

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN SERUM PADA
SUHU DINGIN TERHADAP STABILITAS ANTIBODI
DARI *Mycobacterium tuberculosis* DENGAN
METODE RAPID**

ONY PURWOKO

N111 06 490



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	19-08-08
Judul Dari	farmasi
Pengarang	1 ilis
Harga	Indonesia
No. Inventaris	250

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI
LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**



**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN SERUM PADA
SUHU DINGIN TERHADAP STABILITAS ANTIBODI
DARI *Mycobacterium tuberculosis* DENGAN
METODE RAPID**

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat- syarat untuk mencapai gelar sarjana

**ONY PURWOKO
N111 06 490**

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI
LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

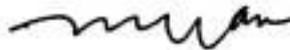
**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN SERUM PADA
SUHU DINGIN TERHADAP STABILITAS ANTIBODI
DARI *Mycobacterium tuberculosis* DENGAN
METODE RAPID**

ONY PURWOKO

N111 06 490

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama,



Dr. rer.nat. Marianti.A Manggau, Apt.
NIP. 132 010 567

Pembimbing Pertama,



dr. Hj. Darmawati Rauf, Sp.PK
NIP. 140 166 088

Pembimbing Kedua,



Dra. Elizabeth Yapari, Apt.
NIP 140 154 607

Pada tanggal, Agustus 2008



ABSTRAK

Penelitian Pengaruh Lama Penyimpanan Serum Pada Suhu Dingin Terhadap Stabilitas Antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* Dengan Metode Rapid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa lama stabilitas antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum simpan pada suhu dingin yang sudah diuji dengan menggunakan Mycotec TB^{XP} (recombinant). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah Labuang Baji Makassar. Pemeriksaan antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dari hari pertama sampai hari kesepuluh masih memberikan hasil yang Positif(+).

Kata kunci : Antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis*, serum, suhu dingin.

ABSTRACT

The current study was investigating the influence of cool storage on the stability of antibody against *Mycobacterium tuberculosis* using rapid method. The aim of the study was to evaluate the length of days of the presence of the antibody in the serum when stored in cool temperature tested by Mycotec TB^{XP} (recombinant). The study was carried out at the laboratory of Labuang Baji Public Hospital, Makassar. The results showed that when stored in cool temperature, the antibody of all sample tested can still be detected (positive) until the tenth day.

Keywords : Antibody of *Mycobacterium tuberculosis*, Serum, Cool temperature.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini banyak kendala yang dihadapi. Namun berkat dukungan dan bantuan semua pihak dan seizin Tuhan Yang Maha Kuasa, penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada;

1. Dr. rer.nat. Mariyanti A. Manggau, Apt selaku Pembimbing Utama.
2. dr. Hj. Darmawaty ER, Sp PK (K) selaku Pembimbing Pertama.
3. Dra. Elisabeth Olivia Yapari, Apt selaku Pembimbing Kedua.
4. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
5. Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS.
6. Para dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
7. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Farmasi.
8. Seluruh staf dan karyawan Program Konsentrasi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua teman sesama mahasiswa angkatan ketiga (Ijal, hijaji, Nurdin, Bakri, Samsudin,

Kasiran, Surya, Misdar, Fenny, Nuryani, Angel, Hurustiati, Rosita, Hasnah, Trisna, Israwati) dan adik – adik mahasiswa khususnya Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan yang telah banyak membantu, saling mendukung dalam suka duka.

Penulis persembahkan karya tulis ini kepada semua keluarga di Pontianak, khususnya orang tua tercinta, Istri serta anak-anakku tercinta, adik – adik tercinta, serta teman – teman yang ada di Pondok H&R yang sudah mendukung baik moril dan materil. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan, serta diberkati Tuhan Yang Maha Esa.

Makassar, Agustus 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tuberkulosis.....	4
II.1.1 Defenisi.....	4
II.1.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4
II.1.3 Klasifikasi	5
II.1.4 Karakteristik <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5
II.1.5 Komponen utama <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	7
II.1.6 Patogenesis Tuberkulosis Paru.....	9
II.1.7 Tuberkulosis Paru Serta Respon Imun.....	10
II.1.8 Gambaran klinik.....	14
II.2 Tinjauan Umum Tentang Antibodi	14
II.2.1 Immunoglobulin (Ig)	14
II.2.2 Tes Serologis Untuk <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	16
II.3 <i>Human Immunodeficiency Virus</i> dan Tuberkulosis.....	17
II.4 Tinjauan Umum Tentang Asai Imunokromatografi.....	18
II.5 Tinjauan Umum Tentang Mycotec TB ^{XP}	19
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	21
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	21
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
III.3 Sampel Penelitian.....	21
III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	21

III.4.1 Kriteria Inklusi.....	21
III.4.2 Kriteria Eksklusi.....	22
III.5 Besar Sampel.....	22
III.6 Defenisi Operasional.....	22
III.7 Metode Penelitian.....	23
III.8 Proserdur Penelitian.....	23
III.8.1 Pengambilan Darah Vena	23
III.8.2 Perlakuan Terhadap Sampel.....	24
III.9 Pemeriksaan Laboratorium.....	24
III.9.1 Prinsip tes.....	24
III.9.2 Cara Kerja.....	25
III.9.3 Interpretasi Hasil.....	25
III.10 Analisis Data.....	26
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	27
IV.1 Hasil Penelitian.....	27
IV.2 Pembahasan.....	27
BAB VKESIMPULAN DAN SARAN.....	30
V.1 Kesimpulan.....	30
V.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pemeriksaan stabilitas antibodi dari <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dalam serum yang disimpan selama 1 – 10 hari pada suhu dingin.....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Persiapan Penelitian 1.....	35
2. Persiapan Penelitian 2.....	35
3. Persiapan penelitian 3.....	35
4. Hasil Stabilitas Hari ke 1.....	36
5. Hasil Stabilitas Hari ke 2.....	36
6. Hasil Stabilitas Hari ke 3.....	36
7. Hasil Stabilitas Hari ke 4.....	37
8. Hasil Stabilitas Hari ke 5.....	37
9. Hasil Stabilitas Hari ke 6.....	37
10. Hasil Stabilitas Hari ke 7.....	38
11. Hasil Stabilitas Hari ke 8.....	38
12. Hasil Stabilitas Hari ke 9.....	38
13. Hasil Stabilitas Hari ke 10.....	39



BAB I PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TBC) adalah salah satu jenis penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri "*Mycobacterium tuberculosis*". Bakteri ini dapat menyerang semua bagian tubuh manusia, dan yang paling sering terkena adalah organ paru (90%) (1,2).

Penyakit TBC di negara-negara maju yang semula sudah dianggap tidak ada kini mulai timbul justru karena timbulnya penyakit HIV/AIDS. Oleh karena kondisi pertahanan tubuh penderita HIV/AIDS sangat lemah, maka pada keadaan ini mempermudah terserang penyakit TBC (1).

Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1995, menempatkan TBC sebagai penyebab kematian ketiga terbesar setelah penyakit kardiovaskuler dan penyakit saluran pernafasan, dan merupakan nomor satu terbesar dalam kelompok penyakit infeksi. Angka kejadian TBC dunia oleh WHO yang terbaru (2006), masih menempatkan Indonesia sebagai negara terbesar nomor 3 di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah kasus baru sekitar 539.000 orang dan jumlah kematian sekitar 101.000 orang pertahun, dan penyakit TBC sebagai penyebab kematian utama setelah penyakit jantung dan saluran pernafasan (2).

Penyakit TBC biasanya menular melalui udara yang tercemar dengan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilepaskan pada saat penderita TBC batuk atau bersin, pasien menyebarkan bakteri ke udara

dalam bentuk percikan dahak. Banyak bagian protein bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebabkan respon yang telah berhasil diidentifikasi. Beberapa protein antigen yang terpenting diantaranya adalah *Early Secreted Antigen Target* (ESAT-6), 38 kDa dan 16 kDa (1,3,4).

Tubuh manusia mempunyai sistem imun yang bertujuan melindungi tubuh dari serangan benda asing seperti bakteri, virus, jamur dan lain-lain. Setelah sistem imun dibangkitkan oleh adanya serangan antigen asing, sistem tersebut akan membentuk antibodi yang spesifik dan mempunyai memori atau daya ingat, kemudian akan melakukan respon yang lebih spesifik serta lebih aktif jika antigen tersebut masuk ke dalam tubuh untuk kedua kalinya (5,6).

Serum yang segar akan memberikan hasil yang terbaik untuk mendeteksi antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis*. Serum dapat disimpan sampai 3 hari pada suhu 2 – 8 °C. Penyimpanan serum dapat dilakukan pada suhu - 20°C apabila tidak memungkinkan dilakukan dalam waktu lebih dari 3 hari (7).

