

# LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

**Ekspresi Interleukin-6 Pada Hewan Coba Yang Diinjeksikan  
Mycobacterium Tuberculosis**



**umsurabaya**  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**Fakultas  
Ilmu Kesehatan**

Oleh :

**Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum (0701129103)**

**Nur Vita Purwaningsih, S.ST.,M.Kes (0815128601)**

**Ellies Tunjung SM., S.ST., M.Si (0827118401)**

**Abdul Wafi (20190662039)**

**Lisa Wulandari (20190662050)**

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

**Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113**

**Telp. 031-3811966**


**<http://www.um-surabaya.ac.id>**

**Tahun 2020**

**HALAMAN PENGESAHAN**

- Judul Penelitian : Ekspresi Interleukin-6 Pada Hewan Coba Yang Diinjeksikan Mycobacterium Tuberculosis
- Skema :
- Jumlah Dana : Rp10.110.000
- Ketua Peneliti :
- a. Nama Lengkap : Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum
- b. NIDN : 0701129103
- c. Jabatan Fungsional :
- d. Program Study : D4 Teknologi Laboratorium Medis
- e. No. HP : 0852997380001
- f. Alamat Email : triade13@um-surabaya.ac.id
- Anggota Peneliti (1) :
- a. Nama Lengkap : Nur Vita Purwaningsih, S.ST.,M.Kes
- b. NIDN : 0815128601
- Anggota Peneliti (2) :
- a. Nama Lengkap : Ellies Tunjung SM., S.ST., M.Si
- b. NIDN : 0827118401
- Anggota Mahasiswa (1) :
- a. Nama : Abdul Wafi
- b. NIM : 20190662039
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya
- Anggota Mahasiswa (2) :
- a. Nama : Lisa Wulandari
- b. NIM : 20190662050
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya

Mengetahui  
 Dekan FK UMS Surabaya  
  
 Dr. Nur Mukarramah, SKM.,M.Kes  
 NIDN.0713067202

Surabaya, 14 September 2020  
 Ketua Penelitian  
  
 Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum  
 NIDN.0701129103

Menyetujui  
 Ketua LPPM UMSurabaya  
  
 Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep  
 NIDN. 0730016501

## Daftar Isi

COVER .....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Daftar Gambar .....	iv
Bab 1.....	1
Pendahuluan.....	1
1.1    Latar Belakang.....	1
1.2    Rumusan Masalah.....	2
1.3    Tujuan Penelitian .....	2
1.4    Manfaat Penelitian.....	2
Bab II.....	3
Pembahasan .....	3
2.1    Tuberkulosis.....	3
2.2    Respons Imun.....	8
Bab III.....	12
Tujuan Dan Manfaat Penelitian .....	12
3.1    Tujuan Penelitian .....	12
3.2    Manfaat Penelitian .....	12
Bab IV .....	13
Metode Penelitian .....	13
4.1    Jenis dan Rancangan Penelitian .....	13
4.2    Populasi dan Sampel.....	13
Bab V.....	15
Hasil Penelitian dan Pembahasan.....	15
Bab VI .....	17
Rencana Tahapan Berikutnya .....	17
Bab VII.....	18
Kesimpulan dan Saran .....	18
DAFTAR PUSTAKA .....	19
Lampiran.....	23

# Bab 1

## Pendahuluan

### 1.1 Latar Belakang

Dalam sistem imun sel T memegang peranan penting terhadap infeksi *M. tuberculosis*, sel T CD4<sup>+</sup> dan sel T CD8<sup>+</sup> mensekresikan *Interferon gamma* (IFN- $\gamma$ ), dengan terekspresinya IFN- $\gamma$  memperkuat potensi fagosit dari makrofag dan menstimulasi fusi fagolisosom dan pembentukan *reactive oxygen intermediate/reactive nitrogen intermediate* (ROI/RNI) yang dapat menghancurkan *M. tuberculosis*. Strain *M. tuberculosis* mempunyai dua protein spesifik yaitu *Easy secretory antigenic target 6 kD* (ESAT-6) dan *Culture filtrate protein 10* (CFP-10) dimana kedua protein ini memiliki tingkat virulensi tinggi untuk menghambat kinerja dari makrofag (Wibowo *et al.*, 2017).

*Innate immune respond* dan *adaptive immune respond* sangat berperan terhadap *host* ketika terpapar *M. tuberculosis* namun pada umumnya *host* dalam kondisi tubuh yang optimal mampu untuk mengendalikan paparan tersebut, secara ilmiah proses ini belum bisa dijelaskan. Makrofag yang terinfeksi *Mycobacteri* juga banyak melepaskan IL-6 yang mengaktifkan makrofag sehingga berdiferensiasi menjadi sel raksasa multinuklear (*multinucleated giant cells*) (Fitzgerald *et al.*, 2014). *Interleukin-6* disekresikan oleh makrofag yang terinfeksi oleh *M. tuberculosis*, kemudian IL-6 menekan respons makrofag yang tidak terinfeksi *M. tuberculosis* terhadap IFN- $\gamma$ . Peningkatan kadar IL-6 di paru-paru, bersamaan dengan peningkatan kadar IL-1 $\beta$  dan IL-11, berkorelasi secara signifikan dengan perkembangan tuberkulosis pada tikus yang rentan secara genetik. Dalam penelitian Romero-Adrian di tahun 2015 menunjukkan bahwa IL-6 dapat memainkan banyak peran dan berkontribusi baik secara positif maupun negatif untuk menjadi sel *host* kontrol terhadap infeksi *M. tuberculosis*.

Interpretasi peran IL-6 pada tuberkulosis diperumit oleh fakta bahwa reseptor IL-6 yang terlarut dapat menengahi *trans-signaling* dan terlibat dalam penyakit inflamasi seperti *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*. Untuk mengatasi peran IL-6 lebih lanjut, sebuah reseptor gp130 yang mampu mengikat IL-6 dalam darah (*sgp130FC*) dikirim ke tikus selama infeksi *M. tuberculosis* namun tidak ada dampak pada perkembangan penyakit. Sebaliknya ketika tikus dibuat untuk melakukan *overekspresi* IL-6 pada infeksi akut beban bakteri akan berkurang untuk sementara kemudian terjadi peningkatan beban bakteri. Pengamatan ini konsisten dengan peran

awal IL-6 dalam meningkatkan kekebalan tubuh pada awal infeksi *M. tuberculosis*, kemudian IL-6 akan meningkat secara bertahap selama rentang waktu 9 hari (Birkness *et al.*, 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut penulis tertarik untuk mengamati ekspresi IL-6 pada hewan coba yang diinjeksikan dengan Mycobacterium Tuberculosis

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimanakah ekspresi IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan dengan Mycobacterium tuberculosis?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui ekspresi IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan Mycobacterium tuberculosis
2. Untuk mengetahui peranan IL6 pada Mycobacterium Tuberculosis

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Sebagai informasi ilmiah tentang ekspresi IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan Mycobacterium Tuberculosis

## Bab II

### Pembahasan

#### 2.1 Tuberkulosis

##### 2.1.1 Pengertian

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. *M. tuberculosis* merupakan bakteri aerob obligat, tidak memiliki endospora dan kapsul, tidak motil, Gram-positif, tahan asam, berbentuk batang dengan ukuran 0,2-0,4 x 2-10 µm, tumbuh pada suhu 37°C dengan pertumbuhan yang lambat yaitu 2-60 hari (Astriany *et al.*, 2017). Prevalensi tuberkulosis ini menjadi salah satu penyakit yang telah lama dikenal dan sampai saat ini masih menjadi salah satu penyebab kematian di dunia. *World Health Organization* (WHO) menyatakan terdapat 22 negara dikategorikan sebagai *high burden countries* terhadap tuberkulosis. Indonesia termasuk negara kedua setelah India menyumbang tuberkulosis di dunia (WHO, 2016; Wijaya VN, 2017).

