



Online: <https://jurnal.fk.uisu.ac.id/index.php/ibnusina>

Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara

ISSN 1411-9986 (Print) | ISSN 2614-2996 (Online)



Artikel Penelitian

## KADAR INTERFERON GAMMA (IFN- $\gamma$ ) MIKROENKAPSULASI MSC-CD34<sup>+</sup> DENGAN COATING: STUDI PRELIMINARI TERAPI SELULER MDR-TB

### INTERFERON GAMMA LEVELS (IFN- $\gamma$ ) OF MICROENCAPSULATED MSC-CD34<sup>+</sup> WITH COATING: PRELIMINARY STUDY OF MDR-TB CELLULAR THERAPY

Karina Mutiarani Halawa<sup>a</sup>, Ervina Julien Sitanggang<sup>a</sup>, Runggu Retno J. Napitupulu<sup>a</sup>, Christine Verawaty Sibuea<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen, Jl. Sutomo No.4A, Medan, 20235, Indonesia

#### Histori Artikel

Diterima:  
23 Februari 2024

Revisi:  
3 April 2024

Terbit:  
1 Juli 2024

#### ABSTRAK

*Multidrug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) merupakan kondisi di mana pasien tuberkulosis resistan terhadap minimal dua jenis obat anti tuberkulosis. Pasien MDR-TB sering mengalami efek samping sehingga terapi alternatif perlu dipikirkan. Mesenchymal stem cell (MSC) dan sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dianggap sebagai alternatif potensial. MSC memiliki sifat imunomodulator, sedangkan CD34<sup>+</sup> meningkatkan angiogenesis. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) merupakan sitokin proinflamasi yang berperan dalam regulasi imunitas tubuh. Penggunaan coating dengan lisat konsentrat trombosit dan mikroenkapsulasi dapat meningkatkan efektivitas terapi. Penelitian ini bertujuan mengetahui rerata kadar IFN- $\gamma$  pada medium kultur mikroenkapsulasi MSC dan CD34<sup>+</sup> dengan coating lisat trombosit. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional. Sampel MSC dan CD34<sup>+</sup> yang digunakan masing-masing berasal dari tali pusat dan darah asal tali pusat bayi baru lahir. Kadar IFN- $\gamma$  diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 450nm. Hasil penelitian menunjukkan kadar IFN- $\gamma$  yang disekresikan pada hari ke-2 berjumlah 0,0597 pg/mL, mengalami penurunan pada hari ke-7 dan hari ke-14, kemudian meningkat pada hari ke-21 sebanyak 2,7337 pg/mL.*

#### Kata Kunci

Multidrug Resistant Tuberculosis, Mesenchymal Stem Cell, CD34<sup>+</sup>, Coating, Mikroenkapsulasi

#### ABSTRACT

*MDR-TB refers to a clinical state wherein individuals afflicted with tuberculosis exhibit resistance to a minimum of two distinct classes of anti-tuberculosis medications. Patients with MDR-TB frequently encounter adverse effects; therefore, alternate treatment options must be investigated. Potential options include CD34<sup>+</sup> hematopoietic stem cells and mesenchymal stem cells (MSCs). MSCs exhibit immunomodulatory characteristics, whereas CD34<sup>+</sup> promotes angiogenesis. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) is a cytokine with proinflammatory properties that is involved in the modulation of the immune system. Microencapsulation and coatings containing platelet concentrate lysate have the potential to enhance the efficacy of treatment. The objective of this research endeavor is to ascertain the mean levels of IFN- $\gamma$  in microencapsulated culture media containing platelet lysate and CD34<sup>+</sup> cells. This research was descriptive and observational in nature. The MSC and CD34<sup>+</sup> samples utilized originated from the umbilical cord and neonatal cord blood, respectively. The concentrations of IFN- $\gamma$  were determined with a spectrophotometer set at 450 nanometers. The findings indicated that IFN- $\gamma$  secretion peaked on day 2 at 0.0597 pg/mL, declined on days 7 and 14, and then rose by 2.7337 pg/mL on day 21.*

