

B PENDAHULUAN

A

B

1

Tuberkulosis paru (TB paru) adalah salah satu penyakit yang paling banyak merenggut nyawa dan Indonesia menempati peringkat ke-2 penderita TB paru terbanyak setelah India.¹ Di Indonesia terdapat sebanyak 717.941 kasus TB paru pada tahun 2022. Jumlah tersebut melonjak 61,98% dibandingkan pada tahun sebelumnya yang sebanyak 443.235 kasus.² Jumlah kasus TB paru di Sumatera Utara pada tahun 2022 sebanyak 19.147 kasus, sedangkan di Kota Medan pada tahun 2022 terdapat 2.697 kasus.³

Mycobacterium tuberculosis adalah penyebab dari penyakit TB paru. Bakteri ini dapat ditularkan melalui udara (*airborne disease*) dan ditularkan melalui partikel yang dibawa melalui udara (*airborne*) yang disebut air liur (*droplet*). Dalam penatalaksanaannya, TB paru dapat diberikan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) berupa 2RHZE / 4RH yang berarti Rifampisin (R), Isoniazid (H), Pirazinamid (P), dan Etambutol (E) selama 2 bulan dan dilanjutkan pemberian Rifampisin (R) dan Isoniazid (H) selama 4 bulan.⁴ Penyakit ini memiliki prognosis baik, asalkan tidak dengan gejala penyerta. Akan tetapi, pasien yang tidak melaksanakan pengobatan dengan baik dapat memperparah kesehatan tubuhnya.^{5,6}

Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) adalah perjalanan penyakit dari TB paru disebabkan oleh bakteri yang tidak merespon terhadap obat Isoniazid dan Rifampisin. Jumlah kasus MDR-TB di dunia cenderung stabil pada tahun 2015 - 2020 dan mengalami peningkatan dari tahun 2020 ke 2021 sebanyak 3,1%. Tahun 2020 terdapat 437.000 kasus dan sebanyak 450.000 kasus pada tahun 2021. Indonesia termasuk ke dalam tujuh negara yang mengalami kasus MDR-TB di dunia.^{7,8}

Dalam pengobatannya, MDR-TB dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok, kelompok A, B, dan C. Tujuan dari pengobatan MDR-TB untuk menyembuhkan pasien dan mencegah penularan ke orang lain. Lama pengobatan MDR-TB dengan rejimen standar pengobatan TB resistansi obat

dapat mencapai 20-26 bulan. Dengan jangka waktu yang cukup lama dan menggunakan banyak obat diharapkan dengan terapi sel punca dapat mengurangi jumlah obat yang diberikan.⁹

Sel punca adalah sel yang bersifat multipoten yang mampu menghasilkan berbagai turunan sel terdiferensiasi. Sel punca atau sel induk adalah sel yang menunjukkan kemampuannya untuk memperbaharui diri dan berdiferensiasi.¹⁰ Sel punca berdasarkan tahap perkembangan dan sumber asalnya diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu sel punca embrionik dan sel punca dewasa. Sel punca embrionik dapat dibagi menjadi sel punca totipoten dan sel punca pluripoten. Sel punca dewasa dibagi menjadi *mesenchymal stem cell* (MSC) dan *hematopoietic stem cell* (HSC). Sesuai dengan namanya *mesenchymal* berasal dari jaringan mesenkim, MSC asal tali pusat memiliki kapasitas diferensiasi yang lebih kompleks daripada sel punca dewasa lainnya.¹¹ Dalam penelitian sudah ditemukan bahwa sel punca dapat menghasilkan dampak yang luar biasa dalam beberapa penyakit dan bahkan dianggap sebagai ilmu yang menjanjikan di bidang sains dan kedokteran modern. Hal ini dipercaya karena sel punca dapat memperbaiki dan mengganti sel, jaringan, atau organ yang sakit dan dapat mengembalikan kembali fungsinya.¹¹ Fungsi dari MSC mirip fagosit yang juga dapat mengatur pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dan MSC dapat mensekresi beberapa faktor yang terlarut contohnya prostaglandin E2.⁹

Prostaglandin E2 (PGE2) merupakan senyawa lipid yang aktif yang berasal dari asam arakidonat, mediator lipid dari fase inisiasi dan resolusi inflamasi dimana PGE2 diproduksi oleh sel T. Peran PGE2 yaitu dalam homeostasis, pembentukan inflamasi, nyeri, aterosklerosis, dan demam. Salah satu hasil yang dihasilkan oleh MSC yaitu PGE2. Dalam sistem kerjanya, PGE2 menurunkan Jumlah sel total, neutrophil, makrofag, dan kadar protein. Produksi PGE2 pada jaringan yang rusak dapat meningkat secara signifikan dengan mengaktifkan sel induk endogen, respon imun, dan angiogenesis. Beberapa tahun belakangan ini penelitian menggunakan sel punca juga sedang menjadi minat banyak orang.¹² Agar menunjang

keberlangsungan hidup dari MSC dalam menghasilkan PGE2 dilakukan mikroenkapsulasi.¹³

Mikroenkapsulasi digunakan sebagai pelindung partikel kecil menggunakan bahan polimer agar dapat menghasilkan partikel-partikel padat yang diinginkan. Mikroenkapsulasi sudah lama digunakan dalam kebutuhan penelitian medis.¹³ Mikroenkapsulasi salah satu terapi sel punca yang dapat melindungi partikel dari sel punca itu sendiri. Pemberian mikroenkapsulasi dapat menghindari adanya efek samping dari resistensi obat itu dan untuk melindungi zat inti dari pengaruh luar yang dapat merusak sel.¹⁴

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Widhiastuti pada tahun 2020 menunjukkan MSC berhasil dalam melakukan penyembuhan luka.¹⁵ Hashemian dkk pada tahun 2021 menunjukkan bahwa pemberian MSC dosis tinggi secara intravena dari sumber prenatal relatif aman, dapat ditoleransi, dan dapat dengan cepat memperbaiki gejala pernapasan dan mengurangi kondisi peradangan pada beberapa pasien COVID-19 yang sakit kritis.¹⁶ Pada tahun 2021, Joaquin dkk menunjukkan bahwa Prostaglandin E2 (PGE2) memiliki peran dalam pertumbuhan *Mycobacterium Tuberculosis* (Mtb). Dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa PGE2 melemahkan respon imun inflamasi yang berlebih oleh karena Mtb.¹² Penelitian Aghayana dkk pada tahun 2022 menunjukkan bahwa pemberian *placenta-derived (PL)-MSCs* secara intravena aman pada pasien dengan ARDS yang disebabkan oleh COVID-19.¹⁷

Berdasarkan ketiga penelitian terdahulu, MSC berhasil dalam melakukan penyembuhan penyakit. Akan tetapi, belum ada penelitian yang diberikan kepada pasien MDR-TB. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai kadar PGE2 mikroenkapsulasi MSC: studi preliminari terapi seluler MDR-TB.

1.1 Rumusan Masalah

Berapakah rerata kadar PGE2 dalam medium kultur mikroenkapsulasi MSC?

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan umum

Tujuan umum dalam penelitian ini untuk mengetahui bagaimana kadar PGE2 dalam medium kultur mikroenkapsulasi MSC.

1.2.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui rerata kadar PGE2 yang dihasilkan oleh MSC yang dimikroenkapsulasi untuk potensi alternatif terapi pasien yang menderita MDR-TB.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Bagi Peneliti

1. Manfaat penelitian ini bagi peneliti adalah menambah ilmu pengetahuan tentang *stem cell*.
2. Manfaat penelitian ini bagi peneliti yaitu peneliti bisa mendapatkan data-data yang diperlukan apakah kadar PGE2 mikroenkapsulasi MSC dapat digunakan sebagai studi pendahuluan terapi seluler MDR-TB

1.3.2 Bagi Institusi

Manfaat penelitian ini bagi institusi adalah menjadi sumber untuk bahan penelitian berikutnya.

