

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) yang menyerang organ manusia terutama paru-paru. TB mempengaruhi 10 juta orang di seluruh dunia dengan jumlah kematian sebesar 1,6 juta per tahun. Secara global, TB masih menjadi tantangan kesehatan yang signifikan, terutama di negara-negara berkembang dengan tingkat kesakitan dan kematian yang tinggi. Indonesia berada di posisi kedua kasus TB terbanyak di dunia dengan total lebih dari 1 juta kasus. Pada tahun 2022, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan bahwa 91% kasus TB di Indonesia merupakan TB paru yang berpotensi menular ke orang lain (Shalahuddin dkk., 2024; WHO, 2024).

TB merupakan penyakit menular yang dapat menyebar lewat droplet di udara terutama saat individu terinfeksi batuk atau bersin. Secara klinis, TB dibagi menjadi dua, yaitu TB aktif (TBA) dan infeksi laten tuberkulosis (ILTB). ILTB merupakan reaksi kekebalan yang berkelanjutan terhadap antigen Mtb dengan menyimpan basil yang tidak tumbuh atau tumbuh lambat di dalam struktur granuloma di paru-paru dan organ lain (Khabibullina dkk., 2022). Jenis TB ini tidak menimbulkan gejala klinis. Sebaliknya, TBA ditandai dengan basil yang bereplikasi terutama di paru-paru dan respon imun yang lemah, sehingga tidak mampu melawan infeksi. Mayoritas kasus ILTB dapat menjadi kasus TBA ketika penderita memiliki imunitas yang lemah, misalnya kondisi diabetes melitus, gangguan ginjal, atau infeksi HIV (Kim dkk., 2024). Diperkirakan risiko pengaktifan ILTB menjadi TBA mencapai sekitar 5-15% (Singh dkk., 2024). Hal ini tentunya dapat memperparah kondisi penderita ILTB dan dapat berakibat pada kematian apabila tidak diatasi secara optimal (O'Young *et al.*, 2021). Oleh karena itu, untuk dapat melakukan langkah penanganan ILTB sekaligus pencegahan TBA, diperlukan metode diagnosis yang tepat yang mampu membedakan antara TBA, ILTB, dan tidak adanya infeksi (Qi dkk., 2024).

Metode diagnostik standar yang saat ini digunakan untuk TB, khususnya ILTB adalah *interferon-gamma release assay* (IGRA) dan *tuberculin skin test* (TST). Namun, keduanya masih memiliki kekurangan. IGRA mengukur *interferon-gamma* (IFN- γ) yang dihasilkan sel T sebagai respon terhadap antigen Mtb, tetapi masih banyak daerah karena membutuhkan tenaga medis terlatih dan rumit (Kemenkes RI, 2022). Sementara, TST sering kali menimbulkan ketidaknyamanan di area suntikan. Hasil TST yang melibatkan *purified protein derivative* (PPD) sering kali menimbulkan positif palsu jika pasien telah divaksinasi *bacillus calmette-guerin* (BCG) atau pernah mengalami infeksi TB sebelumnya (Druszczyńska dkk., 2023; Qi dkk., 2024). Hal



ini disebabkan karena PPD hanya memiliki spesifisitas sebesar 36,87%, sehingga berpotensi menghasilkan positif palsu (Dey dkk., 2023; Guo dkk., 2023). Maka dari itu, diperlukan solusi yang dapat mengatasi permasalahan tersebut.

Berdasarkan riset yang dilakukan oleh Xu dkk. pada tahun 2022, *early secretory antigen target 6* (ESAT6) dan *culture filtrate protein 10* (CFP10) telah menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi Mtb, masing-masing sebesar 87,5% dan 98,9% (Xu dkk., 2022). Karakteristik ini memungkinkan ESAT6-CFP10 (EC) untuk memberikan diagnosis yang lebih tepat, sehingga mengurangi kemungkinan hasil palsu. Saat ini, riset tentang penggunaan EC untuk diagnostik masih terfokus pada metode injeksi (Guo dkk., 2023). Sementara riset mengenai *microneedle* (MN) sebagai alat diagnostik ILTB terbatas pada pemanfaatan PPD (Wang dkk., 2019). Oleh karena itu, riset ini merupakan upaya awal untuk menginkorporasikan EC ke dalam sistem *Dissolving Microneedle Patch* (DMNP).