Sepertiga populasi di dunia diperkirakan terinfeksi *M. tuberculosis* yang sebagian besar didasarkan pada hasil tes tuberkulin positif, sebagian besar tidak memiliki t&a atau gejala penyakit tuberkulosis tetapi tetap memiliki risiko menjadi tuberkulosis aktif dan infeksius (Dye *et al.*, 1999; WHO 2015). Risiko reaktivasi tuberkulosis diperkirakan sebesar 5–10% dengan mayoritas menjadi tuberkulosis aktif dalam lima tahun pertama setelah terinfeksi kuman tuberkulosis (WHO, 2015). Jumlah penderita tuberkulosis laten di Amerika Serikat diperkirakan sebesar 13 juta penduduk, sekitar 650.000 – 1.300.000 orang memiliki risiko menjadi tuberkulosis aktif (Wijaya VN, 2017; CDC, 2013). Pada tahun 1882 Robert Koch mengatakan bahwa tuberkulosis merupakan penyebab mikroba *phthisis* diikuti oleh isolasi tuberkulin sebagai terapi melawan penyakit yang akhirnya berperan penting dalam diagnostik dan perkembangan vaksin hidup yaitu *Bacillus Calmette Gueren* (BCG) (Chaisson & Bishai 2017).

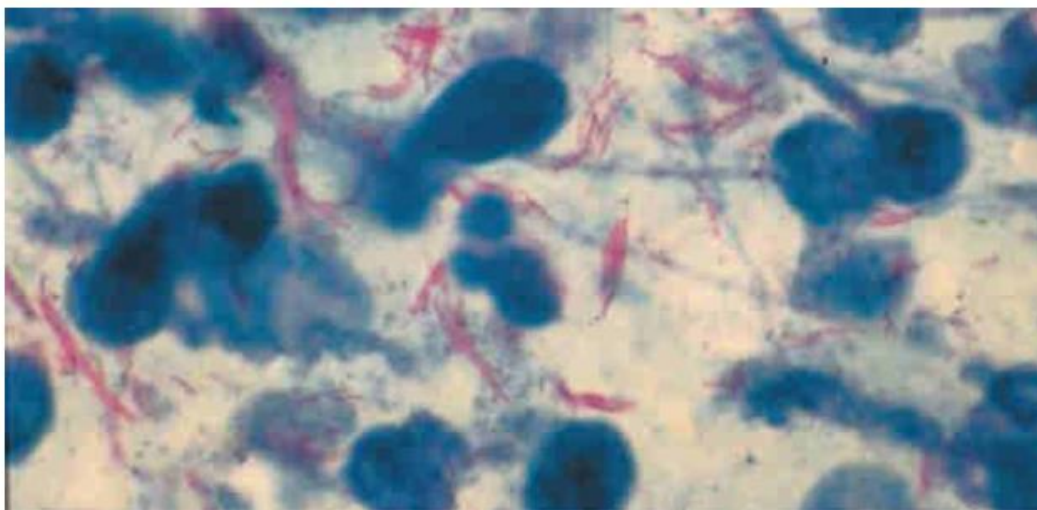
##### 2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*)

Klasifikasi *M. tuberculosis*

Kingdom : *Bacteria*

Subclass : *Actinobacteria*

Order : *Actinomycetales*



Family : *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

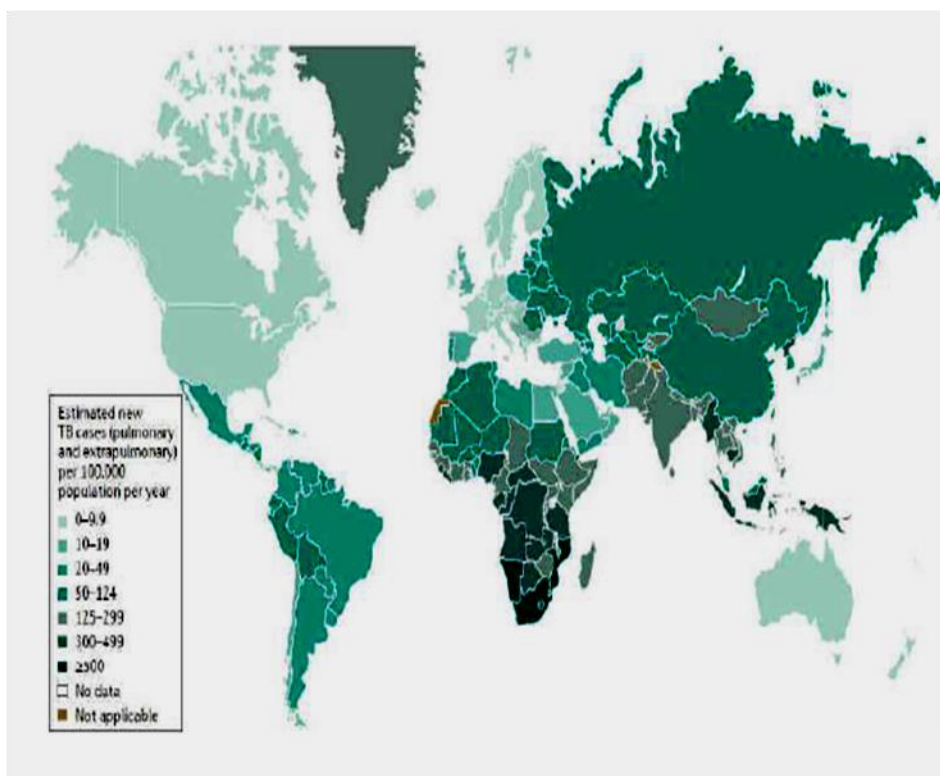
Species : *Mycobacterium tuberculosis*

**Gambar 2.1 A *Mycobacterium tuberculosis* (Gerard J., 2016).**

*Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang (*bacil*) dengan ukuran panjang 1-4  $\mu\text{m}$  dan tebal 0,3-0,6  $\mu\text{m}$  yang bersifat aerob (membutuhkan banyak oksigen), mati pada air mendidih (suhu 40°C selama 5 menit) dan mudah mati apabila terkena sinar ultraviolet, tetapi di dalam tubuh *host* bakteri ini dapat *dormant* atau tertidur selama beberapa tahun. *M. tuberculosis* disebut batang tahan asam (BTA) terdiri dari lemak atau lipid, arabinomannan dan peptidoglikan serta sangat tahan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Penderita penyakit tuberkulosis aktif umumnya mengalami gejala seperti demam, kelelahan, kurang nafsu makan dan penurunan berat badan, dan mereka yang memiliki penyakit paru dapat memiliki batuk terus-menerus dan *hemoptisis* (batuk darah) (Pai *et al.*, 2016).

**2.1.3 Epidemiologi Tuberkulosis**

Menurut WHO (*World Health Organization*) tahun 2014, diperkirakan 9,6 juta orang menularkan penyakit tuberkulosis aktif, di antaranya 1,5 juta meninggal dan beban tuberkulosis secara heterogen didistribusikan di berbagai wilayah dunia (Pai *et al.*; 2016).



