

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) masih menjadi ancaman kesehatan dunia yang signifikan dengan angka kematian yang tinggi. Secara global, TB telah menduduki peringkat kesembilan sebagai penyebab kematian terbanyak akibat agen infeksi tunggal dan menjadi penyebab utama kematian akibat penyakit menular (Janssen et al., 2025; Mohammadnabi et al., 2024). Berdasarkan laporan dari WHO, penyebaran TB di dunia telah mencapai 10,6 juta kasus dengan jumlah kematian sebanyak 1,25 juta jiwa (WHO, 2025). Indonesia menempati urutan kedua sebagai negara dengan jumlah kasus TB terbanyak di dunia setelah India. Setiap tahunnya, Indonesia diperkirakan mencatat 1,09 juta kasus dan jumlah kematian mencapai 125 ribu. Nilai ini setara dengan rata-rata 14 kematian setiap jamnya (Kemenkes, 2025). Tingginya angka ini sangat berkaitan erat dengan penyebab utama TB, yaitu *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb).

Mtb merupakan bakteri yang umumnya menyerang paru-paru, tetapi juga dapat bermanifestasi di lokasi ekstra paru (Matias et al., 2025). Penularan bakteri terjadi melalui droplet atau aerosol dari penderita. Setelah terpapar, individu dengan sistem imun yang lemah akan sulit melawan infeksi akibat bakteri, sehingga berisiko mengalami TB aktif (TBA). TBA bersifat menular dan memiliki gejala klinis seperti batuk kronis, demam, keringat malam hari, serta penurunan berat badan. Sementara, pada individu dengan imunitas yang baik akan mengalami infeksi laten yang dikenal sebagai infeksi laten TB (ILTB). Penderita ILTB tidak menimbulkan gejala karena bakteri dapat terkendali dalam sistem imun dan tidak menular (Nortajulu et al., 2022). Meskipun demikian, penderitanya menjadi reservoir bakteri, terutama pada individu dengan imunitas lemah, seperti penderita diabetes, gangguan ginjal ataupun HIV (Kim et al., 2024). Hingga saat ini, penderita ILTB telah mencapai seperempat dari populasi dunia (Matias et al., 2025). Kondisi ini perlu diwaspadai karena sekitar 5-15% penderita ILTB dapat mengalami reaktivasi menjadi TBA (Singh dkk., 2024). Oleh karena itu, deteksi dini menjadi langkah yang sangat penting untuk mencegah perkembangan penyakit ini.

Metode diagnostik saat ini yang paling akurat untuk mendeteksi ILTB adalah *interferon-gamma release assay* (IGRA). Meskipun demikian, penerapan IGRA masih terbatas di banyak wilayah karena memerlukan tenaga medis terlatih serta prosedur yang cukup kompleks (WHO, 2022). Oleh karena keterbatasan tersebut, *tuberculin skin test* (TST) masih menjadi metode yang paling banyak digunakan, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Namun, metode ini menggunakan antigen *purified protein derivative* (PPD) yang memiliki keterbatasan dalam hal spesifisitas. Berdasarkan evaluasi kinerja diagnostik dengan PPD melalui pengukuran respons *interferon-gamma* (IFN- γ), menunjukkan bahwa antigen ini memiliki sensitivitas sebesar 82 %, tetapi spesifisitasnya rendah, yakni hanya 7 %. Rendahnya nilai tersebut disebabkan oleh komposisi antigen PPD yang terdiri dari

beberapa antigen *Mycobacterium*, termasuk kompleks *Mycobacterium (tuberculosis, bovis, dan africanum)*, *Mycobacterium* non-tuberkulosis (NTM), serta sub-strain vaksin *Mycobacterium bovis Bacille Calmette-Guérin* (BCG) (Pinxteren et al., 2000). Akibatnya, respons imun terhadap PPD sulit membedakan antara individu yang terinfeksi Mtb dengan yang telah divaksinasi BCG atau terpapar NTM. Hal ini menurunkan akurasi diagnosis, sehingga diperlukan pengembangan antigen dengan spesifisitas lebih tinggi terhadap Mtb (Dey et al., 2023; Mohammadnabi et al., 2024).

Berdasarkan keterbatasan tersebut, penelitian terbaru yang dilakukan oleh Xu et al. (2022) menunjukkan bahwa antigen *early secretory antigenic target-6* (ESAT6) dan *culture filter purified-10* (CFP10) memiliki sensitifitas yang tinggi. ESAT6-CFP10 (EC), yang berasal dari wilayah genom *region different-1* (RD1) menunjukkan keunggulan imunologis dibandingkan PPD. Hal ini karena EC diekspresikan secara eksklusif oleh Mtb dan tidak ditemukan pada strain vaksin BCG maupun sebagian besar NTM. Karakteristik ini secara signifikan mengurangi terjadinya reaksi silang seperti pada PPD. Melalui pengukuran IFN- γ , EC menunjukkan sensitivitas sebesar 73 %, dengan spesifisitas yang jauh lebih tinggi, yaitu 93 %. Meskipun sensitivitasnya sedikit lebih rendah dibandingkan PPD, tetapi peningkatan spesifisitas yang signifikan menjadikan EC lebih unggul dalam membedakan infeksi Mtb dari respons imun akibat vaksinasi BCG atau paparan dari NTM (Pinxteren et al., 2000; Xu et al., 2022). Dengan demikian, EC lebih tepat dan andal dalam mendiagnosis infeksi Mtb, terutama dalam peningkatan akurasi dan validitas diagnostik.

Pengantaran EC masih dilakukan menggunakan metode invasif dengan jarum suntik. Akan tetapi, hal tersebut sering menimbulkan ketidaknyamanan serta eritema atau indurasi yang besar (Carranza et al., 2020). Menanggapi permasalahan tersebut, beberapa penelitian sebelumnya telah membahas mengenai penggunaan *microneedle* (MN). MN dirancang sebagai metode pengantaran bahan terapeutik secara transdermal dan intradermal dengan cara non-invasif (Ramadon et al., 2023). Beberapa jenis MN telah dikembangkan, salah satunya *dissolving microneedle* (DMN) yang umumnya dibuat dalam bentuk DMN *patch* (DMNP). DMNP bekerja melalui mekanisme *poke and release*, dimana jarum-jarum mikron pada *patch* akan menembus lapisan stratum korneum (SC) tanpa mencapai ujung saraf atau pembuluh darah, sehingga memberikan sensasi nyeri yang minimal. Secara fisikokimia, DMNP yang tersusun dari polimer hidrofilik akan melarut setelah berinteraksi dengan cairan interstisial kulit, sehingga memungkinkan pelepasan dan pengantaran antigen ke lapisan epidermis (Liu et al., 2024).

