

DISERTASI

**PENGARUH PROBIOTIK ISOLAT DARI BIJI MARKISA MERAH
(*Passiflora edulis* Sims.) TERHADAP KADAR IFN- γ DALAM
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL PASIEN
TUBERKULOSIS DEWASA**



**IIF HANIFA NURROSYIDAH
NIM. 051917097306**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**PENGARUH PROBIOTIK ISOLAT DARI BIJI MARKISA MERAH
(*Passiflora edulis* Sims.) TERHADAP KADAR IFN- γ DALAM
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL PASIEN
TUBERKULOSIS DEWASA**

**IIF HANIFA NURROSYIDAH
NIM. 051917097306**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : apt.Iif Hanifa Nurrosyidah, S.Farm., M.Farm
NIM : 051917097306

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Disertasi yang saya tulis dengan judul:

**Pengaruh Probiotik Isolat dari Biji Markisa Merah (*Passiflora
edulis* Sims.) terhadap Kadar IFN- γ dalam *Peripheral Blood
Mononuclear Cell* Pasien Tuberkulosis Dewasa**

adalah benar-benar merupakan konsep pemikiran dan hasil karya ilmiah saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui isi Naskah Disertasi ini merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan. Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 1 September 2022

Yang Membuat Pernyataan,



apt.Iif Hanifa Nurrosyidah, S.Farm., M.Farm

**PENGARUH PROBIOTIK ISOLAT DARI BIJI MARKISA MERAH
(*Passiflora edulis* Sims.) TERHADAP KADAR IFN- γ DALAM
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL PASIEN
TUBERKULOSIS DEWASA**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor dalam
Program Studi Doktor Ilmu Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

Oleh:

**IIF HANIFA NURROSYIDAH
NIM. 051917097306**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

LEMBAR PENGESAHAN
DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 28 Juli 2022

Oleh:

Promotor



Dr. Isnaeni, M.S., Apt
NIP. 195601131982032003

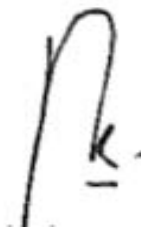
Ko-promotor



Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS., Sp.MK(K)
NIP. 195703071984032001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Doktor Ilmu Farmasi



Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si
NIP. 195908051987011001

**Ujian Sidang Tertutup
Tanggal 19 Juli 2022**

PANITIA PENGUJI KELAYAKAN DISERTASI

- Ketua** : **Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si.**
- Anggota** : **1. Dr. apt. Isnaeni, M.S.**
2. Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr.,M.S., Sp.MK(K)
3. Dr. Soedarsono, dr., Sp.P(K)
4. Prof. Dra. apt. Esti Hendradi, M.Si., Ph.D
5. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
6. apt. Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D.
7. Dr. apt. Christina Avanti, M.Si

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Nomor: 1695/UN3.1.5/2022
Tanggal: 19 Juli 2022**

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayahNya kepada penulis dan keluarga, karena hanya karena ridhoNya penulis telah dapat menyelesaikan disertasi ini, yang merupakan akhir proses pendidikan S3 ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Dengan selesainya disertasi ini, perkenalkan penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

Dr. apt. Isnaeni, M.S., selaku promotor, yang dengan tulus dan penuh kesabaran serta perhatian telah banyak memberikan bimbingan, wawasan, arahan, saran, nasehat, koreksi, dorongan semangat dan segenap ilmunya yang sangat bermanfaat kepada penulis, sejak penulis mulai mengikuti pendidikan S3 sampai dengan selesainya penyusunan naskah disertasi ini. Banyak pelajaran berharga yang penulis dapatkan dari beliau, terutama tentang kesabaran dan kegigihan dalam menghadapi setiap permasalahan.

Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S., Sp.M.K(K)., selaku ko-promotor yang dengan tulus dan penuh kesabaran serta perhatian telah banyak memberikan bimbingan, wawasan, arahan, saran, nasehat, koreksi, dorongan semangat agar penulis segera menyelesaikan pendidikan S3. Dari beliau penulis banyak mendapatkan pelajaran tentang ketekunan dan konsistensi dalam melaksanakan penelitian.

Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA. Yang telah memberikan ijin dan menerima penulis sebagai mahasiswa S3 Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan Pendidikan S3.

Koordinator Program Studi S3 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si, atas dukungan dan telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan Pendidikan S3.

Prof. Dr. apt. Achmad Syahrani, M.S., Guru Besar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas dukungan dan motivasi yang diberikan kepada penulis untuk menempuh Pendidikan S3.

Bapak/ Ibu Dewan Penguji Disertasi, Dr. Soedarsono, dr., Sp.P(K), Prof. Dra. apt.

Esti Hendradi, M.Si., Ph.D, Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh., apt. Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D., Dr. apt. Christina Avanti, M.Si yang telah memberikan saran untuk kesempurnaan disertasi ini.

Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Pak Bakir yang telah banyak membantu selama penelitian. Teknisi Laboratorium Tuberkulosis *Institute Tropical Disease* Universitas Airlangga, Bu Agnes dan Pak Yudi yang telah banyak membantu dalam penelitian ini. Ibu Rere selaku staf administrasi Program Studi S3 Ilmu Farmasi yang telah banyak membantu selama menempuh Pendidikan ini.

Kepala Puskesmas Trosobo, Dr. dr. Arif Rahman Nurdianto, M.Imun., Bu Ilmi selaku Perawat TB Puskesmas Trosobo, dan Mbak Desy selaku Tenaga Analis di Puskesmas Trosobo yang telah banyak membantu selama proses pengambilan sampel penelitian ini. Serta terimakasih penulis ucapkan kepada seluruh pasien TB di Puskesmas Trosobo yang bersedia dilibatkan dalam penelitian ini.