Kendala yang dapat ditemukan terutama pada unit pelayanan kesehatan yang melakukan pemeriksaan antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* harus ditangguhkan/ditunda yang disebabkan oleh keterlambatan reagen, transportasi, maka perlu beberapa waktu untuk melakukan penyimpanan sampel.

Rumusan masalah berapa lamakah stabilitas antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum yang disimpan pada suhu dingin sampai dengan sepuluh hari kemudian diuji dengan menggunakan Mycotec TB^{sp} (recombinant)?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa lama stabilitas antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum yang disimpan pada suhu dingin sampai dengan sepuluh hari kemudian diuji dengan menggunakan Mycotec TB^{sp} (recombinant).

Manfaat penelitian adalah menjadi bahan informasi, khususnya bagi para tenaga laboratorium kesehatan dalam menentukan stabilitas antibodi *Mycobacterium tuberculosis* pada serum yang ditangguhkan/ ditunda dengan menggunakan Mycotec TB^{sp} (recombinant).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 TUBERKULOSIS

II.1.1 Definisi

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, sebagian besar bakteri tuberkulosis menyerang paru, tetapi dapat juga mengenai organ lain (1,2).

II.1.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Spesies *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri yang umumnya disebut sebagai *tubercle bacillus*. Bakteri ini merupakan golongan bakteri berbentuk batang, tidak membentuk spora dan bersifat aerob. Pertama kalinya basil *tubercle* ini diisolasi oleh Robert Koch pada tanggal 24 Maret 1882. Hidup sebagai bakteri intraseluler, dan biasanya penularan terjadi melalui saluran pernafasan. Untuk mengidentifikasi bakteri ini, dapat dilakukan dengan pewarnaan Ziehl Nielsen dengan menggunakan mikroskop biasa, juga dapat dilakukan dengan pewarnaan fluorokrom (auramin-rodamin) dengan menggunakan mikroskop flurensens. Metode pengecatan tersebut didasarkan pada sifat tahan asam Mikobakteria (3,8,9,10,11).

Mycobacterium tuberculosis dapat tumbuh optimum pada suhu 37°C, sedangkan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 6,8. Pola pertumbuhan lambat, dengan waktu pembelahan sekitar 20 jam, pada



media pertumbuhan koloni tampak setelah 2 – 3 minggu dan biasanya pertumbuhannya sangat rapat. Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap faktor fisika dan kimia lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri lain, hal ini disebabkan sifat hidrofobik permukaan sel dan sifat pertumbuhannya yang bergerombol (8,11,12).

II.1.3 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, determinasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Procaryote
- Divisio : Cyanobacteria
- Ordo : Actinomycetales
- Famili : Mycobacteriaceae
- Genus : *Mycobacterium*
- Spesies : *Mycobacterium tuberculosis* (13).

(Chatim Aidilfiet, 1994).

II.1.4 Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis atau bakteri TBC berbentuk batang lurus atau bengkok berukuran kira-kira 0,4 x 3,0 μm . Berpasangan atau membentuk kelompok, genus *Mycobacterium* merupakan kelompok bakteri gram positif, berukuran lebih kecil dibandingkan bakteri lainnya. (11,14).

Pewarnaan cara Ziehl-Neelsen atau Tan Thiam Hok, bakteri berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru, sedangkan pada pewarnaan fluorokrom bakteri ini memberikan fluoresensi kuning jingga, terlihat sendiri-sendiri, berpasangan atau membentuk kelompok kecil, ukuran tersebut tergantung pada lingkungan pertumbuhan, sehingga kadang berbentuk filamen panjang dan bercabang, bakteri ini dapat juga terlihat seperti biji (10,11).

Genus *Mycobacterium* mempunyai karakteristik unik karena dinding selnya banyak mengandung lipid dan lapisan tebal peptidoglikan yang mengandung arabinogalaktan, lipoarabinomannan dan asam mikolat. Asam mikolat tidak dijumpai pada bakteri dan hanya dijumpai pada dinding sel *Mycobacterium*. *Mycobacterium tuberculosis* dibedakan dari sebagian besar bakteri dan mikobakteria lainnya karena bersifat patogen dan dapat berkembang biak dalam sel fagosit hewan dan manusia. Selain bersifat patogen *Mycobacterium tuberculosis* dapat meningkatkan respon imun sel T dan sel B (11).

Lipid yang membuat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tahan terhadap asam (asam alkohol) sehingga disebut bakteri tahan asam (BTA) dan juga lebih tahan terhadap gangguan kimia. *Mycobacterium tuberculosis* dapat hidup pada udara kering maupun dalam keadaan dingin (dapat hidup bertahun-tahun dalam lemari es). Hal ini terjadi karena bakteri berada dalam keadaan *dormant* (tidak aktif).

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* di dalam jaringan, hidup sebagai parasit intraseluler yakni dalam sitoplasma makrofag. Makrofag yang semula memfagosit malah kemudian disenangi karena banyak mengandung lipid (11).

Sifat *Mycobacterium tuberculosis* yang aerob menunjukkan bahwa bakteri lebih menyenangi jaringan yang tinggi kandungan oksigennya, dalam hal ini tekanan oksigen pada bagian apeks paru-paru lebih tinggi dari bagian lain.

Dinding sel yang banyak mengandung lipid akan melindungi bakteri dari proses fagolisosom, hal ini dapat menerangkan mengapa bakteri dapat hidup pada makrofag normal yang tidak teraktivasi (11).

Dinding sel yang banyak mengandung lipid pada bakteri juga mengandung beberapa sifat bakteri yang tidak wajar diantaranya, kekedapan relatif terhadap zat warna, kecepatan asam, memperbesar lambatnya pertumbuhan (15).

II.1.5 Komponen Utama Dinding *Mycobacterium. Tuberculosis*

Kemampuan *Mycobacterium tuberculosis* dalam menginfeksi hospes dan bertahan terhadap pengaruh faktor lingkungan tidak lepas dari struktur dan komponen penyusun sel, unsur-unsur yang tercantum di bawah ini terutama ditemukan dalam dinding sel. Dinding sel mikobakteria dapat merangsang hipersensitivitas jenis lambat, dan merangsang suatu kekebalan terhadap infeksi (14).

a. Lemak (lipid)

Mikobakteria kaya akan lemak kompleks (lipid), kandungan lemak pada dinding sel antara 20 hingga 40% dari berat keringnya. Di dalam sel, lemak terikat oleh protein dan polisakarida. Lemak bertanggung jawab terhadap sebagian besar reaksi-reaksi seluler jaringan dari bakteri tuberkulosis. Selain itu lemak juga bertanggung jawab terhadap sifat tahan asam, apabila lemak bakteri tuberkulosis dihilangkan dengan eter, maka sifat tahan asam akan hilang .

b. Protein

Masing-masing tipe mikobakteria berisi beberapa protein yang mendatangkan reaksi tuberkulin. Ikatan protein pada fraksi lilin, dengan injeksi menyebabkan sensitivitas tuberkulin. Protein ini juga dapat menimbulkan pembentukan berbagai antibodi. Antigen ESAT-6 dengan berat molekul 6 kDa, 16 kDa, 38 kDa merupakan protein antigen yang dikeluarkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menimbulkan antibodi (7,14).

c. Polisakarida

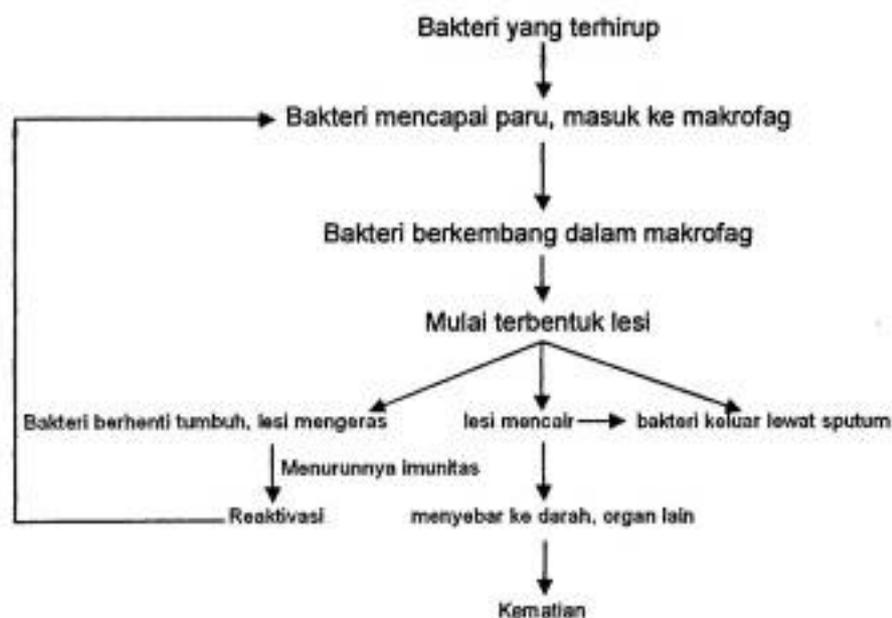
Peranan polisakarida dalam patogenesis belum diketahui secara pasti, namun dari hasil penelitian mengindikasikan bahwa beberapa polisakarida dapat merangsang hipersensitivitas tipe cepat dan bertindak sebagai antigen dalam reaksi dengan serum orang terinfeksi (14).