EC yang telah terdistribusi di jaringan kulit akan ditangkap oleh *antigen-presenting cells* dan dipresentasikan kepada sel T *helper 1* (Th1), sehingga memicu respons imun seluler spesifik berupa sekresi sitokin proinflamasi, seperti IFN- γ . Peningkatan sitokin tersebut menginduksi aktivasi sel-sel imun menuju lokasi yang aplikasi DMNP, yang secara klinis termanifestasi sebagai reaksi lokal berupa indurasi atau eritema. Besaran respons lokal ini kemudian digunakan sebagai indikator diagnostik untuk menilai adanya respons imun spesifik terhadap antigen Mtb (Nguyen, 2025). Pada tahun 2019, Wang et al. melaporkan bahwa penggunaan DMNP untuk pengantaran antigen PPD pada diagnosis ILTB menghasilkan ukuran indurasi yang lebih kecil

dengan tingkat nyeri yang lebih minim dibandingkan dengan jarum suntik. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian berbasis jarum mikron dapat mencapai respons imun yang lebih unggul dengan dosis antigen yang lebih rendah dibandingkan dengan suntikan (Nguyen, 2025).

Dalam pengembangan formulasi DMNP, penentuan polimer merupakan faktor krusial yang perlu diperhatikan. Polimer yang digunakan harus stabil dan kompatibel dengan kulit karena material tersebut akan larut atau terdegradasi di dalam kulit (Setiawan dan Setiawan, 2024). Oleh karena itu, aspek keamanan perlu dipastikan untuk mencegah timbulnya reaksi merugikan pada kulit. Berbagai studi keamanan melaporkan sejumlah polimer dengan profil keamanan yang baik, salah satunya natrium hialuronat (HA) yang sebelumnya telah digunakan untuk pembuatan DMNP sebagai penghantar antigen PPD (Wang et al., 2019). Secara fisiologis, HA dikenali oleh jaringan kulit, sehingga aman digunakan sebagai material pembentuk DMNP. Studi DMNP dengan polimer HA menunjukkan kekuatan mekanik yang memadai untuk penetrasi, tanpa menimbulkan respons toksik atau iritasi signifikan. Sifat hidrofilik dari polimer ini juga mendukung pelarutan cepat dan meningkatkan hidrasi selama penghantaran transdermal (Chudzińska et al., 2024). Namun demikian, HA mudah terdegradasi sebagai polimer tunggal, sehingga berpotensi menghasilkan DMNP dengan stabilitas mekanik yang terbatas (Lewandowska, 2020).

Menanggapi keterbatasan tersebut, beberapa penelitian mengombinasikan HA dengan polimer lain yang lebih stabil, salah satunya polivinil pirolidon (PVP). PVP telah banyak dievaluasi sebagai biomaterial yang biokompatibel, non-toksik, dan stabil secara kimia, dengan hasil uji sitotoksitas yang menunjukkan profil keamanan yang baik. Selain itu, PVP mampu memperbaiki sifat permukaan tanpa memicu adhesi protein yang tidak diinginkan, sehingga sesuai untuk aplikasi biomaterial dan sistem penghantaran transdermal. Berdasarkan penelitian Albadr et al. (2022) dan Febrianti et al. (2024), kombinasi PVP dan HA mampu menghasilkan DMNP dengan karakteristik yang lebih unggul dibandingkan penggunaan polimer tunggal.

Secara fisik, gabungan kedua polimer ini meningkatkan kekuatan mekanik DMNP karena menghasilkan interaksi fisik berupa ikatan hidrogen antara gugus hidroksil (-OH) dari HA dan gugus karbonil (C=O) pada PVP. Ikatan tersebut menghasilkan struktur matriks polimer yang homogen dan stabil setelah pengeringan. Pada saat yang sama, karena ikatan hidrogen ini mudah diputus, DMNP akan cepat terdisolusi ketika bersentuhan dengan cairan interstisial kulit. Kombinasi dari polimer ini juga memungkinkan enkapsulasi bahan terapeutik secara efektif dengan meningkatkan permeabilitas penghantaran ke jaringan kulit (Albadr et al., 2022; Li et al., 2024). Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan formulasi *dissolving microneedle patch* (DMNP) yang optimal dari kombinasi polimer polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30) dan natrium hialuronat (HA) dalam menghantarkan antigen ESAT6-CFP10 (EC) serta mengevaluasi dan menginterpretasikan kinerja *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 (DMNP-EC) sebagai metode diagnostik untuk infeksi laten tuberkulosis (ILTb) melalui perbandingan dengan *dissolving microneedle patch purified protein derivative* (DMNP-PPD) secara *in vivo*. Dengan demikian, diagnosis ILTB memungkinkan hasil yang lebih akurat dan minim invasif.

1.2 Teori

1.2.1 Tuberkulosis (TB)

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) (Faiz dan Hadi, 2024). Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga dikenal dengan basil tahan asam (BTA) (Birroudhoh, 2024). Mtb dapat menyerang hampir semua organ tubuh manusia, tetapi sekitar 60-75% dari seluruh kasus terjadi di paru-paru. Paru-paru menjadi sumber utama kasus penularan TB, terutama melalui luka yang terbentuk di jaringan paru (Arliny, 2021). Selain paru-paru, bakteri ini juga bisa menyebar ke selaput paru, kelenjar getah bening, tulang, usus, kulit dan mata sehingga menyebabkan terjadinya TB ekstra paru (Angelia et al., 2020). Meskipun demikian, Mtb tidak dapat menginfeksi jaringan yang tidak memiliki pembuluh darah, seperti rambut dan kuku (Faiz dan Hadi, 2024).