1.3.3 Bagi masyarakat

1. Masyarakat dapat mengetahui apa itu MDR-TB.
2. Masyarakat dapat mengetahui terapi alternatif untuk MDR-TB.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tuberkulosis

2.1.1 Definisi Tuberkulosis

Tuberkulosis merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium tuberculosis* ditemukan oleh Dr. Robert Koch pada tahun 1882.¹⁸ Tuberkulosis merupakan salah satu infeksi saluran pernapasan atas yang juga merupakan urutan ke-4 tertinggi penyebab penyakit mematikan di seluruh dunia.¹⁹ Penyebaran *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) terjadi ketika seseorang yang terinfeksi batuk, berbicara, bersin, meludah, tertawa sehingga terjadi percikan (*droplet*) dimana percikan tersebut mengandung patogen sehingga dapat menularkan ke orang lain. Bakteri ini dapat bertahan selama 1-2 jam di udara bebas dan itu juga bergantung pada ada tidaknya sinar ultraviolet dan sirkulasi udara yang menentukan kelembaban udara sekitar. Pada saat udara lembab dan gelap maka *Mycobacterium tuberculosis* dapat bertahan berhari-hari hingga berbulan-bulan. Orang-orang yang mudah berisiko tinggi tertular yaitu:

1. Kawasan padat penduduk dan kumuh
2. Tenaga medis yang sering merawat penderita TB
3. Orang lanjut usia (lansia) dan anak-anak
4. Pecandu narkoba
5. Penderita penyakit ginjal stadium lanjut
6. Malnutrisi
7. Pecandu alkohol
8. Perokok
9. Orang dengan kekebalan tubuh yang lemah, misalnya penderita HIV/AIDS, imunodefisiensi, kanker, diabetes, orang yang menjalani transplantasi organ, dan lain sebagainya.
10. Orang yang sedang dalam terapi obat immunosupresif, misalnya penderita lupus, psoriasis, *rheumatoid arthritis*, atau penyakit Crohn.²⁰

Berdasarkan letak anatominya TB dapat dibedakan menjadi 2 yaitu TB pada parenkim paru atau trakeo-bronkial dan TB ekstra paru dimana TB yang terdapat di organ luar parenkim paru. Menurut sifatnya dibagi menjadi 2 jenis yaitu TB aktif dan TB laten. Klasifikasi berdasarkan uji kepekaan obat dibagi menjadi 2 yaitu TB sensitif obat (TB-SO) dan TB resistan obat (TB-RO), TB-RO dibagi menjadi 6 yaitu:

1. Monoresistan: resistan pada satu jenis OAT lini pertama
2. Poliresistan: resistan pada lebih dari satu jenis OAT secara bersamaan selain Isoniazid (H) dan Rifampisin (R) secara bersamaan
3. *Multi-drug resistant* (TB-MDR): resistan pada H dan R secara bersamaan
4. *Pre extensively drug resistant* (TB Pre-XDR): memenuhi kriteria TB MDR dan resistan pada minimal satu fluorokuinolon
5. *Extensive-drug resistant* (XDR): TB MDR yang juga resistan pada salah satu OAT golongan fluorokuinolon dan minimal salah satu OAT lini kedua jenis suntikan (kanamisin, capreomycin, dan amikacin)
6. Resistansi Rifampisin: *Mycobacterium tuberculosis* resistan pada obat Rifampisin dengan atau tanpa resistan terhadap OAT lain.⁴

2.1.2 Patogenesis Tuberkulosis

Ukuran dari *Mycobacterium tuberculosis* sangat kecil dan bervariasi, sehingga *Mycobacterium tuberculosis* dalam percik renik (*drop nucleus*) dapat terhirup hingga sampai alveolus. Dengan adanya imunitas di dalam tubuh, masuknya bakteri ini segera diatasi oleh mekanisme dari imunologis non spesifik. Secara umum, imunitas tubuh memiliki berbagai fungsi, yaitu:

1. Membentuk imunitas
2. Penolakan penghancuran segala bentuk benda asing yang masuk ke dalam tubuh
3. Mendeteksi adanya sel abnormal, infeksi, dan patogen yang membahayakan tubuh
4. Menjaga keseimbangan komponen dan fungsi tubuh.²¹

Dengan adanya sistem imun, makrofag alveolus akan melisiskan *Mycobacterium tuberculosis* dan biasanya sebagian besar akan

menghancurkan bakteri tersebut. Akan tetapi, dengan sangat kecilnya ukuran bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, makrofag tidak memiliki kemampuan untuk menghancurkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga bakteri ini akan bereplikasi di dalam makrofag. Setelah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bereplikasi, bakteri ini akan membentuk koloni di tempat tersebut, di jaringan paru.^{22,23}

Kemudian, *Mycobacterium tuberculosis* menyebar melalui saluran limfe menuju kelenjar limfe regional, kelenjar limfe yang mempunyai jalur khusus langsung ke jaringan paru. Penyebaran tersebut menyebabkan adanya inflamasi di saluran limfe (limfangitis) dan di kelenjar limfe (limfadenitis). Apabila terjadi gabungan antara fokus primer, kelenjar limfe regional yang membesar (limfadenitis) dan saluran limfe yang meradang (limfangitis) inilah yang dinamakan kompleks primer.^{4,22}

Mulai dari awal masuk bakteri *Mycobacterium tuberculosis* hingga terbentuk kompleks primer dinamakan dengan masa inkubasi TB. Inilah yang membedakan definisi masa inkubasi TB dengan masa inkubasi infeksi lain, yaitu waktu yang diperlukan dari masuknya kuman sampai menimbulkan gejala. Rentang waktu yang diperlukan TB dalam masa inkubasi biasanya memakan waktu 4–8 minggu dengan rentang waktu antara 2–12 minggu. Selama masa inkubasi, kuman berkembang hingga $10^3 - 10^4$ dimana jumlah ini cukup untuk merangsang respons imunitas seluler.^{4,22}

Saat terbentuk kompleks primer, infeksi primer TB dikatakan aktif karena ditandai dengan terbentuknya hipersensitivitas pada tuberkuloprotein, yaitu timbulnya respons positif terhadap uji tuberkulin. Selama masa inkubasi, uji tuberkulin masih negatif. Setelah kompleks primer terbentuk, imunitas seluler tubuh terhadap TB telah terbentuk. Selama masa inkubasi dan sebelum adanya imunitas seluler, dapat terjadi penyebaran limfogen dan hematogen. Penyebaran limfogen ini terjadi dimana kuman menyebar ke kelenjar limfe regional dan membentuk kompleks primer. Sedangkan penyebaran dengan cara hematogen berarti bakteri *Mycobacterium tuberculosis* masuk ke sirkulasi darah dan tersebar ke seluruh tubuh.

Penyebaran hematogen dapat menyebabkan TB yang disebut penyakit sistemik. Di lokasi – lokasi tubuh yang memiliki vaskularisasi yang baik, misalnya paru, kuman TB akan bereplikasi serta membentuk koloni kuman sebelum terbentuk imunitas seluler yang akan membatasi pertumbuhan oleh imunitas seluler, tetapi kuman tetap hidup dalam bentuk dorman.^{4,22}

Selain itu, penyebaran hematogen lainnya yaitu penyebaran hematogen generalisata akut (*acute generalized hematogenic spread*). Di sini, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* masuk dan menyebar dalam darah dan menuju ke seluruh tubuh, ini yang dapat menyebabkan timbulnya gejala klinis TB secara akut yang disebut TB diseminata. Penyakit TB diseminata ini timbul dalam kurun waktu 2-6 bulan setelah terjadinya infeksi dan tidak adekuatnya sistem imun pejamu (*host*) dalam mengatasi infeksi TB.^{4,22}

