

I. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Acute Lung Injury (ALI) merupakan suatu sindrom klinis yang menunjukkan bentuk awal dari *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) dengan karakteristik berupa infiltrat bilateral pada paru-paru, hipoksemia berat, dan edema paru non kardiogenik (Feng *et al.*, 2020). ALI dan ARDS merupakan masalah kesehatan global yang menjadi salah satu penyebab utama terhadap morbiditas dan mortalitas di unit perawatan intensif seluruh dunia, dengan angka kematian mencapai 30–50% (Tieu *et al.*, 2023). Disfungsi paru-paru oleh ALI menjadi salah satu masalah global terbesar di abad ke-21 akibat pandemi COVID-19 (Hezam *et al.*, 2023). Pada dasarnya, ALI adalah hasil dari cedera akut pada jaringan paru, terutama pada epitel alveolar yang menyebabkan gangguan pada pertukaran gas dan gagal napas akut (Han *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2023a).

Kondisi ALI adalah salah satu bentuk dari terganggunya saluran pernapasan yang progresif secara cepat dan awalnya bermanifestasi klinis sebagai sesak napas (*dyspneu* dan *tachypneu*), lalu kemudian dengan cepat berubah menjadi gagal napas akut yang dapat menyebabkan mortalitas (Wu *et al.*, 2024). Sel epitel alveolar terbagi menjadi dua jenis, yaitu sel alveolar tipe I (ATI) dan sel alveolar tipe II (ATII) (Chen *et al.*, 2023a). Patofisiologi ALI ditandai oleh kerusakan pada sel ATI dan ATII serta sel endotel kapiler, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Han *et al.*, 2021).

Proses inflamasi ini mendorong infiltrasi leukosit, terutama neutrofil masuk ke dalam jaringan paru, yang selanjutnya memperparah peradangan paru, kerusakan epitel alveolar-kapiler, serta memicu terbentuknya edema. Akibatnya, proses pertukaran gas di alveolus menjadi terganggu (Du *et al.*, 2020). Respons imun yang berlebihan, terutama aktivasi neutrofil dan makrofag alveolar, menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), dan protease, yang memperparah kerusakan jaringan paru (Wang *et al.*, 2022). Peradangan yang tak terkendali ini menciptakan kondisi yang dikenal sebagai badai sitokin (*cytokine storm*) yang memperparah kerusakan struktural dan fungsional paru-paru (Zhang *et al.*, 2024)

Beberapa faktor penyebab ALI yang telah teridentifikasi meliputi infeksi virus dan bakteri, trauma ganda, transfusi darah dalam jumlah besar, serta paparan bahan kimia (Du *et al.*, 2020). Kasus COVID-19 memperjelas bagaimana kerusakan epitel alveolar yang parah, khususnya pada sel epitel tipe II (ATII) yang banyak mengekspresikan reseptor *Angiotensin-Converting Enzyme 2* (ACE2), yang berperan penting dalam sistem *renin-angiotensin* (RAS) dan juga dikenal sebagai reseptor utama yang digunakan oleh virus SARS-CoV-2 untuk masuk ke dalam sel manusia, sehingga berperan dalam keparahan ARDS (Xu *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). Menurut Sholihah & Barlian (2024), hingga saat ini masih belum tersedia terapi farmakologis yang benar-benar efektif dalam menargetkan penyebab utama kondisi kerusakan paru secara langsung. Strategi penanganan ALI masih bergantung pada terapi

yang bersifat suportif, seperti penggunaan ventilator mekanik dengan strategi *lung-protective* dan terapi konservatif untuk mengurangi cedera sekunder (Xi *et al.*, 2020). Perlindungan terhadap integritas *barrier* endotel dan epitel menjadi salah satu fokus utama dalam mencegah respons imun akut yang terjadi pada penyakit paru-paru dan dapat menjadi pengembangan terapi baru (Wang *et al.*, 2022). Studi oleh Wu *et al.* (2020) mengungkapkan kemampuan MSC, khususnya yang berasal dari human *Wharton's Jelly* (hWJ-MSC), sebagai salah satu potensi besar dalam terapi untuk mengatasi cedera paru akut (ALI) dengan mengurangi peradangan dan mempromosikan perbaikan epitel alveolar.