II.1.6 Patogenesis Tuberkulosis Paru

Tuberkulosis primer terjadi pada individu yang terpapar pertama kali dengan bakteri tuberkulosis, sedangkan tuberkulosis paru kronik (reaktivasi atau pasca primer) adalah hasil reaktivasi infeksi tuberkulosis pada suatu fokus dormant yang terjadi beberapa tahun lalu.

Organ tubuh yang paling banyak diserang tuberkulosis adalah paru. Beberapa penelitian menunjukkan adanya kenaikan limfosit alveolar, netrofil pada sel bronko alveolar pada pasien tuberkulosis paru.

Patogenesis tuberkulosis dimulai dari masuknya bakteri sampai timbulnya berbagai gejala klinis yang digambarkan sebagai berikut:



Infeksi biasanya terjadi melalui debu atau titik cairan (*droplet*) yang mengandung bakteri tuberkulosis. Bakteri yang berhasil masuk melalui

inhalasi akan berkembang biak dengan cara membelah diri dan selanjutnya akan terjadi peradangan pada jaringan terinfeksi. Saluran limfe akan membawa *Mycobacterium tuberculosis* ke kelenjar limfe disekitar hilus paru, selanjutnya bakteri akan menetap dan berkembang biak dalam paru, kelenjar limfe atau organ lain. Perkembangan penyakit ditentukan oleh jumlah bakteri yang masuk dan daya tahan serta hipersensitivitas hospes (11,12).

Penyakit yang disebabkan oleh mikobakteria bukan karena toksin dari bakteri tersebut. Penyakit timbul akibat menetap dan berproliferasinya mikobakteria virulen serta adanya interaksi dengan inang. Sifat virulensi ini disebabkan oleh adanya senyawa sulfida (yang mengandung unsur belerang) yang menyebabkan bakteri dapat hidup di dalam sel karena menghambat penggabungan fagosom-lisosom. *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat membentuk suatu antioksidan, yaitu enzim *superoksida dismutase* (SOD) sehingga bakteri ini dapat hidup dalam makrofag sebagai bakteri aerob yang dapat menghasilkan O₂ (14).

II.1.7 Tuberkulosis Paru Serta Respon Imun

Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran napas, bakteri tuberkulosis yang masuk kedalam tubuh akan difagositosis oleh netrofil dan makrofag. Bakteri tidak mati di dalam netrofil karena netrofil tidak mampu menghancurkan selubung lipid dinding bakteri, bahkan tumbuh baik di dalamnya. Bakteri tersebut akan segera keluar lagi dan masuk lebih dalam kemudian di fagosit oleh

makrofag alveolar, selanjutnya makrofag akan melakukan 3 fungsi penting, yaitu:

1. Menghasilkan enzim yang mempunyai efek bakterisidal.
2. Menghasilkan mediator terlarut (sitokin) sebagai respon terhadap *Mycobacterium tuberculosis* berupa IL-1, IL-6, TNF- α (*Tumor Necrosis Factor Alfa*), dan TGF- β (*Transforming Growth Factor Beta*).
3. Memproses dan mempresentasikan antigen mikobakterial pada limfosit (11,15,16).

Bakteri tuberkulosis di dalam makrofag mengalami endositosis dan selanjutnya masuk kedalam sitoplasma membentuk kantong (fagosom). Fagosom akan mengadakan fusi dengan lisosom membentuk fagolisosom yang mengandung enzim-enzim *proteinase* dan *hidrolase* sehingga dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri-bakteri tuberkulosis. Bakteri tuberkulosis mempunyai kemampuan menghalangi fusi tersebut sehingga tidak terbentuk fagolisosom dan bakteri tetap dapat bertahan hidup dalam makrofag (16).

Bila makrofag tidak mampu membunuh bakteri, maka bakteri-bakteri tuberkulosis tersebut akan tumbuh dalam makrofag dan berakhir dengan kematian makrofag. Selanjutnya bakteri-bakteri tuberkulosis tersebut akan keluar dari makrofag dan difagositosis oleh makrofag-makrofag yang lain (15).

Perjalanan imunologis dimulai ketika makrofag bertemu dengan bakteri tuberkulosis, memprosesnya lalu menyajikan antigen kepada limfosit. Dalam keadaan normal, makrofag yang telah memfagosit bakteri tuberkulosis akan melepaskan interleukin-1 (IL-1) yang akan merangsang limfosit T. Limfosit T akan melepaskan interleukin-2 (IL-2) yang selanjutnya merangsang makrofag agar lebih aktif dalam membunuh bakteri dan limfosit T lain untuk memperbanyak diri, matang dan memberi respon lebih baik terhadap antigen (16).

Sel limfosit T adalah mediator utama pertahanan imun melawan *Mycobacterium tuberculosis*. Secara imunofenotipik sel limfosit T terdiri dari limfosit T *helper*, disebut juga *clusters of differentiation 4* (CD4) karena mempunyai molekul CD4⁺ pada permukaannya. Sel T *helper* (CD4) berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel T *helper* 1 (Th1) dan sel *helper* 2 (Th2). Sel limfosit T tidak dapat dibedakan secara morfologik tetapi dapat dibedakan dari perbedaan sitokin yang diproduksinya atau dengan *flowcytometry* yang menggunakan antibodi monoklonal berlabel fluoresen dapat juga untuk membedakan limfosit T dan B. Sel Th1 membuat dan membebaskan sitokin tipe 1 meliputi IL-2, IL-12, IFN- γ dan *tumor nekrosis factor alfa* (TNF- α). Sitokin yang dibebaskan oleh Th1 adalah aktivator yang efektif untuk membangkitkan respon imun seluler. Sel Th2 membuat dan membebaskan sitokin tipe 2 antara lain IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10. Sitokin tipe 2 menghambat proliferasi sel Th1, sebaliknya sitokin tipe 1 menghambat produksi dan pembebasan sitokin tipe 2 (4,24).

Perjalanan imunologis dimulai ketika makrofag bertemu dengan bakteri tuberkulosis, memprosesnya lalu menyajikan antigen kepada limfosit. Dalam keadaan normal, makrofag yang telah memfagosit bakteri tuberkulosis akan melepaskan interleukin-1 (IL-1) yang akan merangsang limfosit T. Limfosit T akan melepaskan interleukin-2 (IL-2) yang selanjutnya merangsang makrofag agar lebih aktif dalam membunuh bakteri dan limfosit T lain untuk memperbanyak diri, matang dan memberi respon lebih baik terhadap antigen (16).

Sel limfosit T adalah mediator utama pertahanan imun melawan *Mycobacterium tuberculosis*. Secara imunofenotipik sel limfosit T terdiri dari limfosit T *helper*, disebut juga *clusters of differentiation 4* (CD4) karena mempunyai molekul CD4⁺ pada permukaannya. Sel T *helper* (CD4) berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel T *helper* 1 (Th1) dan sel *helper* 2 (Th2). Sel limfosit T tidak dapat dibedakan secara morfologik tetapi dapat dibedakan dari perbedaan sitokin yang diproduksinya atau dengan *flowcytometry* yang menggunakan antibodi monoklonal berlabel fluoresen dapat juga untuk membedakan limfosit T dan B. Sel Th1 membuat dan membebaskan sitokin tipe 1 meliputi IL-2, IL-12, IFN- γ dan *tumor nekrosis factor alfa* (TNF- α). Sitokin yang dibebaskan oleh Th1 adalah aktivator yang efektif untuk membangkitkan respon imun seluler. Sel Th2 membuat dan membebaskan sitokin tipe 2 antara lain IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10. Sitokin tipe 2 menghambat proliferasi sel Th1, sebaliknya sitokin tipe 1 menghambat produksi dan pembebasan sitokin tipe 2 (4,24).

Berdasarkan fungsinya sel T CD4⁺, sel Th1 menghasilkan IFN- γ , IL-2 dan lainnya yang berfungsi meningkatkan aktivitas mikrobisidal makrofag serta menimbulkan hipersensitifitas tipe lambat. Sedangkan sel Th2 menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10 yang berfungsi merangsang diferensiasi dan pertumbuhan sel limfosit B (16).