Penularan TB terjadi secara aerogen, melalui inhalasi droplet berukuran 1-5 mikron yang membawa Mtb dan dapat tetap tersuspensi di udara selama beberapa jam setelah dikeluarkan oleh individu yang terinfeksi (Prados et al., 2024). Sekitar 4-12 minggu setelah terpapar Mtb, infeksi mulai meluas dan membentuk area peradangan awal yang disebut fokus primer ghon. Peradangan dapat menyebar ke kelenjar getah bening di sekitar paru melalui saluran limfe, menimbulkan limfangitis dan limfadenitis pada daerah hilus serta mediastinal. Gabungan antara fokus primer, peradangan pada saluran limfe dan kelenjar getah bening tersebut dikenal sebagai kompleks primer. Proses pembentukan kompleks primer ini berlangsung selama masa inkubasi, yaitu sekitar 2-12 minggu, umumnya 4-8 minggu. Pada periode ini, bakteri berkembang biak hingga mencapai jumlah yang cukup untuk merangsang respons imun seluler (Kaswandani et al., 2022). Setelah terinfeksi, individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah berisiko tinggi mengalami perkembangan cepat menuju TB aktif (TBA). Sementara itu, sebagian besar individu dengan sistem imun yang kuat mampu menekan pertumbuhan bakteri, sehingga infeksi tetap berada dalam kondisi dorman dan membentuk infeksi laten TB (ILTB) yang dapat bertahan dalam tubuh selama bertahun-tahun (Huang et al., 2025; Kaswandani et al., 2022).

1.2.2 Infeksi laten tuberkulosis (ILTB)

Infeksi laten tuberkulosis (ILTB) adalah suatu keadaan yang muncul pada orang terinfeksi bakteri Mtb yang tidak dapat dimusnahkan secara sempurna, tetapi dapat terkendali dengan baik oleh sistem imun sehingga tidak akan menimbulkan gejala dan bersifat tidak menular (Wibowo, 2023; Janssen et al., 2025). Kondisi ILTB ditandai dengan respons imun berkelanjutan terhadap antigen Mtb setelah infeksi, tanpa bukti klinis TBA, baik dari segi klinis, radiologis maupun patologis. Individu dengan ILTB berperan sebagai reservoir TB, membawa risiko seumur hidup sebesar 5-10% untuk mengembangkan TBA dan merupakan sumber utama kasus baru TBA paru (Huang et al., 2025). Individu dengan ILTB terlibat bugar dan mampu melakukan aktivitas sehari-hari. Namun, adanya kepekaan atau sensitisasi terhadap Mtb, sangat disarankan agar penderita menjaga sistem kekebalan tubuh mereka. Kelelahan dan stres dapat menurunkan kekebalan tubuh yang membuat gejala mirip TB (*flu like*

syndrome) lebih mudah muncul, misalnya remisi atau batuk berulang dan sesak nafas. Diharapkan pasien dengan ILTB tidak akan memiliki gangguan kronis yang dapat menyebabkan infeksi berikutnya dan meningkatkan pemicu aktivasi proinflamasi tambahan (Alhabsyi et al., 2024).

Dalam konteks ILTB, terdapat dua aspek penting yang menentukan perjalanan penyakit, yaitu risiko terinfeksi dan risiko progresi infeksi menjadi TBA. Risiko individu untuk terinfeksi *Mtb* bergantung pada faktor eksternal (eksogen), seperti tingkat penularan dari sumber infeksi, durasi kontak dengan penderita TBA, serta faktor lingkungan dan kebiasaan hidup seperti merokok, konsumsi alkohol dan paparan polusi di dalam ruangan. Meskipun ILTB tidak menular, perkembangan menjadi TBA sangat dipengaruhi oleh status imun penderita (Huang et al., 2025). Faktor-faktor yang meningkatkan progresi infeksi menjadi penyakit TB lebih dipengaruhi oleh faktor-faktor yang ada dalam tubuh penderita itu sendiri. Pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, terutama yang mengalami HIV/AIDS atau orang dengan HIV/AIDS (ODHA), malnutrisi, menjalani pengobatan kanker atau sedang menjalani dialisis, memiliki risiko progresi menjadi TBA yang lebih tinggi daripada mereka dengan sistem kekebalan tubuh normal (Birroudhoh, 2024). Selain itu, kontak dekat atau kontak serumah dengan pasien TBA juga berisiko tinggi terkena TBA. WHO mendefinisikan kontak erat atau kontak serumah dengan penderita TBA selama satu malam atau lebih, serta orang yang sering berinteraksi dengan penderita TB bahkan di luar rumah dalam kurun waktu 3 bulan sebelum penderita TB menjalani pengobatan (Faiz dan Hadi, 2024).

Beban ILTB di dunia saat ini diketahui sebanyak 1,7 juta kasus dengan sekitar 35% kasus berasal dari wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Wibowo, 2023). Pada dasarnya, strategi pemberantasan TB 2050 tidak akan tercapai apabila salah satu program, yaitu deteksi ILTB, tidak dilaksanakan sesuai anjuran. Secara global, deteksi ILTB masih belum memiliki data tunggal, tetapi telah terintegrasi dengan data diagnosis, pengobatan dan akses pencegahan TB yang mencapai 5,8 miliar (Faiz dan Hadi, 2024). WHO menyimpulkan bahwa tidak ada standar emas untuk diagnosis ILTB. Sebelum melakukan pengobatan dengan regimen ILTB, pasien yang dicurigai menderita ILTB harus dilakukan pemeriksaan untuk mendeteksi ILTB dengan menggunakan TST atau pemeriksaan IGRA (Wibowo, 2023). Baik TST maupun IGRA, secara tidak langsung mengidentifikasi infeksi TB, kedua tes tersebut dianggap dapat diterima tetapi tidak sempurna (Fortún dan Navas, 2022).