**Gambar 2.2 Insiden distribusi global penyakit tuberkulosis aktif (Pai *et al.*, 2016).**

Kejadian tuberkulosis lebih besar 250 kali lipat lebih tinggi di Afrika Selatan (834 kasus per 100.000 populasi per tahun) dibandingkan di Amerika Serikat (3 kasus per 100.000 penduduk per tahun). Tingkat perkembangan penyakit tuberkulosis aktif sangat tinggi pada bayi yang terpajan, tetapi jauh lebih rendah pada anak usia 2-10 tahun; risiko meningkat selama masa remaja dan usia produktif sekitar usia 25 tahun. Sedangkan kejadian penyakit tuberkulosis aktif sekitar dua kali lipat lebih tinggi pada pria daripada wanita, dan sekitar 10% dari semua kasus baru di seluruh dunia terjadi pada anak-anak (Pai *et al.*, 2016).

Berdasarkan data dari *World Health Organization (WHO)* pada tahun 2014, kasus tuberkulosis di Indonesia mencapai 1.000.000 kasus dengan jumlah kematian diperkirakan 110.000 kasus setiap tahunnya. Penyebab utama mortalitas dan morbiditas penyakit tuberkulosis sulit dihilangkan, diantaranya tuberkulosis yang resisten terhadap obat. Ini disebabkan karena belum adanya diagnostik tuberkulosis yang tepat untuk penyembuhan yang lebih efektif (Kesehatan & Indonesia 2017).

Infeksi HIV merupakan kasus terbanyak berkisar 12% dari semua penyakit kasus tuberkulosis aktif dan 25% dari semua kematian terkait tuberkulosis terjadi pada orang yang



mayoritas positif HIV (75%), dan kejadian ini banyak terjadi di Negara Afrika. Kematian di rumah sakit terkait tuberkulosis sebanyak 25% di antaranya orang dewasa dan 30% di antaranya anak-anak dengan infeksi HIV (Pai *et al.*, 2016).

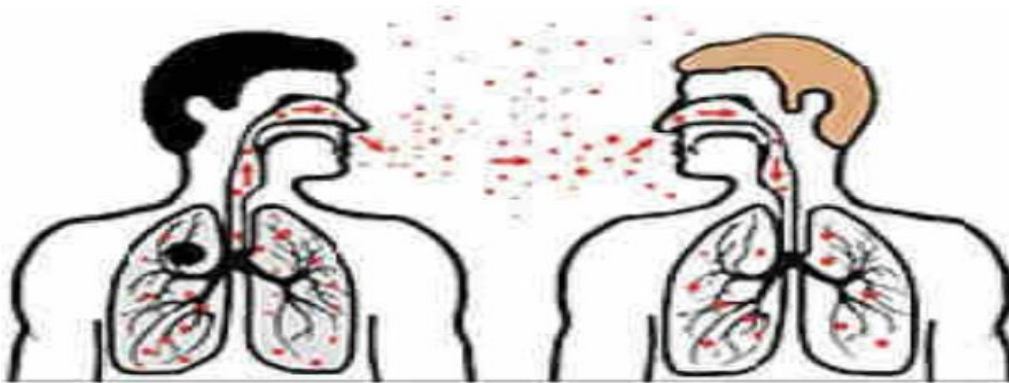
Faktor risiko lainnya yang meningkatkan kerentanan terhadap tuberkulosis aktif diantaranya merokok, diabetes dan *co-morbidity* lainnya. Telah diprediksi bahwa prevalensi diabetes global akan meningkat sebesar 69% pada tahun 2030, sebanyak 80% kasus terjadi di negara berkembang. Pada individu dengan diabetes memiliki 2-3 kali berisiko lebih tinggi terkena tuberkulosis aktif; sekitar 10% kasus tuberkulosis di seluruh dunia sekarang terkait dengan diabetes. Strategi mengerudikasi penyakit tuberkulosis disosialisasikan pada tahun 2006 dan sekarang bertujuan untuk menghilangkan tuberkulosis pada tahun 2050 (Heemskerck *et al.*, 2015).

#### 2.1.4 Patogenesis Tuberkulosis

Patogenesis tuberkulosis dimulai melalui udara, penderita menghirup tetesan nuklear menular yang disebut *droplet nuclei* yang mengandung zat *bacilli* (*aerosol spread*). *Mycobacterium latens droplet nuclei* ini terbentuk saat pasien dengan infeksi tuberkulosis aktif tersuspensi melalui kontak udara selama beberapa jam. Salah satu mekanisme pertahanan agar bakteri keluar dan tidak menginfeksi yaitu bersin dan berbicara. Faktor-faktor yang mempengaruhi kemungkinan transmisi meliputi beban *bacillary* yang berasal dari *sputum smear-positive* atau rongga paru-paru pada radiografi dada serta kedekatan durasi waktu paparan dengan penderita. Penularan tuberkulosis dapat dikurangi secara perlahan dan cepat dengan pengobatan yang efektif. Sebanyak 90% orang terinfeksi *M. tuberculosis* tidak mengalami penyakit (Heemskerck *et al.*, 2015).

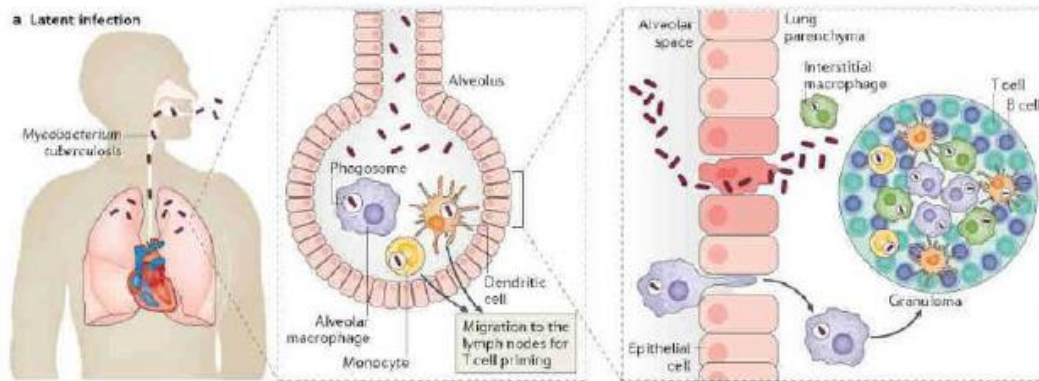
Setelah penderita menghirup *M. tuberculosis* seorang individu mungkin memiliki salah satu dari hasil berikut: (1) gagal untuk terinfeksi, (2) terinfeksi tetapi kemudian membersihkan infeksi bakteri yang masuk, (3) berhasil terinfeksi tetapi terus ke bagian *bacilli* dengan tidak adanya penyakit asimtomatik (infeksi tuberkulosis laten), atau (4) berkembang menjadi penyakit tuberkulosis progresif. Diperkirakan sepertiga dari populasi dunia terinfeksi tuberkulosis laten dan berisiko terkena penyakit tuberkulosis, seiring bertambahnya usia akan menjadi *immunocompromised* di masa depan. Faktor yang menyebabkan reaktivasi infeksi tuberkulosis laten adalah adanya supresi sistem imunitas yang belum dipahami, namun individu dengan reservoir infeksi tuberkulosis laten yang besar memiliki kemampuan untuk mengeliminasi

tuberkulosis. Kerentanan terhadap tuberkulosis dipengaruhi oleh faktor lingkungan, *host* dan patogen. *Innate immune respond* memainkan peran penting dalam pertahanan *host* melawan *mycobacteria*. Meskipun banyak polimorfisme gen telah diidentifikasi mempengaruhi kerentanan *host* terhadap tuberkulosis, namun pada sebagian besar kasus kerentanan adalah poligenik (Fitness *et al.*, 2004). Interaksi kompleks beberapa varian genetik belum sepenuhnya menjelaskan secara lebih jelas mengenai faktor penentu genetik kerentanan tuberkulosis dan tingkat keparahan. Asosiasi genome pada studi yang sedang berjalan pada studi penyakit (O'Garra *et al.*, 2013). Pada fase pematangan imun respons anak yaitu bayi (<2 tahun) merupakan risiko tertinggi dalam pengembangan penyakit dan potensi diseminasi (Perez-Velez & Marais, 2012).