2.1.3 Tanda dan Gejala

Para penderita tuberkulosis memiliki gejala klinis yang dibagi menjadi gejala utama batuk berdahak ≥ 2 minggu dan memiliki gejala tambahan seperti batuk darah, sesak napas, badan lemas, penurunan nafsu makan, penurunan berat badan yang tidak disengaja, malaise, berkeringat di malam hari tanpa kegiatan fisik, demam subfebris lebih dari satu bulan, dan nyeri dada. Pada awal perkembangan kasus TB paru saat pemeriksaan fisik jarang ditemukan adanya kelainan. Pemeriksaan fisik pada pasien TB dapat dijumpai suara napas bronkial, amforik, suara napas melemah, ronki basah kasar/halus, dan/atau tanda-tanda penarikan paru, diafragma, dan mediastinum.⁴

Pemeriksaan penunjang yang dilakukan untuk menegakkan kasus TB paru yaitu pemeriksaan tes cepat molekuler (TCM), pemeriksaan mikroskopis BTA, foto thorax, tes tuberkulin (mantoux) dan pemeriksaan kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.²⁴ Baku emas dalam diagnosis TB paru yaitu menggunakan pemeriksaan TCM. Uji TCM ini dapat mengidentifikasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan sekaligus bisa menguji kepekaan obat. Menguji kepekaan obat ini dilakukan dengan mendeteksi materi genetik yang mewakili resistansi tersebut. Uji TCM yang digunakan yaitu *GeneXpert*

bakteri *Mycobacterium tuberculosis* /RIF (uji kepekaan untuk Rifampisin). Pemeriksaan ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas sekitar 99%.⁴

2.1.4 Pengobatan TB paru

Terdapat vaksin yang dapat mencegah terjadinya tuberkulosis, yaitu vaksin *Mycobacterium bovis Bacille Calmette-Guérin* (BCG) merupakan vaksin yang aman dan hemat biaya serta secara efisien melindungi anak-anak dari manifestasi awal TB. Tujuan dari pengobatan TB untuk menyembuhkan pasien, mencegah kematian, mencegah kekambuhan, memutuskan rantai penularan, dan mencegah terjadinya resistansi obat.²⁵ Dalam pemakaian obat TB dosis pertama dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Dosis pemakaian obat OAT lini pertama

	Dosis Rekomendasi Harian		3 kali per minggu	
	Dosis (mg/kgBB)	Maksimum (mg)	Dosis (mg/kgBB)	Maksimum (mg)
Isoniazid	5 (4-6)	300	10 (8-12)	900
Rifampisin	10 (8-12)	600	10 (8-12)	600
Pirazinamid	25 (20-30)	-	35 (30-40)	-
Etambutol	15 (15-20)	-	30 (25-35)	-
Streptomisin	15 (12-18)	-	15 (12-18)	-

Cara pengobatan pada pasien TB paru terdiri dari 2 fase:

1. Fase inisial/fase intensif (2 bulan): dalam fase ini membunuh kuman dengan cepat dalam waktu 2 minggu pasien infeksius menjadi tidak infeksius dan gejala klinis membaik BTA positif akan menjadi negatif dalam waktu 2 bulan
2. Fase lanjutan (4-6 bulan): fase ini membunuh kuman persisten dan mencegah relaps.

Dalam fase pengobatan (fase I dan fase II) membutuhkan pengawas minum obat (PMO).⁴

Obat anti tuberkulosis juga ada disediakan dalam bentuk kombinasi yaitu kombinasi dosis lengkap (KDT) tujuan dari pemberian obat ini meminimalisir kekeliruan pada pasien karena jumlah obat yang diminum berkurang, sehingga dapat meningkatkan kepatuhan minum obat pada pasien.²⁵ Dalam pemakaian obat KDT dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Dosis Pemakaian Obat KDT

Berat Badan	Tahap Awal tiap hari		Tahap Lanjutan 3 kali seminggu
	RHZE (150/75/400/275) + S		RH (150/150) + E (400)
	Selama 56 hari	Selama 28 hari	Selama 20 minggu
30-37 kg	2tab 4KDT + 500 mg Streptomisin inj	2tab 4KDT	2 tab 2 KDT + 2tab Etambutol
38-54 kg	3tab 4KDT + 750 mg Streptomisin inj	3tab 4KDT	3 tab 2 KDT + 3tab Etambutol
55-70 kg	4tab 4KDT + 1000 mg Streptomisin inj	4tab 4KDT	4 tab 2 KDT + 4tab Etambutol
≥71 kg	5tab 4KDT + 1000 mg Streptomisin inj	5tab 4KDT	5 tab 2 KDT + 5tab Etambutol

2.1.5 Komplikasi dan Prognosis

Pada penyakit TB paru apabila tidak diobati dengan baik dapat menimbulkan komplikasi, yaitu:

1. Komplikasi dini di antaranya pleuritis, efusi pleura, empiema, laringitis, TB usus, dan *Poncet's arthropathy*.

2. Komplikasi lanjut terdiri dari obstruksi saluran napas hingga *acute respiratory distress syndrome* (ARDS), sindrom obstruksi pasca tuberkulosis, kerusakan parenkim yang sudah berat (fibrosis paru), korpulmonal, amiloidosis paru, dan TB milier.^{4,26}

Pasien TB paru yang tidak diobati dapat menyebabkan kematian. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kematian pada pasien TB paru yaitu usia lanjut, terlambat dalam menegakkan diagnosis TB paru, luas lesi pada saat pemeriksaan radiologi, HIV, diabetes, dan immunosupresi.²⁶

Prognosis dari TB paru bervariasi dan bisa mengakibatkan penyakit multi-sistem dan dipengaruhi oleh banyak faktor. Usia, status imun, komorbiditas, waktu memulai pengobatan, dan kepatuhan dapat memengaruhi penyembuhan dari TB paru.⁶

2.2 Multidrug-Resistant Tuberculosis

2.2.1 Definisi Multidrug-Resistant Tuberculosis

Multidrug-resistant tuberculosis adalah kuman TB yang tidak merespon terhadap obat Isoniazid dan Rifampisin secara bersamaan dengan atau tanpa OAT lini pertama yang lain, dimana kedua obat lini pertama TB paru yang paling efektif.⁴ Dengan adanya kasus TB-MDR memperparah kasus penanggulangan kasus TB, termasuk penanggulangan kasus di Indonesia karena sulitnya dalam penegakan diagnosis dan tingginya angka kegagalan terapi. Hal ini terjadi karena biaya yang dibutuhkan dalam pengobatan lebih lama dan waktu yang diperlukan juga lebih lama.²⁷

2.2.2 Etiologi Resistan Obat

Resistensi obat TB paru dapat terjadi karena obat TB paru digunakan dengan cara yang salah, misalnya: pasien TB tidak menyelesaikan pengobatan TB dengan baik, penyedia layanan kesehatan membuatkan resep pengobatan terhadap pasien yang salah, baik salah secara dosis maupun lama pemakaian obat, ketersediaan obat yang sesuai tidak ada, obat-obat yang diberikan berkualitas Buruk.⁴

Resistan terhadap obat TB biasanya sering terjadi pada orang yang tidak meminum obat TB paru secara teratur, tidak meminum semua obat TB

mereka, perkembangan penyakit TB yang kembali, setelah sebelumnya mengalami pengobatan TB, pasien yang berasal dari wilayah yang banyak mengalami resistan terhadap obat TB, dan banyak menghabiskan waktu dengan orang yang merupakan pasien dari resistan obat TB.^{4,28}

Resistensi obat dapat dibagi menjadi dua. Pertama, resistansi primer terjadi ketika pasien terpapar dan terinfeksi dengan strain yang sudah resistan terhadap obat. Kedua, resistansi sekunder adalah resistansi yang didapat karena pasien tidak patuh dalam pengobatan, malabsorpsi obat, dan rejimen yang tidak memadai di antara pasien yang minum obat TB.²⁹

2.2.3 Tatalaksana *Multidrug-Resistant Tuberculosis*

Dalam pengobatan MDR-TB dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. Kelompok A

