

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Penyakit *Acute Lung Injury* (ALI) merupakan komplikasi dari berbagai gangguan sistemik paru terkait dengan pneumonia, sepsis, dan sindrom pernafasan akut dengan angka mortalitas global mencapai kurang lebih 40% (Long *et al.*, 2024; Fadanni & Calixto, 2023). ALI ditandai dengan terjadinya penurunan kemampuan paru-paru dalam proses pertukaran gas akibat terjadinya kerusakan endotel vaskuler dan epitel alveolar (Joslyn *et al.* 2019). Kondisi ini umumnya dipicu oleh infeksi virus atau bakteri yang memicu respon imun berlebih (Qin *et al.*, 2025). Cedera yang akut ini dapat memicu sistem imun untuk merespon inflamasi berlebihan yang tidak terkontrol, keadaan ini berpotensi berkembang menjadi *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) bila tidak segera ditangani dengan baik (Zhai *et al.*, 2024).

Infeksi patogen pada sel-sel alveolar ini memicu aktivasi sistem imun yang ditandai dengan pelepasan sitokin pro-inflamasi, kemokin, dan mediator antimikroba (Qin *et al.*, 2025). Respon inflamasi yang berlebihan ini dapat menyebabkan terjadinya badai sitokin (*cytokine storm*), yaitu kondisi hiper-inflamasi akibat pelepasan sitokin pro-inflamasi secara masif dan tidak terkontrol (Zhu *et al.*, 2024). Keadaan tersebut memicu infiltrasi leukosit, terutama neutrofil masuk ke dalam jaringan paru-paru yang memperberat inflamasi, merusak penghalang (*barrier*) alveolar-kapiler, dan menimbulkan edema. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya penghambatan dalam proses pertukaran gas di dalam alveolus (Zhang *et al.*, 2024).

Pengobatan spesifik untuk ALI hingga saat ini masih belum tersedia (Xie *et al.*, 2025). Berbagai terapi seperti antibiotik, kortikosteroid (*dexamethasone*), farmakonutrien, antioksidan, inhibitor protease, ketokonazol, ibuprofen, serta obat-obatan yang mempengaruhi ventilasi, difusi, dan perfusi telah digunakan secara luas, namun efek terapinya masih belum memuaskan (Chen *et al.*, 2024). Jeong *et al.* (2025) juga melaporkan bahwa hingga saat ini belum ada terapi farmakologis yang terbukti efektif untuk menekan badai sitokin (*cytokine storm*) maupun memperbaiki kerusakan pada alveolar secara langsung. Terapi yang tersedia masih memiliki keterbatasan, salah satunya adalah risiko resistensi akibat penggunaan antibiotik jangka panjang (Long *et al.* 2024). Lebih lanjut, penggunaan *dexamethasone* yang diharapkan dapat mengurangi proses inflamasi juga berpotensi menimbulkan gangguan hormonal dan immunosupresi jika digunakan dalam jangka panjang (Noreen *et al.*, 2021). Keterbatasan tersebut menjadi dasar dan mendorong pengembangan terapi alternatif yang lebih aman dan efektif dan berpotensi tidak hanya menekan inflamasi, tetapi juga mampu merangsang regenerasi jaringan secara efektif melalui pendekatan terapi berbasis sel punca (Zhang *et al.*, 2024).

Terapi berbasis sel punca (*stem cell therapy*) muncul sebagai pendekatan inovatif untuk mengatasi keterbatasan pada terapi konvensional. Sel punca memiliki kemampuan regeneratif serta kapasitas diferensiasi yang sangat tinggi sehingga berpotensi memperbaiki jaringan yang rusak terutama pada sel-sel alveolar paru-paru (Hussen *et al.*, 2024). Sel punca memiliki berbagai klasifikasi berdasarkan sumber dan potensinya, salah satunya sel

punca mesenkim (*mesenchymal stem cell*). Sel punca mesenkim memiliki sifat imunomodulator dan anti-inflamasi yang memungkinkan penggunaannya pada terapi sel untuk penyakit inflamasi maupun penyakit autoimun. Berbagai jenis sel punca mesenkim terutama *Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells* (hWJ-MSC) yang berasal dari jaringan tali pusar yang merupakan kandidat unggul karena mudah diisolasi dan memiliki imunogenitas yang rendah (Lakshminarayanan *et al.*, 2025).

Sel hWJ-MSC juga memiliki sifat imunomodulator yang penting dalam kondisi inflamasi. Kemampuan ini dapat menekan kerusakan jaringan baik secara langsung melalui regenerasi jaringan maupun secara tidak langsung dengan cara menghambat pelepasan sitokin pro-inflamasi (He *et al.*, 2022). Potensi terapeutik tersebut sebagian besar dimediasi oleh sekretom, sekumpulan senyawa bioaktif yang dikeluarkan oleh hWJ-MSC yang mengandung sitokin anti-inflamasi, faktor pertumbuhan (*growth factor*), dan kemokin (Zhu *et al.* 2024). Sekretom ini mempercepat proses penyembuhan dan regenerasi jaringan melalui mekanisme parakrin (Rasouli *et al.*, 2024). Sari *et al.* (2023) menjelaskan bahwa sekretom dari hWJ-MSC terbukti dapat menekan badai sitokin (*cytokine storm*) melalui peningkatan pelepasan sitokin anti-inflamasi seperti *Interleukin-10* (IL-10), *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (Geindreau, *et al.*, 2022). hWJ-MSC melalui sekresi sekretom sebagai agen anti-inflamasi berperan dalam menekan pelepasan sitokin pro-inflamasi berlebihan, menjaga integritas alveolar-kapiler, serta mempercepat regenerasi jaringan paru-paru yang rusak hal ini menandakan bahwa potensi