Seluruh keluarga yang telah memberikan doa terbaik, motivasi dan dukungan selama menempuh Studi S3 Ilmu Farmasi. Terimakasih penulis ucapkan kepada suami tercinta Abdullah Yusuf, kedua ananda tercinta Muhammad Arsyad Elghani Yusuf dan Allisya Candra Keshwari Yusuf. Terimakasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada Ayahanda Musdi (alm), Ibunda Suhariati, Ardham Fahmi Kurniansyah, Tiara Anggraini, Erlangga Maheswara Shariq, ibu Supiyah, Mokhtar Tri Atmaja, Alfa Alfi Ridwan, Pak Dedi Murdianto, Danang Afi Kurniawan, Fuad Jauhari, Renita, Rizqi, dan mbah mansur.

dr. Agus Fahrudin Farid (Ketua Harian Dewan Pembina Yayasan Rumah Sakit Anwar Medika), Drs. Abdul Ghofur (Ketua Yayasan RSAM), dr. Nungky Taniasari, M.Kes (Presiden BPH Universitas Anwar Medika), dr. Farida Anwari, M.PH., MM (Ketua Senat UAM), Ibu Martina Kurnia Rochmah, M.Biomed (Rektor UAM), Bapak Yulianto Ade Prasetyo, M.Si (Warek I UAM), ibu Ayunil Hisbiyah, M.Si (Warek I UAM, ibu Acivrida Mega C. (Warek III UAM), ibu Khoirun Nisyak, M.Si (Ketua LPPM UAM), ibu Eviomitta Rizky A (Ketua LP3M UAM), Dr. Salamun, M.Kes., ibu Kadeq Novita Prajawanti, S.ST., M.Imun, ibu Ummi Zuhara, S.Si., ibu apt. Aril Dwi Puspitasari, S.Si., ibu apt. Yani Ambari, M.Farm., ibu apt. Butet Sinaga, M.Farm., ibu apt. Marthy Meliana, M.Farm., seluruh dan seluruh tenaga kependidikan Universitas Anwar Medika yang telah banyak

memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan Pendidikan S3 ilmu farmasi.

Teman-teman Program Studi S3 Ilmu Farmasi angkatan 2019 yang saling mendukung selama bersama-sama menempuh pendidikan ini. Ibu Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes., yang senantiasa kebersamai selama penulis menempuh Pendidikan S3. Aprelia dan Safarini Marwa yang banyak membantu dalam penelitian S3.

Terimakasih kepada semua pihak yang namanya tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu selama penelitian berlangsung hingga tahap penulisan.

Dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis mohon maaf sebesar besarnya. Semoga hasil penelitian dalam disertasi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

RINGKASAN

**PENGARUH PROBIOTIK ISOLAT DARI BIJI BUAH MARKISA MERAH
(*Passiflora edulis* Sims.) TERHADAP KADAR IFN- γ DALAM
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL
PASIEN TUBERKULOSIS DEWASA**

Iif Hanifa Nurrosyidah

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi yang menyebabkan banyak kematian di dunia. Indonesia menjadi negara dengan kasus TB terbesar ke tiga di dunia. *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) memiliki keunikan, karena bakteri hidup intraseluler dan bersembunyi di dalam makrofag sehingga mampu lolos dari fagositosis. Hal ini menjadi salah satu faktor yang mempersulit pengobatan infeksi M.tb. *Mycobacterium tuberculosis* mampu hidup intraseluler, sehingga yang paling berperan terhadap eradikasi bakteri tersebut adalah sistem imun seluler. Sel T adalah komponen penting dari respon imun seluler terhadap M.tb, terutama limfokin interferon gamma (IFN- γ) yang telah terbukti sebagai mediator penting dalam mengaktivasi makrofag untuk mengendalikan sejumlah patogen intraseluler. Penggunaan imunomodulator mulai dikembangkan dalam mengatasi TB, terutama M.tb yang resisten. Bakteri probiotik sesuai definisi WHO seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp., *L. bulgaricus*, *Bifidobacteria* adalah komponen penting dari mikroflora normal dalam saluran cerna hewan dan manusia. Bakteri tersebut dapat berperan sebagai imunomodulator melalui aktivitasnya sebagai antimikroba.

Tujuan penelitian ini secara umum adalah menganalisis kadar IFN- γ pada *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) pasien TB dewasa setelah pemberian *multistrain* probiotik dari buah markisa merah (*Passiflora edulis* Sims.) secara *in vitro*. Adapun tujuan penelitian ini secara khusus adalah untuk mengidentifikasi karakter bakteri probiotik isolat dari *pulp* buah markisa merah (*Passiflora edulis* Sims.), untuk memperoleh probiotik galur (*strain*) baru, dan untuk mengetahui kompatibilitas dan kemampuan probiotik dari buah markisa merah (*Passiflora edulis* Sims.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Escherichia coli* Extended Spectrum Beta-Lactamase (*E.coli* ESBL) dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*.

Pemberian probiotik secara oral akan meningkatkan sistem imun dengan cara berinteraksi dengan sel epitel usus (*intestinal epithelial cells/ IECs*) atau sel kekebalan yang terkait dengan lamina propria, melalui *Toll like receptors* (TLRs), dan menginduksi produksi berbagai sitokin atau kemokin. *Macrophag chemoattractant protein 1*, diproduksi oleh IECs, mengirimkan sinyal ke sel imun lain yang mengarah ke aktivasi *mucosal immune system* (MIS), ditandai dengan peningkatan sel imunoglobulin A+ pada usus, bronkus, payudara, kelenjar, dan aktivasi sel T. Secara khusus, probiotik mengaktifkan sel T regulator yang melepaskan IL-10. Probiotik memperkuat penghalang usus dengan peningkatan musindan Sel Paneth. Sehingga dapat memodulasi mikrobiota baik di usus dengan menekan pertumbuhan bakteri patogen potensial di usus. Interaksi probiotik dengan IEC, makrofag dan sel dendrit (DC) berperan penting dalam respon imun ini tanpa

menyebabkan pola inflamasi.