- a. Bedaquiline (BDQ) dalam dosis standar dapat diberikan dosis 400 mg 2 kali sehari selama 2 minggu atau 200 mg 3 kali sehari selama 1 minggu atau untuk pengobatan alternatif dapat diberikan 200 mg 1 kali sehari selama 8 minggu
- b. Linezolid (LZD) dalam dosis standar dapat diberikan 1200 mg sekali atau 600 mg per oral (po) atau intravena (iv) 2 kali sehari dan untuk pengobatan alternatif diberikan 600 mg po/iv setiap hari setelah 3-4 minggu dosis standar
- c. Levofloksacin (LFX) dalam dosis standar diberikan 750 mg po/iv 1 kali sehari dan untuk pengobatan alternatif diberikan dosis 1500 mg po/iv
- d. Moksifloksasin (MFX) dalam dosis standar diberikan 400 mg po sekali sehari dan untuk pengobatan alternatif diberikan 600-800 mg po sekali sehari

2. Kelompok B

- a. Clofazimine (CFZ) dalam dosis standar diberikan 100 mg po sekali sehari dan untuk pengobatan alternatif diberikan ≥ 200 mg po sekali sehari
- b. Cycloserine/terizidone (CYS/TRZ) dalam dosis standar diberikan 1000 mg/hari

3. Kelompok C

- a. Delamanid (DLM) dalam dosis standar diberikan >50 kg: 100 mg po dua kali sehari 30 –50 kg: 50 mg po 2 kali sehari
- b. Amikacin (AMK) dalam dosis standar diberikan 15–20 mg/kg iv/intramuscular (im) 1 kali sehari dan untuk pengobatan alternatif: 15–20 mg/kg iv/im 2–3 kali seminggu
- c. Etionamida (ETH) atau prothionamide (PTH) dalam dosis standar diberikan (maksimal 1000 mg/hari) dengan 15-20 mg/kg po dalam 2 atau 3 dosis setiap hari

4. Kelompok lainnya

- a. Kanamisin (KAD) dalam dosis standar diberikan 15 mg/kg iv/im 1 kali sehari dan untuk pengobatan alternatifnya diberikan 15 mg/kg iv/im 2–3 kali seminggu
- b. Capreomycin (TOPI) dalam dosis standar diberikan 15–20 mg/kg iv/im sekali sehari dan untuk pengobatan alternatifnya diberikan 15–20 mg/kg iv/im 2–3 kali seminggu.^{29,30}

Durasi pengobatan pada pasien MDR-TB memiliki dua rejimen. Pengobatan dengan rejimen yang lebih lama disarankan dilaksanakan 18 – 20 bulan dengan fase intensif yang berlangsung 5 hingga 7 bulan dengan setidaknya menggunakan empat obat. Fase lanjutan direkomendasikan menggunakan 3 obat. Pada rejimen yang lebih pendek durasi yang disarankan 9 – 11 bulan dengan fase intensif 4 – 6 bulan dengan menggunakan tujuh obat (kanamisin, moksifloksasin, protionamid, klofazimin, pirazinamid, isoniazid dosis tinggi, dan etambutol).^{29,30}

2.3 Sel Punca

2.3.1 Definisi Sel Punca

Pada pertengahan abad ke-19, Ernest Haeckel pertama kali menciptakan istilah “Stammzellen” disinilah muncul pertama kali konsep sel punca. Sel punca atau sel punca menunjukkan asal usul sel yang hidup sebagai rangkaian evolusi.³¹ Sel punca adalah sel dengan potensi regenerasi terkuat dibandingkan dengan sel yang lainnya.¹¹

Regenerasi jaringan berarti proses restorasi struktur dan fungsi suatu jaringan/organ rusak untuk kembali normal secara utuh. Proses ini dapat menghasilkan pembentukan jaringan baru melalui aktivitas sel yang memiliki kemampuan proliferasi dan diferensiasi tinggi, yaitu sel punca. Dalam proses regenerasi, sel punca mampu mengontrol inflamasi, sehingga mempercepat akses sel punca untuk masuk dalam proses proliferasi. Keadaan ini akan mendorong sel sekitar untuk terlibat dalam proses proliferasi. Secara spesifik, sel punca akan berdiferensiasi menjadi berbagai sel matur untuk menggantikan sel yang rusak. Dengan adanya kehadiran sel punca yang memiliki potensi diferensiasi tinggi dalam proses regenerasi dapat memungkinkan penggantian komponen jaringan/organ rusak menjadi normal kembali. Proses regenerasi dimulai dengan pelepasan molekul sinyal cedera yang kemudian akan mengubah *niche* sel punca, sehingga mendorong sel punca untuk berdiferensiasi menjadi sel spesifik penyusun komponen jaringan.^{11,32}

Sel punca memiliki 2 karakteristik, yaitu:

1. Konsep pembaharuan diri

Konsep pembaharuan diri adalah kemampuan sel punca dalam menghasilkan keturunan identik dengan sel induk baik melalui pembelahan simetris (dua turunan identik) maupun pembelahan asimetris (satu turunan identik). Konsep pembelahan diri bertujuan untuk menghasilkan keturunan yang identik dengan induk, yang secara bersamaan mempertahankan status tidak berdiferensiasi.

2. Konsep diferensiasi

Konsep diferensiasi adalah suatu potensi yang dimiliki oleh sel punca untuk berubah menjadi bentuk sel lain yang lebih spesifik dan fungsional. Konsep diferensiasi bertujuan untuk menghasilkan berbagai turunan sel yang spesifik.^{11,32}

Sel punca memiliki kemampuan berdiferensiasi yang berbeda-beda, semua bergantung pada sumber sel punca itu sendiri. Sel yang dapat berkembang menjadi banyak jenis sel berbeda disebut *pluripotent*

sedangkan sel yang hanya berkembang menjadi satu jenis sel saja disebut *unipotent*.^{11,32}

2.3.2 Mesenchymal Stem Cell

Mesenchymal stem cell (MSC) berasal dari beberapa sumber yang berbeda, misalnya sumsum tulang orang dewasa, jaringan adiposa, dan tali pusat bayi.¹⁵ *Mesenchymal stem cell* (MSC) alogenik yang diisolasi dari tali pusat atau *cord blood* (cbMSCs) dan Wharton's jelly (wjMSCs).³³ Perbedaan isolasi dari jaringan yang berbeda dari manusia dapat memengaruhi diferensiasi makrofag pada tingkat yang sama. *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) tali pusat sendiri *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) adalah sel yang menampilkan morfologi fibroblastic, mampu berkembang biak dalam lapisan tunggal pada permukaan plastik, mampu melakukan diferensiasi osteogenik, kondrogenik, dan adipogenik serta menghadirkan seperangkat antigen permukaan spesifik. Pembeda dari MSC yaitu sel yang memiliki ekspresi CD90, CD73, dan CD105. Mesenchymal Stem Cell (MSC) kerjanya mendukung dari aktivitas *Hematopoietic Stem Cell* (HSC). Secara fisiologis, MSC berperan dalam mempengaruhi perilaku sel lain, mereka dapat menekan peradangan dan menginduksi toleransi imun melalui interaksi berbagai sel imun termasuk sel T, makrofag, sel dendritik, sel *natural killer* (NK), dan sel B. Efek imunomodulator MSC berkaitan dengan ekspresi/sekresi beberapa molekul dan salah satunya oleh PGE2.³⁴ Fungsi MSC dalam terapi seluler berperan dalam diferensiasi multi garis keturunannya, yang berarti MSC yang ditransplantasikan diharapkan dapat berdiferensiasi menjadi jaringan target sebagai respon terhadap sinyal lingkungannya.³⁵ Peningkatan sekresi PGE2 oleh MSC menandakan kemanjuran transplantasi MSC sesuai dengan efek imunomodulator yang diinginkan.³⁴