Mesenchymal Stem Cell (MSC), khususnya yang berasal dari *human Wharton's Jelly* (hWJ-MSC), telah menunjukkan potensi besar dalam terapi regeneratif. MSC merupakan sel punca multipoten yang berasal dari mesoderm, dan telah banyak diteliti karena kemampuannya dalam regenerasi sel serta imunomodulasi yang kuat (Wu *et al.*, 2020). Kemampuan lain MSC seperti proliferasi, dan diferensiasinya yang tinggi, serta resiko penolakan transplantasi yang rendah, memungkinkan penggunaannya dalam terapi, baik secara autologous maupun allogenik (Taherian *et al.*, 2024). Salah satu keistimewaan MSC yaitu dapat diisolasi dari berbagai jaringan tubuh, seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, paru-paru, darah perifer, serta jaringan janin seperti plasenta dan tali pusat (Peng *et al.*, 2021). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2023a), MSC memiliki potensi dalam menghambat respons inflamasi, mengurangi edema paru, dan meningkatkan kelangsungan

hidup pada model tikus ALI yang diinduksi sepsis. Hal tersebut menjadikan MSC sebagai jenis sel punca yang paling luas digunakan dalam terapi berbasis sel, termasuk untuk kasus fibrosis dan inflamasi paru /ARDS yang diinduksi SARS (Shah *et al.*, 2019).

Sejumlah studi pra-klinis maupun klinis telah menunjukkan bahwa infus intravena MSC pada pasien COVID-19 yang mengalami pneumonia berat dapat menurunkan badai sitokin, memperbaiki parameter klinis, serta meningkatkan perbaikan jaringan paru (Al-Khawaga & Abdelalim, 2020). Pada kondisi ALI/ARDS, MSC diketahui mampu meningkatkan *alveolar fluid clearance*, memperbaiki fungsi penghalang epitel dan endotel alveolus, serta menurunkan infiltrasi sel inflamasi ke jaringan paru -CoV-2 (No. Uji Klinis: NCT04345601). Penelitian tersebut mengungkapkan bahwa pengobatan dengan terapi MSC asal tali pusat aman hingga satu tahun pasca-terapi. Tidak ditemukan perkembangan fibrosis dan mortalitas, serta terdapat sedikit sinyal perbaikan fungsi otot pernapasan di jangka menengah (enam bulan) meski tidak konsisten hingga satu tahun. Salah satu mekanisme kerja utama MSC adalah melalui efek parakrin, yaitu dengan mensekresikan faktor-faktor bioaktif seperti sitokin, *growth factor*, dan vesikel kecil termasuk eksosom (Tieu *et al.*, 2020; Allan *et al.*, 2019). Hasil uji klinis yang melibatkan terapi MSC masih menunjukkan variasi dalam efektivitas terapeutik. Hal tersebut dapat disebabkan oleh heterogenitas sumber MSC yang digunakan, metode isolasi, serta perbedaan kondisi klinis pasien. Beberapa studi menunjukkan hasil berbeda terhadap parameter klinis dan biomarker penyakit pada pasien

ALI/ARDS, sehingga menimbulkan tantangan dalam penerjemahan terapi dari laboratorium ke praktik klinis (Regmi *et al.*, 2024).

Kendati menjanjikan, penggunaan MSC terutama yang berasal dari tali pusat manusia yaitu *human wharton's jelly mesenchymal stem cell* (hWJW-MSCs) sebagai terapi masih menghadapi berbagai tantangan yang belum terpecahkan di dunia medis, baik dari sisi teknis, maupun bioetik (Xia *et al.*, 2022). Produksi serta penyimpanan MSC secara klinis memerlukan sumber daya besar, dengan resiko terjadinya emboli paru serta pembentukan tumor akibat proliferasi sel yang tidak terkendali (Peng *et al.*, 2021). Data dari beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa efek terapi MSC sebagian besar tidak berasal dari kemampuan berdiferensiasinya, melainkan dari molekul-molekul yang disekresikan selama proses kultur *in-vitro*. Molekul-molekul protein yang disekresi oleh sel saat kultur adalah inisiasi definisi langsung dari sekretom (Ghasemi *et al.*, 2023). Berdasarkan hal tersebut, fokus penelitian terkini beralih pada sekretom dan ekstraseluler vesikel (EV) asal MSC sebagai pendekatan *cell-free therapy* yang menawarkan keuntungan sebagai terapi yang lebih aman, stabil, serta menghindari risiko terkait transplantasi sel hidup (Fathi-Kazerooni *et al.*, 2022).