DMNP berisi EC dibuat menggunakan polimer natrium hialuronat (HA) dan polivinilpirolidon K-30 (PVP K-30) yang dapat larut bersama cairan interstisial kulit (Yan dkk., 2020). Penggabungan keduanya memberikan kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi yang baik, sehingga mengurangi kemungkinan iritasi dan ketidaknyamanan pada saat diaplikasikan (Syafika dkk., 2023). Pada riset sebelumnya, sediaan DMNP terbukti mampu melarutkan komponen secara cepat dan terkendali (Wang dkk., 2019). *Patch* dapat segera dilepas setelah jarum telah larut sepenuhnya (Yang dkk., 2022). Antigen PPD pada TST juga dibuat dalam sediaan DMNP (DMNP-PPD) untuk membandingkan efikasi DMNP-EC terhadap DMNP-PPD.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh variasi konsentrasi *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 terhadap karakterisasi fisik DMNP sebagai strategi baru diagnostik infeksi laten tuberkulosis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 terhadap karakterisasi fisik DMNP sebagai strategi baru diagnostik infeksi laten tuberkulosis.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex®), batang pengaduk, cetakan *polydimethylsiloxane* (PDMS), mikroskop cahaya CX23 Olympus®, pipet mikro (Dragonlab®), sendok *stainless*, sentrifugasi, *shaker*, timbangan analitik (Sartorius®), *vortex mixer* (D LAB), dan vial.

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu akuades, ESAT6-CFP10, *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.4, polivinil pirolidon K30 (PVP K-30), protein purivat derivative (PPD), dan natrium hialuronat (HA).

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Formulasi DMNP-PPD dan DMNP-EC

Tabel 1. Komposisi Formula DMNP-PPD dan DMNP-EC

Formula	Komposisi per 100 patches; 0,3 g per patch			
	EC/PPD (μL)	PVP K-30 (g)	HA (g)	Akuades (g)
DMNP1	20	7,5	2,4	20,098
DMNP2	40	7,5	2,4	20,096
DMNP3	60	7,5	2,4	20,094

DMNP dibuat ke dalam dua bentuk formula, yaitu DMNP-EC dan DMNP-PPD. Sediaan ini dibuat dari kombinasi polimer HA dan PVP K-30 yang dilarutkan dalam akuades, dengan penambahan antigen dalam variasi konsentrasi tertentu sesuai yang disajikan pada Tabel 1. Sediaan dibuat dengan metode cetak tuang menggunakan cetakan PDMS. Formula dimasukkan ke dalam cetakan dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Kemudian dikeringkan pada suhu 37°C. DMNP-EC dan DMNP-PPD yang diperoleh menggunakan mikroskop cahaya (Wang dkk., 2019; Febrianti & dkk., 2024).



2.2.2 Uji Kekuatan Mekanik

Uji kekuatan mekanik dilakukan untuk mengetahui tinggi sebelum dan sesudah percobaan pada DMNP. Beban diberikan sebesar 32 N diterapkan pada DMNP selama 30 detik. DMNP yang telah diberi beban diukur menggunakan mikroskop cahaya digunakan untuk mengamati ketinggian sebelum dan sesudah percobaan dengan pengukuran yang dilakukan menggunakan perangkat lunak ImageRaster (Madani dkk., 2024). Persentase pengurangan tinggi jarum dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ Pengurangan tinggi jarum} = \frac{\text{tinggi awal} - \text{tinggi akhir}}{\text{tinggi awal}} \times 100\% \quad (1)$$

2.2.3 Uji Kemampuan Penetrasi

Kemampuan penetrasi dilakukan dengan cara DMNP diaplikasikan pada delapan lapis Parafilm® dan diberikan gaya sebesar 32 N selama 30 detik. Setelah itu, jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm® dihitung menggunakan mikroskop cahaya dan ditentukan lapisan terdalam dari lubang tersebut untuk menentukan formula yang optimal (Peng dkk., 2021; Syafika dkk., 2023). Persentase dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Kemampuan penetrasi} = \frac{\text{banyak jumlah lubang diamati}}{\text{jumlah total lubang}} \times 100\% \quad (2)$$

2.2.4 Uji Waktu Melarut

Uji waktu melarut dilakukan untuk menentukan durasi pelarutan DMNP pada kulit. Pengujian ini menggunakan kulit punggung mencit. Sebelum pengujian, kulit punggung mencit direndam ke dalam cairan *Posphate Buffered Saline* (PBS) pH 7,4 pada suhu 37°C hingga diperoleh larutan jernih, kemudian dikeringkan (Vora dkk., 2020; Stephanie dkk., 2024). Setelah itu, DMNP diletakkan di atas kulit mencit dan diberi beban sebesar 5 g. DMNP kemudian diamati menggunakan mikroskop pada waktu 0 menit, 0,5 menit, 1 menit dan pengamatan dilanjutkan setiap 2 menit hingga semua jarum telah larut sempurna setelah diaplikasikan pada kulit (Permana dkk., 2020).

2.2.5 Pengumpulan dan Analisis data



-masing hasil pengujian yang telah dikumpulkan, selanjutnya menggunakan *software* GraphPad® dan MS Excel®, serta dianalisis dengan *software* IBM SPSS® (*Statistical Solution*) dengan melihat nilai signifikan ($p < 0,05$).