

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Kadar PGE2 Mikroenkapsulasi MSC dengan *Coating* : Studi Preliminari Terapi Seluler MDR-TB

Nama : Yeremius Marturin Rocky Ponggabean

NPM : 20000078

Dosen Pembimbing I



(dr. Ade Pryta R. Simamane, M.Biomed)

Dosen Pembimbing II



(dr. Sahrunali J. Verawaty Simoiangkiz, M. Biomed)

Dosen Penguji



(dr. Turang Meliala, Sp.PD)

Ketua P5SK Sarjana Kedokteran



(dr. Ade Pryta Simamane, M. Biomed)

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKBP Nommensen Medan



(Dr. dr. Leo Simanjuntak, Sp. OG)

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang paling umum menyerang paru-paru, yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.^{1,2} Penyakit ini dapat menyebar dari orang ke orang melalui udara, seperti saat orang yang terinfeksi TB paru melakukan batuk, bersin, atau meludah.¹ Pada saat proses ini bakteri-bakteri TB terdorong ke udara, dengan hanya menghirup bakteri-bakteri ini seseorang telah dapat terinfeksi TB.¹ Pada tahun 2020, jumlah terbesar kasus baru TB, yaitu 43% yang terjadi di Kawasan Asia Tenggara, diikuti oleh Kawasan Afrika dengan 25%, dan Kawasan Pasifik Barat dengan 18%.¹ Pada Tahun 2020, 86% kasus TB baru terjadi di 30 negara dengan beban TB yang tinggi.¹ Ada delapan negara yang menyumbang dua pertiga kasus TB paru yaitu: India, Tiongkok, Indonesia, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh, dan Afrika selatan. Di tahun 2021, orang yang diperkirakan telah terkena penyakit TB di Indonesia adalah 397.377.³ Angka tersebut meningkat dari tahun 2020 dengan jumlah 351.936 orang yang terinfeksi TB. Sedangkan di Sumatera Utara, pada tahun 2021 menempati urutan ke-6 sebagai provinsi penyumbang kasus TB di Indonesia dengan jumlah 22.169 kasus.³

Terapi pada TB harus dilakukan dengan tepat, menggunakan prinsip yang sesuai seperti terapi kombinasi beberapa jenis obat dan dilakukannya pengawasan langsung oleh seorang Pengawas Menelan Obat (PMO).⁴ Perilaku penggunaan obat pada pasien TB juga mempengaruhi tingkat keberhasilan terhadap terapinya. Penggunaan obat yang tidak teratur dan tidak sesuai dengan ketentuan dokter dapat menyebabkan pasien mengalami resisten terhadap berbagai jenis obat atau yang di kenal dengan *Multi drug resistant* (MDR-TB).⁵

Multi drug resistant (MDR-TB) adalah tuberkulosis yang resistant terhadap berbagai jenis obat yang setidaknya rifampisin dan isoniazid, minimal 2 obat anti tuberkulosis lini pertama. *Multi drug resistant* (MDR-TB) sering diobati dengan aminoglikosida suntik seperti kanamisin atau amikasin.⁶ Untuk dapat meningkatkan hasil pengobatan dan kualitas hidup pasien, *World Health Organization* (WHO) baru baru ini mengusulkan opsi untuk mengganti aminoglikosida dengan alternatif oral seperti bedaquiline.⁶ Namun, rejimen

pengobatan jangka pendek yang paling terjangkau tetap menggunakan amikasin dan streptomisin selama setidaknya 4 bulan. Selama fase pengobatan suntik, sebagian besar pasien MDR-TB mengalami gangguan pendengaran permanen akibat kerusakan sel rambut apoptosis yang tidak dapat di pulihkan pada koklea.⁶ *Multi drug resistant* (MDR-TB) memerlukan terapi jangka panjang dengan kombinasi obat. Obat-obat ini dikaitkan dengan berbagai efek samping yang dapat menimbulkan keluhan lainnya, seperti terjadinya gangguan saluran cerna, sistem saraf pusat dan gangguan pendengaran.⁷ Efek samping terapi yang tidak memuaskan, menyebabkan sangat penting untuk menemukan rejimen terapi yang baru untuk meningkatkan hasil pengobatan. Berbagai penelitian mulai dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan ini, salah satu pengobatan yang memungkinkan adalah *Mesenchymal Stem cell* (MSC).⁸

Mesenchymal Stem cell (MSC) atau yang sering kita kenal sebagai sel punca merupakan sel multipoten yang muncul sebagai cara yang paling menjanjikan untuk terapi sel alogenik.⁹ *Mesenchymal Stem cell* (MSC) memiliki karakteristik imunomodulator yang melekat seperti kemampuan trofik, pembaharuan diri yang tinggi secara *in vitro*, dan dapat dengan mudah direkayasa karena memiliki kapasitas untuk diferensiasi multi-generasi kedalam berbagai jenis sel yang berbeda untuk meningkatkan fungsi modulasi kekebalannya.^{9,10} *Mesenchymal Stem cell* (MSC) mempengaruhi fungsi sebagian besar sel efektor imun, melalui kontak langsung melalui sel imun dan faktor lingkungan mikro setempat. Hal ini di karenakan MSC memiliki kemampuan bermigrasi dan *homing* yang memungkinkan mereka untuk masuk ke daerah cedera.¹⁰ Efek imunomodulator MSC terutama dikomunikasikan melalui sitokin yang disekresikan oleh MSC.⁹ Menurut sebuah studi oleh Matas dkk., dalam ujicoba fase I/II menggunakan strategi dosis UC-MSC yang diulang menghasilkan profil keamanan yang baik dan memiliki hasil klinis yang lebih baik untuk pengobatan nyeri jangka panjang pada pasien *osteoarthritis* lutut.¹¹ Bukti terbaru menunjukkan bahwa efek menguntungkan yang diamati dengan terapi berbasis MSC dapat dimediasi melalui pelepasan parakrin vesikel ekstraseluler dan protein terlarut lainnya atau molekul aktif biologis, yang secara kolektif membentuk sekresi MSC.^{10,12,13}