Komponen utama dari sekretom MSC mencakup dua fraksi, yaitu fraksi protein terlarut (seperti VEGF, TGF- β , HGF, EGF, IL-1Ra, BDNF, dan PGE2) serta fraksi vesikular yang mencakup mikrovesikel dan eksosom (Das *et al.*, 2021; Wangler *et al.*, 2021). Komponen-komponen tersebut berperan penting dalam meredakan inflamasi, memperbaiki jaringan, dan menstimulasi

regenerasi, sehingga menjadikan sekretom sebagai agen biologis multitarget generasi baru untuk pengobatan penyakit seperti ALI. Sejumlah penelitian menyatakan bahwa terapi sekretom yang berasal dari MSC mampu meredakan cedera inflamasi pada jaringan paru melalui pelepasan senyawa bioaktif yang berinteraksi langsung dengan sel atau jaringan yang rusak, sehingga berkontribusi dalam peningkatan fungsi paru secara jangka panjang (He *et al.*, 2022). Sekretom juga dinilai lebih stabil, mudah diproduksi, disimpan, dan memiliki profil keamanan yang lebih baik dibandingkan terapi berbasis sel utuh (Peng *et al.*, 2021).

Salah satu komponen utama dalam sekretom MSC yang kini banyak menjadi objek penelitian adalah ekstraseluler vesikel (EV), termasuk di dalamnya eksosom. Menurut Sanchez-Mata & Gonzalez-Muñ Oz (2021), eksosom disekresikan oleh MSC melalui pensinyalan parakrin dan berbentuk partikel lipid bilayer-enclosed yang berukuran nano (diameter <150 nm) dan mikrovesikel (hingga 1000 nm), juga berperan penting dalam komunikasi antar sel dan transfer muatan bioaktif seperti lipid, protein, mRNA, dan microRNA (Al-Khawaga & Abdelalim, 2020). Ligan permukaan yang berbeda pada permukaan eksosom memastikan penargetan spesifik dan organotropik jenis selnya, sehingga mengatur fungsi biologis spesifik. (Chen *et al.*, 2023b). Oleh karena itu, eksosom MSC saat ini menjadi fokus utama dalam pengembangan terapi imunomodulasi berbasis non-sel, terutama pada penyakit paru akut hingga kronis, dan dari pasien neonatal hingga dewasa. Eksosom juga berpotensi untuk diformulasikan sebagai terapi "*off-the-shelf*" karena

menghindari kendala seperti viabilitas sel, biaya manufaktur dan penyimpanan tinggi, serta variasi antar *batch* (Tieu *et al.*, 2020).

Meskipun potensi eksosom sangat besar untuk menjadi alternatif terapi non-sel, eksosom masih memiliki beberapa tantangan dalam standarisasi isolasi, kemurnian, dan karakterisasi produk. *National Heart, Lung and Blood Institute* (NHLBI) telah menyoroti pentingnya konsistensi dan efisiensi dalam produksi eksosom. *International Society for Extracellular Vesicles* (ISEV) telah menjawab tantangan tersebut dengan mengembangkan pedoman MISEV 2018 yang kini menjadi standar internasional untuk penelitian EV, didukung oleh basis data EV-TRACK untuk pelaporan studi yang lebih transparan (Li *et al.*, 2023).

Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian untuk menganalisis dan mengeksplorasi efektivitas terapi sekretom dan eksosom asal hWJ-MSC dalam meningkatkan regenerasi sel pada model luka ALI. Penelitian yang secara langsung membandingkan terapi sekretom dan eksosom yang berasal dari MSC tali pusat, khususnya hWJ-MSCs, dalam mendukung proses migrasi sel pada model luka ALI masih belum ditemukan hingga saat ini. Migrasi sel sendiri merupakan tahapan penting dalam proses penyembuhan jaringan paru yang rusak. Menurut Smith & Rai (2024), migrasi sel merupakan komponen kunci dalam proses penyembuhan luka, khususnya selama fase proliferasi dan remodeling, karena sel-sel tidak hanya memperbanyak diri tetapi juga bergerak menuju area luka untuk membentuk granulasi, angiogenesis, dan perombakan matriks ekstraseluler yang esensial dalam rekonstruksi jaringan. Sebagian

besar penelitian yang telah dilakukan sejauh ini lebih menitikberatkan pada aspek anti-inflamasi atau perbaikan struktur paru secara umum, bukan pada efek fungsional terhadap dinamika migrasi sel. Kebutuhan akan penelitian ini menjadi penting untuk mengisi kekosongan data ilmiah yang ada serta mengevaluasi pendekatan terapi non-seluler (*cell-free therapy*) yang lebih efektif dalam mendukung proses regenerasi jaringan paru.