Probiotik alami dapat ditemukan pada saluran cerna manusia dan hewan, sayur-sayuran dan buah-buahan, salah satunya adalah buah markisa. Berdasarkan penelitian, buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims. var *edulis*) mengandung *L.bulgaricus* dan *L.heterohiochii*. Buah markisa merupakan sumber probiotik alami. Buah tersebut memiliki nilai gizi tinggi banyak kandungan mineral seperti magnesium dan pospor, berbagai vitamin, serta karbohidrat dan air yang tinggi. Buah markisa memiliki kandungan nutrisi yang memadai sehingga merupakan habitat yang cocok untuk pertumbuhan bakteri probiotik. Buah markisa yang kaya manfaat bagi kesehatan ini belum banyak dikembangkan lebih lanjut di bidang farmasi, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan isolasi probiotik dari buah markisa merah. Buah markisa merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Krembung (Sidoarjo-Jawa Timur) yang sudah diidentifikasi oleh Herbarium Malangensis (Universitas Malang), dan dinyatakan sebagai *Passiflora edulis* Sims dengan nomor determinasi 09/25.07.18/ herb.malg.

Isolasi probiotik dilakukan dengan mengambil bagian biji buah yang berupa biji buah yang terbungkus selaput biji, kemudian disuspensikan ke dalam 45 mL NaCl 0,9%, dan dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 24 jam. Suspensi buah markisa yang sudah dikocok dengan *shaker* selama 24 jam, disuspensikan dalam NaCl 0,9% (diperoleh pengenceran 10^{-1}), kemudian diinokulasi pada media *de Man Rhogosa Sharpe Agar* (MRS-Agar) dan CaCO_3 1%. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Koloni dengan bentuk morfologi seperti bakteri asam laktat ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

Identifikasi secara biokimia bakteri kandidat probiotik buah markisa merah (*Passiflora edulis* Sims.) meliputi uji pewarnaan Gram, katalase, *Sulfide*, *Indole*, *Motility* (SIM), *Methyl Red Voges Proskauer* (MR-VP), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan *simmon sitrat*. Diperoleh sepuluh isolat yang memenuhi persyaratan biokimia. Kemudian dilanjutkan dengan uji karakteristik probiotik yang meliputi uji ketahanan terhadap pH asam, garam NaCl, senyawa fenol. Berdasarkan penelitian tersebut diperoleh tiga isolat probiotik potensial yaitu isolat MM1, MM2 dan MM3 yang memenuhi syarat.

Setelah dilakukan identifikasi secara fenotip (biokimia) dan dilanjutkan dengan uji karakteristik probiotik isolat dari buah markisa merah diperoleh tiga isolat potensial yaitu MM1, MM2, dan MM3. Ketiga probiotik potensial isolat dari buah markisa merah tersebut selanjutnya dilakukan analisis secara genotip yaitu identifikasi 16S rRNA. Setelah dilakukan BLAST diperoleh hasil bahwa isolat MM1 memiliki persen *identity* sebesar 97,44% dengan *Bacillus subtilis* strain IAM 12118, MM2 memiliki persen *identity* sebesar 85,80% dengan *Bacillus wiedmannii* strain FSL W8-0169, sedangkan MM3 memiliki persen *identity* sebesar 100% dengan *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Berdasarkan hasil BLAST tersebut untuk isolat MM1 dan MM3 memiliki nilai persen *identity* diatas angka 97% sehingga dapat diartikan spesies bakteri tersebut sama. Spesies bakteri yang memiliki persen *identity* lebih dari atau sama dengan 97% dapat dikatakan sama. Berdasarkan data urutan gen 16S rRNA, persen *identity* $\leq 97\%$ dapat dinyatakan bahwa isolat yang dibandingkan berada pada genus yang sama. Sedangkan persen *identity* antara 89-93% menunjukkan famili yang berbeda atau dapat dikatakan spesies yang berbeda. Isolat MM2 memiliki persen *identity* sebesar 85,80% (dibawah 97%) dengan *Bacillus wiedmannii* strain FSL W8-0169, yang artinya dapat dikatakan bahwa isolat MM2 adalah *strain* baru.

Uji kompatibilitas yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *direct*

test, masing-masing dari isolat tersebut digoreskan saling bersinggungan. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan diperoleh hasil bahwa ketiga probiotik isolat dari buah markisa merah adalah kompatibel, tidak saling menghambat. Hal itu ditunjukkan oleh tidak terbentuknya zona bening (zona hambatan) pada area di sekitar titik temu ketiga isolat.

Uji aktivitas antibakteri probiotik isolat dari biji buah markisa merah pada penelitian ini dilakukan terhadap bakteri *M.tb H37Rv*, MRSA, dan *E. coli* ESBL. Pada penelitian ini, *probiotic cell free fermentation filtrate* (PCFFF) dari buah markisa merah tidak mampu menghambat pertumbuhan *M.tb H37RV*, namun filtrat fermentasi daging buah markisa merah mampu menghambat pertumbuhan *M.tb H37RV*, tetapi isolat MM1 dan MM2 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ESBL dan MRSA dengan *Minimum Bacteriosidal Concentration* (MBC) 50%. Sehingga probiotik yang digunakan untuk uji pada tahap selanjutnya adalah isolat MM1 dan MM2.