#### Korespondensi

Tel.  
08122419449  
Email:  
ervinajulien@uhn.ac.id

## PENDAHULUAN

*Multidrug Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) adalah keadaan tubuh pasien penderita tuberkulosis resistan terhadap setidaknya 2 jenis Obat Anti Tuberkulosis (OAT) yaitu rifampisin dan isoniazid. Kasus MDR-TB di dunia meningkat setiap tahun. World Health Organization (WHO) memperkirakan terdapat 450.000 kasus MDR-TB dengan angka kematian sebesar 191.000 orang di seluruh dunia pada tahun 2021. Jumlah ini meningkat sebesar 3,1% dari tahun 2020 dengan jumlah 437.000 kasus. Angka penderita MDR-TB sebanyak 206.030 kasus pada tahun 2019 dan sebanyak 186.883 kasus pada tahun 2018.<sup>1</sup>

Indonesia merupakan salah satu dari 10 negara dengan kejadian MDR-TB tertinggi di dunia. Insiden MDR-TB di Indonesia pada tahun 2017 berjumlah 12.000 kasus, terjadi peningkatan di tahun 2018 dengan jumlah 24.000 kasus. Berdasarkan data rekam medis RSUP Haji Adam Malik Medan ditemukan jumlah kasus MDR-TB pada tahun 2019 sebanyak 385 kasus, pada tahun 2021 sebanyak 202 kasus dan pada tahun 2022 mengalami peningkatan sebanyak 492 kasus.<sup>2</sup>

Sebagian besar pasien MDR-TB mengalami efek samping selama minum OAT. Efek samping yang paling sering dirasakan pasien selama terapi adalah mual, muntah, gangguan tidur, perubahan warna di kulit, gangguan jantung, nyeri badan, pusing, nyeri pada bekas injeksi, keringat berwarna coklat dan rasa gelisah.<sup>3</sup> Berbagai efek samping yang dialami oleh pasien tersebut menyebabkan dibutuhkan strategi baru mengembangkan terapi non-antibiotik alternatif untuk membasmi

patogen infeksius. Terapi alternatif MDR-TB dengan toksisitas yang lebih rendah, durasi pengobatan yang tidak lama serta harga yang ekonomis sangat penting untuk ditemukan.<sup>4</sup>

Terapi menggunakan sel punca mesenkimal dan sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dipikirkan sebagai alternatif dalam pengobatan MDR-TB. *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) merupakan sel stroma yang multipoten dan banyak ditemukan di jaringan tubuh, seperti di sumsum tulang, plasenta, jaringan lemak, timus, jaringan tali pusat dan sebagainya. MSC mempunyai kemampuan untuk diferensiasi menghasilkan banyak sel, regenerasi jaringan yang tinggi, dan merangsang neoangiogenesis. MSC menghasilkan faktor anti mikroba untuk menyingkirkan *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) melalui sekresi sitokin imunomodulator dan anti inflamasi serta memicu respons imun bawaan sehingga dapat memulihkan epitel paru yang rusak.<sup>4</sup> CD34<sup>+</sup> merupakan salah satu protein penanda permukaan yang umum dari sel punca hematopoietik. CD34<sup>+</sup> memiliki kemampuan dalam meningkatkan angiogenesis dan meningkatkan perbaikan jaringan vaskular. Interaksi CD34<sup>+</sup> dengan M.tb akan meningkatkan sekresi sitokin anti inflamasi dan memberikan efek terapeutik pada organ paru yang telah terinfeksi.<sup>5</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Shigemoto dkk pada tahun 2017 menyatakan bahwa sifat imunomodulator MSC berperan terhadap penyakit diabetes tipe 1 dengan menghambat proses inflamasi pada sel Langerhans dan meningkatkan kadar insulin plasma sehingga dapat menunda onset terjadinya diabetes.<sup>6</sup> Penelitian Marvasti dkk

juga mengungkapkan jika CD34<sup>+</sup> berperan dalam pengobatan infark miokard dengan menstimulasi angiogenesis untuk perbaikan jaringan sehingga dapat meningkatkan fungsi jantung.<sup>7</sup> Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya terdapat kesamaan bahwa MSC dan CD34<sup>+</sup> terbukti memiliki efek terapi terhadap berbagai penyakit.