Salah satu yang di sekresikan oleh MSC adalah *Prostaglandin E2* (PGE2) disekresikan oleh MSC secara konstitutif, dengan kadar yang bervariasi tergantung lingkungan sekitarnya.^{12,13} *Prostaglandin E2* (PGE2) merupakan senyawa lipid aktif yang

berasal dari asam arakidonat, yang bertujuan untuk mengatur beberapa tahap respon kekebalan tubuh inangnya. Dan PGE2 secara signifikan mengurangi ekspresi permukaan beberapa reseptor imunologi.¹² Dengan manipulasi keseimbangan eikosanoid terhadap PGE2 dapat mencegah dan secara terapi dapat memperbaiki eksaserbasi penyakit.¹² Hasil menunjukkan bahwa PGE2 mungkin melemahkan respon imun inflamasi berlebihan yang di sebabkan oleh TB, dan muncul sebagai target terapeutik yang menarik.¹² *Mesenchymal Stem cell* (MSC) yang di mikroenkapsulasi juga memiliki tujuan untuk dapat memberikan peningkatan pada kestabilan dan daya larut dari suatu bahan.^{14,15} Setelah di dikeluarkan dan di isolasi dalam jaringan, MSC secara cepat dapat kehilangan status, fungsi, dan kelangsungan pada hidupnya. Sehingga di butuhkan adanya coating yang bertujuan untuk dapat mempertahankan MSC baik secara in vitro maupun in vivo.¹⁶

Berdasarkan uraian latar belakang di atas dan sesuai kemunculan metode baru dalam penyembuhan MDR-TB yang membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian kadar PGE2 mikroenkapsulasi MSC dengan *coating* : studi preliminari terapi seluler MDR-TB.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana hasil sekresi PGE2 oleh MSC dengan *coating* untuk potensi terapi seluler MDR-TB.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini di lakukan untuk mengetahui tingkat keberhasilan sekresi PGE2 pada MSC yang di berikan *coating* untuk terapi seluler MDR-TB

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC yang diberikan *coating* untuk potensi terapi MDR-TB.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Institusi

Dapat mengembangkan penelitian mengenai MSC dalam proses pengobatan alternatif, dan meneruskan hasil penelitian kepada mahasiswa yang lainnya.

1.4.2 Peneliti

Dapat meningkatkan wawasan peneliti mengenai proses kerja PGE2 dalam MSC yang di berikan *coating* yang di tujukan untuk pasien MDR-TB

1.4.3 Masyarakat

Dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat terhadap pengobatan pilihan lain terhadap penyakit MDR-TB dengan menggunakan terapi *Mesenchymal stem cell* (MSC)

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis (TB)

2.1.1 Definisi

Tuberkulosis (TB) adalah salah satu penyakit tertua yang diketahui menyerang manusia, dan merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia.¹⁷ TB juga merupakan penyakit sistemik, penyakit paru kronis dan juga merupakan penyakit granulomatosa kronik.¹⁸ Walaupun organ tubuh lain juga dapat terkena hingga sepertiga kasus yang terjadi. Jika diobati dengan benar, TB dapat disembuhkan. Jika tidak di lakukan penanganan yang tepat maka penyakit ini dapat berakibat fatal dalam waktu 5 tahun pada 50-65% kasus.¹⁷ Penularan pada umumnya terjadi melalui penyebaran droplet yang di hasilkan oleh pasien TB paru yang menular melalui udara.¹⁷

2.1.2 Etiologi

Penyakit TB ini di sebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* complex ini pada umumnya menyerang paru-paru.^{17,18} *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bagian dari bakteri dengan ordo *Actinomycetales*, *Familia Mycobacteriaceae* dan *genus Mycobaterium*. *Mycobacterium tuberculosis* juga tahan terhadap asam, dan juga berbentuk seperti batang tuberkel berbentuk tipis, berbatang lurus, berukuran 0,4 x 3 µm yang menyebabkan dengan mudah untuk masuk ke saluran pernapasan bawah.¹⁹ Sifat

tahan asam yang terdapat pada *Mycrobacterium tuberculosis* disebabkan oleh dinding sel yang terkandung lipid kompleks tinggi (kurang lebih 60%) yang di kenal dengan nama asam lemak mikolat, lompleks polisakarida lipid yang memanjang dari membran plasma ke permukaan secara fungsional dan structural dengan lipopolisakarida yang membentuk membrane pada luar bakteri gram negatif dan dapat berikatan dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen dan dapat resisten dengan penghapusan warna.¹⁹ Masa hidup dari *Mycrobacterium tuberculosis* dalam makrofag yang melibatkan molekul molekul lain pada dinding sel lipid atau asam mikolat yang berikatan dengan arabinogalactan dan peptide glikan dapat menghasilkan permeabilitas dari dinding sel dengan sangat rendah sehingga menurunnya efektivitas antibiotic.¹⁹

2.1.3 Epidemiologi

TB tersebar di seluruh dunia. Namun, negara negara berkembang menyumbang beban penyakit TB yang tidak proporsional.²⁰ Negara yang memiliki beban TB yang sangat tinggi tersebut berasal dari benua Asia, Afrika, Eropa Timur, dan Amerika Latin dan Tengah.²⁰ Di negara yang lebih maju, beban TB yang tinggi terlihat diantara pendatang baru dari daerah endemis TB.²⁰ Penggunaan agen penekan imun seperti terapi kortikosteroid jangka panjang juga dikatitkan dengan peningkatan resiko.²⁰ Di tahun 2021, orang yang diperkirakan telah terkena penyakit TB di Indonesia adalah 397.377.³ Angka tersebut meningkat dari tahun 2020 dengan jumlah 351.936 orang yang terinfeksi TB. Sedangkan di Sumatera Utara, pada tahun 2021 menempati urutan ke-6 di sebagai provinsi penymbang kasus TB di Indonesia dengan jumlah 22.169 kasus.³Faktor resiko dari TB adalah :²¹

1. Kontak langsung dengan penderita TB
2. Faktor usia, Orang lanjut usia dan anak anak memiliki resiko lebih tinggi terkena TB karena sistem kekebalan tubuh yang kurang kuat sehingga lebih mudah terinfeksi TB
3. Sistem kekebalan tubuh, sistem kekebalan tubuh yang lemah karena kekurangan gizi, penyakit dan obat menjadi salah satu penyebab mudahnya terkena TB, Misalnya HIV/AIDS diabetes melitus. Terapi yang dapat melemahkan sistem kekebalan tubuh adalah terapi kanker (kemoterapi).