Pada penelitian ini, Probiotik *multistrain* isolat dari biji buah markisa merah (isolat campuran MM1 dan MM2) diinduksikan ke dalam sel darah tepi (*peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) pasien TB dewasa yang sedang menjalani terapi obat anti tuberkulosis (OAT) kategori satu di Puskesmas Trosobo Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo (Jawa Timur). Isolasi PBMC pada penelitian dilakukan menggunakan metode sentrifugasi *gradient* menggunakan reagen *ficoll*. Metode ini merupakan metode pemisahan berdasarkan perbedaan densitas. Proses sentrifugasi menghasilkan bagian cincin yang putih keruh disebut dengan *buffy coat* yang berisi sel PBMC. *Buffy coat* terletak di antara plasma dan *ficoll*. Eritrosit yang mempunyai densitas yang besar berada di lapisan paling bawah, sedangkan plasma yang berdensitas kecil berada di lapisan paling atas. Sel PBMC yang didapat dari hasil isolasi kemudian dihitung jumlah dan viabilitasnya menggunakan hemositometer dan pewarnaan *trypan blue*. Di dalam hemositometer terdapat 10 kamar hitung dan seluruh sel yang terdapat di dalam kamar hitung tersebut dijumlahkan. Sel PBMC yang berwarna putih merupakan sel yang hidup, sedangkan yang berwarna biru adalah sel yang mati. Sel PBMC yang dapat digunakan untuk penelitian ini adalah sel yang hidup dengan jumlah $\pm 2 \times 10^6$.

Pada penelitian ini diperoleh 17 pasien yang sedang menjalani pengobatan OAT kategori satu yang bersedia dilibatkan dalam penelitian setelah mengisi lembar persetujuan. Jumlah pasien yang dilibatkan dalam penelitian ini adalah jumlah seluruh pasien TB dewasa di Puskesmas Trosobo Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo selama periode Desember 2021 dengan pengobatan OAT kategori satu. Berdasarkan hasil yang diperoleh, probiotik isolat dari buah markisa merah mampu meningkatkan kadar IFN- γ dalam PBMC pasien TB dewasa. Kadar IFN- γ dalam PBMC pasien TB dewasa meningkat 0,82 % hingga 23,17% setelah diberikan probiotik isolate biji buah markisa merah secara *in vitro*.

SUMMARY

**THE EFFECT OF PROBIOTIC ISOLATE FROM THE RED PASSION
FRUIT (*Passiflora edulis* Sims.) SEEDS ON IFN- γ LEVELS IN
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL
ADULT TUBERCULOSIS PATIENTS**

Iif Hanifa Nurrosyidah

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that causes many deaths in the world. Indonesia is the country with the third largest TB case in the world. *Mycobacterium tuberculosis* (M.Tb) is unique, because the bacteria live intracellularly and hide in macrophages so that they can escape from phagocytosis. This is one of the factors that complicate the treatment of M.Tb infections. The *Mycobacterium tuberculosis* is able to live intracellularly, so that the most important role in the eradication of these bacteria is the cellular immune system. T cells are important components of the cellular immune response to M.Tb, especially the lymphokine Interferon gamma (IFN- γ) which has been shown to be an important mediator in activating macrophages to control a number of intracellular pathogens. The use of immunomodulators has begun to be developed in treating TB, especially resistant M.TB. Probiotic bacteria according to WHO definition such as *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus*, *Bifidobacteria* are important components of the normal microflora in the gastrointestinal tract of animals and humans. These bacteria can act as immunomodulators through their antimicrobial activity.

The purpose of this study in general was to analyze the levels of IFN- γ in peripheral blood mononuclear cells of adult tuberculosis patients after in vitro administration of multistrain probiotics from red passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) The aims of this study specifically were to identify the character of the probiotic bacteria isolated from the pulp of the red passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.), to obtain a new probiotic strain, and to determine the compatibility and probiotic ability of the red passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) in inhibiting the growth of pathogenic bacteria *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Escherichia coli* Extended Spectrum Beta-Lactamase (*E.coli* ESBP) and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro.

Oral administration of probiotics will enhance the immune system by interacting with intestinal epithelial cells (IECs) or immune cells associated with the lamina propria, through Toll like receptors (TLRs), and inducing the production of various cytokines or chemokines. Macrophage chemoattractant protein 1, produced by IECs, sends signals to other immune cells leading to activation of the mucosal immune system (MIS), characterized by an increase in immunoglobulin A+ cells in the gut, bronchi, breast, gland, and T cell activation. In particular, probiotics activates regulatory T cells that release IL-10. Probiotics strengthen the intestinal barrier by increasing the mucin and Paneth Cells. So that it can modulate the good microbiota in the gut by suppressing the growth of potential pathogenic bacteria in the gut. The interaction of probiotics with IECs, macrophages and dendritic cells (DC) plays an important role in this immune response without causing an inflammatory pattern.

Natural probiotics can be found in the digestive tract of humans and animals, vegetables and fruits, one of which is passion fruit. Based on research, purple passion fruit

(*Passiflora edulis* Sims. var *edulis*) contains *L. bulgaricus* and *L. heterohiochii*. Passion fruit is a natural source of probiotics. The fruit has high nutritional value, many minerals such as magnesium and phosphorus, various vitamins, and high carbohydrates and water. Passion fruit has adequate nutritional content so that it is a suitable habitat for the growth of probiotic bacteria. Passion fruit, which is rich in health benefits, has not been developed further in the pharmaceutical field. So that researchers are interested in isolating probiotics from red passion fruit. The red passion fruit used in this study was obtained from the Krembung area (Sidoarjo-East Java) which had been identified by Herbarium Malangensis (University of Malang), and was declared as *Passiflora edulis* Sims with the determination number 09/25.07.18/herb.malg.

Isolation of probiotics was carried out by taking fruit seeds (seeds that wrapped in a seed coat) weighed as much as 5 grams, then suspended in 45 mL of 0.9% NaCl, and shaken using a shaker for 24 hours. Passion fruit suspension that has been shaken with a shaker for 24 hours, pipette 1 mL suspended in 9 mL of 0.9% NaCl (obtained a dilution of 10⁻¹). The dilution is carried out up to 10⁻¹⁰. Each dilution series (10⁻¹ to 10⁻¹⁰) was pipetted 1 mL and grown on de Man Rhogosa Sharpe Agar (MRS-Agar) and 1% CaCO₃ media. Then incubated at 37°C for 24-48 hours. Observation of bacterial colonies. Colonies with morphological forms such as lactic acid bacteria were characterized by the presence of a clear zone around the colony. The probiotic candidate bacteria were purified by quadrant method, after obtaining pure bacterial isolates were inoculated on MRS-Agar slanted media.