Interferon merupakan salah satu sitokin proinflamasi MSC untuk menjaga imunitas tubuh<sup>4</sup>. Interferon dapat memengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi CD34<sup>+</sup>. Interferon terbagi atas 3 jenis, yaitu IFN tipe I (- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\kappa$ , - $\epsilon$ , - $\omega$ , - $\tau$ ), tipe II (- $\gamma$ ) dan tipe III (- $\lambda$ 1-4, - $\lambda$ 1-3). IFN- $\gamma$  berperan penting dalam respons imun karena dapat mempengaruhi semua aspek penting dimulai dari aktivasi sel fagositik, antara lain mengaktifkan makrofag dan menariknya ke tempat infeksi, menghasilkan oksida nitrat (NO) yang berperan penting dalam apoptosis makrofag, serta penginduksi dalam sel sintesis protein kompleks histokompatibilitas kelas kedua (MHC kelas II). Dengan demikian, IFN- $\gamma$  merupakan regulator utama respons imun terhadap infeksi yang disebabkan oleh tuberkulosis.<sup>8</sup>

Lisat trombosit mengandung *growth factors*, sitokin, dan sistem regulator yang terlibat dalam sebagian besar fungsi sel dalam sistem endokrin, parakrin, autokrin, dan intrakrin. *Growth factors* dan sitokin yang terkandung dalam lisat trombosit antara lain PDGF, TGF ( $\alpha$ - $\beta$ ), VEGF, EGF, FGF, CTGF, IGF-1, HGF, KGF, Ang-1, PF4, SDF-1 $\alpha$ , dan TNF.<sup>9</sup> Sebuah penelitian menunjukkan bahwa

MSC yang dikultur dengan lisat trombosit memiliki viabilitas yang tinggi.<sup>10</sup> Mikroenkapsulasi didefinisikan sebagai teknik untuk melindungi padatan, cairan, dan gas dalam kapsul kecil yang melepaskan isinya dengan laju yang terkendali dalam jangka waktu yang lama. Teknik mikroenkapsulasi memiliki potensi untuk meningkatkan fungsi imunomodulator dari MSC.<sup>11</sup> Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui kadar IFN- $\gamma$  untuk sediaan mikroenkapsulasi MSC dan CD34<sup>+</sup> dengan *coating*.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan metode pengambilan data primer yang diukur langsung oleh peneliti.

### Isolasi Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>

Sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> diisolasi dari darah tali pusat bayi baru lahir dengan menggunakan larutan Ficoll-Hypaque seperti pada penelitian sebelumnya. Darah tali pusat dan larutan Ficoll-Hypaque disentrifugasi hingga memperoleh *buffy coat* dan dilanjutkan dengan pencucian secara bertahap dengan menggunakan PBS. Pemisahan sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dilakukan dengan menggunakan kit isolasi EasySep (Stem Cell Technologies, Cat. 17856) sesuai dengan protokol produsen kit. Suspensi disentrifugasi dan pellet diresuspensi dengan medium kultur RPMI. Penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan *trypan blue* dan kemurnian sel

punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dianalisis dengan menggunakan flowsitometer.

### **Kultur MSC**

Kriopreservasi MSC 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, CD90, dan CD73 dilakukan untuk menganalisis kemurnian sel punca mesenkimal berdasarkan kriteria International Society Cell and Gene Therapy terhadap CD105, CD90, dan CD73. Sel punca mesenkimal diinkubasi dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub> pada suhu 37<sup>0</sup>C, dipanen dengan TrypLE Select (Gibco, Cat. 50-591-419) ketika konfluens 70 – 80 % dan disubkultur dalam T *flask* dengan densitas 5000 sel/cm<sup>2</sup>. Jumlah sel viabel dihitung dengan *trypan blue exclusion test*.

### **Mikroenkapsulasi MSC dan Sel Punca Hematopoietik CD34<sup>+</sup>**

Suspensi 1.600.000 MSC dalam 0,5 mL medium kultur MSC dan suspensi 800.000 sel punca hematopoietik dalam 0,25 mL medium kultur CD34<sup>+</sup>, dicampur dalam tabung 1,5 mL. Total larutan sel adalah 0,75 mL dengan jumlah 12.000.000 sel punca. 3 mL larutan alginat 1,8% dicampurkan dengan 0,75 mL larutan yang berisi 12.000.000 sel punca. Larutan alginat 1,8% dan suspensi sel diteteskan ke dalam CaCl 0,2M dengan menggunakan spuit insulin. Kemudian dilakukan *coating* lisat konsentrat trombosit: 200 mikro kapsul disuspensikan ke dalam 2 mL lisat konsentrat trombosit dan heparin dan inkubasi selama 10

menit. Kemudian kapsul dimasukkan ke dalam alginat yang sebelumnya dipakai, inkubasi selama 10 menit. Cuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan dimasukkan ke dalam well yang berisi medium kultur. Mikroenkapsulasi MSC dan sel punca hematopoietik CD34<sup>+</sup> dikultur dalam medium kultur MSC selama 21 hari.