4. Pengguna NAPZA (Narkotika, Alkohol, Psikotropika, dan Zat adiktif), NAPZA dapat merusak tubuh seseorang sehingga melemahkan sistem kekebalan tubuh mereka.

2.1.4 Tatalaksana

Pengobatan TB bertujuan untuk menyembuhkan pasien TB, mencegah kematian, mencegah kekambuhan, memutus rantai penularan dan mencegah terjadinya resistensi terhadap Obat Anti Tuberkulosis (OAT). Berikut adalah OAT yang dijelaskan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Pengelompokan OAT⁴

Golongan dan Jenis	Obat	Obat
Golongan-1 Obat lini pertama	<ul style="list-style-type: none"> • Isoniazid (H) • Ethambutol (E) 	<ul style="list-style-type: none"> • Pyrazinamide (Z) • Rimfapicin (R) • Streptomycin (S)
Golongan-2 Obat suntik / suntikan lini kedua	<ul style="list-style-type: none"> • Kanamycin (Km) 	<ul style="list-style-type: none"> • Amikacin (Am) • Capreomycin (Cm)
Golongan-3 Golongan Floroquinolone	<ul style="list-style-type: none"> • Ofloxacin (Ofx) • Levofloxacin (Lfx) 	<ul style="list-style-type: none"> • Moxifloxacin(Mfx)
Golongan-4 Obat bakteriostatik lini kedua	<ul style="list-style-type: none"> • Ethionamide (Eto) • Prothionamide (Pto) • Cycloserine (Cs) 	<ul style="list-style-type: none"> • Para amino salisilat (PAS) • Terizidone (Trd)
Golongan-5 / Obat yang belum terbukti efikasinya dan tidak direkomendasikan oleh WHO	<ul style="list-style-type: none"> • Clofazimine (Cfz) • Linezolid(Lzd) • Amoxilin- Clavulante (Amx- Clv) 	<ul style="list-style-type: none"> • Thioacetzone (Thz) • Clarithromycin (Clr) • Imipenem (Ipm)

Pengobatan TB harus dilakukan dengan prinsip prinsip sebagai berikut .⁴

1. OAT harus diberikan dalam bentuk kombinasi beberapa jenis obat, dalam jumlah cukup dan dosis yang tepat sesuai dengan kategori pengobatan. Jangan gunakan OAT tunggal (monoterapi). Pemakaian OAT-Kombinasi Dosis Tetap (OAT-KDT) lebih menguntungkan dan sangat di anjurkan.
2. Untuk menjamin kepatuhan pasien menelan obat, dilakukan pengawasan langsung oleh seorang Pengawas Menelan Obat (PMO).
3. Pengobatan TB diberikan dalam 2 tahap, yaitu tahap intensif dan lanjutan.
 - a. Tahap awal (intensif)

Pada tahap awal pasien mendapatkan obat setiap hari dan perlu diawasi secara langsung untuk mencegah terjadinya resistensi obat. Bila pengobatan tahap awal tersebut diberikan secara tepat, biasanya pasien menjadi tidak menular dalam kurun waktu 2 minggu. Sebagian besar pasien TB BTA positif menjadi BTA negative dalam 2 bulan.
 - b. Tahap lanjutan

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

Klasifikasi TB resisten obat, yaitu :²²

1. *Mono-resistance* : Resistensi terhadap salah satu OAT, misalnya resistensi terhadap isoniazid (H)
2. *Poly-resistance* : Resistensi terhadap lebih dari satu OAT, selain kombinasi isoniazid (H) dan rifampisin (R), contohnya resistensi isoniazid dan etambutol (HE), rifampisin etambutol (RE) dan streptomisin (RES), isoniazid etambutol dan streptomisin (HES), rifampisin etambutol (RE).
3. *Multi Drug Resistance Tuberculosis* (MDR-TB) : Resistensi terhadap isoniazid dan rifampisin, dengan atau tanpa OAT lini pertama yang lain, misalnya HR, HRE, HRES.
4. *Pre-Extensive Drug Resistance Tuberculosis* (pre-XDR TB) : MDR-TB yang disertai dengan resistensi terhadap obat golongan fluorokuinolon.
5. *Extensive Drug Resistance Tuberculosis* (XDR TB) : MDR-TB yang disertai juga dengan resistensi terhadap 3 atau lebih dari 6 kelas utama obat lini kedua yaitu

aminoglikosida, polipeptida, fluoroquinolone, thioamides, cycloserine dan asam aminosalisilat.

6. *Rimfapisin Resistant Tuberculosis* : Resisten terhadap rimfapisin yang dapat dideteksi dengan menggunakan metode fenotip atau genotip dengan atau tanpa OAT lainnya.