**Gambar 2.3 Transmisi basil *M. tuberculosis* (CDC - Tuberkulosis Transmission Web Courses, 2017).**

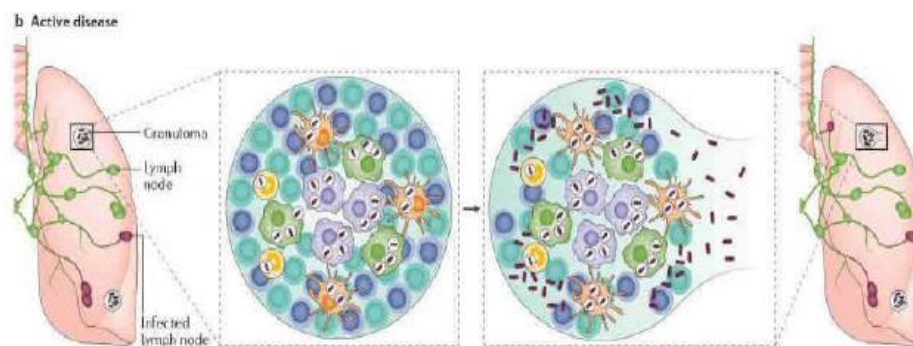
Infeksi dimulai ketika *M. tuberculosis* memasuki paru-paru individu dengan menghirupnya, setelah mencapai ruang alveolar dan menemukan kelompok makrofag alveolar. Jika lini pertahanan pertama gagal menghilangkan bakteri *M. tuberculosis* maka *M. tuberculosis* akan menyerang jaringan interstisial paru, baik oleh bakteri yang secara langsung menginfeksi epitel alveolar atau makrofag alveolar yang terinfeksi bermigrasi ke parenkim paru. Selanjutnya, sel dendritik maupun inflamasi monosit mengantarkan *M. tuberculosis* ke kelenjar getah bening dan paru untuk dipresentasikan ke sel T. Tahap ini mengarah pada rekrutmen sel imun, termasuk sel T dan sel B yang ke parenkim paru untuk membentuk granuloma (Pai *et al.*, 2016).



**Gambar**

### 2.4 Infeksi *Tuberculosis* Laten (Pai *et al.* 2016).

Bakteri bereplikasi mengakibatkan granuloma berkembang/membesar. Jika sebaran bakteri terjadi terlalu besar, maka granuloma akan gagal untuk menahan infeksi dan pecah mengakibatkan bakteri akhirnya akan menyebar ke organ lain, termasuk otak. Saat fase ini, bakteri *M. tuberculosis* dapat masuk ke dalam aliran darah atau masuk kembali ke saluran pernafasan dan akan dilepaskan oleh sel *host* sehingga dapat ditularkan ke orang lain (Pai *et al.*, 2016). Lebih dari 80% pasien tuberkulosis aktif paru mempunyai gejala klasik batuk yang produktif dengan/ tanpa *hemophthisis*, demam, berkeringat di malam hari dan penurunan berat badan (Chaisson & Bishai, 2017).



**Gambar 2.5**

### Infeksi Tuberkulosis Aktif (Pai *et al.*, 2016)

#### 2.2 Respons Imun

Respons imun memainkan peranan penting dalam mengendalikan infeksi awal yaitu mencegah perkembangan tuberkulosis aktif dan mencegah reaktivitas *Laten tuberculosis infection* (LTBI). Saat memasuki saluran pernafasan *M. tuberculosis* difagosit oleh makrofag alveolar dan mulai bereplikasi. Kemudian *M. tuberculosis* memasuki parenkim paru, menginfeksi sel makrofag dan sel dendritik. Hal ini menyebabkan produksi sitokin dan inflamasi

kemokin menghasilkan perekrutan sel-sel imun tambahan, termasuk monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag. Sel dendritik di saluran pernafasan dan parenkim paru memfagositosis *M. tuberculosis* kemudian sel dendritik bermigrasi ke paru-paru sehingga paru-paru terinfeksi. Di kelenjar getah bening sel T menghasilkan CD4 dan CD8. Sel T bermigrasi kembali ke lokasi infeksi di paru-paru dan berpartisipasi dalam pembentukan granuloma (Lin & Flynn, 2015).

### **2.3 Peran IL-6 Pada Tuberkulosis**

Interleukin-6 adalah mediator yang mudah larut dengan pleiotropik efek pada peradangan, respons imun, dan hematopoiesis. Awalnya fungsi yang berbeda dari IL-6 dipelajari dan diberi nama yang berbeda berdasarkan aktivitas biologis mereka. Sebagai contoh, faktor stimulasi sel B2 (BSF-2) didasarkan pada kemampuan untuk menginduksi diferensiasi sel B yang teraktivasi menjadi antibodi (Tanaka *et al.*, 2014). Pada beberapa studi kasus telah dilaporkan bahwa IL-6 yang diproduksi oleh sel T CD4<sup>+</sup> memainkan peran penting dalam perlindungan terhadap infeksi murine *M. tuberculosis* (Romero-Adrian 2015). Pada model hewan coba, tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* akan mengalami kekurangan IL-6 yang dit&ai dengan adanya respons Th1 yang terganggu dan peningkatan beban bakteri, yang mengindikasikan adanya kebutuhan IL-6 pada resistensi sel *host* terhadap infeksi *M. tuberculosis*. IL-6 berperan juga mengatur aktivitas makrofag mikrobisida dan IL-6 juga menghambat produksi TNF- $\alpha$  dan meningkatkan pertumbuhan *Mycobacterium avium* secara *in vitro* (Romero-Adrian, 2015).

Selain itu, makrofag yang terinfeksi *Mycobacterium* juga banyak melepaskan IL-6 yang memainkan peran pada diferensiasi dan aktivasi makrofag menjadi sel raksasa multinuklear (*multinucleated giant cells*) (Fitzgerald *et al.*, 2014). *Interleukin-6* disekresikan oleh makrofag yang terinfeksi menekan respons makrofag untuk memproduksi IFN- $\gamma$ . Peningkatan kadar IL-6 di paru-paru, bersamaan dengan peningkatan kadar IL-1 $\beta$  dan IL-11, berkorelasi secara signifikan dengan perkembangan tuberkulosis pada tikus yang rentan secara genetik. Pada penelitian Romero-Adrian pada tahun 2015 dengan menggunakan hewan coba (tikus) menunjukkan bahwa IL-6 dapat memainkan banyak peran dan berkontribusi baik secara positif maupun negatif pada sel *host* untuk mengontrol infeksi *M. tuberculosis*.

