



PERBANDINGAN KADAR PGE2 PADA MIKROENKAPSULASI MSC DAN HSC-CD34 SEBAGAI POTENSIAL TERAPI SELULER MDR-TB

Ade Pryta R. Simaremare

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen, Medan
adesimaremare@uhn.ac.id

Abstrak

Latar belakang penelitian ini untuk melawan Tuberkulosis (TB) telah digunakan obat-obatan selama puluhan tahun, namun selama perjalanannya juga telah menghasilkan strain yang resistan terhadap satu atau lebih obat-obat ini, yang disebut dengan multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Terapi konvensional untuk MDR-TB sangat menantang dan membutuhkan waktu yang panjang sehingga dapat menyebabkan efek merugikan yang signifikan terhadap pasien. Selama satu dekade terakhir, pengobatan untuk penyakit degeneratif, infeksi dan metabolik telah berkembang ke arah terapi seluler, khususnya penggunaan terapi stem cell. Stem cell akan mengeluarkan parakrin yang berperan sebagai immunomodulator dan antiinflamasi salah satunya PGE2. Masih belum diketahui bagaimana kadar parakrin PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi yang akan digunakan sebagai studi preliminari untuk terapi seluler MDR-TB. Tujuan penelitian ini untuk mengembangkan terapi seluler MDR TB dengan menggunakan parakrin kapsulasi mesenchymal stem cell dan hematopoietic stem cell asal tali pusat. Metode penelitian ini terdiri atas 2 tahap, dimana pada tahap pertama merupakan isolasi, kultur dan enkapsulasi mesenchymal stem cell dan hematopoietic stem cell. Tahap kedua merupakan uji kadar PGE2 pada stem cell yang dimikroenkapsulasi pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21. Hasilnya menunjukkan Kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC meningkat secara lebih signifikan dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi HSC-CD34. Dengan menggunakan mikroenkapsulasi membuat PGE2 tidak dapat berdifusi keluar sehingga akan menjadi sarana penghantaran yang baik menuju organ yang bermasalah.

Kata Kunci: mikroenkapsulasi; mesenchymal stem cells; hematopoietic stem cell; PGE2; MDR TB.

Abstract

Research Background: In the battle against Tuberculosis (TB), drugs have been utilized for decades. However, this journey has also given rise to strains resistant to one or more of these drugs, known as multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Conventional therapy for MDR-TB is highly challenging and time-consuming, potentially causing significant adverse effects on patients. Over the past decade, the treatment landscape for degenerative, infectious, and metabolic diseases has evolved towards cellular therapy, particularly the use of stem cell therapy. Stem cells release paracrine factors that act as immunomodulators and anti-inflammatory agents, including PGE2. It is still unknown how the paracrine levels of PGE2 produced by microencapsulation will be used as a preliminary study for MDR-TB cellular therapy. Research Objective the aim of this study is to develop cellular therapy for MDR TB using paracrine encapsulation of mesenchymal stem cells and umbilical cord blood-derived hematopoietic stem cells. The research methodology consists of two stages. The first stage involves the isolation, culture, and encapsulation of mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells. The second stage includes testing the levels of PGE2 in microencapsulated stem cells on days 7, 14, and 21. Result The levels of PGE2 produced by microencapsulated MSC increased more significantly compared to those produced by microencapsulated HSC-CD34. The use of microencapsulation prevents the diffusion of PGE2, making it an effective delivery system towards problematic organs.

Keywords: content, formatting, article.

@Jurnal Ners Prodi Sarjana Keperawatan & Profesi Ners FIK UP 2023

✉ Corresponding author :

Address : Jln. Srikandi Gang Swadaya III No. 11 Medan Denai

Email : adesimaremare@uhn.ac.id

Phone : 085262662685

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) paru masih menjadi masalah global yang sulit dieliminasi dan menjadi beban dunia. Menurut laporan dari World Health Organization (WHO) pada tahun 2020, jumlah terbesar kasus baru TB yaitu 43%, terjadi di Kawasan Asia Tenggara, diikuti oleh kawasan Afrika, dengan 25% kasus baru, dan kawasan Pasifik Barat, dengan 18%. Pada tahun yang sama, 86% kasus TB baru terjadi di 30 negara dengan beban TB yang tinggi. Delapan negara menyumbang dua pertiga kasus TB baru yaitu India, Tiongkok, Indonesia, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh, dan Afrika Selatan.