1.2.3 ESAT6-CFP10 (EC)

Early secreted antigen target (ESAT6) 6 kDa dan *culture filtrate protein* 10 kDa (CFP10) dikodekan oleh gen Rv3875 dan Rv3874, masing-masing (Passos et al., 2024). Gen-gen ini terletak di wilayah *region difference-1* (RD-1) genom *Mtb* virulen yang merupakan antigen sel T kuat yang dikenali pada lebih dari 70% pasien. Penemuan yang menarik adalah bahwa ESAT6 dan protein pasangannya, CFP10, mengikat erat satu sama lain dalam rasio 1:1 melalui interaksi hidrofobik dan *Van der Waals* untuk membentuk kompleks protein ESAT6-CFP10 (EC). Kedua protein mengadopsi struktur yang stabil dan terlipat penuh dalam kompleks, dengan sekitar

dua pertiga tulang punggung dalam konformasi heliks yang teratur. Pembentukan kompleks EC mengakibatkan perubahan struktural, peningkatan termodinamika dan stabilitas biokimia, serta hilangnya pengikatan pada membran fosfolipid. Ini menunjukkan bahwa EC aktif sebagai kompleks dan dapat memberikan beberapa keuntungan fungsional, termasuk kontrol yang lebih ketat terhadap aktivitas protein pengatur seperti faktor transkripsi, dan mekanisme umum untuk meningkatkan spesifisitas interaksi protein-protein dan protein-asam nukleat. Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa kombinasi antigen EC meningkatkan kinerja diagnostik pengujian dibandingkan dengan antigen tunggal (Ariffin et al., 2020).

Kombinasi ESAT6 dan CFP10 mengaktifkan neutrofil dan menginduksi Ca^{2+} pelepasan dari sel. Protein-protein ini krusial bagi patogenisitas dan pertumbuhan TB. Ketika TB menginfeksi makrofag, sel-sel ini mengeluarkan sitokin, termasuk $\text{TNF-}\alpha$, IL-12, IL-6, IL-1 α/β , dan IL-10, yang penting untuk mengendalikan infeksi. Protein EC mengganggu proses kematian sel terprogram (apoptosis) pada makrofag dan pematangan fagosom. Beberapa hari setelah menghindari pertahanan imun inang, TB berkembang biak dan menyebarkan infeksi ke seluruh tubuh. Studi menunjukkan bahwa ESAT6 membantu TB lolos dari fagositosis. EC secara khusus hanya diproduksi pada tahap awal infeksi. Protein-protein ini juga dapat menstimulasi produksi limfosit T sitotoksik sebagai respons terhadap produksi *interferon- γ* (IFN- γ) (Mohammadnabi et al., 2024).

Sekresi kompleks EC merupakan proses aktif menggunakan energi dari adenosin trifosfat (ATP) dengan bantuan kelompok gen seperti kompleks membran ATPase Rv3870 dan Rv3871 serta protein 4 transmembran Rv3877. Bagian fungsional kompleks ini secara teoritis pada proses sekresi adalah lengan C yang akan berikatan dengan kompleks membran CFP10 ATPase dan akan dibawa melewati membran sitoplasma oleh protein transmembran sehingga kompleks EC akan disekresikan oleh Mtb. Antigen EC berperan dalam imunopatogenesis TB sebagai komponen sinyal antar sel. Sifat permukaan kompleks ini tidak memungkinkan berperan dalam lisis sel karena bersifat seragam secara elektrostatis sehingga tidak mungkin membentuk mikropori pada membran sel. Kompleks ini juga tidak memiliki situs tempat terjadi aktivasi enzimatis sehingga tidak memiliki interaksi dengan asam nukleat. Ekspresi kedua protein ini secara signifikan menurun akibat internalisasi oleh makrofag sehingga diduga target protein dapat ditemukan pada permukaan makrofag (Mohammadnabi et al., 2024).

1.2.4 Purified protein derivative (PPD)

Purified protein derivative (PPD) merupakan campuran protein yang dimurnikan dari filtrat kultur *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) melalui proses pengendapan menggunakan asam trikloroasetat dan amonium sulfat. Preparasi ini terutama terdiri atas protein Mtb, disertai berbagai peptida, serta mengandung sejumlah kecil polisakarida, asam nukleat, dan lipid (Guo et al., 2023). Selama lebih dari setengah abad, PPD telah digunakan secara luas dalam diagnosis tuberkulosis (TB) dan studi epidemiologi, khususnya sebagai reagen *skin test in vivo* pada manusia maupun ternak (Achdiat et al., 2024).

Seiring perkembangan metode diagnostik, alternatif pengujian selain *skin test* mulai dikembangkan. Pada tahun 1990, tes diagnostik *in vitro* untuk infeksi *Mycobacterium bovis* pada sapi diperkenalkan berdasarkan deteksi *interferon-gamma* (IFN- γ) yang dilepaskan dari kultur darah utuh setelah stimulasi dengan PPD. Metode ini kemudian diadaptasi pada tahun 1994 untuk diagnosis infeksi Mtb dan *Mycobacterium avium* pada manusia, dengan tetap menggunakan antigen berbasis PPD. Preparasi PPD standar pertama, yang dikenal sebagai PPD-Standard, diproduksi pada tahun 1944 dan kemudian ditetapkan oleh WHO sebagai standar internasional tuberkulin. Oleh karena itu, seluruh formulasi PPD yang dikembangkan selanjutnya harus menunjukkan potensi yang setara dengan PPD-S (Achdiat et al., 2024). Namun, PPD mengandung berbagai antigen *Mycobacterium* yang bersifat tidak spesifik, karena beberapa di antaranya juga terdapat pada *Mycobacterium* patogen dalam kompleks *Mycobacterium*, *Mycobacterium* non-tuberkulosis (NTM), dan substrain vaksin *Bacille Calmette–Guérin* (BCG) (Pinxteren et al., 2000).

Meskipun *tuberculin skin test* (TST) berbasis PPD telah lama menjadi metode standar dalam identifikasi infeksi Mtb, tes ini memiliki keterbatasan utama dalam membedakan infeksi Mtb dari infeksi NTM maupun respons imun akibat vaksinasi BCG. Adanya antigen homolog dalam PPD menyebabkan tingginya angka positif palsu dan rendahnya spesifisitas TST. Keterbatasan inilah yang mendorong pengembangan metode imunodiagnostik yang lebih spesifik dan efektif untuk mendeteksi infeksi laten tuberkulosis (ILTb) (Guo et al., 2023).

