

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN .....	xv
INTISARI .....	1
ABSTRACT .....	2
<b>BAB I</b> .....	<b>3</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>3</b>
A. Latar Belakang.....	3
B. Perumusan Masalah .....	6
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Keaslian Penelitian .....	7
E. Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB II</b> .....	<b>9</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
A. Tinjauan Pustaka.....	9
1. Epidemiologi Tuberkulosis .....	9
2. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Mtb).....	11
3. Gen-gen virulensi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	13
a. Produk sekresi <i>Region of Difference</i> (RD)-1: ESAT-6 dan CFP-10.....	14
b. Produk sekresi <i>Fibronectin binding protein A</i> (fbpA) dan <i>Fibronectin binding protein B</i> (fbpB): Ag85A dan Ag85B .....	16
4. Respon imun tubuh terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	18
a. Respon imun bawaan ( <i>innate immune response</i> ).....	19
b. Respon imun adaptif ( <i>adaptive immune response</i> ) .....	22
5. Efek antigen <i>Mycobacterium tuberculosis</i> terhadap aktivasi respon imun <i>host</i> .....	33
6. Pemberian imunisasi untuk menginduksi respon imun.....	35
7. <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA).....	39
a. <i>Direct ELISA</i> .....	40
b. <i>Indirect ELISA</i> .....	40
c. <i>Sandwich ELISA</i> .....	41
d. <i>Competitive ELISA</i> .....	42
8. Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) galur <i>Balb/c</i> sebagai hewan coba penelitian respon imun .....	43

B.	Landasan Teori .....	44
C.	Kerangka Teoritis .....	46
D.	Kerangka Konsep .....	47
E.	Hipotesis .....	47
<b>BAB III .....</b>		<b>48</b>
<b>METODE PENELITIAN .....</b>		<b>48</b>
A.	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	48
B.	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	48
C.	Subjek Penelitian .....	49
1.	Populasi penelitian .....	49
2.	Sampel dan besar sampel .....	49
D.	Variabel penelitian .....	50
1.	Variabel terikat/ <i>dependent</i> .....	50
2.	Variabel bebas/ <i>independent</i> .....	50
E.	Definisi Operasional .....	51
F.	Bahan dan Alat Penelitian .....	52
1.	Bahan penelitian .....	52
2.	Alat penelitian .....	53
G.	Prosedur Penelitian .....	53
1.	Kultivasi bakteri <i>E.coli</i> BL21 ( <i>DE3</i> ) .....	53
a.	Pembuatan larutan media LB .....	53
b.	Kultivasi bakteri ke media LB .....	54
c.	Ekstraksi/ isolasi DNA gen penyandi protein .....	54
d.	Amplifikasi DNA gen penyandi protein rekombinan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	54
e.	Pembacaan hasil PCR dengan elektroforesis gel agarose .....	55
f.	Pengukuran <i>Optical Density</i> (OD) dengan spektrofotometer .....	56
g.	Induksi kultur dengan <i>Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside</i> (IPTG) .....	56
2.	Purifikasi antigen .....	57
a.	Panen kultur bakteri .....	57
b.	Sonikasi pellet bakteri .....	57
c.	Purifikasi antigen .....	58
d.	Ekspresi protein dengan elektroforesis SDS–PAGE .....	58
e.	Pengukuran konsentrasi purifikasi antigen .....	59
f.	Persiapan antigen untuk imunisasi .....	59
3.	Imunisasi antigen dan pengambilan darah mencit <i>Balb/c</i> .....	60
a.	Persiapan mencit <i>Balb/c</i> sebagai hewan coba .....	60
b.	Imunisasi mencit dengan antigen .....	60
c.	Pengambilan sampel darah mencit <i>Balb/c</i> .....	61
d.	Penyimpanan serum .....	61
e.	Eutanasi mencit <i>Balb/c</i> .....	61
4.	Analisis imunogenesitas antigen .....	62
a.	Pemeriksaan produksi IFN-γ dan IL-2 dengan ELISA .....	62
b.	Pengambilan dan penyimpanan organ mencit <i>Balb/c</i> .....	63

H. Alur Penelitian.....	64
I. Analisis Hasil .....	66
<b>BAB IV .....</b>	<b>67</b>
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>67</b>
A. Hasil Penelitian .....	67
1. Hasil ekspresi protein dengan elektroforesis SDS- PAGE.....	67
2. Hasil pemeriksaan ELISA IFN- $\gamma$ dan IL- 2 .....	68
a. Hasil pemeriksaan ELISA IFN- $\gamma$ .....	68
b. Hasil pemeriksaan ELISA IL- 2.....	69
3. Hasil analisis statistik.....	71
a. Uji normalitas distribusi data dengan <i>Shapiro-Wilk</i> & uji homogenitas dengan <i>Lavene Statistic</i> .....	71
b. Uji <i>One- Way ANOVA</i> dan analisis <i>Post Hoc</i> .....	72
B. Pembahasan .....	73
C. Keterbatasan Penelitian .....	79
<b>BAB V .....</b>	<b>80</b>
<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>80</b>
A. Kesimpulan .....	80
B. Saran .....	81
DAFTAR PUSTAKA.....	82
LAMPIRAN .....	88