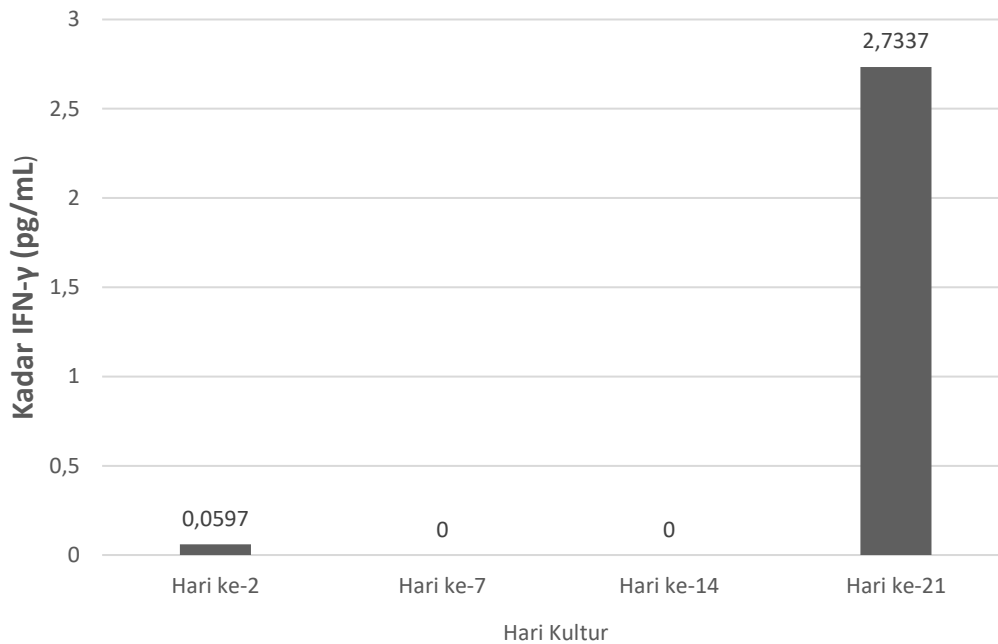
### **Uji Kadar IFN- $\gamma$**

Kadar IFN- $\gamma$  diukur dengan menggunakan medium kultur mikroenkapsulasi. Analisis dilakukan pada 48 jam, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21. *Time point* tersebut mempertimbangkan *doubling time* MSC dalam kultur adalah 45-68 jam dan konfluens pada hari ke-10 sampai dengan hari ke-14.<sup>12</sup> Kit untuk mengukur kadar IFN- $\gamma$  menggunakan IFN- $\gamma$  ELISA Kit (Quantikine, Cat. DIF50C) sesuai dengan petunjuk dari produsen. Sinyal absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 260nm dan 280nm.

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – RSUPN Dr Cipto Mangunkusumo dengan No. KET-732/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2022.

### **HASIL**

Pada penelitian ini ditemukan bahwa kadar rata-rata IFN- $\gamma$  pada medium kultur mikroenkapsulasi MSC dan CD34<sup>+</sup> dengan *coating* pada hari ke-2 sebanyak 0,0597 pg/mL, menurun pada hari ke-7 dan ke-14, lalu meningkat pada hari ke-21 menjadi sebanyak 2,7337 pg/mL (Gambar 1).