Sel Th2 yang memproduksi sitokin akan mengaktifkan sel limfosit B untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan mengeluarkan antibodi yang spesifik terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (17).

Sitokin yang dihasilkan makrofag mempunyai potensi untuk menekan efek imunoregulator dan menyebabkan manifestasi klinis terhadap tuberkulosis. Interleukin-1 (IL-1) selain dapat merangsang sel limfosit T juga merupakan penyebab demam sebagai karakteristik tuberkulosis. Interleukin-6 (IL-6) akan meningkatkan produksi immunoglobulin oleh sel B yang teraktivasi. TGF- β berfungsi sama dengan IFN- γ untuk membunuh bakteri serta diperlukan untuk pembentukan granuloma dalam mengatasi infeksi mikobakteria. Selain itu TNF- α juga dapat menyebabkan efek seperti demam dan nekrosis jaringan yang merupakan ciri khas tuberkulosis (16).

Fungsi dari granuloma yaitu memblokir atau memagari infeksi untuk mencegah penyebaran bakteri tuberkulosis ke bagian lain dari paru atau organ lain dan untuk memfokuskan respon imun langsung pada tempat infeksi (18).



II.1.8 Gambaran Klinik

Bakteri tuberkulosis dapat menyerang setiap organ tubuh sehingga gambaran kliniknya dapat berubah-ubah. Kelelahan, lemah, berat badan turun dan demam merupakan tanda-tanda umum penyakit tuberkulosis. Serangan pada paru-paru menimbulkan batuk menahun (lebih dari 3 minggu) dan batuk berdarah biasanya dihubungkan dengan lesi yang telah lanjut. Selain itu, gejala lain yang tampak pada penderita tuberkulosis adalah sakit dada dan anemi. Penyebaran bakteri melalui darah mengakibatkan tuberkulosis dengan lesi-lesi pada organ-organ lain (2,12,14).

II.2 Tinjauan Umum Tentang Antibodi

II.2.1 Immunoglobulin (Ig)

Antibodi atau Immunoglobulin merupakan substansi pertama yang diidentifikasi sebagai molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul disintesis oleh sel B dalam 2 bentuk yang berbeda, yaitu sebagai reseptor permukaan (untuk mengikat antigen), dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstraseluler (19).

Immunoglobulin terdiri atas molekul-molekul protein yang walaupun satu dengan lain memiliki banyak persamaan dalam hal struktur dan sifat biologik, berbeda dalam susunan asam amino yang membentuk molekul, sesuai kelas dan fungsinya. Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen mempunyai susunan asam amino yang

berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain, dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan. Sifat inilah yang disebut spesifisitas antibodi (19,20).

Immunoglobulin merupakan molekul glikoprotein yang terdiri atas komponen polipeptida sebanyak 82 – 96 % dan selebihnya karbohidrat. Fungsi utama dalam respon imun adalah mengikat dan menghancurkan antigen. Opsonisasi antigen oleh immunoglobulin sehingga meningkatkan fagositosis, memudahkan *Antigen Presenting Cell* (makrofag) memproses dan menyajikan antigen ke sel limfosit T (19).

Hingga sekarang Ig dikenal dalam 5 kelas utama dalam serum manusia, yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE. Klasifikasi ini didasarkan atas perbedaan dalam struktur kimia yang mengakibatkan perbedaan dalam sifat biologik maupun sifat fisika immunoglobulin. Di laboratorium, kelas immunoglobulin ini ditentukan berdasarkan sifat migrasi masing-masing pada elektroforesis dan sifat-sifat serologik (19).

Berdasarkan struktur molekulnya, antibodi digolongkan pada golongan protein globuler; yaitu protein berbentuk bulat atau elips dengan rantai polipeptida yang berlipat. Umumnya, protein globular larut dalam air, asam, basa, atau etanol (20).

Protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dan zat kimia, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan pada struktur molekul protein disebut *denaturasi*. Hal-hal yang dapat menyebabkan terjadinya *denaturasi* adalah: panas, pH, dan adanya bahan

kimia seperti alkohol atau sabun. Proses *denaturasi* dapat berlangsung secara *reversibel*, tetapi ada pula yang *irreversibel*, tergantung pada penyebabnya. Protein yang mengalami *denaturasi* akan menurunkan aktivitas biologinya dan berkurang kelarutannya (20).

II.2.2 Tes Serologis untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*

Metode diagnostik serologis pada tuberkulosis pertama kali diperkenalkan oleh Arloing yaitu teknik hemaglutinasi pada tahun 1898. Pada tahun 1972 Engvall dan Perlmann memperkenalkan teknik ELISA Tes imunoserologis untuk mendiagnosis tuberkulosis berdasarkan atas pendeteksian antibodi IgG dan IgM terhadap antigen mikobakterial spesifik atau penggabungan beberapa antigen.

Berbagai materi antigen dikembangkan untuk memperbaiki sensitivitas dan spesifisitas tes imunoserologik pada penyakit tuberkulosis. Antigen 60 merupakan antigen yang terbaik yang digunakan pada metode TB ELISA. Antigen yang terbaru seperti 38 kDa yang beridentitas dengan antigen 5 dan Kp90 (Kreatech Diagnostics, Madrid, Spain) telah dikembangkan secara komersial mempunyai spesifisitas yang lebih tinggi. Penggabungan berbagai antigen dapat memperbaiki sensitivitas dan spesifisitas. Deteksi IgG terhadap 38 kDa antigen mempunyai sensitivitas 64% dan spesifisitas 81% (21).

Imunodominant 16 kDa antigen *Mycobacterium tuberculosis* yaitu Ag16, ditemukan homolog dengan *low molecular-weight heat shock protein*. Antigen ini mengandung epitop sel B yang spesifik terhadap

Mycobacterium tuberculosis kompleks. Respon serologik terhadap epitop berkolerasi baik dengan total IgG yang terkait untuk lipoarabinomannan, protein 16 kDa dan 38 kDa mendukung bahwa epitop pada kedua antigen ini adalah imunodominant. Ag16 adalah imunogenik pada stadium awal infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan pada tuberkulosis primer.

Salah satu antigen spesifik terbaru yang dikembangkan adalah ESAT-6 (*Early Secreted Antigenic Target 6*) yang merupakan *low molecular-weight* antigen yang secara dini disekresi dan diekpresikan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. ESAT-6 pertama kali dikembangkan pada tahun 1995. *Cell-mediated response* terhadap antigen ini berhubungan dengan kontak yang terbaru terjadi, dan meningkatkan resiko penyakit. ESAT-6 tidak didapatkan pada vaksin BCG (*Bacille Calmette-Guérin*). Antigen ini merupakan indikator yang sangat spesifik untuk infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (4,7,21).

Salah satu kit rapid imunokromatografi yang dikomersilkan adalah Mycotec TB^{XP} (recombinant) yang mengandung antigen 16 kDa, 38 kDa dan ESAT-6. Mycotec TB memiliki sensitivitas 72% dan spesifisitas 82% jika dibandingkan dengan metode gold standar yaitu kultur (7,21).

II.3 Human Immunodeficiency Virus (HIV) dan Tuberkulosis (TB)

HIV dan TB membentuk kombinasi yang kental, proses salah satu penyakit tersebut mempercepat progresivitas penyakit yang lainnya. HIV melemahkan sistim imun seseorang dengan HIV-positif dan terinfeksi oleh bakteri tuberkulosis lebih sering dijumpai sebagai penderita TB berat

dibandingkan dengan penderita TB yang HIV-negatif. TB merupakan penyebab kematian pada penderita HIV-positif, sekitar 13% dari kematian AIDS sedunia. Di Afrika, HIV itu sendiri merupakan faktor penentu utama meningkatnya angka kejadian TB dalam 10 tahun terakhir (21).

II.4 Tinjauan Umum Tentang Asai Imunokromatografi

Asai imunokromatografi (ICA) atau disebut juga aliran samping (*Lateral Flow Test*) atau dengan singkat disebut uji strip (*Strip test*) tergolong dalam kelompok imunoasai berlabel seperti imunofluoresen (IF), RIA dan imunoasai enzim (EIA)

Asai imunokromatografik merupakan perluasan yang logis dari teknologi uji aglutinasi lateks yang berwarna, yaitu uji serologi yang telah dikembangkan sejak tahun 1956 oleh Singer dan Plooz untuk penyakit artritis rematoid.

Berbeda dengan uji IF dan RIA, asai imunokromatografik tidak membutuhkan alat canggih (*mikroskop fluoresens* dan *radio counter*) untuk membacanya cukup hanya dengan melihat adanya perubahan warna memakai mata telanjang, sehingga jauh lebih praktis (17).