2.2 Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

2.2.1 Definisi Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

Multidrug-Resistant Tuberculosis atau yang kita kenal dengan MDR-TB adalah tuberculosis yang resistant terhadap berbagai jenis obat yang setidaknya rimfapisin dan isoniazid dan minimal 2 obat anti tuberculosis lini pertama.²³ Dan pengobatan dari MDR-TB ini juga lebih rumit yang di karenakan terbatasnya efektifitas obat anti tuberculosis.²³ Peningkatan jumlah efek samping yang memiliki keterkaitan dengan obat dan terapi yang cenderung lama.²³ Dalam penyebarannya *Multidrug-Resistant Tuberculosis* disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor resiko *Multidrug-Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) :⁵

1. Pasien TB yang tidak menggunakan obat secara teratur.
2. Pasien TB yang tidak mengkonsumsi semua obat TB sesuai arahan dokter.
3. Penyedia layanan kesehatan meresepkan pengobatan yang salah (dosis atau jangka waktu yang salah)
4. Pernah meminum obat TB dimasa lalu
5. Berasal dari daerah yang dimana MDR-TB umum terjadi.
6. Mempunyai kontak fisik dengan orang yang menenderita penyakit MDR-TB

2.2.2 Epidemiologi Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

Di tahun 2021 WHO telah melaporkan bahwa terdapat 161.746 kasus MDR-TB dan RR TB. Angka ini telah mengalami penurunan dari tahun 2019, dimana tercatat 181.533 untuk kasus MDR-TB. Dan sempat mengalami penurunan di tahun 2020 dengan catatan kasus sebanyak 150.469.²⁴ Untuk Indonesia sendiri termasuk kedalam negara dengan kasus MDR-RR TB tertinggi di tahun 2021 dengan negara lainnya seperti Cina, India, Pakistan, Phillipina, Federasi Rusia, Afrika selatan.²⁴ Berdasarkan survey pendahuluan yang di lakukan oleh peneliti di RSUD Dr. Pirngadi kota Medan menemukan bahwa jumlah data pasien MDR-TB pada tahun 2019 sebanyak 57 orangg, di tahun 2020

sebanyak 61 orang, di tahun 2021 sebanyak 48 orang. Sedangkan di RSUP Haji Adam Malik Medan pada tahun 2020 sebanyak 24 orang, di tahun 2021 sebanyak 42 orang.²⁵

2.2.3 Mekanisme Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB) adalah keadaan dimana OAT tidak dapat untuk membunuh bakteri. Resistensi OAT tidak hanya disebabkan karena pengobatan yang tidak adekuat atau pengobatan yang gagal, tetapi disebabkan juga karena adanya strain resisten yang ditransmisikan oleh pasien MDR-TB. Strain resisten yang muncul karena adanya perubahan atau mutasi gen tertentu dalam genom *M. tuberculosis*, dimana gen-gen ini adalah target dari mekanisme kerja OAT.²⁶

Pertumbuhan lambat bakteri *M. tuberculosis* yang inaktif dapat menjadi aktif kembali (dorman), memiliki komponen sel yang kompleks, organisme intraseluler dan memiliki komponen homogenitas genetik adalah karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*. Pertumbuhan yang lambat dan dorman sangat berperan dalam keparahan infeksi yang ditimbulkan. Hal ini memberi pengaruh juga pada lamanya masa terapi. Dormansi adalah keadaan akibat aktivasi sistem imun seluler yang menekan jalur metabolik bakteri. Mekanisme ini adalah bentuk pertahanan akan infeksi tapi tidak bisa untuk mengeradikasi infeksi. Jika sistem imun tubuh menurun dan adanya proses penuaan, maka infeksi bisa teraktivasi.²⁶

Mycobacterium tuberculosis mempunyai kemampuan untuk mengembangkan resistensi dengan alamiah akan berbagai OAT, resistensi ini dikarenakan adanya dinding sel yang hidrofobik dan berperan sebagai barrier permeabilitas. Pada OAT yang terpapar menjadi tidak adekuat, bakteri yang sensitif menjadi mati dan bermutasi kemudian akan berkembang biak dengan sangat pesat tanpa adanya persaingan berarti pada hal nutrisi.²⁶

2.2.4 Tatalaksana Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

Tatalaksana pada MDR-TB di bagi kedalam 3 kelompok, yaitu :²⁷

1. Kelompok 1

- a. Bedaquiline (BDQ). Jenis obat ini bersifat bakterisida. Untuk dosis standar dapat diberikan 400 mg secara oral (po) sekali sehari selama 2 minggu atau 200 mg (po) tiga kali seminggu. Untuk pengobatan alternatifnya dapat diberikan 200 mg po)

sekali sehari selama 8 minggu. Untuk anak-anak dosis maksimalnya 400/200 mg sekali setiap hari selama 2 minggu.

- b. Linezolid (LZD). Jenis obat ini bersifat bakteriostatik (secara in vitro akan menunjukkan aktivitas bakterisida). Obat ini harus dihindari dengan pemberian bersamaan dengan obat petidin, tramadol, metadon, atau fentamil. Untuk dosis standar dapat diberikan 1200 mg sekali atau 600 mg (po) atau secara injeksi (iv) diberikan dua kali sehari. Pengobatan alternatifnya disesuaikan dengan 600 mg (po) atau (iv) setiap hari setelah 3-4 minggu dosis standar. Dosis anak-anak maksimal 600 mg/hari, berat badan lebih dari 16 kg dosisnya 10-12 mg/kg/hari (po)/(iv) sekali sehari.
- c. Levofloksasin (LFX). Jenis obat ini bersifat bakterisida. Untuk dosis standar dapat diberikan 750 mg (po)/(iv) sekali sehari, dan untuk pengobatan alternatifnya 1500 mg (po)/(iv) sekali sehari. Dosis untuk anak-anak maksimal 1-1,5 g/hari dan 15-20 mg/kg (po)/(iv) sekali sehari.
- d. Moksifloksasin (MFX). Jenis obat ini bersifat bakterisida. Untuk dosis standar dapat diberikan 400 mg (po) sekali sehari, dan untuk dosis pengobatan alternatif 600-800 mg (po) sekali sehari. Dosis anak-anak maksimal 400 mg/hari dan 10-15 mg/kg (po)/(iv) sekali sehari.