1.2.5 Dissolving microneedle patch (DMNP)

Microneedle (MN) adalah tonjolan tusuk berukuran mikron ($<1000\ \mu\text{m}$), berbentuk kerucut, piramidal, atau multifaset yang menawarkan banyak keuntungan untuk penghantaran obat intradermal (Sartawi et al., 2022). MN dapat digunakan untuk mendeteksi, mendiagnosis, dan mengobati beberapa penyakit. Vaksin, nanopartikel, obat berat molekul tinggi atau rendah dari berbagai kategori, protein berat molekul tinggi, dan antibodi mudah dimuat ke dalam MN untuk mengirimkannya ke berbagai lapisan kulit (Kulkarni et al., 2022). Penggunaan MN menciptakan saluran sementara di lapisan luar kulit, sehingga melewati fungsi penghalang dan memungkinkan penghantaran berbagai senyawa terapeutik yang jika tidak demikian tidak akan mampu dihantarkan melalui jalur transdermal. Jarum MN yang pendek cukup untuk menembus stratum korneum (SC) tetapi tidak cukup jauh untuk mencapai ujung saraf di bawahnya. Oleh karena itu, penggunaan MN pada dasarnya bebas rasa sakit. Hal ini menghasilkan peningkatan kepatuhan pasien, terutama pada kasus penderita *trypanophobia* (Sartawi et al., 2022). MN yang baik harus memiliki biokompatibilitas yang baik, kekuatan mekanik yang tinggi dan biaya produksi yang rendah. MN diklasifikasikan sebagai *solid microneedles*, *coated microneedles*, *hollow microneedles*, *hydrogel* dan *dissolving microneedles* (Yu et al., 2023).

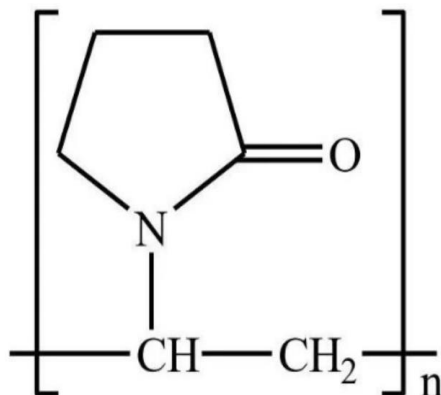
Dissolving microneedle patch (DMNP) adalah sistem penghantaran obat yang menggunakan material matriks polimer yang dapat terurai secara hayati. MN yang larut secara tradisional dibuat dengan enkapsulasi obat ke dalam polimer yang dapat

terurai secara alami. Setelah menembus SC, polimer yang membentuk arsitektur jarum larut dan melepaskan obat yang terperangkap (Sartawi et al., 2023). Dibandingkan dengan *solid microneedles*, *coated microneedles*, *hollow microneedles* dan *hydrogel*, DMNP memiliki keunggulan yaitu (Luo et al., 2024):

1. dapat larut secara cepat di dalam cairan interstisial kulit, sehingga durasi perawatan menjadi lebih singkat.
2. praktis dan mampu meningkatkan kepatuhan pasien terhadap terapi.
3. tidak meninggalkan limbah tajam berbahaya pada kulit, meminimalkan kerusakan jaringan, serta meningkatkan keselamatan penggunaan.
4. risiko pLenularan infeksi melalui darah maupun terjadinya kontaminasi silang dapat diminimalkan.
5. akurasi dosis obat lebih terjamin karena ujung jarum mikro tidak mencapai lapisan basal kulit.
6. profil pelepasan obat dapat dikendalikan melalui pengaturan kecepatan disolusi material jarum mikro.
7. prosedur pembuatannya relatif mudah dan membutuhkan biaya yang rendah.

Bahan polimer yang digunakan untuk pembuatan jarum mikro terlarut terutama diklasifikasikan menjadi bahan polimer alami (termasuk natrium hialuronat, kondroitin sulfat, karboksimetil selulosa, natrium alginat, dekstran dan maltosa) dan bahan polimer sintesis (seperti polivinilpirolidon, poli(vinilpirolidon)-co-asam metakrilat) dan polimer termasuk asam polilaktat, asam poliglikolat, dan poli(vinilpirolidon-co-asam metakrilat) (Luo et al., 2024). Adapun metode umum untuk mempersiapkan DMNP meliputi metode *micromolding/solvent casting*, *droplet-born air-blowing*, *litografi sentrifugal* dan metode *litografi drawing*. Metode *micromolding* paling umum digunakan dan kini banyak dimanfaatkan sebagai alternatif teknik litografi. Metode ini dianggap lebih efisien, sederhana, serta hemat waktu, sehingga sangat cocok untuk produksi dalam skala besar dan lebih ekonomis (Dave et al., 2024).

1.2.6 Polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30)



Gambar 1. Rumus kimia polivinil pirolidon (Rymuszka et al., 2017)

Polivinil pirolidon (PVP) merupakan hasil dari polimerasi 1-vinyl-2-pyrrolidimone. PVP juga disebut polividon atau povidon. Senyawa ini bersifat *inert*, tidak beracun,

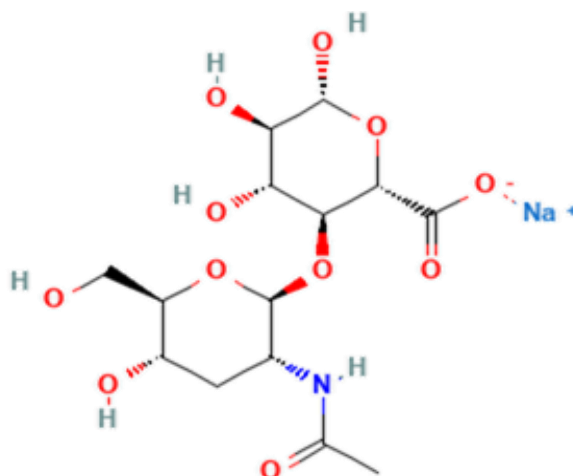
termostabil, stabil pH, biokompatibel, biodegradabel dan membantu enkapsulasi obat hidrofilik dan lipofilik, sehingga keamanannya diakui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (FDA) (Franco dan Marco, 2020; Ramadon et al., 2023). Polimer hidrofilik ini memiliki kelarutan yang sangat baik dalam pelarut dengan polaritas berbeda, sifat pengikatan yang baik, dan efek stabilisasi untuk suspensi dan emulsi. Hingga saat ini, PVP telah digunakan di bidang farmasi dan biomedis untuk mengembangkan berbagai sistem penghantaran obat, seperti pemberian oral, topikal, transdermal, dan okular. (Franco dan Marco, 2020).