Berbeda dengan uji ELISA, antibodi pelacak dari uji (ICA) tidak berlabel enzim tetapi berlabel partikel halus berwarna, yaitu *colloidal gold* (merah), sehingga tidak membutuhkan substrat. Partikel *colloidal gold* amat halus (1 – 20 nm) maka daya migrasinya kuat dan dalam waktu yang amat singkat dapat mencapai garis atau dot pengikat (antigen) dan

menimbulkan signal berwarna yang spesifik, sehingga waktu pemeriksaan amat cepat (sekitar 15 menit) (11,17).



II.5 Tinjauan Umum Tentang Mycotec TB^{XP} (recombinant)

Salah satu dari sekian banyak tes atau pemeriksaan yang menggunakan metode imunokromatografi, yang banyak beredar di pasaran dan digunakan di laboratorium kesehatan adalah pemeriksaan dengan menggunakan Mycotec TB^{XP} (recombinant).

Perangkat diagnostik Mycotec TB^{XP} (recombinant) adalah tes secara imunokromatografi untuk mendeteksi antibodi terhadap tuberkulosis aktif dalam serum atau plasma manusia secara kualitatif. Penggunaan beberapa antigen rekombinan memungkinkan pengikatan semua *isotypes* antibodi terhadap tuberkulosis, sehingga tes ini dapat digunakan untuk mendeteksi tuberkulosis paru dan juga di luar paru.

Tes ini menggunakan konjugat *gold colloidal particle* yang akan bergerak menuju area tes yang telah dilapisi beberapa antigen tuberkulosis rekombinan (38 kDa, 16 kDa, dan *Early Secreted Antigen Target-6* (ESAT-6)).

Jika sampel penderita yang diperiksa mengandung antibodi terhadap tuberkulosis, maka akan terbentuk garis berwarna merah muda atau ungu pada area tes (T), sisa dari kompleks yang tidak terikat dengan antibodi tuberkulosis tersebut akan terus bergerak ke arah area kontrol (C) sehingga terbentuk garis berwarna merah muda atau ungu di area kontrol (C). Hal tersebut menandakan bahwa tes bereaksi dengan baik.

Perangkat diagnostik Mycotec TB^{XP} (recombinant) akan tetap stabil pada suhu 2 - 30°C, jika kemasannya belum dibuka. Tes dapat digunakan sampai batas kadaluarsa yang tertera pada etiket kemasannya. Penyimpanan di *freezer* (dalam keadaan beku), atau pada suhu terlalu panas sangat tidak dianjurkan.

Mycotec TB^{XP} (recombinant) memerlukan serum atau plasma manusia sebagai sampel. Serum atau plasma yang segar akan memberikan hasil yang terbaik. Serum atau plasma dapat disimpan sampai 3 hari pada suhu 2 – 8°C, penyimpanan serum dapat dilakukan pada suhu - 20°C atau lebih bila pengetesan tidak memungkinkan dilakukan dalam waktu 3 hari.

Pemeriksaan antibodi tuberkulosis dengan menggunakan Mycotec TB^{XP} (recombinant) telah melewati penelitian atau evaluasi di *National Tuberculosis Reference Laboratory Center (NTRLC)*, Thailand. Percobaan klinis pada 30 orang sehat dan 30 orang tersangka tuberkulosis (sesuai dengan foto thorax dan gejala klinis), menunjukkan hasil sensitivitas 87% dan spesifisitas 90% (7).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang digunakan

Alat – alat yang dipergunakan adalah refrigerator (Kulkas), clinippet 100 µl (pipetter 100 µl), tips, sentrifus, semprit, tabung, temperatur suhu.

Bahan – bahan yang digunakan adalah serum, alkohol 70%, reagen MYCOTEC TB^{XP} (recombinant).

III.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Labuang Baji Makassar dari tanggal 16 Mei sampai dengan 26 Mei 2008.

III.3 Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah penderita tuberkulosis paru yang memeriksakan diri di laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah Labuang Baji Makassar.

III.4 Kriteria inklusi dan eksklusi

III.4.1 Kriteria Inklusi

1. Penderita tuberkulosis paru yang berumur 15 – 50 tahun, yang telah di periksa dengan Mycotec TB^{XP} (recombinant), pada serumnya terdapat antibodi terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.
2. Belum mendapatkan terapi obat anti tuberkulosis.

III.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Penderita tuberkulosis paru yang berumur 15 – 50 tahun, yang telah di periksa dengan Mycotec TB^{XP} (recombinant), pada serumnya tidak terdapat antibodi terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.
2. Sedang mengkonsumsi obat anti tuberkulosis.

III.5 Besar Sampel

Besar sampel dihitung berdasarkan perlakuan penelitian dengan menggunakan rumus Federer (26,27).

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(10 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$9n - 9 \geq 15$$

$$n \geq 2,66$$

Keterangan:

n : Jumlah sampel

t : Perlakuan

III.6 Definisi Operasional

1. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri berbentuk batang lurus atau bengkok berukuran kira-kira 0,4 x 3,0 μm , gram positif, intraselluler, tidak membentuk spora dan bersifat aerob.
2. Penderita tuberkulosis paru adalah orang yang menderita penyakit tuberkulosis paru yang dibuktikan dengan hasil pemeriksaan dahak secara mikroskopis Positif/(+), minimal 2 dari 3 sampel dahak.
3. Serum adalah cairan yang diperoleh dari sejumlah volume darah yang dibiarkan membeku hingga keluar dari bekuan darah.

4. Antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* merupakan antibodi yang timbul akibat adanya infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* di dalam tubuh manusia.
5. Stabilitas adalah usaha untuk menjaga keseimbangan atau dalam keadaan menjadi tetap.
6. Mycotec TB^{XP} (recombinant) adalah suatu tes rapid yang digunakan untuk mendeteksi antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum penderita tuberkulosis paru.
7. Suhu dingin adalah suhu tidak lebih dari 8°C, lemari pendingin mempunyai suhu antara 2°C dan 8°C, sedangkan lemari pembeku mempunyai suhu antara - 20°C dan - 10°C (28).

III.7 Metode penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen (29).

III.8 Prosedur penelitian

III.8.1 Pengambilan Darah Vena

1. Karet pembendung darah (tourniquet) diikat pada lengan atas 7,5 – 10 cm diatas bagian yang akan dilakukan pengambilan darah vena.
2. Tempat yang akan ditusuk diusap dengan kapas alkohol 70% biarkan 30 detik untuk mengeringkan alkohol.
3. Menusuk bagian vena dengan ujung lubang jarum menghadap keatas dengan sudut kemiringan antara jarum dan kulit 15 derajat.
4. Mengisi semprit dengan darah dalam jumlah yang dikehendaki (5 ml).

5. Melepaskan karet pembendung agar darah mengalir.
6. Semprit dicabut dari tempat tusukan, kemudian kapas steril menutupi tempat tusukan, kemudian jarum dilepaskan dari semprit.
7. Darah dialirkan kedalam tabung melalui dinding tabung (22).

III.8.2 Perlakuan terhadap sampel

1. Mengambil darah pasien dengan semprit dan waktu pengambilan darah vena dicatat waktunya.
2. Darah dalam tabung dibiarkan membeku selama 30 menit pada temperatur ruangan, kemudian disentrifus selama 10 menit pada 3000 rpm. Maka darah akan terpisah yakni komponen darah di bagian bawah dan serum berada di bagian atas.
3. Serum yang diperoleh dipindahkan pada tabung yang bersih minimal 2000 μl , kemudian di pisah – pisah kedalam sepuluh tabung (cup sampel) lainnya masing masing tabung diisi 200 μl .
4. Serum yang telah dipisah dimasukkan kedalam kulkas (bukan di freezer) guna pemeriksaan dihari berikutnya (22).

II.9 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan MYCOTEC TB^{sr} (recombinant).

II.9.1 Prinsip Tes

MYCOTEC TB^{sr} (recombinant) menggunakan konjugat *gold colloidal particle* yang bergerak menuju area tes yang telah dilapisi

beberapa antigen TB rekombinan 38,16 dan 6 kDa *Early Secreted Antigen Target* (ESAT-6) begitu sampel diteteskan kedalam sumur sampel. Bila sampel pasien yang diperiksa mengandung antibodi terhadap TB, maka akan terbentuk garis berwarna merah muda atau ungu pada area tes (T). Sisa dari kompleks yang tidak terikat dengan antibodi TB tersebut akan terus bergerak ke arah area kontrol (C) sehingga terbentuk garis berwarna merah muda atau ungu di area kontrol. Hal tersebut menandakan bahwa tes bereaksi dengan baik.