Biochemical identification of red passion fruit probiotic candidate bacteria (*Passiflora edulis* Sims.) includes gram staining test, catalase test, Sulfide, Indole, Motility (SIM) test, Methyl Red Voges Proskauer (MR-VP) test, Triple Sugar Iron Agar test (TSIA) and simmon citrate test. Ten isolates were obtained that met the biochemical requirements. Then proceed with the test of probiotic characteristics which include a test of resistance to acid pH, a test of resistance to NaCl salt, a test of resistance to phenol compounds. Based on this research, three potential probiotic isolates were obtained, namely MM1, MM2 and MM3 isolates that met the requirements.

After phenotypic (biochemical) identification and continued with the test of probiotic characteristics of isolates from red passion fruit, three potential isolates were obtained, namely MM1, MM2, and MM3 isolates. The three potential probiotic isolates from red passion fruit were then analyzed by genotyping, namely the identification of 16S rRNA. After BLAST was performed, the results showed that isolate MM1 had a % identity of 97.44% with *Bacillus subtilis* strain IAM 12118, MM2 had an identity of 85.80% with *Bacillus wiedmannii* strain FSL W8-0169, while MM3 had an identity of 100% with *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Based on the BLAST results, isolates MM1 and MM3 had an identity value above 97%, so it could be interpreted that the bacterial species were the same. Bacterial species that have identity greater than or equal to 97% can be said to be the same. Based on the 16S rRNA gene sequence data, identity 97% can be stated that the isolates compared are in the same genus. While the identity between 89-93% indicates a different family or can be said to be a different species. The MM2 isolate had a % identity of 85.80% (below 97%) with *Bacillus wiedmannii* strain FSL W8-0169, which means that it can be said that the MM2 isolate is a new strain.

The compatibility test carried out in this study was the direct test method, each of the isolates was scratched in contact with each other. Based on the results of the tests

carried out, it was found that the three probiotic isolates from red passion fruit were compatible, did not inhibit each other. This was indicated by the absence of a clear zone (inhibition zone) in the area around the meeting point of the three isolates.

In this study, the probiotic antibacterial activity test of isolates from red passion fruit was carried out against the bacteria *M.tb H37Rv*, Methicillin Resistant MRSA, and *E.coli* ESBL. In this study, probiotic cell free fermentation filtrate (PCFFF) from red passion fruit was not able to inhibit the growth of *M.tb H37RV*, however, red passion fruit pulp fermentation filtrate was able to inhibit the growth of *M.tb H37RV*, but isolates MM1 and MM2 were able to inhibit the growth of *E.coli* ESBL and MRSA with 50% Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC). So that the probiotics used for testing in the next stage are MM1 and MM2 isolates.

In this study, probiotic isolates from red passion fruit (mixed isolates MM1 and MM2) were induced into peripheral blood mononuclear cell (PBMC) adult TB patients who were undergoing anti-tuberculosis drug therapy (OAT) category one at the Trosobo Health Center, Sidoarjo Regency Park District (East Java). Isolation of PBMC in this study was carried out using gradient centrifugation method using Ficoll reagent. This method is a separation method based on differences in density. The centrifugation process produces a cloudy white ring called the buffy coat which contains PBMC cells. The buffy coat is located between the plasma and ficoll. Erythrocytes that have a large density are in the lowest layer, while plasma with a small density are in the top layer. The PBMC cells obtained from the isolation were then counted for their number and viability using a hemocytometer and trypan blue staining. In the hemocytometer there are 10 counting chambers and all the cells in the counting chamber are added up. PBMC cells that are white are living cells, while those that are blue are dead cells. The PBMC cells that can be used for this research are living cells with the number of $\pm 2 \times 10^6$.

In this study, 17 patients who were undergoing OAT category one treatment were willing to be involved in this study after filling out the consent form. The number of patients involved in this study was the total number of adult TB patients at the Trosobo Primary Health Center, Taman Subdistrict, Sidoarjo Regency during the December 2021 period with category one OAT treatment. Based on the results obtained, probiotic isolates from red passion fruit were able to increase IFN- γ levels in PBMC of adult TB patients. IFN- γ levels in PBMC of adult TB patients increased from 0,82% to 23,17% after in vitro administration of red passion fruit isolate probiotics.

ABSTRAK

**Pengaruh Isolat Probiotik dari Biji Buah Markisa Merah (*Passiflora edulis* Sims.)
Benih Terhadap Kadar IFN- γ Pada *Peripheral Blood Mononuclear Cell*
Pasien Tuberkulosis Dewasa**

Iif Hanifa Nurrosyidah

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang menyebabkan banyak kematian di dunia. Indonesia merupakan negara dengan kasus TB terbesar ketiga di dunia. *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) bersifat unik, karena bakteri ini hidup secara intraseluler dan bersembunyi di dalam makrofag sehingga dapat lolos dari fagositosis. Hal ini merupakan salah satu faktor yang mempersulit pengobatan infeksi M.tb. *Mycobacterium tuberculosis* mampu hidup secara intraseluler, sehingga peran terpenting dalam pemberantasan bakteri tersebut adalah sistem imun seluler. Sel T merupakan komponen penting dari respon imun seluler terhadap M.tb, terutama limfokin Interferon gamma (IFN- γ) telah terbukti menjadi mediator penting dari aktivasi makrofag dalam mengendalikan sejumlah patogen intraseluler. Tujuan penelitian ini secara umum adalah untuk mengisolasi sumber probiotik baru galur lokal dari biji buah markisa merah serta menganalisis pengaruhnya terhadap kadar IFN- γ pada *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) pasien tuberkulosis dewasa setelah pemberian probiotik *multistrain* isolat dari biji buah markisa merah (*Passiflora edulis* Sims.) secara *in vitro*.