2. Kelompok 2

- a. Klofazimin (CFZ). Jenis obat ini bersifat bakterisida. Untuk dosis standar dapat diberikan 100 mg (po) sekali sehari dan untuk dosis alternatifnya ≥ 200 mg (po) sekali sehari (apabila pasien dengan berat badan > 50 kg). Untuk dosis anak-anak maksimal 100 mg/hari dan 2-5 mg/kg (po) sekali sehari.
- b. Sikloserin atau terizidon (CYS/TRZ). Jenis obat ini bersifat bakteriostatik. Untuk dosis standar dapat diberikan maksimal 1000 mg/hari atau 10-15 mg/kg (po) dalam satu atau dua dosis setiap hari. Dosis anak-anak maksimal 1000 mg/hari atau 15-20 mg/kg (Po) satu dosis atau dua setiap hari.

3. Kelompok 3

- a. Delamanid (DLM). Jenis obat ini bersifat bakterisida dan juga sterilisasi. Dosis standarnya dapat diberikan jika berat badan > 50 kg : 100 mg (po) dua kali sehari, dan

berat badan 30-50 kg : 50 mg (po) diberikan dua kali sehari. Dosis untuk anak-anak maksimal 200 mg/hari. Jika <3 tahun belum ada dosis yang tepat.

- b. Amikasin (AMK). Jenis obat ini bersifat bakterisida. Untuk dosis standar dapat diberikan 15-20 mg/kg secara injeksi atau intramuskular (im) sekali sehari. Dosis secara alternatif dapat diberikan 15-20 mg/kg (iv) atau (im) dalam 2-3 kali seminggu.
- c. Etionamid/protionamide (ETH/PTH). Jenis obat bersifat bakteriostatik. Untuk dosis standar dapat diberikan maksimal 1000 mg/hari, dengan 15-20 mg/kg (po) dalam dua atau tiga dosis setiap hari.

2.3 Mesenchymal stem cells (MSC)

2.3.1 Definisi Mesenchymal stem cells (MSC)

Mesenchymal stem cell (MSC) adalah sel punca multipotent yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel, sel sel yang termasuk adalah adiposit, osteoblast, kondrosit, neuronal, miosit, β -pankreas. Pada awalnya MSC diidentifikasi oleh Tuan Friedenstein sebagai subpopulasi sel sumsum tulang dengan potensi osteogenic yang juga mampu melekat pada plastik. Kemampuan dari MSC adalah sebagai anti-inflamatori dan memiliki potensi *imun-privilege* yang dapat kita lihat bahwa MSC mampu meregulasi respon imun dalam berbagai penyakit.²⁸

MSC juga memiliki perbedaan dari sumber asalnya. Dimana MSC dapat di peroleh dari berbagai sumber, mulai dari jaringan solid hingga non solid. MSC dapat berdiferensiasi menjadi dan berkontribusi dalam regenerasi jaringan mesenkim seperti tulang, kartilago, otot, ligamen, tendon, dan adiposa. MSC juga dapat di isolasi dari berbagai jaringan seperti sumsum tulang belakang, jaringan adiposa, dermis, hati, dan folikel rambut.²⁹

2.3.2 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah teknologi inovatif yang telah banyak di gunakan di berbagai bidang. Seperti di bidang pertanian, farmasi, makanan, dan industry lainnya. Mikroenkapsulasi berfungsi untuk membuat struktur pelindung atau kapsul untuk imobilisasi, perlindungan, pelepasan, dan fungsionalisasi bahan aktif. Mikroenkapsulasi juga merupakan proses dari partikel kecil atau tetesan dari cairan yang telah dibungkus

atau yang di lapiasi dengan bahan polimer yang bertujuan untuk menghasilkan partikel kecil yang disebut dengan mikrokapsul atau mikrosfer. Mikroenkapsulasi juga memiliki tujuan untuk dapat memberikan peningkatan pada kestabilan dan daya larut dari suatu bahan, dalam pengendalian pelepasan dari senyawa aktif sehingga dapat menghasilkan partikel partikel padat yang terlapiasi dengan pembungkus sehingga meminimalisir kehilangan nutrisi.^{14,15}

Dalam penggunaannya yang paling umum digunakan dalam mikroenkapsulasi senyawa fenolik adalah spray drying. Karena prosesnya yang sederhana dan juga relatif murah. Dalam proses mikroenkapsulasi, karakteristiknya dapat dipengaruhi oleh rasio bahan inti dan bahan penyalut serta suhu inlet pada spray drying.³⁰ Prinsip yang dapat di terapkan dalam mikroenkapsulasi adalah pencampuran antar fase air, fase zat inti dan fase bahan penyalut sampai terbentuk emulsi yang stabil kemudian proses penempelan bahan penyalut pada permukaan bahan inti dan proses pengecilan ukuran dari partikel.¹⁵

2.3.3 Coating

Coating bertujuan untuk dapat mempertahankan sel punca mesenkimal baik secara invitro maupun in vivo.¹⁶ Menurut definisi coating merupakan agen yang mampu menggabungkan kuantitas obat untuk meningkatkan efisiensi, selektivitas, dan bioavailibitasnya. Hal ini tergantung seberapa kuat *coating* dapat melindungi sel.³¹ Setelah di keluarkan dan di isolasi dalam jaringan, sel punca secara cepat dapat kehilangan status, fungsi, dan kelangsungan pada hidupnya.¹⁶ Diperlukan adanya cara yang baik untuk dapat melindungi sel punca. Sehingga sel punca tidak kehilangan karakteristik intrinsiknya. Kemampuan untuk dapat mempertahankan sel punca dan jaringan yang di bangun oleh sel punca yang berada di luar tubuh perlu untuk di tingkatkan secara substansial untuk dapat mencapai standar klinis.