II.9.2 Cara Kerja

1. Dibuka kemasan Mycotec, siapkan sejumlah tes yang diperlukan dan letakkan tes pada tempat yang datar dan bersih.
2. Apabila tes atau sampel disimpan dalam refrigerator, terlebih dahulu didaptasikan pada suhu kamar minimal 30 menit sebelum pemeriksaan dilakukan.
3. Dipipet 100 μ l serum kemudian teteskan serum tersebut pada lubang/sumur yang tersedia. (tanda S)
4. Pembacaan hasil dilakukan pada 20 menit setelah serum dimasukkan ke dalam lubang sampel (7).

II.9.3 Interpretasi hasil

Positif : Bila tampak 2 garis warna merah muda atau ungu di area Test (T) dan di area Kontrol (C).

Negatif : Bila tampak 1 garis warna merah muda atau ungu di area Kontrol (C).

Invalid : Tidak tampak garis diarea Kontrol (C).

III.10 Analisis data

Analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan dinarasikan secara deskriptif.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Labuang Baji Makasar dengan subjek penelitian serum penderita tuberkulosis paru yang pada serumnya terdapat antibodi spesifik terhadap tuberkulosis paru. Jumlah sampel sebanyak 5 serum penderita tuberkulosis disimpan pada suhu dingin seperti yang terlihat pada tabel.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan stabilitas antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum yang disimpan selama 1 – 10 hari pada suhu dingin.

KODE	HARI 1	HARI 2	HARI 3	HARI 4	HARI 5	HARI 6	HARI 7	HARI 8	HARI 9	HARI 10
	suhu 4°C	suhu 4°C	suhu 5°C	suhu 4°C	suhu 5°C	suhu 4°C	suhu 4°C	suhu 4°C	suhu 4°C	suhu 5°C
1. VER	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. RES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. LAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. ARD	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. SAR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Pemeriksaan antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dari hari pertama sampai hari kesepuluh masih memberikan hasil yang Positif(+).

IV.2 Pembahasan

Telah dilakukan penelitian terhadap antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel serum penderita tuberkulosis paru yang

disimpan pada suhu dingin sampai dengan hari kesepuluh, diperoleh hasil bahwa antibodi dari *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum penderita tuberkulosis paru yang disimpan pada suhu dingin tersebut masih tetap stabil (masih memberikan hasil (+) / Positif).

Berdasarkan kit Mycotec TB^{XP} (recombinant) yang menyatakan bahwa stabilitas sampel serum penderita tuberkulosis paru yang disimpan pada suhu dingin akan stabil selama 3 hari, ternyata masih dapat stabil sampai hari kesepuluh dengan menggunakan tes Mycotec TB^{XP} (recombinant). Jadi, sampel serum penderita tuberkulosis paru dapat ditunda/ ditangguhkan, apabila sampel disimpan pada suhu dingin masih dapat memberikan hasil yang positif walaupun disimpan selama 10 hari.

Tujuan dari pemeriksaan stabilitas antibodi pada sampel serum penderita tuberkulosis paru yaitu untuk mengetahui kestabilan sampel serum yang disimpan pada suhu dingin sampai dengan hari kesepuluh.

Imunoglobulin (antibodi) terdiri atas molekul-molekul protein. Protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dan zat kimia, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan atau modifikasi pada struktur molekul protein disebut *denaturasi*. Hal-hal yang dapat menyebabkan terjadinya *denaturasi* antara lain: panas, pH, dan adanya bahan kimia seperti alkohol atau sabun. Protein yang mengalami *denaturasi* akan menurunkan aktivitas biologinya dan berkurang kelarutannya (25).

Pada penerapannya, Mycotec TB^{XP} (recombinant) memerlukan serum manusia sebagai bahan pemeriksaan. Serum yang segar akan memberikan hasil yang terbaik. Serum dapat disimpan sampai 3 hari pada suhu 2 – 8°C, penyimpanan serum dapat dilakukan pada suhu - 20°C atau lebih apabila pengetesan tidak memungkinkan dilakukan dalam waktu 3 hari (7).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa 5 sampel serum penderita tuberkulosis paru yang disimpan pada suhu dingin sampai dengan hari kesepuluh kemudian di uji menggunakan Mycotec TB^{XP} (recombinant) masih memberikan hasil (+)/Positif.

V.2 Saran

Melakukan penelitian tentang penurunan titer antibodi *Mycobacterium tuberculosis* dalam serum yang disimpan pada suhu dingin secara kuantitatif dengan menggunakan antigen ESAT-6, 38 kDa, dan 16 kDa.

DAFTAR PUSTAKA

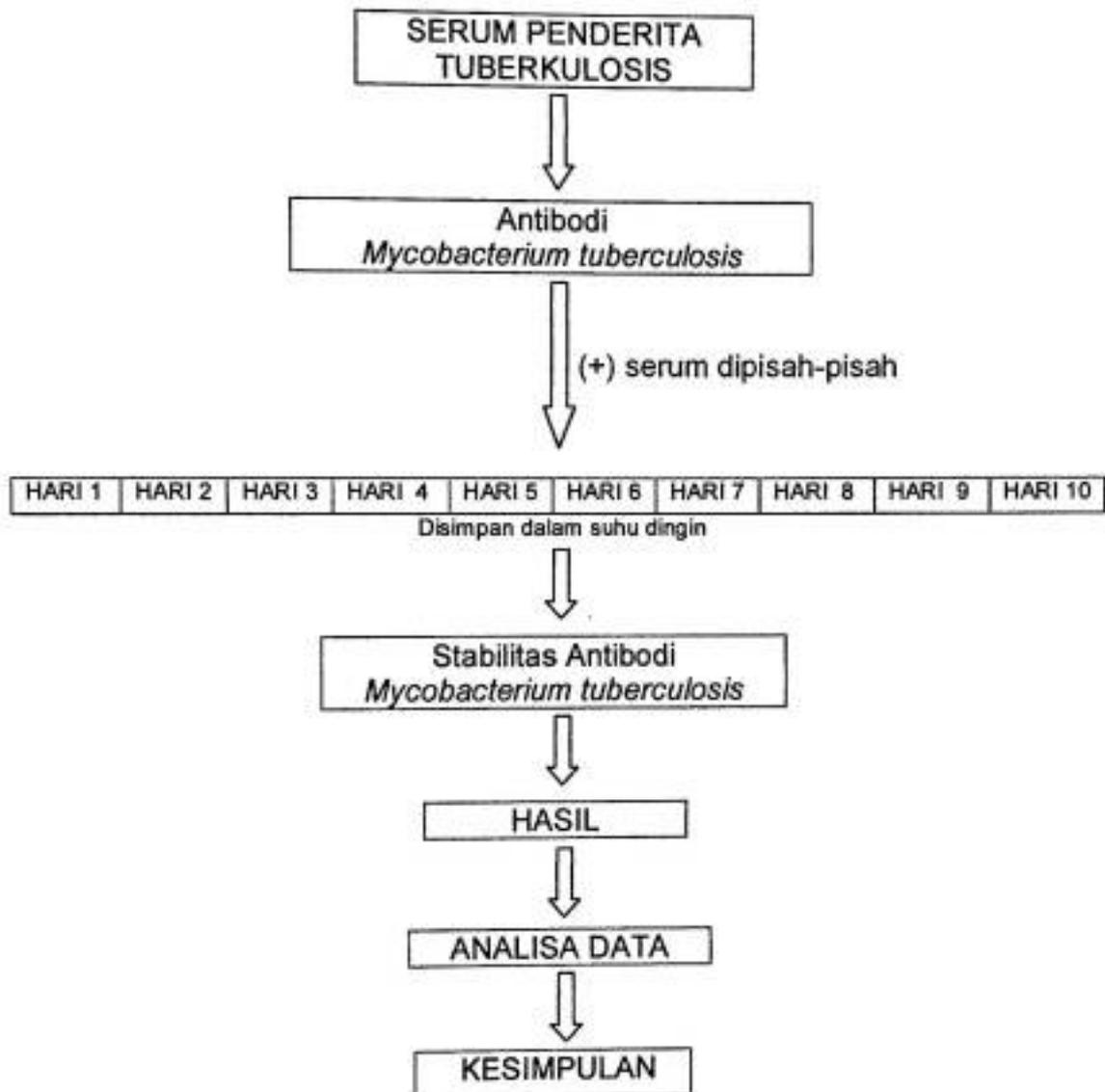
1. Perkumpulan Pemberantasan Tuberkulosis Indonesia (PPTI), 2007. *Sekilas Tentang Penyakit TBC* [www.PPTI.info/id/ tentang TBC.php](http://www.PPTI.info/id/tentang_TBC.php). Diakses 07 Januari 2008.
2. Departemen Kesehatan RI, 2006, *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*, edisi ke 2 cetakan pertama, [www.Tbcindonesia.or.id/pdf/BUKU PEDOMAN NASIONAL.pdf](http://www.Tbcindonesia.or.id/pdf/BUKU_PEDOMAN_NASIONAL.pdf). Diakses 08 Januari 2008.
3. Anonim, 2007 *Penyakit TBC*. [www. Mediastore.com/tbc/ penyakit tbc.htm](http://www.Mediastore.com/tbc/penyakit_tbc.htm). Diakses 07 Januari 2008.
4. Nugraha. J, 2007. *Urutan Asam Amino Dari Epitop Regio N. Terminus Antigen ESAT-6 Sebagai Marka Diagnostik Penyakit Tuberkulosis Paru Aktif*, [http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=iijt_unair-gdl-s3-2007-nugrahajus-8081&PHPSESSID= a0683bb9 ab c1 e38085 522 badb1b1 dce5](http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=iijt_unair-gdl-s3-2007-nugrahajus-8081&PHPSESSID=a0683bb9_ab_c1e38085522badb1b1dce5), Diakses 26-Februari-2008
5. Subagio, A. dkk. 2006, *Jurnal Tuberkulosis Indonesia volume 3*, [www.jurnal TB Vol 3 no 2 PPTI.pdf](http://www.jurnalTBVol3no2PPTI.pdf). Diakses 07 Januari 2008.
6. Tjandra, Y. A. 2007. *Perkembangan Diagnosis TB*, www.tbcindonesia.co.id, Diakses 08 Januari 2008.
7. Kit Mycotec TBTM (recombinant), 2007. Indec Diagnostics
8. Jensen M.M. dkk. (1997). *Microbiology For The Health Sciences*. By Prentice-Hall, Inc. Simon & Schuster. Upper Saddle River, New Jersey : A Viacom Company. A Viacom Company. Hal 275 – 281.
9. Alcamo I. Edward. (1994). *Fundamentals of Microbiology*. 4 th Ed. New York : The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Hal 203 – 207.
10. Aditama. T.Y. (2008). *Perkembangan Mutakhir Diagnosis Tuberkulosis Paru*. [http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/12PerkembanganMutakhir TB C99. pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/12PerkembanganMutakhirTB_C99.pdf). Diakses 02 Februari 2008.
11. Handayani S. (2002). *Respon Imunitas Seluler pada Infeksi Tuberkulosis Paru*. [http:// www. kalbe. co. id/ files/ cdk/ files/ 13 Respon Imunitas Seluler.pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13ResponImunitasSeluler.pdf). Diakses 02 Februari 2008.