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Negara- negara dengan jumlah kasus TB tertinggi pada 2019 .....	10
Gambar 2.	Urutan DNA ( <i>sequencing</i> ) genom isolat <i>M.tuberculosis</i> Strain H37Rv.....	12
Gambar 3.	<i>Region of Difference- 1 (RD- 1) M. tuberculosis</i> .....	16
Gambar 4.	Posisi kompleks Ag85 pada selubung sel ( <i>cell envelope</i> ) <i>M. tuberculosis</i> .....	17
Gambar 5.	Posisi kompleks Ag85A, Ag85B, dan Ag85C pada selubung sel ( <i>cell envelope</i> ) <i>M. tuberculosis</i> .....	18
Gambar 6.	Kenaikan dan penurunan respon sel T saat ekspansi klonal/ proliferasi dan homeostasis selama respon imun dari sel T CD4+ dan CD8+ terhadap berbagai antigen.....	26
Gambar 7.	Skema aktivasi sel T naif yang diperantarai oleh MHC terhadap APC dalam respon imun seluler .....	27
Gambar 8.	Hasil ekspresi protein ESAT-6 dan CFP-10 pada gel <i>polyacrylamide</i> elektroforesis SDS- PAGE dengan (PM) <i>protein marker</i> Fisher BioReagent.....	37
Gambar 9.	Hasil ekspresi protein Ag85A dan Ag85B pada gel <i>polyacrylamide</i> elektroforesis SDS- PAGE dengan (PM) <i>protein marker</i> Fisher BioReagent.....	38
Gambar 10.	Ilustrasi empat jenis teknik ELISA: <i>direct ELISA</i> , <i>indirect ELISA</i> , <i>sandwich ELISA</i> , dan <i>competitive ELISA</i> .....	39
Gambar 11.	Ilustrasi <i>sandwich ELISA</i> .....	41
Gambar 12.	Kerangka teori penelitian.....	46
Gambar 13.	Kerangka konsep penelitian.....	47
Gambar 14.	Skema/ alur penelitian.....	65
Gambar 15.	Hasil ekspresi protein pada gel <i>polyacrylamide</i> elektroforesis SDS- PAGE dengan SMOBIO PM5100 .....	67
Gambar 16.	Kurva standar pemeriksaan ELISA IFN- $\gamma$ dengan berbagai konsentrasi/ pengenceran.....	68

- Gambar 17. Hasil uji ELISA IFN-  $\gamma$  serum mencit *Balb/c* yang diinduksi dnegan  
berbagai antigen.....69
- Gambar 18. Kurva standar pemeriksaan ELISA IL- 2 dengan berbagai  
konsentrasi/ pengenceran.....70
- Gambar 19. Hasil uji ELISA IL- 2 serum mencit *Balb/c* yang diinduksi dengan  
berbagai antigen.....70

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Sitokin- sitokin utama yang diproduksi oleh sel T <i>helper</i> CD4 <sup>+</sup> dan fungsinya dalam respon imun seluler.....	28
----------	---	----

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat laik etik oleh Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.....	88
Lampiran 2.	Surat izin penelitian laboratorium Bioteknologi Gedung Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada.....	89
Lampiran 3.	Komposisi bahan untuk amplifikasi DNA gen penyandi Protein.....	90
Lampiran 4.	Komposisi bahan untuk elektroforesis protein ESAT- 6, CFP- 10, Ag85A, dan Ag85B dengan SDS- PAGE.....	91
Lampiran 5.	Hasil uji statistik deskriptif.....	92
Lampiran 6.	Hasil uji statistik normalitas distribusi data menggunakan Shapiro-Wilk.....	93
Lampiran 7.	Hasil uji statistik homogenitas data dengan <i>Levene Statistic</i> dan Uji <i>One-Way</i> ANOVA.....	94
Lampiran 8.	Hasil uji statistik <i>Post Hoc</i> .....	96
Lampiran 9.	Pemeliharaan mencit <i>Balb/c</i> betina berusia 8 – 12 minggu di <i>animal house</i> Bioteknologi Gedung PAU pada April – Mei 2022.....	98