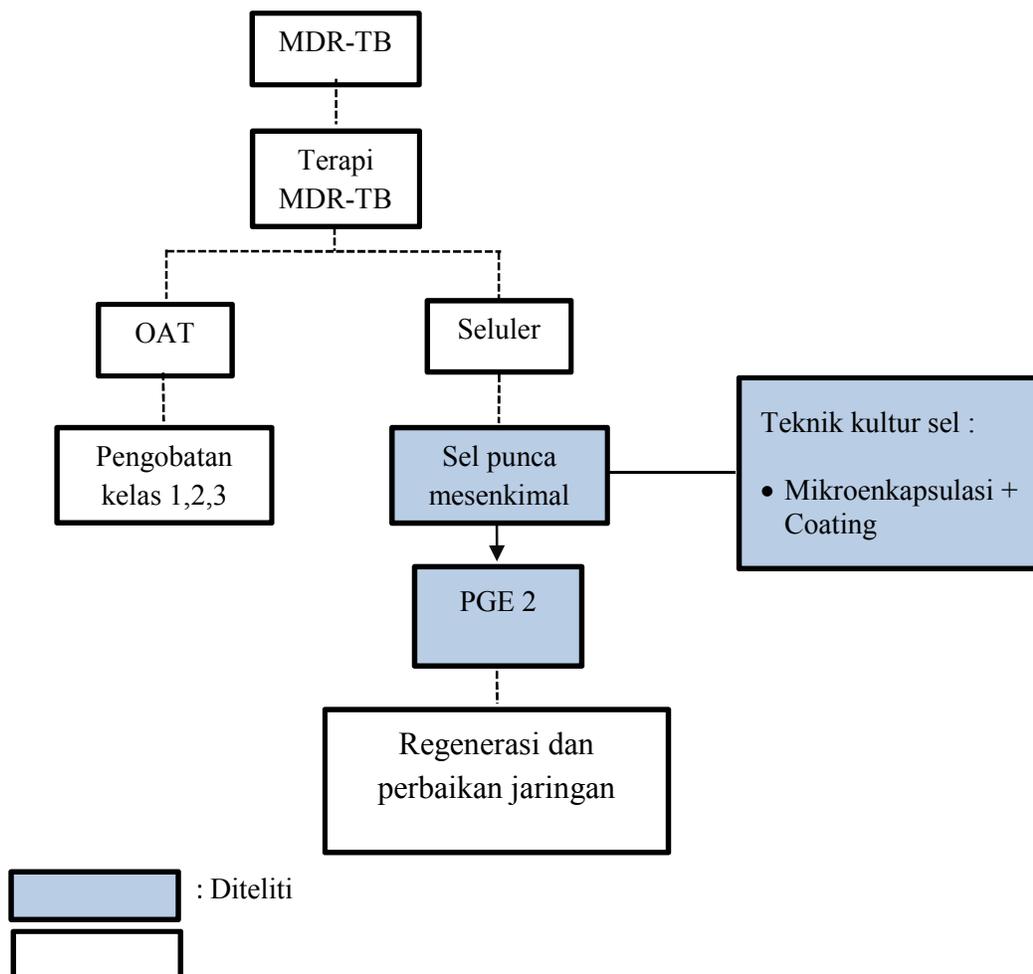
2.4 Prostaglandin E2 (PGE2)

PGE2 disintesis dari Asam Arakidonat (AA) yang di lepaskan dari membrane fosfolipid melalui reaksi enzimatik. Siklooksigenase-2 (COX-2), yang juga disebut prostaglandin-endoprosidase adalah yang mengubah AA menjadi prostaglandin H2 (PGH2) dan mengisomerisasi PGH2 menjadi PGE2. Prostaglandin E2 saat ini dianggap

sebagai salah satu factor imunomodulator yang paling penting di sekresikan oleh MSC.^{32,33} Pada regenerasi jaringan juga PGE2 berperan sebagai molekul sinyal yang bekerja secara cepat dalam kondisi fisiologis. Terutama regenerasi dan perbaikan jaringan setelah cedera. Ada 3 tahap pengiriman PGE2 ke tempat jaringan yang sakit, yaitu .³²

1. Hydrogel, proses ini dapat disuntikkan. Perancah hydrogel berbeda dengan yang mengandung PGE2 seperti hydrogel kitosan (polisakarida yang berbentuk linear) yang berkontribusi terhadap pelepasan PGE2 yang berkelanjutan.
2. Liposom atau eksosom, di bentuk oleh lapisan ganda fosfolipid yang merangkum PGE2 didalam inti hidrofilik .
3. Nanopartikel polimer, partikel nano polimer yang memuat PGE2 yang terdiri dari polimer alami atau sintetik. Sel nano pada trombosit terdiri dari PGE2 bilayer fosfolipid yang di turunkan dari trombosit luar dan nanopartikel baik yang dari penggunaan enkapsulasi dengan factor sekretori sel induk.