Untuk melawan TB telah digunakan obat-obatan selama puluhan tahun, namun selama perjalanannya juga telah menghasilkan strain yang resistan terhadap satu atau lebih obat-obat ini. Bila pengobatan tidak adekuat, maka Mycobacterium tuberculosis sebagai bakteri penyebabnya akan membentuk kekebalan atau resistensi terhadap obat yang diberikan. Resistensi obat timbul saat obat-obat TB digunakan dengan tidak sesuai, resep yang tidak tepat, kualitas obat yang buruk, dan penghentian pengobatan dini oleh pasien. Pengobatan yang relatif lama dengan jumlah obat yang banyak juga mempengaruhi kepatuhan pasien untuk minum obat. Jenis obat yang seringkali mengalami resistensi adalah Isoniazid dan Rifampicin, yang disebut dengan multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).

Pada tahun 2020, hanya sekitar satu dari tiga orang dengan MDR-TB yang mengakses pengobatan. Secara global, kasus MDR TB meningkat setiap tahun, dari 160.684 kasus pada tahun 2017 menjadi 186.772 kasus pada tahun 2018 dan sekitar 3.5% dari kasus MDR-TB adalah kasus baru dan 18% adalah kasus yang berasal dari kasus rawatan sebelumnya. 4 Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah kasus MDR-TB tertinggi di dunia. Data dari WHO memperkirakan di Indonesia terjadi 24.000 kasus baru MDR-TB per tahunnya yaitu 2,4% dari setiap kasus baru TB dan 13% kasus pada pengobatan ulang TB dengan angka keberhasilan pengobatan 48%.

Terapi konvensional untuk MDR-TB sangat menantang dan membutuhkan setidaknya lima obat anti tuberkulosis selama paling lambat 20 bulan dan dapat menyebabkan efek merugikan yang signifikan terhadap pasien. Akibatnya pasien banyak yang menghentikan pengobatannya sebelum menyelesaikan secara lengkap yang dapat memicu terjadinya resistensi yang lebih berat yaitu

Extensively drug resistant TB (XDR-TB). Pilihan obat juga harus berdasarkan riwayat sebelumnya, pola resistensi dan data kepekaan antibiotik yang juga memerlukan perhatian khusus. Hal-hal inilah yang menyebabkan kemungkinan kegagalan terapi MDR-TB cukup tinggi dan tingginya angka kematian. Untuk mengatasinya diperlukan alternatif terapi yang dapat memberikan hasil pengobatan yang signifikan.

Selama satu dekade terakhir, pengobatan untuk penyakit degeneratif, infeksi dan metabolik telah berkembang ke arah terapi seluler, khususnya penggunaan terapi sel punca (stem cell). Stem cell yang digunakan untuk terapi akan mengeluarkan parakrin yang mengandung growth factor maupun kemokin penting yang dapat berperan sebagai immunomodulator dan antiinflamasi seperti PGE2, TGF β , TNF α , dan interleukin yang disebut sebagai sekretom. Immunomodulator ini lah yang akan merangsang sistem imun dalam mengeliminasi antigen yang masuk ke dalam tubuh, dalam hal ini adalah bakteri penyebab MDR-TB. Jenis stem cell yang banyak digunakan adalah yang berasal dari tali pusat yaitu dari jaringan Wharton's jelly berupa mesenchymal stem cell dan dari darah tali pusat atau berupa hematopoietic stem cell khususnya CD34.

Efektivitas pengeluaran sekretom ini sangat dipengaruhi oleh viabilitas dari stem cell pada kultur sel atau jaringan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa enkapsulasi stem cell dapat meningkatkan viabilitasnya sehingga pengeluaran parakrin juga akan lebih optimal. Reaksi inflamasi yang dirangsang oleh sekretom yang dihasilkan juga tidak menyerang stem cell yang berada di dalam kapsul sehingga viabilitas dan fungsi parakrinnya tidak terganggu. Pada penelitian ini akan dilakukan perbandingan kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi mesenchymal stem cell (MSC) dan hematopoietic stem cell CD34 (CD34) yang merupakan potensial terapi seluler untuk MDR-TB. Bagaimanakah kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC dan HSC-CD34?

METODE

Penelitian ini merupakan studi preliminari eksperimental in vitro untuk mendapatkan gambaran perbandingan kadar/ konsentrasi PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC dan HSC-CD34. Penelitian ini dilakukan di Stem Cells and Tissue Engineering (SCTE) Indonesian

Medical Education and Research Institute (IMERI) FK UI.

Isolasi, kultur dan kapsulasi sel punca mesenkimal

Sampel penelitian berupa MSC dan HSC dari tali pusar dengan metode duplo. 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 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.

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.