12. Utji R dan Harun H. (1994). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Binarupa Aksara. Jakarta. Hal 191 – 193.
13. Chatim A. (1994). *Klasifikasi dan Taksonomi Kuman*. Binarupa Aksara. Jakarta. Hal 7.
14. Jawetz dkk. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)* Jakarta. Salemba Medika: hal 453-459.
15. Dewi J dan Widijanti A. (2007). *Penderita Limfadenitis Tuberkulosa dengan DOT-EIA-TB Negatif*. <http://209.85.175.104/search?q=cache:3OhC46gxnRkJ:www.dexamedica.com> Diakses 02 Februari 2008.
16. Aida N. (2008). *Patogenesis Sindrom Obstruksi Pasca Tuberkulosis*. <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/05PatogenesisSindrom99.pdf>. Diakses 02 Februari 2008.
17. Handojo I (2003). *Imunoasai Dasar*. Cetakan Pertama. Surabaya. Airlangga University Press. Hal 1- 9.
18. Handojo I (2004). *Imunoasai Terapan Pada Beberapa Penyakit Infeksi*. Surabaya. Airlangga University Press: hal 23-62.
19. Kresno. S.B. (2007). *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium* (edisi keempat). FKUI. Jakarta: Hal 44-57.
20. Yazid E dkk, 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analisis*. Penerbit Andi. Yogyakarta. Hal 67 – 68.
21. Sennang N. (2006). *Deteksi Mycobacterium tuberculosis Melalui Tes Basil Tahan Asam, Biakan, Imunoserologi, Dan Plymerase Chain Reaction Pada Suspek Tuberkulosis Paru* KARYA ILMIAH. UNHAS. Makassar. Hal 17 – 19.
22. Departemen Kesehatan RI, 2007. *Pedoman Pengambilan, Penyimpanan, Pengemasan dan Pengiriman Specimen Darah*. Jakarta. Hal 6-11. [www.litbang.depkes.go.id/riskesdas/download/Pedoman Biomedis. pdf](http://www.litbang.depkes.go.id/riskesdas/download/Pedoman%20Biomedis.pdf) Diakses 12-02-2008.
23. Tjokronegoro. A. dkk. (2001) *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II. FKUI. Jakarta. Hal 3-7, 819-831.
24. Kosasih E.N dan Kosasih A.S. 2008. *Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik*. Karisma Publishing Group. Hal 78.

25. Koolman J dkk, 2001, *Atlas Berwarna dan Teks BIOKIMIA*, Cetakan 1. FKUI. Hal 72.
26. Bakhri, S.Ak, 2002. Imunogenitas Antigen O Salmonella Typhi antara Isolat dari Strain Makassar Isolat Strain dari Surabaya dalam menginduksi Antibodi. *Tesis Pasca Sarjana Program Studi Immunologi*. Surabaya, Universitas Airlangga; Hal 28 – 37.
27. Suryana. 2006. Pengaruh Pemberian Suplemen Melatonin Terhadap Kadar Kolesterol Total, LDL Dan HDL, Darah Wistar Yang Diberi Diet Kuning Telur. *Media Medika Muda*. <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jkpkbppk-gdl-grey-2001-suryana-108-galaktoman&q=Obat&newlang=english> diakses 02 Februari 2008.
28. Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Cetakan Pertama. Edisi IV. Jakarta. Hal li
29. Notoatmojo. S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan* (Edisi Revisi). Rineka Cipta. Jakarta: hal 156.

LAMPIRAN :

SKEMA KERJA PENELITIAN :