Pada penelitian ini, isolat probiotik dari biji markisa merah diinduksi ke dalam PBMC pasien TB dewasa kasus baru yang masih sensitif obat yang sedang menjalani terapi obat anti tuberkulosis (OAT) kategori satu di Puskesmas Trosobo Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo (Jawa Timur). Berdasarkan hasil yang diperoleh, isolat probiotik dari biji buah markisa merah mampu meningkatkan kadar IFN- γ pada PBMC pasien TB dewasa secara *in vitro*. Kadar IFN- γ pada PBMC pasien TB dewasa meningkat dari 0,82% menjadi 23,17% setelah pemberian probiotik isolat markisa merah secara *in vitro*.

Kata kunci: Interferon gamma; *Passiflora edulis* Sims; Probiotik; Markisa Merah; Tuberkulosis, PBMC

ABSTRACT

The Effect of Probiotic Isolate from Red Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims.) Seeds on IFN- γ Levels in Peripheral Blood Mononuclear Cell in Adult Tuberculosis Patients

Iif Hanifa Nurrosyidah

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that causes many deaths in the world. Indonesia is a country with the third largest TB cases in the world. *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) is unique, because this bacterium lives intracellularly and hides in macrophages so that it can escape from phagocytosis. This is one of the factors that complicate the treatment of M.tb infection. *Mycobacterium tuberculosis* is able to live intracellularly, so the most important role in eradicating these bacteria is the cellular immune system. T cells are important components of the cellular immune response to M.tb, especially the lymphokine Interferon gamma (IFN- γ) has been shown to be an important mediator of macrophage activation in controlling a number of intracellular pathogens. The purpose of this study in general was to isolate a new source of local strain of probiotics from red passion fruit seeds and analyze its effect on IFN- γ levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of adult tuberculosis patients after administration of multistrain probiotic isolates from red passion fruit seeds (*Passiflora edulis*). Sims.) in vitro.

In this study, probiotic isolates from red passion fruit seeds were induced into the PBMC of new adult TB patients who were still sensitive to drugs who were undergoing category one anti-tuberculosis (OAT) drug therapy at the Trosobo Health Center, Taman District, Sidoarjo Regency (East Java). Based on the results obtained, probiotic isolates from red passion fruit seeds were able to increase IFN- γ levels in PBMC of adult TB patients in vitro. IFN- γ levels in PBMC of adult TB patients increased from 0.82% to 23.17% after administration of red passion fruit isolate probiotics in vitro.

Keyword: Interferon gamma; *Passiflora edulis* Sims.; Probiotic; Red Passion Fruit; Tuberculosis, PBMC

DAFTAR ISI

Halaman

Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Penetapan Panitia Penguji.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	xx
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Probiotik.....	10
2.1.1 Deskripsi Probiotik	10
2.1.2 Karakteristik Probiotik.....	11
2.1.3 Pengaruh Probiotik pada Respon Imun	13
2.2 Markisa Merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.)	16
2.2.1 Klasifikasi Taksonomi	16
2.2.2 Deskripsi Morfologi.....	16
2.2.3 Kandungan Kimia	17
2.3 Penyakit Tuberkulosis.....	19
2.3.1 Gambaran Umum.....	19
2.3.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	21
2.3.3 Patogenesis.....	25
2.3.3.1 TB Primer	26
2.3.3.2 TB Paska Primer	27
2.3.3.3 Gejala Klinis TB Paru.....	28
2.3.4 Mekanisme Virulensi dan Faktor Virulensi	28
2.3.5 Terapi Tuberkulosis	33
2.4 Sistem Imun	34
2.5 <i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i> (PBMC).....	35
2.6 Interferon Gamma dan Respon Imun Terhadap Infeksi <i>M.tuberculosis</i>	36
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	41
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	41
3.2 Hipotesis	42
BAB 4 METODE PENELITIAN	44
4.1 Jenis Rancangan Penelitian.....	44
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	45
4.3 Variabel Penelitian.....	46
4.4 Bahan Penelitian	47