Pentingnya IL-6 pada tuberkulosis tergantung pada rute dan dosis infeksi. Seperti yang telah kita bahas, komunikasi antar sel sangat penting untuk keberhasilan ekspresi kekebalan dan

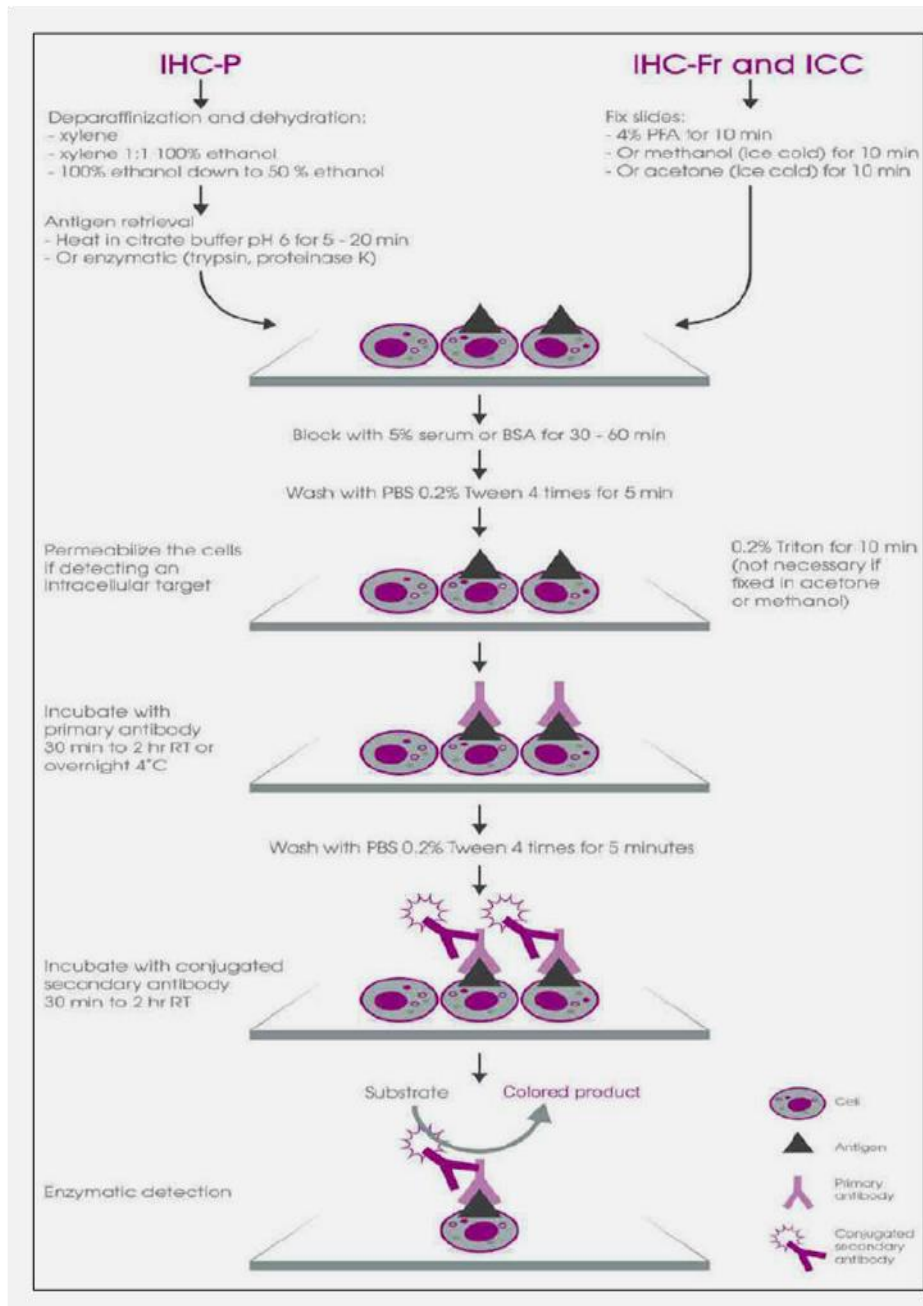
jika dosisnya rendah atau pertumbuhan bakteri melambat, maka kinetika respons seluler tidak penting, namun jika dosisnya tinggi dan sistemik maka kinetika respons menjadi kritis. Konsep ini diilustrasikan pada IL-6 karena dalam ketidakhadirannya (baik dengan pengobatan antibodi atau penghilangan gen), terdapat peningkatan kerentanan terhadap infeksi *Mycobacterium* dengan dosis besar. Sebaliknya tikus yang mengalami defisiensi IL-6 dalam model aerosol *M. tuberculosis* dosis rendah sementara beban bakteri meningkat secara sederhana terjadi di paru-paru dampaknya tidak mematikan. Dalam model aerosol *M. tuberculosis* dosis rendah dan tinggi, peningkatan IL-4, serta akumulasi sel T yang berkurang atau tertunda dan ekspresi IFN- $\gamma$  yang diamati menunjukkan bahwa IL-6 dapat bertindak untuk meningkatkan ekspresi IFN- $\gamma$  di tempat infeksi. Interleukin-6 juga diperlukan untuk menginduksi respons protektif yang optimal selama vaksinasi, karena jika IL-6 tidak ada, imunisasi BCG dan vaksin subunitnya kurang efektif (Domingo-gonzalez *et al.*, 2017). Interpretasi peran IL-6 pada tuberkulosis diperumit oleh fakta bahwa reseptor IL-6 yang terlarut dapat menengahi *trans-signaling* dan terlibat dalam penyakit inflamasi seperti *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*. Untuk mengatasi peran IL-6 lebih lanjut, sebuah reseptor gp130 yang mampu mengikat IL-6 dalam darah (*sgp130FC*) dikirim ke tikus selama infeksi *M. tuberculosis* namun tidak ada dampak pada perkembangan penyakit. Sebaliknya ketika tikus dibuat untuk melakukan *overekspresi* IL-6 pada infeksi akut beban bakteri akan berkurang untuk sementara kemudian terjadi peningkatan beban bakteri. Pengamatan ini konsisten dengan peran awal IL-6 dalam meningkatkan kekebalan tubuh pada awal infeksi *M. tuberculosis*, kemudian IL-6 akan meningkat secara bertahap selama rentang waktu 9 hari (Birkness *et al.*, 2007).

## **2.4 Pewarnaan Imunohistokimia**

Imunohistokimia (*immunohistochemistry/IHC*) adalah metode untuk mendeteksi lokasi protein dan antigen lain di bagian jaringan menggunakan antibodi. Meskipun kurang kuantitatif jika dibandingkan dengan immunoassay lainnya seperti western blotting atau ELISA, IHC menunjukkan di mana protein diekspresikan dalam konteks jaringan utuh. Hal ini sangat berguna untuk menilai perkembangan dan pilihan pengobatan terbaik dari penyakit seperti kanker. Secara umum, data IHC memberikan perspektif yang berharga yang dapat membantu menginterpretasikan data yang diperoleh dengan menggunakan metode lain (Abcam, 2017).

Prinsip pewarnaan IHC berkualitas tinggi adalah spesifisitas antibodi yang digunakan. Antibodi spesifik hanya akan mengikat protein yang cocok di bagian jaringan. Interaksi antibodi-

antigen divisualisasikan dengan menggunakan deteksi kromogenik atau fluorezen. Dalam deteksi kromogenik, antibodi dikonjugasikan ke enzim yang memecah substrat untuk menghasilkan endapan berwarna di lokasi protein. Pada deteksi fluorezen, antibodi dikonjugasikan ke fluorofor yang dapat divisualisasikan dengan menggunakan mikroskop fluorensensi (Abcam, 2017).