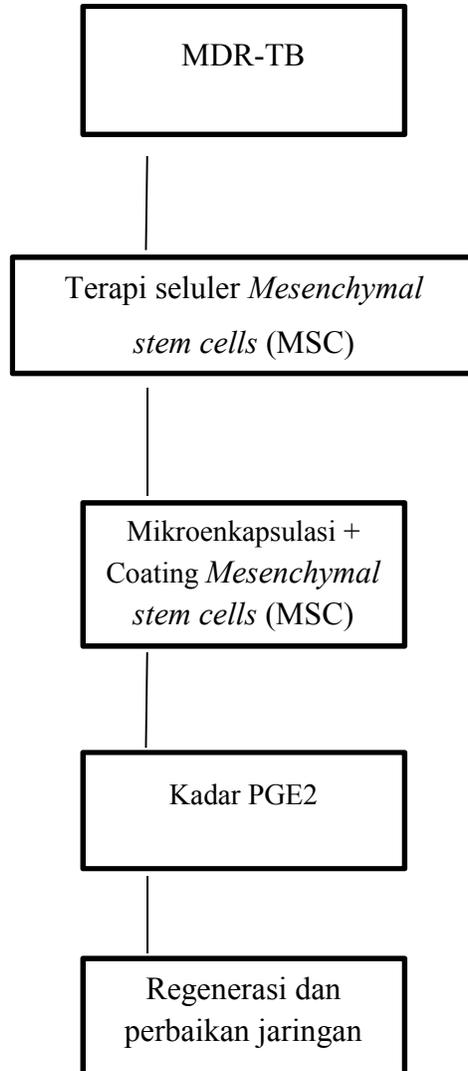
2.5 Kerangka Teori



: Tidak diteliti

Gambar 2.1 Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Stem Cells and Tissue Engineering (SCTE) Indonesian Medical Education and Research Institute (IMERI) FK UI berlokasi di Jalan Salemba Raya No.6, RW.6, Kenari, Kec. Senen, Kota Jakarta Pusat, Daerah Khusus Ibu Kota Jakarta

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian direncanakan akan dilakukan pada Agustus s/d Oktober 2023 dengan tahapan sebagai berikut :

1. Tahap I Agustus - September 2023 : Isolasi, kultur dan kapsulasi MSC
2. Tahap II September - Oktober 2023 : Uji kadar PGE2 pada kultur mikroenkapsulasi hari ke-2, ke-7, ke-14 dan ke-21 dengan pemeriksaan ELISA

3.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah MSC dari tali pusar dengan menggunakan metode duplo yang berdasarkan kelompok pengamatan pemeriksa, dikelompokkan menjadi 4. Total penelitian adalah 8

3.4 Prosedur Kerja

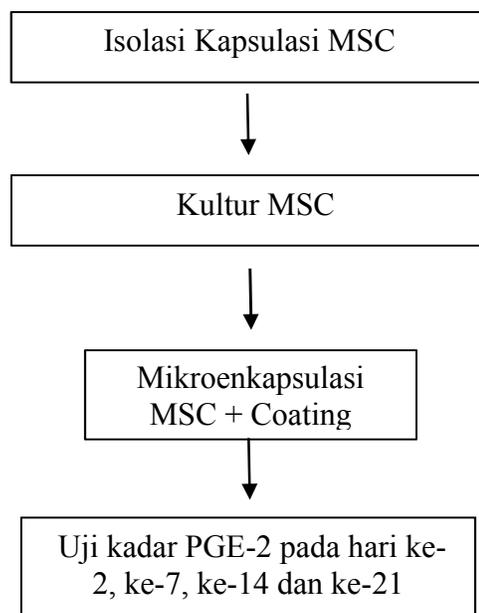
3.4.1 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 3.1. Alat dan Bahan Penelitian

No	Nama	Kegunaan
1	Cap	Aseptik
2	Freezing container	Cryo

3	<i>Hand seal</i>	Aseptik
4	Masker	Aseptik
5	PBS	Washing
6	Tip 10 micro	Kapsulasi, ELISA
7	Tip 20 micro	Kapsulasi, ELISA
8	Tip 100 micro	Kapsulasi, ELISA
9	Tip 200 micro	Kapsulasi, ELISA
10	Tip 1000 micro	Kapsulasi, ELISA
11	Tube 5 mL	Kapsulasi, ELISA
12	Tube PCR	Kapsulasi, ELISA
13	Mikropipet 10	Kapsulasi, ELISA
14	Mikropipet 20	Kapsulasi, ELISA
15	Mikropipet 100	Kapsulasi, ELISA
16	Mikropipet 1000	Kapsulasi, ELISA
17	PGE2 Kit Elisa	ELISA

3.5 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.6 Cara Kerja

1. Isolasi MSC

MSC diisolasi dari darah tali pusat bayi baru lahir dengan menggunakan larutan Ficoll-Hypaque seperti pada penelitian sebelumnya. Darah tali pusat dan larutan Ficoll-Hypaque disentrifugasi hingga memperoleh buffy coat dan dilanjutkan dengan pencucian secara bertahap dengan menggunakan PBS. Pemisahan MSC dilakukan dengan menggunakan kit isolasi EasySep sesuai dengan protokol produsen kit. Suspensi disentrifugasi dan pellet diresuspensi dengan medium kultur RPMI. Penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan trypan blue dan kemurnian MSC dianalisa dengan menggunakan flowsitometri.

2. Kultur *Mesenchymal Stem Cell* (MSC)

Kryopreservasi *Mesenchymal stem cell* asal tali pusat dari penelitian sebelumnya deathawing dan dikultur dalam T flask dengan menggunakan medium kultur MEM yang disuplementasi dengan lisat konsentrat trombosit dan heparin. Pemeriksaan flowsitometri CD 105, CD 90, dan CD 37 dilakukan untuk menganalisa kemurnian *mesenchymal stem cell* berdasarkan kriteria International Society Cell and Gene Therapy terhadap CD 105, CD 90 dan CD 73. Sel punca diinkubasi dalam incubator 5% CO₂ 37°C. *Mesenchymal stem cell* dipanen dengan Triple Select ketika konfluens 70 – 80% dan disubkultur dalam T flask dengan densitas 5000 sel/cm². Jumlah sel diitung dengan trypan blue exclusion test.

3. Mikroenkapsulasi *Mesenchymal Stem Cell*

Suspensi 8.000.000 MSC dalam 0,5 mL medium kultur MSC, dicampur dalam tube 1,5 mL. Total larutan sel adalah 0,75 mL dengan jumlah 12.000.000 sel punca. 3 mL larutan larutan alginat 1,8% dicampurkan dengan 0.75 mL larutan yang berisi 12.000.000 sel punca. Larutan alginat 1,8% dan suspensi sel diteteskan ke dalam CaCl 0,2M dengan menggunakan spuit insulin. Untuk kelompok dengan coating lisat konsentrat trombosit : 2 ml lisat konsentrat trombosit + heparin 200mikro kapsul disuspensikan ke dalam lisat konsentrat trombosit + heparin dan inkubasi selama 10 menit. Kemudian kapsul dimasukkan ke dalam alginat yang sebelumnya dipakai, inkubasi selama 10 menit. Cuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan dimasukkan ke dalam well yang berisi medium kultur. Untuk kelompok yang tidak dicoating dengan lisat

konsentrat trombosit langsung cuci dimasukkan ke dalam well yang telah berisi medium kultur. Mikroenkapsulasi MSC dikultur dalam medium kultur MSC selama 21 hari.