4.5 Instrumen Penelitian	47
4.6 Lokasi Penelitian dan Waktu Pelaksanaan Penelitian	48
4.7 Prosedur Kerja	48
4.7.1 Pengumpulan Sampel Buah Markisa Merah	49
4.7.2 Isolasi bakteri Kandidat probiotik.....	49
4.7.3 Identifikasi Fenotip Bakteri Secara Biokimia.....	50
4.7.3.1 Uji katalase	50
4.7.3.2 Uji SIM	50
4.7.3.3 Uji MR-VP.....	50
4.7.3.4 Uji TSIA	50
4.7.3.5 Uji Simmon sitrat.....	51
4.7.3.6 Pewarnaan Gram.....	51
4.7.4 Identifikasi Genotip Bakteri Kandidat Probiotik	51
4.7.5 Uji Karakteristik Probiotik.....	53
4.7.5.1 Ketahanan Asam.....	53
4.7.5.2 Ketahanan terhadap Garam NaCl	53
4.7.5.3 Ketahanan terhadap <i>Phenol</i>	53
4.7.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri <i>Mycobacterium tuberculosis H37Rv</i>	54
4.7.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli Extended Spectrum Beta-Lactamase</i> dan <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	55
4.7.5.6 Uji Potensi Rasio CFFS Probiotik Isolat dari Isolat <i>Pulp</i> Buah Markisa Merah Terhadap Antibiotik Vancomycin pada Bakteri Uji <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	55
4.7.5.7 Uji Sensitivitas Antibiotik.....	56
4.7.6 Uji Kompatibilitas.....	56
4.7.7 Produksi Biomassa Probiotik.....	57
4.7.8 Penyiapan Multistrain Probiotik	57
4.7.9 Penyiapan Suspensi <i>Mycobacterium tuberculosis H37Rv</i>	58
4.7.10 Pemilihan Subjek penelitian dan Prosedur Pengambilan Data	59
4.7.11 Pemisahan PBMC dari Sel Darah Tepi Penderita.....	60
4.7.12 Kultur Sel PBMC dan Pemberian Perlakuan	60
4.7.13 Pemeriksaan Sitokin IFN- γ dengan Elisa Kit	60
4.8 Analisa Data.....	61
4.9 Kerangka Operasional.....	62
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN	69
5.1 Hasil Determinasi Buah Markisa Merah	69
5.2 Hasil Isolasi Kandidat Probiotik dari Buah Markisa Merah.....	69
5.3 Hasil Identifikasi Biokimia Kandidat Probiotik Isolat dari <i>Pulp</i> Buah Markisa Merah	70
5.4 Hasil karakterisasi Probiotik Isolat dari <i>Pulp</i> Buah Markisa Merah	71
5.5 Hasil Identifikasi Genotip 16s rRNA.....	73
5.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	75
5.6.1 Uji Potensi Rasio	77
5.7 Hasil Uji Kompatibilitas	80
5.8 Hasil Analisis Kadar IFN- γ pada PBMC Pasien TB Dewasa	81
BAB 6 PEMBAHASAN.....	83
6.1 Karakteristik Probiotik Isolat dari <i>Pulp</i> Buah Markisa Merah	83
6.2 Strain Probiotik Isolat dari <i>Pulp</i> Buah Markisa Merah.....	85

6.3 Kompatibilitas Probiotik Isolat dari Pulp Buah Markisa Merah	87
6.4 Aktivitas Antibakteri Probiotik Isolat dari Pulp Buah Markisa Merah	88
6.5 Pengaruh Probiotik Dari Buah Markisa Merah terhadap Kadar IFN- γ dalam	91
<i>Peripheral Blood Mononuclear Cell Paisein Tuberkulosis Dewasa Secara in vitro</i>	
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	96
7.1 Kesimpulan	96
7.2 Saran	97
DAFTAR PUSTAKA	98
LAMPIRAN	106

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Rekomendasi Obat Anti Tuberkulosis (OAT) Lini Pertama.....	32
Tabel 4.1	Definisi Operasional	46
Tabel 4.2	Lokasi Penelitian.....	48
Tabel 4.3	Waktu Pelaksanaan Penelitian	48
Tabel 5.1	Hasil Identifikasi Biokimia Kandidat isolat Probiotik dari Buah Markisa Merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.....	70
Tabel 5.2	Hasil Uji Karakter Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Markisa Merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.)	72
Tabel 5.3	Hasil Identifikasi 16S rRNA Isolat Kandidat Probiotik dari Buah Markisa Merah.....	75
Tabel 5.4	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Probiotik Potensial dari Buah Markisa Merah terhadap <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	76
Tabel 5.5	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Probiotik Potensial dari Buah Markisa Merah terhadap <i>Escherichia coli Extended Spectrum Beta-Lactamase</i> (<i>E.coli</i> ESBL).....	76
Tabel 5.6	Hasil Uji Aktivitas Isolat Probiotik Potensial dari Buah Markisa Merah terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv.....	77
Tabel 5.7	Hasil uji potensi rasio yang digunakan adalah isolat MM1 terhadap bakteri MRSA dengan antibiotik standar Vancomycin.....	78
Tabel 5.8	Hasil uji potensi rasio yang digunakan adalah isolat MM2 terhadap bakteri MRSA dengan antibiotik standar Vancomycin.....	79
Tabel 5.9	Hasil Pengukuran Kadar IFN- γ pada PBMC pasien TB Dewasa Sebelum dan Sesudah diberikan Probiotik Isolat dari Buah Markisa Merah.....	81
Tabel 5.10	Prosentase Kenaikan Kadar IFN- γ dalam PBMC Pasien TB Dewasa Sesudah Pemberian Probiotik Isolat dari Buah Markisa Merah.....	82

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Mekanisme Probiotik Dalam Meningkatkan Sistem Imun.....	15
Gambar 2.2	Pohon Markisa Merah (a), Buah Markisa Merah (b) (<i>Passiflora edulis</i> Sims).....	18
Gambar 2.3	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	22
Gambar 2.4	Koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada media Lowenstein-Jensen.....	22
Gambar 2.5	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> dengan Pewarnaan Tahan Asam (Ziehl-Neelsen).....	24
Gambar 2.6	Fungsi sel Th1 pada cell-mediated immunity terhadap mikroba intraseluler	39
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	41
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian	44
Gambar 4.2	Kerangka Operasioanl Penelitian	62
Gambar 4.3	Disain Operasional Penelitian	63
Gambar 5.1	Isolat Kandidat Probiotik dari Pulp buah markisa merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.) (a), Isolat Murni Kandidat Probiotik dari Pulp buah markisa merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.) (b).....	69
Gambar 5.2	Hasil Identifikasi Biokimia yang Meliputi; Pewarnaan Gram (a), Uji Katalase (b), Uji SIM (b), Uji TSIA (d), Uji Simmon Sitrat (e), dan Uji MR-VP.....	70
Gambar 5.3	Uji Ketahanan terhadap pH asam (a) pH 2,5, (b) pH 3 Isolat Kandidat Probiotik dari Buah Markisa Merah.....	72
Gambar 5.4	Uji Ketahanan terhadap Senyawa Fenol 5% (a), Vancomycin 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm (b), dan Erithromycin 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm (c).....	72
Gambar 5.5	Uji Ketahanan terhadap pH asam (a) NaCl 1%, (b) NaCl 4%, (c) NaCl 8% Isolat Kandidat Probiotik dari Buah Markisa Merah....	73
Gambar 5.6	Hasil <i>Polymerase Chain Reaction</i> Sitrat Kandidat Isolat Probiotik dari Buah Markisa Merah (<i>Passiflora edulis</i> Sims.)	73
Gambar 5.7	Pohon Filogenik Isolat kandidat Probiotik MM1 dari Buah Markisa Merah.....	74
Gambar 5.8	Pohon Filogenik Isolat kandidat Probiotik MM2 dari Buah Markisa Merah.....	74
Gambar 5.9	Pohon Filogenik Isolat kandidat Probiotik MM3 dari Buah Markisa Merah.....	75
Gambar 5.10	Hasil uji potensi rasio yang digunakan adalah isolat MM1 terhadap bakteri MRSA dengan antibiotik standar Vancomycin (U3= MM1 (100%), U2=MM1 (50%), U1=MM1 (25%), S3=Vancomycin (10 ppm), S2= Vancomycin (5 ppm), S1= Vancomycin (2,5 ppm)	78