Sifat imunomodulator MSC yaitu kemampuannya untuk mempengaruhi diferensiasi makrofag dengan cara mempromosikan polarisasi makrofag menuju fenotipe M2 anti-inflamasi. Pada penelitian sebelumnya, MSC yang dilakukan penelitian *in vitro* menunjukkan sintesis sitokin pro-inflamasi. Secara signifikan, terbukti bahwa MSC juga dapat memengaruhi

perilaku sel dendritik, populasi sel penyaji antigen khusus yang penting untuk aktivasi dan diferensiasi sel T.³⁴ *Mesenchymal stem cell* (MSC) secara fisiologis bekerja dengan memengaruhi perilaku sel lain dengan menghambat proliferasi sel T alogenic dan mengekspresikan tingkat rendah kompleks histokompatibilitas utama kelas I (MHC I), MHC II dan molekul adhesi vaskular-1 (VCAM-1).¹⁵ Peran MSC menunjukkan adanya penghambat aktivitas dan proliferasi sel T. *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) dapat mengubah fenotip dari sel dendritic, pelepasan sitokin, diferensiasi dan pematangan, serta memengaruhi kemampuan untuk menyajikan antigen.³⁴

Sel NK adalah sel imunitas tubuh bawain yang menjadi garis pertahanan utama dalam melawan bakteri patogen dalam tubuh. Sel NK yang teraktivasi MSC dapat menghambat proliferasi sel NK yang diinduksi interleukin-2 (IL-2), aktivitas sitotoksik, dan produksi sitokin. Interaksi antara MSC dan sel B menunjukkan penghambatan antara proliferasi dan diferensiasi. MSC bertanggung jawab atas peningkatan aktivitas sel B: tingkat proliferasi yang lebih tinggi, peningkatan diferensiasi menjadi sel plasma, dan produksi antibody (IgM, IgA, dan IgG).³⁴ *Mesenchymal stem cell* memiliki potensi diferensiasi multi-arah dan kemampuan pembaruan diri ini menyiratkan bahwa sel-sel ini dapat berdiferensiasi menjadi beberapa jaringan dan organ seluler dalam keadaan yang sesuai. Sifat yang multifungsi dari MSC dapat memungkinkan mereka untuk digunakan sebagai strategi terapi prospektif untuk mengobati gangguan kekebalan dan peradangan.^{11,36} Walau demikian, MSC adalah sel responsif yang bekerja dengan mengubah fenotipe dan profil sekresinya tergantung pada sinyal di sekitarnya.³⁴

2.3.3 Penerapan Terapi Sel Punca

Dalam perkembangannya, sel punca telah digunakan untuk penyembuhan luka dan terapi ARDS. Dengan kemampuan sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai sel, ini yang memberikan peluang dalam pemanfaatan sebagai terapi sel. Dalam pengambilan tali pusar yang sesuai dilihat dari kondisi ibu yang sehat yang berarti ibu tidak mengalami anemia, kekurangan gizi, obesitas, diabetes melitus, dislipidemia, gangguan

hiperkoagulasi, penyakit jantung dan pembuluh darah, hipertensi, penyakit ginjal kronik, penyakit tiroid, asma, sindrom lupus eritematosus, keganasan (kanker), malaria, tuberkulosis, hepatitis B, sifilis, HIV/AIDS, infertilitas (kemandulan), gangguan mental emosional, dan kekerasan dalam rumah tangga (KDRT).³⁷ Pada wanita pre-eklampsia terdapat peningkatan total luas pembuluh darah, total luas vena, total luas luminal vena dan ketebalan dinding arteri yang berarti area jeli dan ketebalan dinding vena menurun dibandingkan dari wanita hamil yang sehat. Pada wanita hamil yang merokok menunjukkan arteri umbilikalis jaringan endotel yang lebih tebal dengan perpindahan sel yang berbeda. Selain itu, tali pusar dari wanita hamil perokok yang menderita *Intra Uterine Growth Restriction* (IUGR) yang berarti janin mengalami perlambatan perkembangan memiliki luas pembuluh darah yang lebih kecil dibandingkan wanita hamil yang sehat.³⁸ Pemilihan tali pusar yang sehat didapatkan dari ibu yang sehat dan melahirkan baik secara caesar maupun normal. Sel Punca yang baik diambil dari ibu dengan waktu kehamilan cukup bulan yang tidak berlangsung lebih dari 37 minggu.³⁹

Tujuan dari pengembangan strategi dalam pengobatan TB untuk mengurangi waktu pengobatan, pengelolaan masalah resistensi obat, mengidentifikasi pengobatan yang lebih aman dan pemberantasan interaksi obat pada pasien.¹² Efek PGE₂ dapat memberikan tindakan immunosupresif yang kuat selama respon imun inang manusia terhadap Mtb. Peran eikosanoid menjadi resolusi infeksi mikrobakteri. Eikosanoid merupakan keluarga mediator lipid biologis aktif yang berasal dari asam arakidonat AA yang dilepaskan dari fosfolipid membrane oleh fosfolipase. Sebelumnya, eikosanoid dapat diproduksi dari jalur siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) yang dapat menghasilkan prostaglandin dan tromboksan, dari jalur lipoxigenase (5-LO, 12-LO, dan 15-LO) yang mengkatalisis produksi leukotriene dan lipoksin, dan dapat juga diperoleh dari jalur sitokrom p40 yang menghasilkan asam hidroksi eikosatetraenoat dan *epoxy eicosatrienoic*.⁴⁰

Secara fungsional, eikosanoid menentukan pengendalian infeksi mtb pada inang. Bakteri TB menstimulasi antigen-presenting cells (APCs) untuk menghasilkan PGE2 yang memodulasi respon imun inang melalui reseptor EP2 dan EP4. Infeksi dari mtb dapat meningkatkan ekspresi EP2 dalam sel TCD4+. Kadar PGE2 dapat menginduksi kematian apoptosis makrofag yang berarti dapat mengatur pertumbuhan Mtb.⁴⁰ Produksi PGE2 dalam TB dapat melindungi terhadap nekrosis sel dengan mencegah kerusakan membran internal mitokondria dan membantu memperbaiki membran plasma dengan cepat. Pada konsentrasi tinggi kekebalan tubuh yang dimediasi oleh sel T immunosupresi PGE2 terhadap Mtb dan berkontribusi pada perluasan sel T regulator.¹²

2.3.4 Efek Parakrin

Interleukin 10 (IL-10) dikenal sebagai faktor penghambat sintesis sitokin dan dilepaskan oleh sel T helper 2 (TH₂) yang dapat mengikuti stimulasi antigen yang menyebabkan blokade produksi sitokin dari sel TH₂. Interleukin 10 dapat mencapai efek dengan menghambat kemampuan makrofag dan sel dendritik untuk mengaktifkan sel T helper 1 (TH₁). Interleukin 10 bertindak dengan menghambat produksi sitokin pro-inflamasi dan juga aksi sel penyaji antigen yang menghalangi aktivitas limfosit-T dengan menghambat ekspresi MHC molekul kelas II.^{11,41}

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) dan interferon-gamma (IFN- γ), sitokin utama yang terlibat dalam aktivasi MSC. Sitokin-sitokin ini, bila digunakan pada konsentrasi dan waktu yang tepat, akan mendorong peningkatan ekspresi molekul imunoregulasi dalam sel. Aktivasi MSC diinduksi oleh sitokin inflamasi seperti (TNF- α) dan (IFN- γ). Kedua sitokin ini, TNF- α dan IFN- γ adalah sitokin pertama yang disekresikan dalam respons inflamasi, relevan untuk menganalisis pengaruhnya terhadap ekspresi molekul yang terlibat dalam berbagai mekanisme imunoregulasi yang digunakan oleh MSC.^{11,42}

Prostaglandin E2 (PGE2) merupakan senyawa lipid yang diproduksi oleh sel tubuh seperti epitel, fibroblast, dan terutama pada sel-sel inflamasi

yang menginfiltrasi. Prostaglandin E2 dihasilkan oleh asam arakidonat (AA) yang dibebaskan dari fosfolipid membrane yang dikatalisis oleh fosfolipase A2 (PLA2). Kemudian AA akan dioksidasi untuk membentuk prostaglandin H2 (PGH2) oleh *cyclooxygenase* (COX) lalu akan diubah menjadi PGE2 melalui terminal PGE2 *synthases* (PGES) yang dapat berperan sebagai proinflamasi dan antiinflamasi.^{34,43} Dalam penelitian sebelumnya pengambilan kadar PGE2 yang diambil dari darah vena dan dianalisis menggunakan ELISA kit PGE2 didapatkan nilai normal 200–400 pg/ml, dikatakan tinggi apabila ditemukan nilai lebih dari 400 pg/ml, dan dikatakan rendah apabila ditemukan nilai kurang dari 200 pg/ml.⁴⁴ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Harley dkk pada tahun 2021 ditemukan kadar rata-rata PGE2 pada pasien yang mengalami tuberkulosis paru dengan kasus baru yaitu 215,70 (191,0 – 1724,0) pg/ml dan peserta yang terdiagnosa tuberkulosis paru dengan kekambuhan memiliki kadar 224,40 (193,2 – 2374,0) pg/ml.⁴⁴

