan darah dan penyimpanan sampel

Darah vena penderita diambil 3 ml dari *vena mediana cubitti* kemudian dimasukkan dalam tabung EDTA. Selanjutnya sampel disentrifugasi selama 10 menit

dengan kecepatan 5000 rpm. Plasma darah diambil dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu 4°C.

b. Pemeriksaan IFN- γ

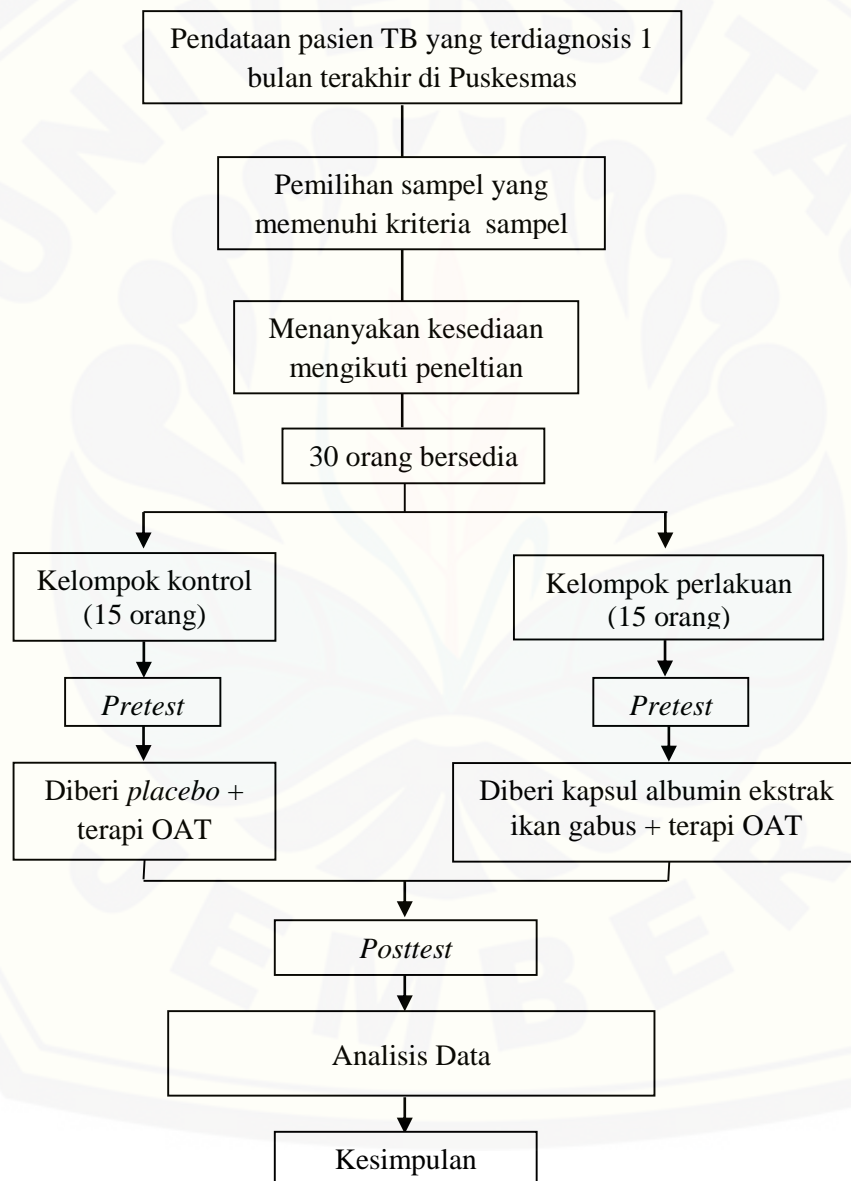
Plasma darah yang telah disimpan di-*towing* sampai mencair. Selanjutnya masing – masing sampel plasma darah diambil 100 μ l dan dituangkan ke *well* bersama larutan standart dan blanko dengan jumlah yang sama (satu *well* hanya untuk satu sampel, standart, atau blanko). Langkah selanjutnya adalah ditutup dengan plastik dan diinkubasi selama 90 menit dalam suhu 37°C. Penutupan dengan plastik bertujuan untuk mencegah penguapan akibat proses inkubasi. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian ditambahkan 100 μ l *Biotinylated Detection Antibody* dan diinkubasi kembali selama 60 menit dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian dicuci dengan *wash buffer* 3 kali. Selanjutnya ditambahkan 100 μ l *HRP Conjugate* dan diinkubasi kembali selama 30 menit dalam suhu 37°C. Setelah diinkubasi cairan dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai habis kemudian dicuci dengan *wash buffer* lima kali. Selanjutnya ditambahkan 90 μ l *Substrate Reagent* dan diinkubasi kembali 15 menit dalam suhu 37°C. Pada fase ini tidak boleh terkena cahaya secara langsung sehingga harus dilakukan dalam keadaan gelap. Terakhir ditambahkan *Stop Solution* 50 μ l dan sesegera mungkin dibaca di *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

3.9 Analisis Data

Teknis pengolahan data dilakukan secara komputerisasi dan dibantu menggunakan perangkat lunak berupa *Software Statistical Product and Service Solution 17.0* (SPSS 17.0). Tahapan uji yang dilaksanakan dalam tiga tahap. Pertama, menguji data pretest kelompok kontrol dan perlakuan dengan uji *Independent T Test*. Kedua, menguji data pretest dan posttest masing-masing kelompok dengan uji *Paired T Test*. Ketiga, menguji delta kadar IFN- γ kelompok kontrol dan perlakuan dengan uji

Independent T Test. Apabila dalam uji normalitas ditemukan persebaran data tidak normal maka dilakukan uji non-parametrik, yaitu uji *Mann Whitney* untuk menggantikan *Independent T Test* dan uji *Wilcoxon* untuk menggantikan *Paired T Test*. Masing-masing uji dilakukan dengan derajat kemaknaan 95%.

3.10 Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.2 Skema alur kerja penelitian