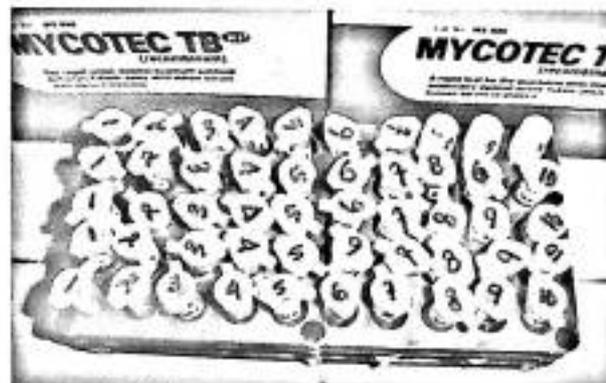


DAFTAR GAMBAR

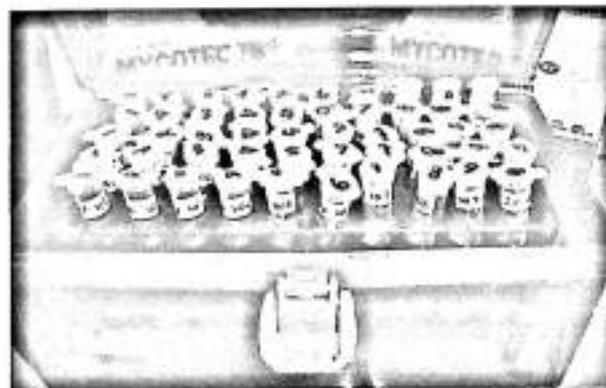
HASIL PENELITIAN



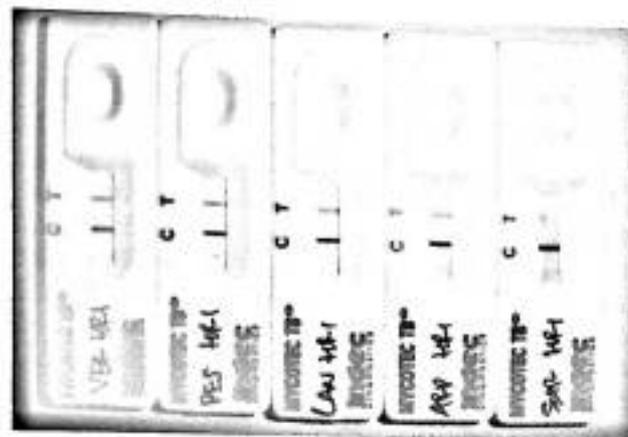
Gambar 1. Persiapan Penelitian 1



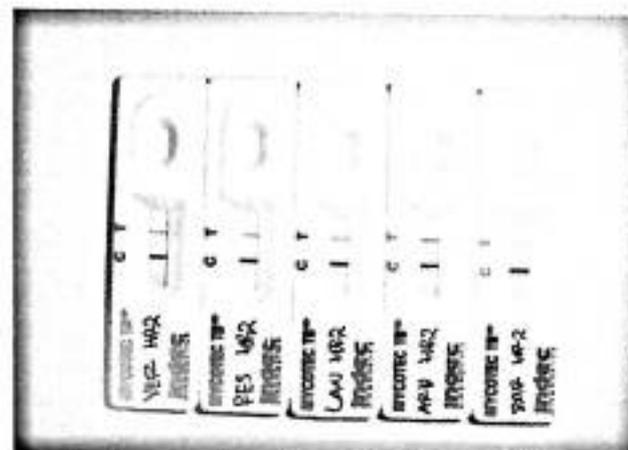
Gambar 2. Persiapan Penelitian 2



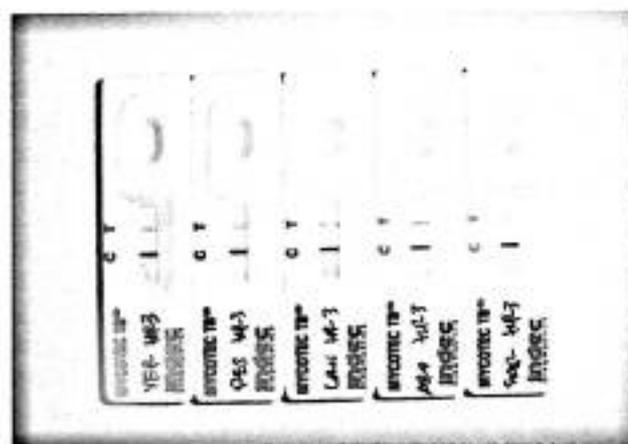
Gambar 3. Persiapan penelitian 3



Gambar 4. Hasil Stabilitas Hari ke 1



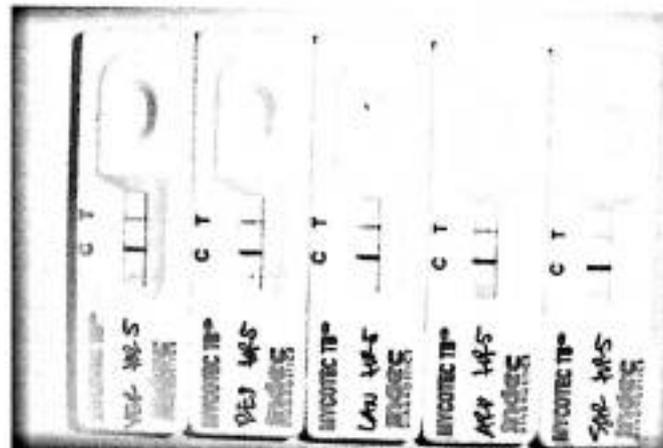
Gambar 5. Hasil Stabilitas Hari ke 2



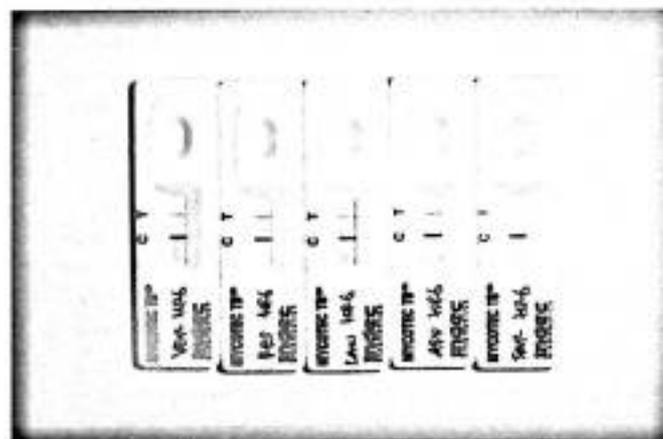
Gambar 6. Hasil Stabilitas Hari ke 3



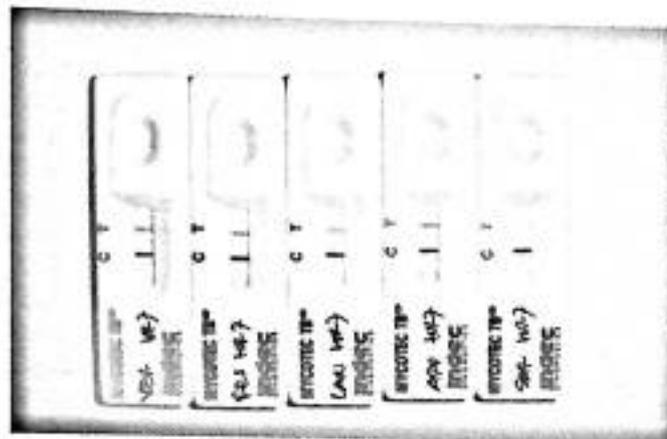
Gambar 7. Hasil Stabilitas Hari ke 4



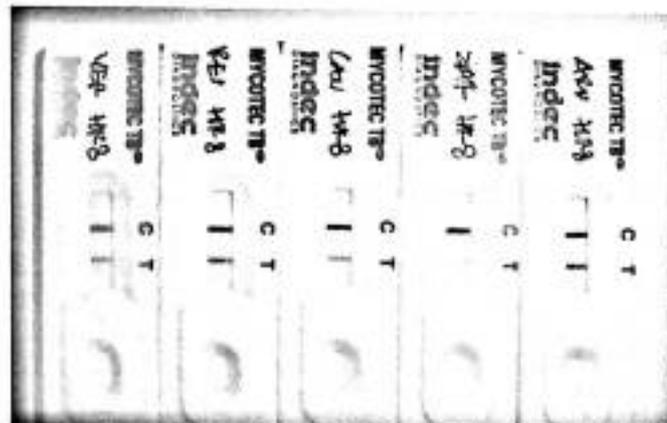
Gambar 8. Hasil Stabilitas Hari ke 5



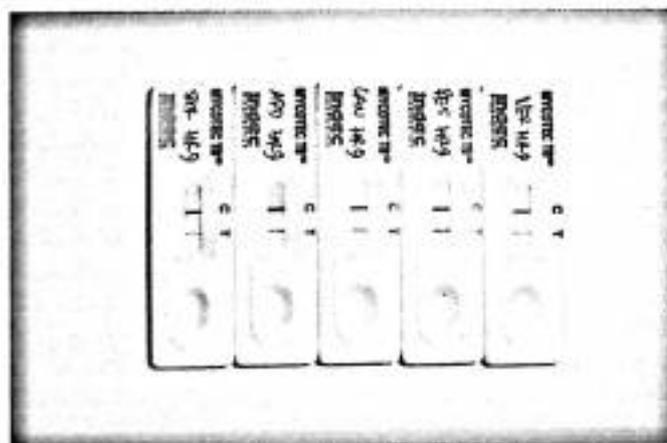
Gambar 9. Hasil Stabilitas Hari ke 6



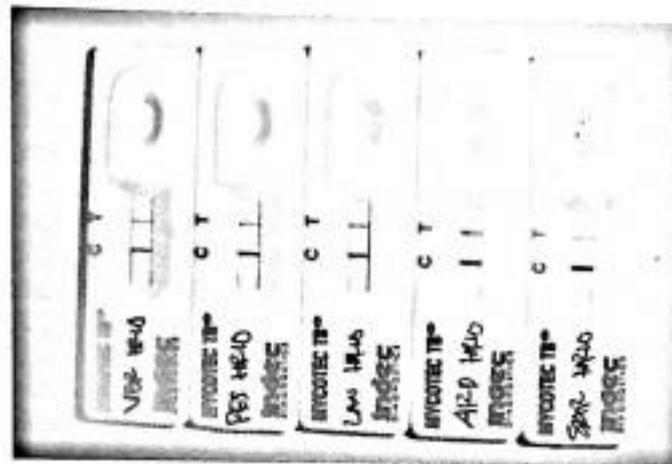
Gambar 10. Hasil Stabilitas Hari ke 7



Gambar 11. Hasil Stabilitas Hari ke 8



Gambar 12. Hasil Stabilitas Hari ke 9



Gambar 13. Hasil Stabilitas Hari ke 10

Interpretasi hasil

- Positif** : Bila tampak 2 garis warna merah muda atau ungu di area Test (T) dan di area Kontrol (C).
- Negatif** : Bila tampak 1 garis warna merah muda atau ungu di area Kontrol (C).
- Invalid** : Tidak tampak garis di garis Kontrol (C).