2.3.5 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan proses di mana partikel kecil atau tetesan cairan dibungkus atau dilapisi oleh bahan polimer untuk menghasilkan partikel kecil yang disebut mikrokapsul atau mikrosfer. Tujuan dari mikroenkapsulasi untuk meningkatkan kestabilan dan daya larut suatu bahan, untuk mengendalikan pelepasan senyawa aktif, untuk menghasilkan partikel-partikel padatan yang dilapisi oleh bahan penyalut tertentu dan meminimalisir kehilangan nutrisi.^{14,45}

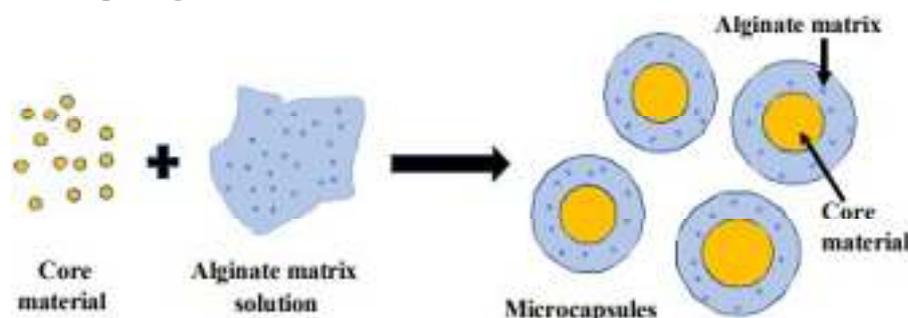
Prinsip yang diterapkan dalam proses mikroenkapsulasi yaitu penggabungan antara fase air, fase zat inti dan fase bahan penyalut sampai terbentuk emulsi yang stabil kemudian proses penempelan bahan penyalut pada permukaan bahan inti dan proses pengecilan ukuran partikel.^{13,45} Keuntungan dari teknik ini, yaitu waktu penyimpanan cukup lama, praktis untuk dicampurkan dengan bahan lain, memiliki kadar air rendah sehingga terhindar dari pertumbuhan jamur penyebab kerusakan. Sedangkan, kerugian dari teknik mikroenkapsulasi yaitu proses yang diperlukan cukup rumit dan

biaya yang relatif mahal serta penampakan flavor yang sedikit berbeda dengan bahan alami.^{13,14}

Metode mikroenkapsulasi sel dalam hidrogel terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan, seperti penyemprotan elektro, emulsi mikrofluida, mikroemulsi, dan pencetakan mikro litograf. Metode *spray drying* atau penyemprotan elektro karena prosesnya yang sederhana dan relatif murah. Dalam proses mikroenkapsulasi, rasio bahan inti dan bahan penyalut serta suhu inlet pada *spray drying* dapat memengaruhi karakteristik dari mikrokapsul.^{45,46} Metode mikrofluida mendapat perhatian dari para peneliti karena dengan metode ini dapat mengontrol cairan dalam skala mikro yang tepat bahkan dapat merangkum satu sel per satu tetesan. Metode mikrofluida berbasis tetesan dapat dibagi menjadi dua metode yaitu metode aktif dan pasif. Metode aktif yang terdiri dari metode listrik, magnet, dan sentrifugal, sedangkan metode pasif terdiri dari metode aliran silang, pemfokusan aliran, dan aliran bersama. Dalam metode aktif memperkenalkan cara mengubah ketidakstabilan antarmuka memodifikasi keseimbangan gaya pada antarmuka tetesan dengan menyuplai energi tambahan melalui elemen eksternal. Metode ini biasanya digunakan pada larutan yang sangat kental atau jumlah sel deterministik. Mikrofluida berbasis tetesan pasif menggunakan dua fase kontinu yang tidak dapat bercampur di mana tetesan air yang mengandung sel terbentuk dalam fase terdispersi melalui aliran geser. Dari kedua fase tersebut metode pasif yang paling sering digunakan dalam mengenkapsulasi sel. Sel akan dicampur dalam larutan berair yang mengandung pra-polimer hidrofilik.^{47,48}

Dalam pemilihan bahan pembuatan mikroenkapsulasi pada sel punca dalam aplikasi klinis harus memenuhi kriteria dalam kemampuan proses dan bioaktivitas. Hanya bahan hidrogel yang mempunyai gugus ikatan silang yang dapat digunakan karena jika tidak rantai polimer akan dimodifikasi secara kimia untuk menghasilkan gugus yang dapat berikatan silang. Agen pengikat silang kimia massal ini sering kali bersifat racun bagi sel induk. Selain itu, hidrogel harus bersifat biokompatibel dan bioaktif untuk

mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel induk yang dienkapsulasi dengan tujuan yang diinginkan. Alginate diperoleh dari alga coklat (*Phaeophyceae*) dan terdiri dari asam guluronat dan asam manuronat. Alginate banyak digunakan untuk aplikasi biomedis karena mudah berikatan silang dengan kation divalent seperti kalsium dan barium serta biokompatibilitasnya. Selain itu, alginate gelasinya terjadi dengan cepat dalam kondisi yang sangat ringan tanpa menggunakan pelarut organik atau bahan kimia beracun dalam gelasinya. Hidrogel alginate dapat bertindak sebagai penghalang fisik atau kimia untuk menyediakan lingkungan mikro seluler untuk model jaringan buatan. Sel yang dienkapsulasi menunjukkan pertumbuhan dan proliferasi pada hidrogel alginate dengan viabilitas 70%. Pembentukan mikroenkapsulasi dengan menggunakan bahan alginate dapat dilihat pada gambar 2.2^{47,48}



Gambar 2.2 Pembentukan Mikroenkapsulasi Alginate

2.4 Prostaglandin E2

PGE2 adalah substrat yang produksinya adalah asam arakidonat (AA), suatu komponen fosfolipid membran sel. Efek dari PGE2 dapat mengatur berbagai tahapan respon imun inang selama terjadi kelainan dalam tubuh, seperti tuberkulosis. Prostaglandin E2 (PGE2) merupakan produk dari jalur siklooksigenase 2 (COX-2) yang merupakan salah satu dari mediator kunci dalam efek imunomodulator MSC. Pengaruh dari rangsangan seperti sitokin, mitogen, hormone atau faktor yang dilepas dari sel yang rusak merupakan aktivasi dari *cytosolic phospholipase A2* (cPLA2) yang menyebabkan translokasi membrane AA ke bagian dalam sel. Intensitas dari reaksi ini dapat menentukan jumlah akhir dari eikosanoid yang dihasilkan, yaitu molekul

bioaktif yang berasal dari asam arakidonat atau asam lemak tak jenuh. Pada sisi luminal membrane reticulum endoplasma, AA akan segera dioksigenasi ke prostaglandin H₂ (PGH₂). Selama proses ini, dimediasi oleh prostaglandin endoperoxide synthase (PTGS2). Enzim ini memiliki dua isoform yaitu *cyclooxygenase* (COX) atau prostaglandin G/H synthase (PGHS). Prostaglandin E₂ dalam reaksi yang dikatalisis oleh tiga jenis sintesis PGE₂ (PGES): *cytocolic* (cPGES) dan microsomal prostaglandin E sintase 1 dan 2 (mPGES-1/2). Prostaglandin E₂ bertindak dengan meningkatkan salah satu dari empat subtype G protein-coupled receptor (GPCR): EP1, EP2, EP3, atau EP4.³⁴ Pada reseptor EP1 yang teraktivasi dapat meningkatkan tingkat konsentrasi ion kalsium sedangkan pada reseptor EP2 dan EP4 dikaitkan dengan stimulasi cAMP dan pensinyalan PKA melalui aktivasi berurutan gas dan adenilil siklase.³⁵ Dari kedua isoform COX-1 dan COX-2 memiliki peran yang berbeda, COX-1 berperan dalam produksi konstitutif prostaglandin yang terlibat dalam menjaga homeostasis tubuh "fungsi rumah tangga". Sedangkan, COX-2 berperan dalam lingkungan yang mengalami inflamasi dan dapat meningkatkan kelangsungan hidup serta proliferasi sel.^{34,35}