**Gambar 1. Hasil kadar IFN- $\gamma$  mikroenkapsulasi MSC dan CD34+ dengan coating**

## DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IFN- $\gamma$  berfluktuasi pada setiap hari pengamatan. Pada hari ke-2 jumlah IFN- $\gamma$  yang disekresikan pada medium mikroenkapsulasi dengan *coating* lisat trombosit relatif sedikit. Hal ini mungkin terjadi karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikro dari sel punca. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dobroslav, dkk yang menyatakan bahwa MSC tidak selalu melepaskan sitokin IFN- $\gamma$  karena kondisi lingkungan mikro serta dipengaruhi oleh reseptor *Toll Like Receptor* (TLR).<sup>13</sup> Lingkungan mikro yang memengaruhi sekresi IFN- $\gamma$  adalah adanya kontak sel-ke-sel yang melibatkan sel T dan sel NK.<sup>14</sup> TLR merupakan reseptor yang dapat mengatur aktivasi respons imun dan respons inflamasi khususnya sitokin proinflamasi guna melawan patogen.<sup>15</sup>

Berdasarkan analisis data kadar IFN- $\gamma$  mengalami penurunan pada hari ke-7 dan ke-14.

Sekresi IFN- $\gamma$  dipengaruhi juga oleh sitokin lain yang disekresikan juga oleh MSC-CD34<sup>+</sup>. MSC juga mensekresikan parakrin lain seperti IL-10 yang dapat meregulasi sekresi IFN- $\gamma$ . Penelitian yang dilakukan Chitko-Mckown dkk menunjukkan bahwa IL-10 berperan sebagai sitokin anti-inflamasi yang menekan sekresi IFN- $\gamma$  yang merupakan sitokin proinflamasi. Adanya IL-10 pada kultur sel T menurunkan kadar mRNA IFN- $\gamma$ .<sup>16</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Sheridan dkk ditemukan bahwa kadar IFN- $\gamma$  meningkat ketika aktivitas IL-10 ditekan oleh anti-IL-10.<sup>17</sup>

Kadar IFN- $\gamma$  yang mengalami peningkatan pada hari ke-21 diduga memiliki hubungan dengan metode mikroenkapsulasi pada kultur sel. Mikroenkapsulasi dapat melindungi sel dari kerusakan akibat faktor lingkungan sehingga dapat meningkatkan usia sel, mengurangi potensi penguapan dan reaksi antar senyawa serta meningkatkan

bioavailabilitas sel.<sup>18</sup> Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mao dkk yang menyatakan bahwa MSC yang dikapsulasi dapat meningkatkan fungsi imunomodulator serta meningkatkan usia hidup sel.<sup>11</sup> Penelitian oleh Nurhayati dkk juga menyatakan bahwa mikroenkapsulasi bersifat permeabel sehingga memungkinkan terjadinya pertukaran nutrisi dan sekresi parakrin yang menyebabkan peningkatan viabilitas sel.<sup>19</sup>

Pemberian *coating* lisat trombosit juga diperkirakan menyebabkan peningkatan sekresi IFN- $\gamma$  melalui peningkatan viabilitas sel punca. Penelitian yang dilakukan oleh Sibuea dkk menyatakan bahwa sel punca yang dikultur dengan lisat trombosit terbukti memiliki viabilitas yang tinggi.<sup>10</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IFN- $\gamma$  pada hari ke-21 merupakan konsentrasi tertinggi dengan jumlah rata-rata 2,7337 pg/mL.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka didapatkan hasil kadar IFN- $\gamma$  yang relatif sedikit dan dijumpai peningkatan. Kadar IFN- $\gamma$  tertinggi dijumpai pada pengukuran hari ke-21 dengan jumlah rata-rata 2,7337 pg/mL.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh hibah dari Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia, Simlitabmas 2022.

## DAFTAR REFERENSI

1. Aziz KK. Pengobatan Tuberkulosis Paru dan Diabetes Melitus serta Pengaruhnya Terhadap Risiko Multi-Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB). *Anatomica*

*Medical Journal Fakultas Kedokteran.* 2019;2(1):24.