**Gambar 2.6 Prinsip Pewarnaan Imunohistokimia (Abcam, 2017)**

## **Bab III**

### **Tujuan Dan Manfaat Penelitian**

#### **3.1 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui ekspresi IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan Mycobacterium tuberculosis
2. Untuk mengetahui peranan IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan Mycobacterium Tuberculois

#### **3.2 Manfaat Penelitian**

1. Dapat memberikan informasi tentang ekspresi IL6 pada infeksi Mycobacterium Tuberculosis
2. Diharapkan kepada tenaga laboratorium untuk dapat memberikan pengalaman dan menambah pengetahuan tentang peranan IL6 pada Mycobacterium Tuberculosis

## Bab IV

### Metode Penelitian

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian True Eksperimental yaitu untuk mengamati ekspresi IL6 pada hewan coba yang diinjeksikan Mycobacterium Tuberculosis.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian ini adalah jaringan pada hewancoba berupa Rattus Novergiccus yang diinjeksikan Mycobacterium Tuberculosis. Perlakuan hewan coba berupa injeksi M.tb yang dilemahkan dalam bentuk vaksin BCG. Penelitian menggunakan 3 kelompok perlakuan, perlakuan 1 dosisnya 0,1 ml, perlakuan 2 dosisnya 0,2 ml dan perlakuan 3 0,3 ml.

#### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Labarotorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga Surabaya.

Waktu penelitian bulan Juni-Agustus 2019

##### 4.4 Variabel dan Defenisi Operasional Variabel

4.5.1 Variabel bebas : Vaksin BCG

5.5.2 Variabel terikat : Ekspresi Interluekin-6

##### 4.5 Defenisi Operesional Variabel

1. Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. *M. tuberculosis* merupakan bakteri aerob obligat, tidak memiliki endospora dan kapsul, tidak motil, Gram-positif, tahan asam, berbentuk batang dengan ukuran 0,2-0,4 x 2-10 µm, tumbuh pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan pertumbuhan yang lambat yaitu 2-60 hari (Astriany *et al.*, 2017)
2. Epidemiologi adalah ilmu yang mempelajari penyebaran, perkembangan atau perluasan suatu penularan penyakit di dalam suatu kelompok penduduk atau masyarakat (Fahrina and Rau, 2018)
3. *Interluekin-6* (IL-6) merupakan mediator yang mudah larut dengan pleiotropik efek pada peradangan, respons imun, dan hematopoiesis. Awalnya fungsi yang berbeda dari IL-6 dipelajari dan diberi nama yang berbeda berdasarkan aktivitas biologis mereka (Tanaka, *et al.*, 2014).

##### 4.6 Metode Pengumpulan Data



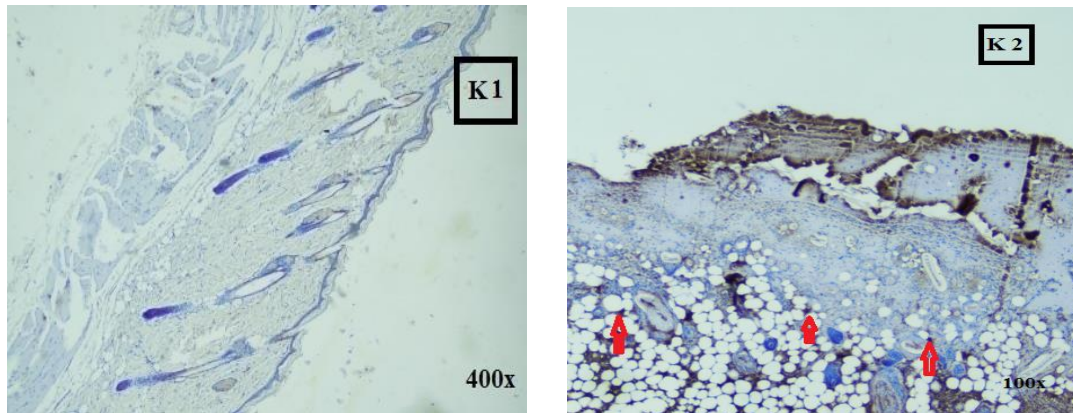
Dalam penelitian ini, data dianalisis dengan statistik deskriptif berupa rata-rata (*mean*), median, standar deviasi dan *p value* dianalisis menggunakan aplikasi statistik SPSS (*Statistical Package Social Sciens*). Kemudian dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova*, dimana *One-Way Anova* dapat digunakan untuk menganalisis sejumlah sampel dengan jumlah data yang sama pada tiap kelompok sampel, atau dengan jumlah data yang berbeda. *One-Way Anova* juga mensyaratkan tiap data penelitian untuk dikelompokkan berdasarkan kriteria tertentu.

## Bab V

### Hasil Penelitian dan Pembahasan

#### 5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian disajikan dalam bentuk gambar hasil ekspresi IL-6 setelah dilakukan pemeriksaan imunohistokimia.



Pembacaan hasil dilakukan dengan melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 dan 400 kali. Pada penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya agregasi sel dengan intensitas yang berbeda bergantung dosis injeksi M.tb. Pada sampel yang pertama terlihat agregasi sel belum terbentuk namun ekspresi IL-6 positif dengan intensitas lemah pada sitoplasma. Pada sampel yang kedua menunjukkan adanya agregasi sel limfosit pada sitoplasma terbentuk dengan intensitas sedang dan tanda panah merah pada gambar menunjukkan beberapa sel limfosit dengan warna merah kecoklatan mengekspresikan IL-6 positif.

#### 5.2 Pembahasan

Pro-inflammatory IL-6 disekresikan oleh sel T dan makrofag dan terlibat dalam pathogenesis TB dan juga merangsang IFN- $\gamma$ . Dalam penelitian yang dilakukan kadar plasma IL-6 pada pasien yang baru terdiagnosa TB mengekspresikan IL-6 secara berlebihan. Dalam penelitian tersebut juga ditemukan bahwa AUC untuk IL-6 pada pasien TB dan pasien normal tidak terlihat perbedaan yang signifikan (Seyedhosseini *et al.*, 2019). Dalam penelitian lain IL-6 respons to ESAT/CF10 improve assay sensitivity menggunakan tes IGRA untuk mendeteksi M.tb infeksi untuk meningkatkan IFN- $\gamma$ . Penelitian ini mengelompokkan sitokin positif dan negative respons, salah satu sitokin yang terdeteksi dengan respon yang tinggi adalah Interleukin 6. Hasil ini menunjukkan bahwa

sensitivitas peningkatan ESAT6/CFP10 menginduksi IL-6 untuk mendeteksi M.tb infeksi jika dibandingkan dengan sitokin lain sitokin termaksud IFN $\gamma$  (Adankwah *et al.*, 2021).

Pengamatan hasil diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 dan 400 kali. Pada sampel pertama terlihat adanya agregasi sel belum terbentuk sempurna dan ekspresi IL-6 positif dengan intensitas lemah pada sitoplasma. Pada sampel yang kedua juga terdapat agregasi sel yang sudah terbentuk sempurna dan ekspresi IL-6 positif dengan intensitas yang lebih tinggi.

M.tb infeksi dapat menyebabkan terjadi fenomena badai sitokin. Hal ini disebabkan oleh tingginya tingkat inflamasi yang memicu sekresi sitokin berlebihan (Tang *et al.*, 2013), dan ini dikaitkan dengan penyakit peradangan dan kerusakan paru-paru. Dalam studi sebelumnya menunjukkan peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi dalam serum seperti IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-17A, and IL-1 $\beta$ , MCP-1 (Kumar *et al.*, 2019). Dalam penelitian lain Joshi *et al.*, menemukan bahwa TNF $\alpha$ , IL-6 dan IL-10 berkorelasi dengan tingkat keparahan TB (Joshi *et al.*, 2015). IL-6 merupakan sitokin yang berperan penting yang memproduksi berkaitan dengan penyakit inflamasi. Akumulasi IL-6 melalui beberapa sitokin, termaksud dari TNF- $\alpha$ . IL-6 juga berkaitan dengan penyakit TB dimana itu diproduksi oleh turunan monosit dan merekrut makrofag (Ritter, Rousseau and Hölscher, 2020).