PGE₂ yang merupakan turunan dari MSC bekerja pada reseptor EP2 dan EP4 pada makrofag yang akan mengaktifkan adenilat siklase dan meningkatkan level cAMP. Dalam penelitian ditemukan bahwa PGE₂ turunan dari MSC mengurangi sekresi TNF oleh makrofag, tetapi tidak memiliki efek signifikan pada produksi Interleukin-10 (IL-10) dan interaksi antara PGE₂ antara MSC dan makrofag bersifat timbal balik dan berdasarkan umpan balik positif. Hubungan dengan sel dendritik antara MSC dan PGE₂, PGE₂ berperan sebagai salah satu pemain kunci dalam penghambatan dan stimulasi tergantung pada tahap perkembangan dari sel dendritik.³⁴ PGE₂ merupakan kunci dari pireksia, hyperalgesia, dan dilatasi arteri yang dapat meningkatkan aliran darah ke jaringan yang meradang dan dalam kombinasi dengan meningkatkan permeabilitas mikrovaskuler, dan menghasilkan edema.⁴⁰ Dalam penelitian menunjukkan bahwa jalur COX-2 dapat menghambat pematangan sel B manusia yang dimediasi oleh MSC.

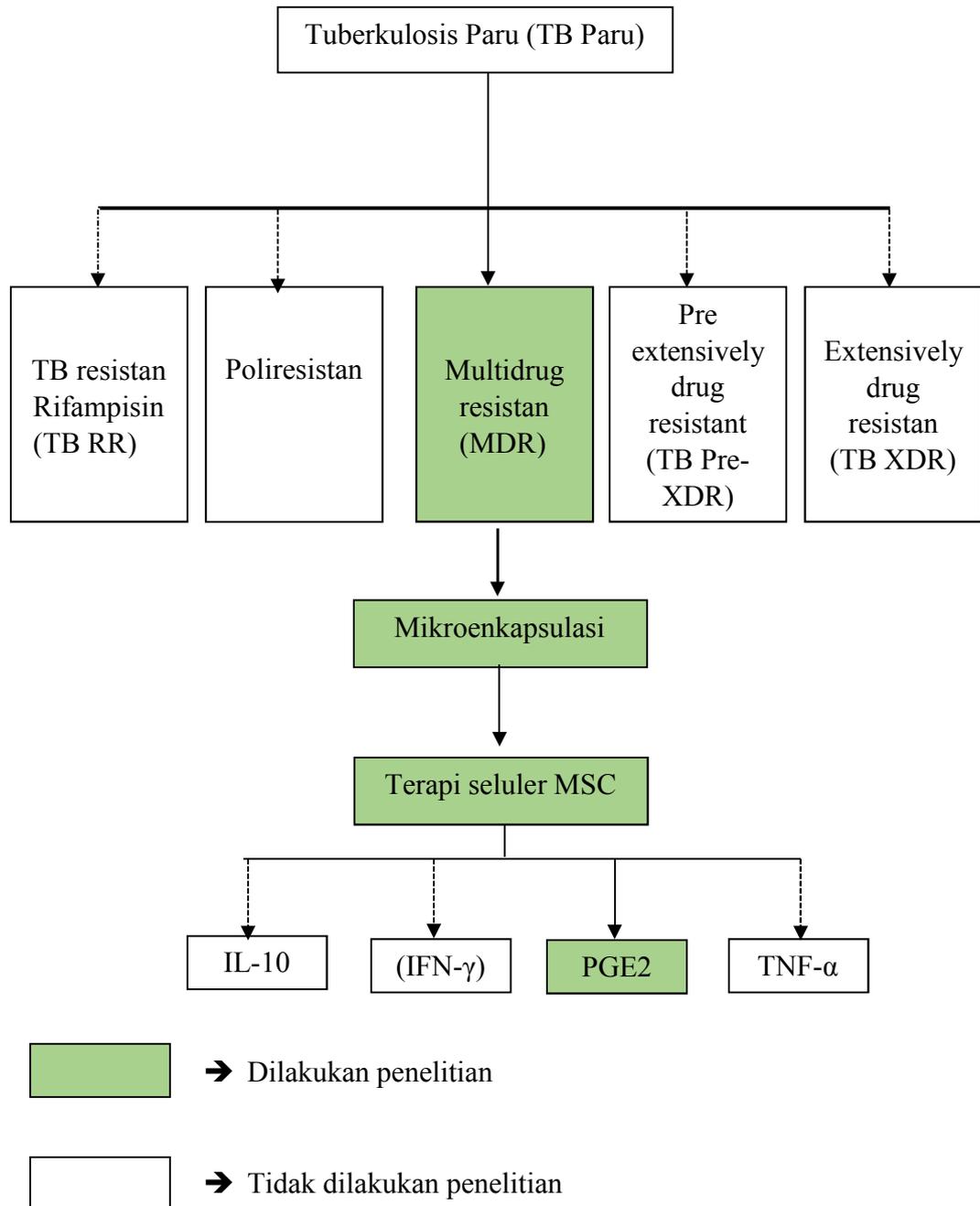
Penghambatan aktivitas sel T oleh MSC terkait dengan ekspresi enzim COX-1/COX-2 dan diproduksi PGE2 yang efeknya bergantung pada konsentrasi PGE2 di lingkungan jaringannya. Proliferasi sel T dihambat dengan penurunan kadar reseptor IL-2 pada konsentrasi tinggi yang menyebabkan perubahan transkripsi melalui jalur pensinyalan. Sedangkan, pada konsentrasi PGE2 yang rendah menyebabkan perubahan diferensiasi sel T CD4+. Selain menghambat proliferasi sel T, PGE2 yang disekresi oleh MSC dapat berfungsi menjaga toleransi diri imunologis dan mencegah respon imun yang berlebihan.³⁴

Secara fisiologis MSC berperan dalam mendukung hematopoiesis dimana PGE2 terlibat dalam regulasi fisiologis dengan meningkatkan homing, kelangsungan hidup dan pembaruan diri. Kemampuan untuk berkembang biak dan memperbarui diri yang merupakan kemampuan dari MSC menunjukkan adanya pengaruh dari PGE2 dan PGE2 memengaruhi proliferasi MSC dengan menggunakan inhibitor kimia jalur COX-2. Efek parakrin PGE2 yang diproduksi oleh MSC berkontribusi pada pemeliharaan kapasitas pembaruan diri melalui EP2 dengan cara autokrin, dan sekresi PGE2 diatur ke bawah oleh kontak sel ke sel, mengurangi potensi imunomodulatornya. *Mesenchymal Stem Cell* memiliki kemampuan untuk bermigrasi ke daerah yang meradang dan memungkinkan sel-sel ini bekerja secara local di lokasi cedera dan PGE2 berperan dalam kapasitas migrasi berbagai jenis sel. Peran PGE2 sebagai sinyal untuk MSC yang mengekspresikan EP2 sebagai navigasi untuk mencapai jaringan yang rusak.^{34,35}

Kadar PGE2 yang dihasilkan oleh MSC dapat berperan sebagai proinflamasi dapat meningkatkan polarisasi makrofag dari subset proinflamasi dan menjadi subset antiinflamasi. Dalam subset proinflamasi PGE2 berperan dengan mengatur produksi sitokin, dalam antiinflamasi PGE2 berperan dalam memblokir masuknya neutrofil polimorfonuklear ke dalam jaringan yang terluka dan mencegah adanya kerusakan yang lebih parah.^{35,49}