4. Uji Kadar PGE 2

Kadar PGE2 diukur dengan menggunakan medium kultur mikroenkapsulasi. Analisa dilakukan pada 48 jam, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21. Kit untuk mengukur kadar albumin menggunakan *Human PGE2 ELISA Kit* sesuai dengan petunjuk dari produsen. Sinyal absorbansi diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 260nm dan 280 nm.

Tabel 3.2 Preparasi dan Petunjuk Pengenceran Reagen

No	Deskripsi	Item	Pelarut	Keterangan
1	Keluarkan semua reagen dari freezer dan biarkan dalam suhu ruang.			Dilakukan sepagi mungkin pukul 6/7
2	Pengenceran diluent concentrate : Tambahkan 20 mL Calibrator diluent RD5C concentrate ke 80 mL water destilasi untuk membuat Calibrator diluent RD5-56	Calibrator diluent RD5C concentrate = 20 mL	Bidest steril = 80 ml	Buat di botol Duran atau beaker glass
3	Agitasi standard perlahan selama 15 menit. Rekonstitusi dengan water destilasi. Hasilnya adalah stock solution 25000 pg/mL.	Standard (lyophilized)		
4	Campurkan reagent A dan reagent B dalam 15 menit sebelum penggunaan. Lindungi dari cahaya. Setiap well dibutuhkan 200 μ L, total 8000 μ L.	Color reagent A dan Color reagent B		

5 a) Siapkan tube 1.5 mL steril Jumlah = 16 tube

	Ulangan 1 (pg/ml)	Ulangan 2 (pg/ml)
b) Beri label S0 (0 pg/mL, hanya pelarut saja) sampai S7 (2500 pg/mL).	S0 0	0
c) Masukkan larutan <i>Calibrator diluent RD5-56</i> sebanyak 900 µL ke tabung S7, dan 500 µL ke tabung S6 - S0.	S1 39	39
	S2 78	78
	S3 156	156
	S4 313	313
	S5 625	625
	S6 1250	1250
	S7 2500	500
d) Masukkan standard yang sudah dilarutkan, 100 µL ke tabung S6, mix well.		
e) Kemudian 500 µL dari tube S7 dipipet ke tube S6 dan seterusnya sampai tube S1. S0 adalah zero standard.		

6 Pengenceran *Wash buffer* : Tambahkan 20 mL *Wash buffer concentrate* ke 480 mL water destilasi untuk membuat 500 mL *Wash buffer*

Wash buffer	20 ml	Bidest steril	480 ml	Buat di botol Duran atau beaker glass.
-------------	-------	---------------	--------	--

3.6.1 Urutan Kerja

1. Keluarkan reagen yang akan digunakan dari freezer dan dibiarkan sampai mencapai suhu ruang, atau reagen yang beku sampai benar-benar cair dan mencapai suhu ruang.
2. Siapkan bahan-bahan dan alat yang diperlukan. Siapkan sampel dan tentukan peta plate. Simpan microplate strips yang tidak digunakan ke dalam foil pouch.

3. Apabila reagen telah mencapai suhu ruang, siapkan pengenceran standar, seperti yang telah tertulis di atas (poin 5).
4. Tambahkan 200 μL *Calibrator diluent RD5-56* ke *non-specific binding (NSB)* wells
5. Tambahkan 150 μL *Calibrator diluent RD5-56* ke sumur S0
6. Tambahkan 150 μL standar dan sampel ke sisa sumuran.
7. Tambahkan 50 μL *Primary antibody solution* ke masing-masing sumur, kecuali NSB. (semua sumur berwarna biru kecuali NSB).
8. Tutup plate dengan sealer, inkubasi selama 1 jam dalam suhu kamar di atas shaker, 450 rpm.
9. Tambahkan 50 μL PGE2 conjugate pada setiap sumur. Semua sumur berwarna violet kecuali NSB.
10. Tutup plate dengan sealer, inkubasi selama 2 jam dalam suhu kamar di atas shaker, 450 rpm.
11. Siapkan tissue towel dekat sink, buang larutan, tepuk-tepuk plate dengan posisi terbalik di atas paper towel. Tambahkan 400 μL wash buffer ke masing-masing sumuran menggunakan pipet multichannel. Ulangi sebanyak 3x cuci. (total 4x cuci)
12. Tambahkan 200 μL Substrate Solution ke masing-masing sumuran dan inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang di laci. Lindungi dari cahaya.
13. Tambahkan 100 μL Stop Solution ke masing-masing sumuran dan baca sampel pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu 30 menit setelah penambahan Stop Solution.

3.7 Definisi Operasional

Tabel 3.3 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara	Hasil	Skala
----------	----------	-----------	------	-------	-------

			Ukur	Ukur	Ukur	
PGE2	Prostaglandin E2 (PGE2) adalah kadar MSC yang didapatkan dari jaringan mesenkim yang merupakan molekul anti-inflamasi.	Spektrofotometri	ELISA	Spektrum warna, Kepekatan warna	Ratio	3.8 Analisis Data
MSC	sel punca multipotent yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel	Flowsitometri	ELISA	Analisa kemurnian MSC	Ratio	Dari berupa hasil absorpsi

spektrofotometri dianalisis menggunakan program excel untuk mengetahui Kadar PGE2 Mikroenkapsulasi MSC dengan *Coating* sebagai studi preliminari terapi seluler MDR-TB.