Uji kadar PGE2 pada kultur mikroenkapsulasi hari ke-7, ke-14 dan ke-21 dengan pemeriksaan ELISA

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. Data berupa hasil absorbansi spektrofotometer dianalisis menggunakan program Excel untuk

mengetahui perbedaan kadar PGE2 pada mikroenkapsulasi MSC dan HSC-CD34.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata Kadar PGE2 yang Dihasilkan oleh MSC dan HSC-CD34

Telah dilakukan uji kadar PGE2 dengan spektrofotometri yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi Mesenchymal stem cell (MSC) dan Hematopoietic stem cell CD34 (HSC-CD34) yang diamati pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-21 yang dirangkum pada gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Grafik Perbandingan Kadar PGE2 yang Dihasilkan oleh MSC dan HSC-CD34 Mikroenkapsulasi pada Pengamatan Hari ke-7, ke-14, dan ke-21

Dari grafik di atas dapat diamati bahwa kadar PGE2 yang dihasilkan baik oleh MSC maupun HSC-CD34 mengalami kenaikan yang cukup signifikan mulai dari pengamatan hari ke-7 hingga hari ke-21. Kenaikan kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC dari hari ke-7 hingga hari ke-14 adalah sebesar 737,279 pg/mL (180,58%) dan kenaikan dari hari ke-14 hingga hari ke-21 adalah sebesar 1.736,775 pg/mL (151,61%). Sedangkan kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi HSC-CD34 dari hari ke-7 hingga hari ke-14 adalah sebesar 224,407 pg/mL (28,36%) dan kenaikan dari hari ke-14 hingga hari ke-21 adalah sebesar 600,589 pg/mL (59,13%). Hal ini menunjukkan bahwa kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC meningkat secara lebih signifikan dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi HSC-CD34.

Pada penelitian ini *mesenchymal stem cell* dan *hematopoietic stem cell* dimasukkan ke dalam suatu mikrokapsul berupa alginat.

Mikroenkapsulasi berfungsi untuk membuat struktur pelindung atau kapsul untuk imobilisasi, perlindungan, pelepasan, dan fungsionalisasi bahan aktif. 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 terlapis dengan pembungkus sehingga meminimalisir kehilangan nutrisi. 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%. Dengan menggunakan mikroenkapsulasi membuat PGE2 tidak dapat berdifusi keluar sehingga akan menjadi sarana penghantaran yang baik menuju organ yang bermasalah.

Alginate merupakan senyawa polimer anionic yang diperoleh dari alga coklat dan mikroba *pseudomonas* dan *azotobacter*. Kemampuan alginate untuk membentuk struktur 3 dimensi dan toksisitasnya yang rendah membuat alginate banyak digunakan dalam proses enkapsulasi. Alginate merupakan gel yang digunakan untuk enkapsulasi sel yang memberikan perlindungan pada sel yang di enkapsulasi sehingga dapat mempertahankan sel yang diinginkan. Mikroenkapsulasi berbasis alginate yang permeable memungkinkan terjadinya kultur jangka Panjang (>14 hari) yang berfungsi untuk mengembangkan jaringan mikro dan mikrokapsul, memiliki mikrokapsul pelindung serta ruang interior merupakan hal yang sangat penting. Mesenchymal Stem Cell yang di enkapsulasi menggunakan alginate dapat bertahan serta dapat bertindak sebagai pelepasan immunodulator selama 5 minggu yang di lakukan secara *in vitro*.

Mikrokapsul pelindung ini berfungsi untuk menghalangi dan mencegah sel T inang untuk mengenali antigen asing pada permukaan sel yang ditransplantasikan. Ketebalan mikroenkapsulasi juga mempengaruhi terjadinya difusi molekul melalui membran, namun membran yang lebih tebal dapat memperlambat terjadinya difusi, sedangkan untuk membran yang lebih tipis dapat menjadikan difusi nutrisi sel dengan cepat. Terdapatnya celah pada membran akan mempengaruhi keseluruhan proses enkapsulasi sehingga membuat sel yang ditransplantasikan rentan terhadap penurunan.

Penggunaan mikroenkapsulasi alginate merupakan hal yang sangat baik pada

Mesenchymal Stem Cell dalam mempertahankan sekresi Prostaglandin E2, Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hui Cheng dkk dimana menyatakan bahwa untuk dapat mempertahankan konsentrasi PGE2 hal yang harus dilakukan adalah memasukan kadar Prostaglandin E2 ke dalam mikroenkapsulasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rosa dkk dengan menyatakan mikroenkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas sesuai dengan penelitian yang peneliti lakukan terbukti dengan adanya kadar pada hari ke-21.13 Ditemukan jumlah kadar PGE2 sebanyak 2.882,335 pada hari ke-21 menunjukkan bahwa PGE2 ini masih terus dihasilkan. Dalam mempertahankan kadar PGE2 dapat menggunakan mikroenkapsulasi sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hui Cheng dkk. Penelitiannya menyatakan bahwa mikroenkapsulasi dapat menjaga konsentrasi secara efektif dalam medium hidrogel kitosan untuk merawat lokasi luka dan mempercepat laju penyembuhan.¹³ Jumlah kadar yang dihasilkan kadar PGE2 dengan menggunakan mikroenkapsulasi alginate lebih banyak dibandingkan dengan hasil dari MSC-PGE2 yang dihasilkan tanpa melalui menggunakan mikroenkapsulasi, yaitu jumlahnya sebanyak 1163 gen sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hezam dkk.