## **Bab VI**

### **Rencana Tahapan Berikutnya**

#### **6.1 Rencana Jangka Pendek**

Publikasi ilmiah pada jurnal ber-ISSN dan ESSN

#### **6.2 Rencana Jangka Panjang**

Untuk itu penelitian selanjutnya melakukan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih banyak dengan sitokin spesifik lainnya sebagai biomarker yang lebih sensitive pada individu yang terinfeksi *Mycobacterium Tuberculosis*

## **Bab VII**

### **Kesimpulan dan Saran**

#### 7.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya interleukin-6 pada infeksi *Mycobacterium Tuberculosis*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan metode imunohistokimia terlihat adanya ekspresi Interleukin-6. Intensitas warna pada hasil pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 dan 400 kali.

#### 7.2 Saran

Untuk itu penelitian selanjutnya melakukan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih banyak dengan sitokin spesifik lainnya sebagai biomarker yang lebih sensitive pada individu yang terinfeksi *Mycobacterium Tuberculosis*

## DAFTAR PUSTAKA

- Acosta A, Noraazmi MN, Henandez-Pando R, Alvarez N, Borrero R, Infante JF and Sarmiento ME. 2011. The Importance of Animal Models in Tuberculosis Vaccine Development. University Sains Malaysia, Malaysia.
- Astriany Dewi, Sri Gustini Husein, R. J. M. (2017). stretching P=O. Analisis sampel dialisis *Mycobacterium tuberculosis* hasil pemanasan menunjukkan perbedaan dengan sampel hasil sonikasi yaitu dengan munculnya amida II dan vibrasi C-O-C dan C-O serta tidak munculnya free – OH absorption band dari asam miko, (2).
- Antituberculous, 7(3), 1–15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01023-15>. Editor
- Black GF, Fine PEM, Warndf DK, Flyd S, Weir RE, Blackwell JM, Bliss L, Sihal L, Mwaungulu L, Chaguluka S, Jarman E, Ngwia B, Dockrell HM. 2001. Relationship between IFN- $\gamma$  and skin test responsiveness to *Mycobacterium tuberculosis* PPD in healthy, non-BCG-vaccinated young adult in Northern Malawi. Department of Infection and Tropical Disease, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK.
- Bintara I. G (2016) ‘DETEKSI *Aeromonas hydrophila* PADA GINJAL MANCIT (*Mus Musculus*) DENGAN TEKNIK IMUNOHISTOKIMIA’.
- Fahrina, S. and Rau, M. J. (2018) ‘Sejarah Perkembangan Ilmu Epidemiologi dan Perkembangan Ilmu Epidemiologi’, (September).
- Chadha VK, Jagannatha PS, Vaidyanathan PS, Jagota P. PPD RT23 for tuberculin surveys in India. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003; 7:172–179. [PubMed: 12588019]
- Charan, Jaykaran, and N D Kantharia. 2013. “How to Calculate Sample Size in Animal Studies ?” 4 (4). <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>.
- Coico, S.G. and R., 2015. *Immunology A Short Course Seventh Edition*.
- Comstock GW, Edwards LB, Philip RN, Winn WA. A Comparison in the United States of America of Two Tuberculins, Ppd-S and Rt 23. *Bull World Health Organ.* 1964; 31:161–170. [PubMed: 14253239]
- Dogra, Sandeep; Pratibha Narang, Deepak K. Mendiratta; Pushpa Chaturvedi, Arthur L. Rengold, John M. Colford Jr; Lee W. Riley; Madhukar Pai. 2006. Comparison of a whole

- blood interferon- $\gamma$  assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. Division of Epidemiology, University of California, Berkeley. USA
- Elkington PT, D'Armiento JM, Friedland JS. 2010. Tuberculosis immunopathology: The neglected role of extracellular matrix destruction. Department of Infection Diseases and Immunity, Imperial College London.
- Gupta UD and Katoch VM, 2007. Animal Models of Tuberculosis for Vaccine Development. Experimental Animal Facility, National JALMA Institute for Leprosy and Other *Mycobacterial* Disease (ICMR), Agra, India
- Kartasasmitra, Cissy B. 2009. Epidemiologi Tuberkulosis. Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran. Bandung. Vol 11 No. 2
- Kusriningrum, R. S. 2008. Perancangan Percobaan : Untuk Penelitian Bidang Biologi, Pertanian, Peternakan, Perikanan, Kedokteran, Kedokteran Hewan, Farmasi. Cetakan Pertama. Airlangga University Press. Surabaya.
- Masucci P, McAlpine KL. Biochemical studies of bacterial derivatives. X. Preparation of human tubercle bacillus protein MA-100. Proc Soc Exp Biol Med. 1930; 27:661–663.
- Moliva JI, Turner J and Torrelles JB. 2017. Immune Respon to Bacillus Calmatte-Guein Vaccination: Why Do They Fail to Protect against *Mycobacterium tuberculosis*?. Department of Microbial ad Immunity, College of Medicine, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.
- Noonan D. 1994. The Guinea Pig (*Cavia porcellus*). The Institute of Meical and Veterinary Science. Black's Road. Gilles lains, Australia. Vol 7 No. 3
- Novita, Risqa. 2015. Pemilihan Hewan Coba pada Penelitian Pengembangan Vaksin Tuberculosis. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes, Kemenkes RI. Indonesia. Vol. 4, No 15-23
- Nursyamsi and Rasjid HSM. 2011. TBC Dengan Test Mantoux I Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUD Prof. DR. R. D. Kandou Manado Periode 2001-2006. RSUD Prof DR. R. D. Kandou. Manado. No. XIV
- Olsen A, Chen Y, Ji Q, Zhu G, Silva A. D. D, Vilchèze C, Weisbrod T, Li W. Xu J, Larsen M,

- Zhang J, Porcelli S. A, Jacobs W. R, J. C. J. (2016). Targeting Mycobacterium tuberculosis Tumor Necrosis Factor Alpha- Downregulating Genes for the Development of Antituberculous, 7(3), 1–15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01023-15>. Editor
- Pai M, Denkinger CM, Kik SV, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; **27**: 3–20.
- Ruhwald, M., Aggerbeck, H., Gallardo, R.V., Hoff, S.T., Villate, J.I., Borregaard, B., Martinez, J.A., Kromann, I., Penas, A., Anibarro, L.L., Souza-galvão, M.L. De, Sánchez, F., Rodrigopendás, J.Á., Noguera-julian, A., 2017. Articles Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection , compared with an interferon  $\gamma$  release assay and the tuberculin skin test : a phase 3 , double-blind , randomised , controlled trial.
- Schiller I, Vordermeier HM, Waters WR, et al. Comparison of tuberculin activity using the interferongamma assay for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Vet Rec.* 2010; 167:322–326. [PubMed: 20802185]
- Seibert FB. The isolation and properties of the purified protein derivative of tuberculin. *Am Rev Tuberc.* 1934; 30:713–720.
- Sgountzos V, Simopoulou S, Kretsou S, Sakayianni K, Pavlerou S, Gourgoulianis K, Grigorakos L. Comparative study of RT23 and Merieux tuberculin tested among healthy volunteers. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009; 13:312–316. [PubMed: 9275789]
- Suharti N dan Putra AE. 2011. Pengaruh Pemberian Vaksin BCG Secara Oral dan Subkutan Terhadap Komonen Selulerr dan Humoral pada *Rattus norvegicus* Galur Wistar. Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas. No. 2. Vol. 35
- Trilistyanti N, Iin; HMS Chandra Kusuma, Tr Yudani MR, Maimun Zulhaidah A, Triwahju Astuti, Fransisca Tanoerahardja. 2015. Ekspresi IFN- $\gamma$  dan IL-4 CD4+ T Limfosit pada Tuberkulosis Kontak terhadap Antigen 38 Kda *Mycobacterium tuberculoisI*. Fakultas Kedokteran, Universitas Brawiaya. Malang Vol. 28, No. 4
- Trajman, A., Steffen, R.E., Menzies, D., 2013. Interferon-Gamma Release Assays versus Tuberculin Skin Testing for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection : An Overview of the Evidence 2013.
- Turk JL. Von Pirquet, allergy and infectious diseases: a review. *J R Soc Med.* 1987; 80:31–33. [PubMed: 3550077]