Penelitian ini akan membandingkan efek terapi sekretom dan eksosom asal hWJ-MSCs sebagai terapi alternatif dalam mengatasi ALI melalui studi in-vitro menggunakan sel A549 sebagai model in-vitro untuk ALI karena kemampuannya meniru karakteristik sel epitel alveolus tipe II (ATII) manusia. Sel A549 merupakan *cell-line* adenokarsinoma paru yang secara luas diaplikasikan dalam studi paru, terutama pada inflamasi, cedera alveolar, dan respon terhadap agen terapeutik (Nova *et al.*, 2020). Penggunaan kultur sel A549 jangka Panjang dalam konteks penelitian ALI diketahui dapat lebih merepresentasikan fenotip ATII, yang merupakan tipe sel utama yang mengalami kerusakan pada kondisi ALI. *Scratch assay* atau metode penggoresan sel umum digunakan untuk meniru kondisi cedera paru secara mekanik. Metode *scratch* digunakan sebagai metode induksi luka linier pada monolayer sel yang secara sederhana dan efektif menciptakan mikromilieu cedera epitel, sehingga memungkinkan observasi kemampuan migrasi dan regenerasi sel dalam interval waktu tertentu. Menurut Li *et al.* (2020), *scratch assay* mampu mensimulasikan kondisi *epithelial wounding* yang relevan dengan kerusakan fisik atau inflamasi pada alveolus, serta dapat digunakan

untuk mengevaluasi efek terapi regeneratif, termasuk sekretom dan eksosom. Model ini juga memungkinkan visualisasi langsung dan kuantifikasi pemulihan luka, menjadikannya pendekatan yang efisien dan fisiologis untuk penelitian regenerasi jaringan paru pada model ALI berbasis sel A549. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru mengenai potensi terapi berbasis sekretom dan eksosom dalam pengobatan ALI, serta mendorong penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme dan aplikasi sekretom dan eksosom untuk praktik klinis sebagai alternatif terapi regeneratif yang lebih efektif di masa depan.

1.2.Rumusan Masalah

- 1.2.1. Bagaimana pengaruh dan perbedaan pemberian terapi sekretom dan eksosom hWJ-MSCs dengan variasi dosis (10%, 20%, dan 30%) terhadap kemampuan migrasi sel A549 pada model luka ALI secara *in-vitro*?
- 1.2.2. Bagaimana pengaruh protein bioaktif yang dihasilkan sekretom dan eksosom hWJ-MSCs dalam proses migrasi sel, penutupan luka model ALI dan perbaikan jaringan?

1.3.Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Mengidentifikasi, mengevaluasi pengaruh dan membandingkan efek terapi sekretom dan eksosom asal hWJ-MSCs dalam tiga variasi dosis (10%, 20%, dan 30%) terhadap kemampuan migrasi sel A549 pada model luka ALI secara *in-vitro*.

1.3.2. Menganalisis peran protein bioaktif yang terkandung dalam sekretom dan eksosom hWJ-MSCs terhadap proses migrasi sel, penutupan luka, dan potensi perbaikan jaringan epitel pada model luka ALI.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini mencakup peningkatan pengetahuan penulis serta penyediaan landasan teori dan wawasan baru mengenai pengembangan potensi terapi regeneratif berbasis *cell-free*. Terapi ini berpotensi untuk diterapkan dalam praktik klinis sebagai alternatif dalam mempercepat penyembuhan pasien dengan kerusakan paru-paru, seperti pada kasus *acute lung injury* (ALI). Penelitian ini juga berperan dalam mendorong eksplorasi lebih lanjut terkait mekanisme kerja serta aplikasi sekretom dan eksosom dalam bidang pengobatan regeneratif. Potensi inovasi dalam terapi berbasis *stem cell* dapat terbuka lebih luas melalui pendekatan ini. Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan bukti ilmiah yang kuat mengenai perbandingan efek antara sekretom dan eksosom hWJ-MSCs, khususnya dalam mendukung proses migrasi sel sebagai tahap penting dalam regenerasi jaringan paru. Nilai strategis dari penelitian ini terletak pada kontribusinya dalam mengarahkan pengembangan terapi *cell-free* yang lebih tepat guna, efektif, dan potensial untuk diterapkan dalam dunia klinis.