Peningkatan viabilitas dari penggunaan mikroenkapsulasi sesuai dengan penelitian Kang dkk yang menyatakan bahwa mikroenkapsulasi berbahan alginate dapat mengurangi paparan terhadap tekanan lingkungan selama dilakukan pemantauan. Hal ini terjadi karena adanya hubungan antara ukuran pori-pori pada alginate yang terhitung kecil berada pada skala nanometer (5–200 nm).¹¹ Semakin kecil pori-pori yang ada pada mikroenkapsulasi, semakin kecil kadar yang keluar dari kapsul tersebut. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lee Fung dkk.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC maupun HSC-CD34 mengalami kenaikan dari hari ke-7 hingga hari ke-14 dan dari hari ke-14 hingga ke-21. Kadar PGE2 yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi MSC meningkat secara lebih signifikan hingga 151% dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh mikroenkapsulasi HSC-CD34 yaitu hingga 59%.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020. 2020.
- Mourenza Á, Gil JA, Mateos LM. Novel Treatments against Mycobacterium tuberculosis Based on Drug Repurposing. 2020;1–12.
- Rao M, Ippolito G, Sayoki M, Ntoumi F, Yeboahmanu D, Vilaplana C, et al. International Journal of Infectious Diseases Improving treatment outcomes for MDR-TB — Novel host-directed therapies and personalised medicine of the future *S*. 2019;80:62–7.
- Chakaya J, Khan M, Ntoumi F, Aklillu E, Fatima R, Mwaba P, et al. Global Tuberculosis Report 2020 – Reflections on the Global TB burden, treatment and prevention efforts. *Int J Infect Dis*. 2021;(xxxx):4–9.
- Fukunaga R, Glaziou P, Harris JB, Date A, Floyd K, Kasaeva T. Epidemiology of Tuberculosis and Progress Toward Meeting Global Targets — Worldwide , 2019. 2022;70(12):2019–22.
- Chin KL, Anibarro L, Sarmiento ME, Acosta A. Challenges and the Way forward in Diagnosis and Treatment of Tuberculosis Infection. *Trop Med Infect Dis*. 2023;8(89).
- Kim HJ, Park J. Usage of Human Mesenchymal Stem Cells in Cell-based Therapy: Advantages and Disadvantages. 2017;21(1):1–10.
- Rodr DE, Fern LE, Samia-meza JA, Barrera-barrera SA, Caplan AI, Barrera-salda HA. Mesenchymal Stem Cells Current Clinical Applications: A Systematic Review. 2021;52.
- Marikar SN, El-Osta A, Johnston A, Such G, Al-Hasani K. Microencapsulation-based cell therapies. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Jul;79(7):3.
- Naina S, Assam M, Osta E, Johnston A, Such G, Al K. Microencapsulation - based cell therapies. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2022;79(7):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04369-0>
- Pusat TEknologi Farmasi dan Medika. Pengaruh Prototipe Enkapsulasi Berbasis Alginat Terhadap Viabilitas dan Stabilitas Sel Punca Mesenkim. Rilianawati, Subintoro, Elrade Rofaani.
- Kang SM, Lee JH, Huh YS, Takayama S. Alginate Microencapsulation for Three-dimensional in vitro Cell Culture. *ACS Biomater Sci Eng*. 2021 Jul;7(7):2864.
- Khatab S, Leijs MJ, van Buul G, Haeck J, Kops N, Nieboer M, et al. MSC encapsulation in alginate microcapsules prolongs survival after intra-articular injection, a longitudinal in vivo cell and bead integrity tracking study. *Cell Biol Toxicol*. 2020 Dec;36(6):553.
- Cheng H, Huang H, Guo Z, Chang Y, Li Z. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics*. 2021;11(18):8836.
- Hezam K, Wang C, Fu E, Zhou M, Liu Y, Wang H, et al. Superior protective effects of PGE2 priming mesenchymal stem cells against LPS - induced acute lung injury (ALI) through macrophage immunomodulation. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2023;1–17. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03277-9>
- Ang LF, Darwis Y, Por LY, Yam MF. Microencapsulation Curcuminoids for Effective Delivery in Pharmaceutical Application. 2019;