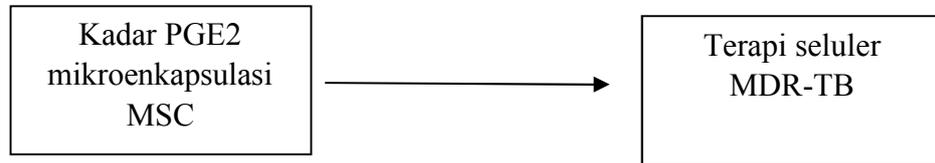
Pengiriman PGE2 ke lokasi jaringan yang sakit dibagi menjadi 3 kategori. Proses yang pertama kali yaitu hidrogel yang dapat disuntikkan. Perancah hidrogel berbeda dengan yang mengandung PGE2 seperti hidrogel kitosan (polisakarida yang berbentuk linear) berkontribusi pada pelepasan PGE2 yang berkelanjutan. Proses kedua yaitu liposom atau eksosom. Eksosom dan liposom yang dibentuk oleh lapisan ganda fosfolipid merangkum PGE2 di dalam inti hidrofilik. Proses ketiga adalah nanopartikel polimer. Partikel nano polimer yang memuat PGE2 terdiri dari polimer alami atau sintetik. Sel nano yang diilhamkan trombosit terdiri dari PGE2 bilayer fosfolipid yang diturunkan dari trombosit luar dan nanopartikel baik yang dari dalam mikroenkapsulasi dengan faktor sekretori sel induk.^{11,43}

2.5 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan deskriptif observasional dengan mendapatkan gambaran kadar PGE2 dengan dilakukan mikroenkapsulasi MSC sebagai studi preliminari terapi selular MDR-TB.

3.2 Tempat dan Waktu 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 Ibukota Jakarta, pada Mei-Agustus 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 berupa MSC tali pusar dengan metode duplo yang berdasarkan kelompok pengamatan pemeriksaan, dikelompokkan menjadi 4. Total penelitian adalah 8.

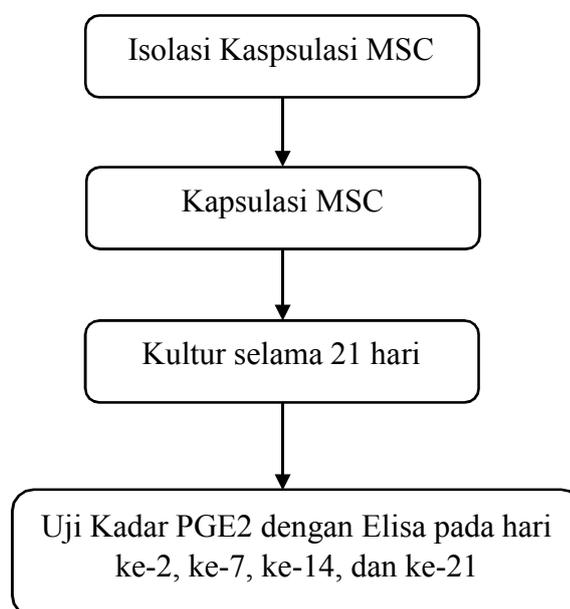
3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 3.1 Alat dan Bahan penelitian

No	Nama	Kegunaan
1	<i>Cap</i>	Aseptik
2	<i>Freezing container</i>	Cryo
3	<i>Hand seal</i>	Aseptik
4	Masker	Aseptik
5	PBS	Washing
6	Tip 10 micro	Kapsulasi, ELISA
8	Tip 20 micro	Kapsulasi, ELISA
9	Tip 100 micro	Kapsulasi, ELISA
10	Tip 200 micro	Kapsulasi, ELISA
11	Tip 1000 micro	Kapsulasi, ELISA

12	Tube 5 mL	Kapsulasi, ELISA
13	Tube PCR	Kapsulasi, ELISA
14	Mikropipet 10	Kapsulasi, ELISA
15	Mikropipet 20	Kapsulasi, ELISA
16	Mikropipet 100	Kapsulasi, ELISA
17	Mikropipet 1000	Kapsulasi, ELISA
19	PGE2 Kit Elisa	ELISA
20	MSC Tali Puser	Terapi Alternatif

3.5 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.6 Cara Kerja

1. Kultur *Mesenchymal Stem Cell* (MSC)

Kriopreservasi *Mesenchymal stem cell* asal tali pusat dari penelitian sebelumnya di thawing 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 73 dilakukan untuk menganalisis kemurnian *mesenchymal stem cell* berdasarkan kriteria International Society Cell and Gene Therapy terhadap CD 105, CD 90 dan CD 73. Sel punca diinkubasi dalam inkubator 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 dihitung dengan *trypan blue exclusion test*.

2. Mikroenkapsulasi *Mesenchymal Stem Cell*

Suspensi 8.000.000 *mesenchymal stem cell* dalam 0,5 mL medium kultur MSC diletakkan dalam tube 1,5 mL. Kemudian, 3 mL larutan alginate 1,8% dicampurkan dengan 0,5 mL larutan yang berisi 8.000.000 sel punca. Larutan alginate 1,8% dan suspensi sel diteteskan ke dalam CaCl 0,2M dengan menggunakan spuit insulin. Cuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan dimasukkan ke dalam well yang berisi medium kultur.

3. Uji Kadar PGE2

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 Calibrator diluent RD5-56 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

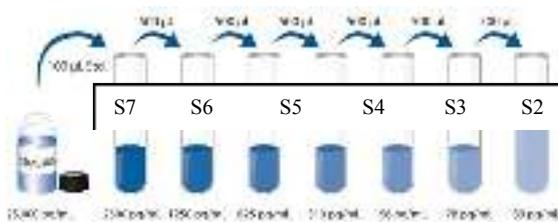
3 Agitasi standard perlahan selama 15 menit. Standard Rekonstitusi dengan water destilasi. (lyophilized) Hasilnya adalah stock solution 25000 pg/mL.

4 Campurkan Color reagent A dan Color reagent B dalam 15 menit sebelum penggunaan. Lindungi dari cahaya. Setiap well dibutuhkan 200 µL, total 8000 µL.

- 5 a) Siapkan tube 1.5 mL steril
 b) Beri label S0 (0 pg/mL, hanya pelarut saja) sampai S7 (2500 pg/mL).
 c) Masukkan larutan *Calibrator diluent RD5-56* sebanyak 900 µL ke tabung S7, dan 500 µL ke tabung S6 - S0.
 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.

Jumlah = 16 tube

	Ulangan 1 (pg/ml)	Ulangan 2 (pg/ml)
S0	0	0
S1	39	39
S2	78	78
S3	156	156
S4	313	313
S5	625	625
S6	1250	1250
S7	2500	500



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

Wash buffer Bidest steril = 20 ml 480 ml

Buat di botol Duran atau beaker glass.

3.7 Alur Pengerjaan

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 (point ke-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. Baca pada panjang gelombang 450nm.

3.8 Definisi Operasional

Tabel 3.4 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
PGE2	Prostaglandin E2 (PGE2) adalah kadar MSC yang didapatkan dari jaringan mesenkim yang merupakan molekul anti-inflamasi.	Spektrofotometri	ELISA	Kadar PGE2 (pg/ml)	Rasio
Mikroenkapsulasi	Mikroenkapsulasi adalah Teknik untuk melapisi suatu zat inti dengan suatu lapisan dinding polmer sehingga menjadi partikel berukuran mikro.	<i>Screening electron microscope (SEM)</i>	Tetesansput insulin	Direndam dalam larutan alginate selama 10 menit	Rasio

3.9 Analisis Data

Dari berupa hasil absorbansi spektrofotometri dianalisis menggunakan program excel untuk mengetahui gambaran kadar PGE2 pada mikroenkapsulasi MSC.