PVP paling sering digunakan untuk mengembangkan *patch* transdermal. Berbagai morfologi yang menggunakan PVP sebagai bahan baku polimer telah diusulkan untuk penghantaran obat. PVP memungkinkan pelepasan obat yang terkontrol, meningkatkan bioavailabilitas obat yang sulit larut dalam air, melindungi senyawa aktif dari agen eksternal seperti pH, suhu dan juga oksigen, serta dapat menutupi bau dan rasa yang tidak sedap. Banyak senyawa aktif dari berbagai kategori telah diintegrasikan ke dalam mikropartikel dan nanopartikel PVP. Partikel berbasis PVP telah diproduksi dengan berbagai teknologi, dari yang paling tradisional hingga yang lebih inovatif. PVP umumnya digunakan sendiri, sementara campuran PVP dengan polimer lain hanya diusulkan untuk menghasilkan partikel bermuatan obat (Franco dan Marco, 2020).

Berbagai jenis PVP dengan berat molekul yang berbeda-beda diklasifikasikan berdasarkan nilai K-nya, yaitu parameter viskositas yang mencerminkan berat molekul polimer. Nilai K yang lebih tinggi menunjukkan berat molekul PVP yang lebih besar, misalnya K-12 (3,100-5,700 Dalton), K-17 (7,900-10,800 Dalton), K-25 (23,000-32,000 Dalton), K-30 (35,000-51,000) dan K-90 (900,000-1,300,000 Dalton). Secara umum, untuk polimer hidrofilik seperti PVP, viskositas meningkat sementara kelarutan menurun dengan meningkatkan berat molekul polimer. Hasil uji disolusi membuktikan bahwa tidak hanya kelarutan PVP memiliki pengaruh positif pada tekanan osmotik dan disolusi obat, tetapi juga viskositas sangat mempengaruhi pelepasan obat yang sukar larut dalam air. Viskositas yang terlalu rendah tidak memungkinkan suspensi obat yang diinginkan di dalam matriks polimer, sehingga menjelaskan laju pelepasan yang lebih tinggi yang dihasilkan oleh PVP-K90 dibandingkan dengan PVP K-25. PVP K-30 terbukti merupakan komponen yang baik dalam hal kelarutan dan juga viskositas, sehingga lebih cocok digunakan untuk memproduksi tablet osmotik dengan pelepasan obat terkontrol dalam waktu 24 jam (Franco dan Marco, 2020).

Penggunaan variasi PVP K-30 sebagai pengikat pada pembuatan tablet dapat menghasilkan tablet yang mempunyai kekerasan cukup, kerapuhan yang rendah dan waktu hancur lama (Rina et al., 2023). Menurut Rowe et al. pada tahun 2009, konsentrasi penggunaan PVP yang baik sebagai bahan pengikat yaitu 0,5-5%. Penggunaan bahan pengikat PVP memiliki keunggulan dibandingkan dengan penggunaan bahan pengikat lain (Rahmatullah et al., 2023). PVP sebagai bahan pengikat dapat memiliki sifat alir yang baik sehingga menghasilkan kekompakan pada sediaan, bersifat *inert* dan stabil, ketersediaan hayati dan PVP tidak berbau dan tidak memiliki rasa (Safitri et al., 2024).

1.2.7 Natrium hialuronat (HA)



Gambar 2. Rumus kimia natrium hialuronat (NCBI, 2025)

Natrium hialuronat (HA) adalah polisakarida yang terdiri dari asam d-glukuronat dan N-asetilglukosamin. HA memiliki sifat-sifat menarik seperti biodegradabilitas, non-toksitas terhadap organisme hidup, kelarutan dalam larutan air, bioaktivitas, dan biokompatibilitas, yang telah meningkatkan minat terhadap potensi penggunaan material ini dalam bidang medis dan kosmetik, misalnya, dalam bidang rekayasa jaringan, aplikasi dalam penyembuhan luka, penghantaran obat, kulit buatan, dan sebagai bahan dalam kosmetik yang memberikan efek anti-penuaan dan kelembapan pada kulit (Lewandowska, 2020; Truong et al., 2022).

HA umumnya digunakan sebagai biomaterial untuk berbagai aplikasi, termasuk produksi MN. Karakteristik terpenting yang membuat HA sering digunakan untuk *microneedling* adalah biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan daya tahannya yang tinggi, serta toksisitasnya yang kecil. Selain itu, dibandingkan dengan polisakarida umum lainnya (misalnya, kitin, kitosan, dan alginat), HA merupakan komponen ekstraseluler utama jaringan ikat yang berperan penting dalam pelumasan, diferensiasi sel, dan proliferasi. Struktur rantai utama senyawa ini mengandung gugus fungsi, seperti karboksilat dan hidroksil yang dapat digunakan untuk menambahkan gugus fungsi lain atau untuk mengikat silang hidrogen. Sifat mekanis HA yang unik memungkinkannya mempertahankan hidrasi jaringan yang menguntungkan infiltrasi sel (Chudzińska et al., 2024). Akan tetapi, HA mudah terdegradasi dan stabilitas mekanisnya buruk. Sehingga untuk meningkatkan struktur dan sifat polimernya, HA dicampurkan dengan komponen lain seperti protein, polisakarida, polimer sintetik, hidroksiapatit, nanofiller, dan senyawa anorganik dan/atau organik (Lewandowska, 2020).

HA biasa digunakan dalam pembuatan kosmetik yang berperan sebagai agen pelembap. Selain itu, MN berbasis HA dapat diperkaya dengan zat aktif tambahan, yang akan memberikan efek menguntungkan pada penampilan dan kondisi kulit. MN ini juga digunakan untuk mengobati penyakit kulit seperti psoriasis, melasma, dan luka. MN berbasis HA mulai digunakan untuk penghantaran obat dalam terapi

kanker. Di sisi lain, MN berbasis alginat dan HA, yang diproduksi dengan teknik cetak mikro, dapat digunakan untuk penghantaran insulin transdermal pada diabetes tipe 1. MN ini menunjukkan kekuatan mekanis yang cukup untuk penetrasi kulit, serta kemampuan degradabilitas yang baik (Chudzińska et al., 2024).