- Ulea I, Murgoci G, Popa ML, Popa L, Stavri H. Comparative study of RT23 and IC-65 tuberculins tested on children with tuberculosis. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2010; 69:75–78. [PubMed: 21235133]
- Voss, Gerald; Danilo Casimiro, Olivier Neyrolles, Ann Williams, Stefan H. E. Kaufmann, Helen McShane, Mark Hatherill, and Helen Fletche. 2018. Progress and Challenges in TB Vaccine Development. Tuberculosis Vaccine Initiative (TBVI), Lelystad, Netherlads.
- Werdhani, R.A., 2002. Patofisiologi, diagnosis, dan klafisikasi tuberkulosis. *Departemen Ilmu Kedokteran Komunitas, Okupasi, dan Keluarga FKUI*.
- WHO. World Health Organization report 2011. 2011. Global tuberculosis control.
- Wibowo, R. Y. *et al.* (2017) ‘Ekspresi IFN- $\Gamma$  oleh Sel T CD4 + dan CD8 + Setelah Stimulasi Antigen Fusi ESAT-6- CFP-10 pada Pasien Tuberkulosis Paru Aktif’, pp. 223–226.
- Widiarti, W. E. Siswati, A. Setiyawati, I. M. Rohmah, E. P. (2013) ‘PENGEMBANGAN USAHA PRODUKSI HEWAN COBA PUTIH ( *Rattus norvegicus* ) TERSERTIFIKAS DALAM UPAYA MEMENUHI KEBUTUHAN dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris ( Malole dan kewirausahaan ini diharapkan dapat memb’.
- Yang, Honglang; Nicole A. Kruh-GRacia, and Karen M. Dobos. 2012. Puified Protein Derivatives of Tuberculin – Past, Present, and Future. Department of Microbiology, Immunology, and Pathology, Colrado State University.

## Lampiran

### Jadwal Kegiatan

NO	KEGIATAN	Juni	Juli				Agustus		
		MINGGU							
		3	1	2	3	4	1	2	
1	Mengadakan pertemuan awal antara ketua dan tim pembantu peneliti								
2	Menetapkan rencana jadwal kerja dan Menetapkan pembagian kerja								
3	Menetapkan desain penelitian dan Menentukan instrument penelitian								
4	Menyusun proposal dan Mengurus perijinan penelitian								
5	Melakukan persiapan penelitian								
6	Melakukan Penelitian								
7	Membuat laporan								



## SURAT TUGAS

Nomor: 90/TGS/IL.3.AU/LPPM/F/2020

*Assalaamu'alaikum Wr. Wb.*

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep  
Jabatan : Kepala LPPM  
Unit Kerja : LPPM Universitas Muhammadiyah Surabaya

Dengan ini menugaskan:

No	Nama	NIDN/NIM	Jabatan
1.	Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum	0701129103	Dosen UMSurabaya
2.	Nur Vita Purwaningsih, S.ST.,M.Kes	0815128601	Dosen UMSurabaya
3.	Ellies Tunjung SM., S.ST., M.Si	0827118401	Dosen UMSurabaya
4.	Abdul Wafi	20190662039	Mahasiswa UMSurabaya
5.	Lisa Wulandari	20190662050	Mahasiswa UMSurabaya

Untuk melaksanakan penelitian kepada masyarakat dengan judul “Ekspresi Interleukin-6 Pada Hewan Coba Yang Diinjeksikan Mycobacterium Tuberculosis”. Penelitian ini dilaksanakan di Program Studi Sarjana Terapan Teklogi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan UMSurabaya pada semester tahun akademik 2019-2020

Demikian surat tugas ini, harap menjadikan periksa dan dapat dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab.

*Wassalaamu'alaikum Wr. Wb*

Surabaya, 09 March 2020

LPPM UMSurabaya



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep

NIP. 017.05.1.1987.14.113





**Surat Kontrak Penelitian Internal  
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM)  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA  
Nomor: 90/SP/IL.3.AU/LPPM/F/2020**

Pada hari ini **Senin** tanggal **Sembilan** bulan **Maret** tahun **Dua Ribu Dua Puluh**, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep. : Kepala LPPM UMSurabaya yang bertindak atas nama Rektor UMSurabaya dalam surat perjanjian ini disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**;
2. Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum : Dosen UM Surabaya, yang selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

untuk bersepakat dalam pendanaan dan pelaksanaan program penelitian:

Judul : Ekspresi Interleukin-6 Pada Hewan Coba Yang Diinjeksikan  
Mycobacterium Tuberculosis

Anggota : 1. Nur Vita Purwaningsih, S.ST.,M.Kes  
2. Ellies Tunjung SM., S.ST., M.Si  
3. Abdul Wafi  
4. Lisa Wulandari

dengan ketentuan-ketentuan sebagai berikut:

1. **PIHAK PERTAMA** menyetujui pendanaan dan memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA** untuk melaksanakan program penelitian perguruan tinggi tahun 2020
2. **PIHAK KEDUA** menjamin keaslian penelitian yang diajukan dan tidak pernah mendapatkan pendanaan dari pihak lain sebelumnya.
3. **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab secara penuh pada seluruh tahapan pelaksanaan penelitian dan penggunaan dana hibah serta melaporkannya secara berkala kepada **PIHAK PERTAMA**.
4. **PIHAK KEDUA** berkewajiban memberikan laporan kegiatan penelitiandiari awal sampai akhir pelaksanaan penelitian kepada LPPM selaku **PIHAK PERTAMA**.
5. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyelesaikan urusan pajak sesuai kebijakan yang berlaku.
6. **PIHAK PERTAMA** akan mengirimkan dana hibah penelitian internal sebesar Rp10.110.000 (Sepuluh Juta Seratus Sepuluh Ribu Rupiah) ke rekening ketua pelaksana penelitian.

7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggung jawaban adalah:
  - a. menyerahkan Laporan Hasil penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
  - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.
8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditanda tangani dengan nilai dan kekuatan yang sama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep  
NIK. 012.05.1.1987.14.113

Pihak Kedua



Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum  
NIDN. 0701129103





7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggung jawaban adalah:
  - a. menyerahkan Laporan Hasil penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
  - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.
8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditanda tangani dengan nilai dan kekuatan yang sama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep  
NIK. 012.05.1.1987.14.113



Tri Ade Saputro, S.Tr.AK.,M.Imum  
NIDN. 0701129103

## KUITANSI

Sudah terima dari : Bendahara LPPM  
Uang sebesar : Sepuluh Juta Seratus Sepuluh Ribu Rupiah(dengan huruf)  
Untuk pembayaran : Pelaksanaan penelitian dengan pendanaan Internal

**Rp10.110.000**

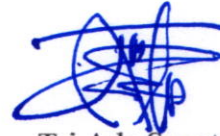
Surabaya, 09 March 2020

Bendahara LPPM,  
Universitas Muhammadiyah Surabaya



Holy Ichda Wahyuni

Ketua Penelitian



Tri Ade Saputro,  
S.Tr.AK.,M.Imum