Gambar 5.11	Hasil uji potensi rasio yang digunakan adalah isolat MM2 terhadap bakteri MRSA dengan antibiotik standar Vancomycin (U3= MM2 (100%), U2=MM2 (50%), U1=MM2 (25%), S3=Vancomycin (10 ppm), S2= Vancomycin (5 ppm), S1= Vancomycin (2,5 ppm)	79
Gambar 5.12	Hasil Uji Kompatibilitas Isolat Probiotik MM1 (1), MM2 (2) dan MM3 (3)	81

DAFTAR SINGKATAN

AMI	: <i>Antibody mediated immune</i>
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
CFFS	: <i>Cell Free Fermentation Supernatan</i>
CMI	: <i>Cell mediated immune</i>
DCs	: <i>Dendritic Cells</i>
EPS	: Eksopolisakarida
ESBL	: <i>Extended Strain Beta Lactamase</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
GALT	: <i>Gut Associated Lymphoid Tissue</i>
GAP	: Gliseraldehida fosfat
GRAS	: <i>generally regocnized as safe</i>
HPA	: <i>hypothalamic-pituitary-adrenal axis</i>
ICU	: <i>Intensive care unit</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
Ig A	: <i>Immunoglobulin A</i>
Ig G	: <i>Immunoglobulin G</i>
IL-12	: <i>Interleukins-12</i>
IL-10	: <i>Interleukins-10</i>
LPS	: <i>Lipopolysacharide</i>
MDR-TB	: <i>Multi Drug Resistent Tuberculosis</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MOF	: <i>Multi organs failure</i>
MRSA	: <i>Resistant Staphylococcus aureus</i>
MRS-A	: <i>De Man Rogosa Sharpe Agar</i>
MRS-B	: <i>De Man Rogosa Sharpe Broth</i>
MSO	: <i>L-methionine-SR-sulfoximine</i>
M.TB	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NE	: Nutrisi enteral
NF-kB	: <i>Nuclear factor kB</i>

NK	: <i>Natural Killer</i>
OAT	: Obat Anti Tuberkulosis
PBMC	: <i>Pheriperal Blood Mononuclear Cell</i>
PEG E2	: Prostaglandin E2
PEP	: Fosfoenolpiruvat
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
PTS	: Fosfotolasease
RNI	: <i>Reactive Nitrogen Intermediate</i>
ROI	: <i>Reactive Oxygen Intermediate</i>
sIg	: <i>Secretory immunoglobulins</i>
SIRS	: <i>Systemic inflammatory response syndrome</i>
TB	: Tuberkulosis
TGF- β	: <i>Tranforming Growth Factor Beta</i>
Th	: <i>T Helper</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TU	: <i>Tuberculin unit</i>
WHO	: <i>World Health Organisation</i>

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Sertifikat Determinasi Tanaman Markisa Merah.....	106
Lampiran 2	Sertifikat Layak Etik.....	107
Lampiran 3	Surat Izin Pengambilan Sampel Darah Pasien Tuberkulosis di Puskesmas Trosobo.....	108
Lampiran 4	Informasi Penelitian untuk Subjek Penelitian.....	109
Lampiran 5	Lembar Persetujuan Sebagai Subjek Penelitian.....	110
Lampiran 6	Lembar Persetujuan Subjek Penelitian untuk Diambil Darahnya.....	111
Lampiran 7	Karakteristik Subjek Berdasarkan Umur, Jenis Kelamin, Tipe Tuberkulosis, dan Fase Terapi.....	112
Lampiran 8	Hasil Pengukuran OD Interferon gamma dalam PBMC Pasien Tuberkulosis Dewasa.....	113
Lampiran 9	Gambar Alur Pemeriksaan Kadar IFN- γ Pada Pasien Tuberkulosis Dewasa di Puskesmas Trosobo Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo.....	114
Lampiran 10	Gambar Alur Pemeriksaan Kadar IFN- γ Pada Pasien Tuberkulosis Dewasa di Puskesmas Trosobo Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo.....	118
Lampiran 11	Sertifikat Analisis Elisa Kit (Elabscience).....	122
Lampiran 12	Prosedur Operasional Analisis IFN- γ dengan Elisa Kit (Elabscience)..	123
Lampiran 13	Tabel kandungan Senyawa dalam Media de Man Rhogosa Sharpe Agar (Oxoid).....	124
Lampiran 14	Gambar Hasil Identifikasi Biokimia Probiotik isolat dari Pulp Buah Markisa Merah.....	125
Lampiran 15	Gambar Hasil Uji Karakter Probiotik.....	128
Lampiran 16	Perhitungan % Kenaikan Kadar IFN- γ	130
Lampiran 17	Isolasi Probiotik dari Buah Markisa Merah.....	131