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah penelitian ini, yaitu:

1. bagaimana pengembangan dan formulasi *dissolving microneedle patch* (DMNP) yang optimal dari kombinasi polimer polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30) dan natrium hialuronat (HA) dalam memuat antigen ESAT6-CFP10 (EC) dan *purified protein derivative* (PPD)?
2. bagaimana hasil evaluasi dan interpretasi penggunaan *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 (DMNP-EC) sebagai metode diagnostik infeksi laten tuberkulosis (ILTB) melalui perbandingan dengan *dissolving microneedle patch purified protein derivative* (DMNP-PPD)?
3. bagaimana pengaruh pemberian *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 (DMNP-EC) terhadap kadar IFN- γ sebagai penanda respons imun pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) melalui perbandingan dengan *dissolving microneedle patch purified protein derivative* (DMNP-PPD)?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. mengembangkan dan memperoleh formulasi *dissolving microneedle patch* (DMNP) yang optimal dari kombinasi polimer polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30) dan natrium hialuronat (HA) yang memuat antigen ESAT6-CFP10 (EC) dan *purified protein derivative* (PPD).
2. mengevaluasi dan menginterpretasi hasil penggunaan *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 (DMNP-EC) sebagai metode diagnostik infeksi laten tuberkulosis (ILTB).
3. menganalisis pengaruh pemberian *dissolving microneedle patch* ESAT6-CFP10 (DMNP-EC) terhadap kadar interferon gamma (IFN- γ) sebagai penanda respons imun pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam menambah literatur ilmiah mengenai penggunaan polimer dalam pembuatan DMNP. Selain itu, penelitian ini juga memberikan wawasan baru terkait potensi DMNP-EC sebagai metode diagnostik ILTB, sehingga dapat menjadi alternatif dalam menghadapi permasalahan kesalahan diagnosis serta ketidaknyamanan dari metode pemberian sebelumnya.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ESAT6-CFP10 (EC) Rekom Biotech S.L., *purified protein derivative* (PPD) PT Biofarma, polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30) Sigma-Aldrich®, natrium hialuronat (HA) (50-80 kDa) Sigma-Aldrich®, akuades Waterone®, parafilm Parafilm M®, *phosphate buffered saline* (PBS) Sigma-Aldrich®, plastik *wrap* Klin Pak®, kit pencukur bulu Veet®, mencit (*Mus musculus strain BALB/c*), bakteri Mtb H37Rv ATCC® 27294™, vaksin BCG Danish 1331 SSI® dan *tissue* Nice®.

2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia Iwaki®, pengaduk Pyrex®, spatula Pyrex®, spuit OneMad®, *centrifuge* Z206 A Hermle®, cetakan *polydimethylsiloxane* (PDMS) Mpatch™ Microneedle Template, mikropipet Biozym PreCision®, mikroskop cahaya CX23 Olympus®, neraca analitik Sartorius®, *microcentrifuge* 5415R Eppendorf®, *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) 4 *plate reader* Bioassay Technology Laboratory®, *vortex mixer* Thermolyne Maxi Mix®, *shaker thermostat* Unimax 1010 Heidolph®, multichannel pipet Dragonlab® dan jangka sorong vernier caliper dari Mitutoyo®.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental pada bulan April hingga Juli 2024 di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) *Biosafety Level 3* (BSL-3).

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Formulasi DMNP-EC dan DMNP-PPD

Pembuatan *dissolving microneedle patch* (DMNP) dilakukan menggunakan cetakan silikon *polydimethylsiloxane* (PDMS) untuk membentuk susunan jarum mikro polimer 10x10 dengan ketinggian jarum piramidal 700 µm. Polimer polivinil pirolidon K-30 (PVP K-30) ditimbang sebanyak 7,5 g ke dalam gelas kimia. Setelah itu, ditambahkan 2,4 g natrium hialuronat (HA) ke dalam gelas kimia yang sama. Selanjutnya, polimer dilarutkan dengan akuades sesuai formulasi dan diaduk hingga homogen. Campuran ditambahkan antigen ESAT6-CFP10 (EC) atau *purified protein derivative* (PPD) pada berbagai konsentrasi (Tabel 1 dan Tabel 2), lalu dituangkan ke dalam cetakan PDMS dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Selanjutnya, dikeringkan selama 24 jam pada suhu ruangan (28 ± 2 °C) dan dilakukan pengeringan tambahan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah kering, DMNP

dikeluarkan dari cetakan. Tampilan fisik DMNP dievaluasi dengan mikroskop cahaya dan dilanjutkan dengan uji karakteristik fisik. Prosedur yang sama dilakukan untuk konsentrasi lainnya (Albadr et al., 2022; Ramadon et al., 2023; Febrianti et al., 2024).

Tabel 1. Rancangan formula DMNP-EC

Formula	Komposisi/100 patch; 0,3 g/patch			
	EC (µL)	PVP K-30 (g)	HA (g)	Akuades (g)
F1	20	7,5	2,4	20,098
F2	40	7,5	2,4	20,096
F3	60	7,5	2,4	20,094

Tabel 2. Rancangan formula DMNP-PPD

Formula	Komposisi/100 patch; 0,3 g/patch			
	PPD (µL)	PVP K-30 (g)	HA (g)	Akuades (g)
F1	20	7,5	2,4	20,098
F2	40	7,5	2,4	20,096
F3	60	7,5	2,4	20,094