2. Simorangkir L, Ginting F, Rupang ER, Sinaga SP. Gambaran Faktor Penyebab Multidrug-Resistent Tuberculosis (MDR-TB) di RSUP Haji Adam Malik Medan Tahun 2022. *Elisabeth Health Jurnal.* 22AD;7(1):59-73. doi:10.52317/ehj
3. Subchan D, Kunoli FHY. Gambaran Kejadian Efek Samping Obat (ESO) dengan Kejadian Putus Obat pada Pasien TB Paru di RSUD Luwuk. *Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan.* 2022;16(3):345-351. doi:10.33860/jik.v16i3.1533
4. Battah B. Mesenchymal Stem Cells: Potential Role Against Bacterial Infection. *J Biosci Med (Irvine).* 2022;10(03):97-113. doi:10.4236/jbm.2022.103011
5. Delgobo M, AGB Mendes D, Kozlova E, et al. An evolutionary recent IFN/IL-6/CEBP axis is linked to monocyte expansion and tuberculosis severity in humans. Published online 2019. doi:10.7554/eLife.47013.001
6. Shigemoto-Kuroda T, Oh JY, Kim D ki, et al. MSC-derived Extracellular Vesicles Attenuate Immune Responses in Two Autoimmune Murine Models: Type 1 Diabetes and Uveoretinitis. *Stem Cell Reports.* 2017;8(5):1214-1225. doi:10.1016/j.stemcr.2017.04.008
7. Marvasti TB, Alibhai FJ, Weisel RD, Li RK. CD34+ Stem Cells: Promising Roles in Cardiac Repair and

- Regeneration. *Canadian Journal of Cardiology*. 2019;35(10):1311-1321. doi:10.1016/j.cjca.2019.05.037
8. Berns SA, Isakova JA, Pekhtereva PI. Therapeutic Potential of Interferon-Gamma in Tuberculosis. *ADMET DMPK*. 2022;10(1):63-73. doi:10.5599/admet.1078
9. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):1-36. doi:10.3390/ijms21207794
10. Sibuea CV, Pawitan JA, Antarianto R, et al. 3D Co-Culture of Hepatocyte, a Hepatic Stellate Cell Line, and Stem Cells for Developing a Bioartificial Liver Prototype. *International Journal of Technology*. 2020;11(5):951-962. doi:10.14716/ijtech.v11i5.4317
11. Mao AS, Özkale B, Shah NJ, et al. Programmable Microencapsulation for Enhanced Mesenchymal Stem Cell Persistence and Immunomodulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(31):15392-15397. doi:10.1073/pnas.1819415116
12. Li Y, Zhang C, Xiong F, et al. Comparative study of mesenchymal stem cells from C57BL/10 and mdx mice. *BMC Cell Biol*. 2008;9. doi:10.1186/1471-2121-9-24
13. Kyurkchiev D, Bochev I, Ivanova-Todorova E, et al. Secretion of Immunoregulatory Cytokines by Mesenchymal Stem Cells. *World J Stem Cells*. 2014;6(5):552-570. doi:10.4252/wjsc.v6.i5.552
14. Song N, Scholtemeijer M, Shah K. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Trends Pharmacol Sci*. 2020;41(9):653-664. doi:10.1016/j.tips.2020.06.009
15. Ma'at S. Toll-like Receptor (TLR) dan Imunitas Natural. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 2018;15(3):111-116.
16. Chitko-Mckown CG, Ruef BJ, Rice-Ficht AC, Brown WC. *Interleukin-10 Downregulates Proliferation and Expression of Interleukin-2 Receptor P55 Chain and Interferon-7, but Not Interleukin-2 or Interleukin-4, by Parasite-Specific Helper T Cell Clones Obtained from Cattle Chronically Infected with Babesia Bovis or Fasciola Hepática*. Vol 15. Mary Ann fieber, Inc; 1995.
17. Sheridan MP, Browne JA, Doyle MB, Fitzsimons T, McGill K, Gormley E. IL-10 suppression of IFN- $\gamma$  responses in tuberculin-stimulated whole blood from Mycobacterium bovis infected cattle. *Vet Immunol Immunopathol*. 2017;189:36-42. doi:10.1016/j.vetimm.2017.06.003
18. Pratama R, Abdassah M, Chaerunisaa AY. Review : Stabilitas Bahan Alam dalam Mikroenkapsulasi. *Majalah Farmasetika*. 2021;6(3):213-219. doi:10.24198/mfarmasetika.v6i3.33172

19. Nurhayati RW, Cahyo RD, Pratama G, et al. Alginate-Chitosan Microencapsulated Cells for Improving CD34+ Progenitor Maintenance and Expansion. *Applied Sciences*. 2021;11(17). doi:10.3390/app11177887