2.4.2 Karakterisasi DMNP-EC dan DMNP-PPD

Uji kekuatan mekanik. Pengujian kekuatan mekanik DMNP dilakukan dengan metode uji kompresi untuk memastikan kekuatan struktural DMNP memadai tanpa patah, sehingga mendukung pelepasan antigen di jaringan kulit. Delapan lapisan parafilm disusun secara bertumpuk sebagai model lapisan kulit, kemudian DMNP ditempatkan secara tegak lurus di atas permukaan parafilm. DMNP diberikan tekan sebesar 32 N selama 30 detik untuk mensimulasikan tekanan aplikasi pada kulit. Setelah perlakuan, DMNP diangkat secara hati-hati dan tinggi jarum diukur sebelum dan sesudah pengujian menggunakan mikroskop cahaya. Persentase pengurangan tinggi jarum dihitung menggunakan Persamaan (1) (Ramadon et al., 2023):

$$\text{Pengurangan Tinggi Jarum} = \frac{\text{Hb}-\text{Ha}}{\text{Hb}} \times 100\% \quad (1)$$

dimana:

Hb = Tinggi jarum sebelum kompresi (µm)

Ha = Tinggi jarum sesudah kompresi (µm)

Uji penetrasi. Uji penetrasi dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan DMNP dalam menembus stratum korneum (SC) secara efektif. Efisiensi penetrasi diuji menggunakan lembaran parafilm sebagai model kulit buatan. DMNP ditempatkan secara tegak lurus pada delapan lapisan parafilm. Selanjutnya, DMNP diberikan gaya tekan sebesar 32 N selama 30 detik. Setelah pengujian, setiap lapisan parafilm diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk mengidentifikasi adanya lubang penetrasi. Jumlah lubang pada masing-masing lapisan dicatat dan ditentukan lapisan terdalam yang dapat ditembus DMNP, sebagai parameter kemampuan penetrasi (Albadr et al., 2022; Al-Japairai et al., 2025). Persentase penetrasi dihitung menggunakan Persamaan (2) sesuai metode Ramadon et al. (2023):

$$\% \text{Lubang dari Parafilm} = \frac{\text{Jumlah lubang yang diamati}}{\text{Jumlah lubang keseluruhan}} \times 100\% \quad (2)$$

2.4.3 Uji waktu melarut

Uji waktu melarut dilakukan untuk menentukan durasi DMNP dapat larut dalam tubuh. Waktu yang dibutuhkan untuk melarutkan susunan DMNP ditentukan menggunakan kulit mencit yang sebelumnya telah dicukur menggunakan krim penghilang bulu. Kulit yang telah bersih dihidrasi menggunakan larutan *phosphate buffered saline* (PBS) pada suhu 37 °C selama 2 jam. Selanjutnya, kulit dikeringkan dengan hati-hati menggunakan tisu bersih. DMNP diletakkan di atas kulit mencit dan diberikan beban 5 g untuk mengetahui durasi yang dibutuhkan DMNP untuk larut sempurna (Albadr et al., 2022; Syafikah et al., 2023). Setelah itu, susunan DMNP diamati menggunakan mikroskop pada waktu 0 menit, 0.5 menit, 1 menit, 3 menit, 5 menit, dan 7 menit setelah diaplikasikan. Diukur dan dicatat tinggi DMNP sebelum dan sesudah penyisihan (Albadr et al., 2022).

2.4.4 Uji *in vivo*

Penginfeksian hewan uji. Pada penelitian ini digunakan hewan uji berupa mencit jantan (*Mus musculus*) berusia 6-8 minggu dengan berat badan 20-25 g. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin nomor UH24050344. Hewan uji terdiri dari 18 ekor mencit yang dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu mencit sehat, mencit yang telah divaksinasi BCG, dan mencit model ILTB. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Pada kelompok hewan uji model ILTB dilakukan penginfeksian Mtb strain H37Rv melalui injeksi intravena pada ekor mencit dan diinkubasi selama 2 pekan. Sebelum digunakan, bakteri Mtb H37Rv dikultur pada media *Lowenstein-Jensen* selama 7 pekan (Liang et al., 2023). Selanjutnya, dilakukan uji histopatologi untuk memvalidasi pembentukan hewan model ILTB dan mengeksklusi kemungkinan terjadinya tuberkulosis aktif (TBA) (Harirzadeh et al., 2019; Djannah et al., 2022). Pada kelompok hewan uji tervaksinasi, diberikan vaksin BCG Danish 1331 dengan dosis 1×10^6 CFU secara subkutan di pangkal ekor (Nieuwenhuizen et al., 2021).

Tabel 3. Pembuatan kelompok hewan uji

Ket.	Kelompok Mencit		
	Sehat	Divaksin BCG	Model ILTB
Perlakuan	-	Diberikan vaksin BCG Danish 1331 dengan dosis 1×10^6 CFU	Diinfeksi dengan Mtb strain H37Rv dan diinkubasi selama 2 pekan

Interpretasi hasil diagnosis DMNP-EC dan DMNP-PPD. Interpretasi dari hasil diagnosis dilakukan terhadap masing-masing kelompok hewan uji. Setiap kelompok yang terdiri dari 6 ekor mencit diberikan dua perlakuan berbeda. 3 ekor di setiap kelompok untuk interpretasi DMNP-EC dan 3 ekor lainnya untuk interpretasi DMNP-PPD. Uji dilakukan dengan menempelkan DMNP-EC atau DMNP-PPD pada kulit mencit selama 10 menit. *Patch* dilepas setelah 48-72 jam pengaplikasian dan diamati respons pada kulit. Hasil diagnosis ditentukan berdasarkan pengukuran diameter indurasi menggunakan jangka sorong (Wang et al., 2019).

Pengukuran kadar *biomarker* inflamasi terhadap hewan uji. Pengukuran biomarker inflamasi *interferon-gamma* (IFN- γ) dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Sampel darah mencit yang diambil sesuai dengan prosedur etik penggunaan hewan uji. Antibodi anti-IFN- γ yang ada pada *wells plate* ELISA akan bereaksi dengan antigen IFN- γ dari serum hewan uji. Kemudian, antibodi sekunder yang dikonjugasi dengan enzim ditambahkan, di mana antibodi sekunder ini akan berinteraksi dan mengenali antibodi primer yang sudah terikat pada antigen. Selanjutnya, substrat ditambahkan untuk memicu reaksi perubahan warna pada *wells* setelah masa inkubasi selama satu jam. Hasilnya kemudian dibaca menggunakan *ELISA plate reader* (Alhajj et al., 2023).