terapi berbasis sel punca khususnya hWJ-MSC dapat meningkatkan fungsi paru-paru dalam jangka panjang (He *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil uji klinis tahap satu yang tercatat pada ClinicalTrials.gov oleh Michael A. Matthay dari University of California, San Francisco tahun 2017, bahwa terapi ALI menggunakan sel punca mesenkim asal sumsum tulang atau *Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (hBM-MSC) (NCT 01775774) menunjukkan profil keamanan dan efektivitas yang baik pada pasien dengan kondisi sedang hingga berat. Temuan ini memperkuat potensi sel punca mesenkim beserta sekretomnya sebagai pendekatan terapi inovatif sekaligus alternatif yang menjanjikan dalam penanganan ALI.

Penelitian ini akan mengkaji pemanfaatan dan membuktikan potensi terapi sel punca mesenkim, khususnya sel hWJ-MSC dan sekretom, sebagai kandidat terapi alternatif dan inovatif untuk ALI melalui metode *co-culture* dan pemberian sekretom. Fokus penelitian ini diarahkan pada interaksi hWJ-MSC dan sel A549 sebagai model ALI secara *in-vitro*. Sel A549 banyak dan sering digunakan karena karakteristiknya yang menyerupai sel epitel alveolar tipe II, dapat menunjukkan perubahan morfologi, kemampuannya dalam merespon stres oksidatif, mampu melepaskan sitokin pro-inflamasi, serta memperlihatkan perubahan pola pertumbuhan dan penyebaran (Barosova *et al.*, 2021).

Model ALI dikembangkan melalui induksi mekanis menggunakan *scratch assay* dan kimiawi melalui Lipopolisakarida (LPS) asal bakteri *Escherichia coli*. Kombinasi kedua metode tersebut dapat mencerminkan

kerusakan jaringan yang terjadi pada alveolus paru-paru, kondisi inflamasi, serta memicu badai sitokin (*cytokine storm*) dengan meningkatkan sekresi sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), dan *Interleukin-8* (IL-8) secara berlebihan yang dapat memperburuk inflamasi (Chang & Zhang, 2023). Aktivasi *Toll Like Receptor* (TLR) oleh LPS dan *scratch assay* juga dapat menstimulasi hWJ-*MSC* untuk mensekresikan sekretom yang mengandung sitokin anti-inflamasi seperti *Interleukin-10* (IL-10), *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) untuk menekan badai sitokin, memperbaiki jaringan atau sel-sel yang rusak, mengatur dan menstabilkan permeabilitas epitel dan endotel paru-paru, serta mencegah kerusakan lebih lanjut (Drobiova *et al.*, 2023).

Penelitian ini menerapkan beberapa model terapi dengan memanfaatkan sel melalui metode *co-culture insert transwell* dan pemberian sekretom. Sun *et al.* (2024) melaporkan bahwa PDGF, HGF, dan, TGF- $\beta$  yang terkandung dalam sekretom hWJ-*MSC* memiliki peran dalam merangsang migrasi dan proliferasi sel epitel serta mempercepat regenerasi jaringan. *Dexamethasone* yang merupakan golongan glukokortikoid dan lazim digunakan dalam terapi klinis ALI, digunakan sebagai kontrol positif karena bersifat sebagai anti-inflamasi yang kuat dan sering digunakan untuk menekan dan menurunkan sitokin pro-inflamasi dalam terapi klinis ALI (Zhai *et al.*, 2024).

Perbandingan antara terapi berbasis sel menggunakan metode *co-culture* dan terapi sekretom asal hWJ-*MSC* diharapkan dapat memberikan

gambaran menyeluruh mengenai efektivitas serta keunggulan masing-masing, meskipun sekretom hWJ-MSC menawarkan keunggulan sebagai terapi *cell-free based* yang bersifat siap dipakai, terapi berbasis sel memiliki keunikan berupa kemampuan *sensing* dan adaptasi terhadap *microenvironment* inflamasi. Perbedaan dinamika biologis ini berpotensi menghasilkan respon regeneratif yang berbeda, khususnya dalam proses migrasi sel dan pemanfaatan molekul bioaktif. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan terapi alternatif untuk ALI di masa mendatang.

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

- 1.2.1. Apakah terdapat perbedaan integritas morfologi kultur sel A549 dan profil sitokin proinflamasi berdasarkan analisis FACS antara kondisi pramodel dan pascamodel ALI yang diberi induksi *scratch* dan LPS ?
- 1.2.2. Bagaimana pengaruh berbagai terapi berbasis sel melalui *co-culture* (hWJ-MSC, hWJ-MSC + *inducer*, spheroid, & spheroid + *inducer*) dan terapi sekretom (hWJ-MSC, hWJ-MSC + *inducer*, spheroid, & spheroid + *inducer*) terhadap kemampuan migrasi sel A549 pada model ALI secara *in vitro*?
- 1.2.3. Bagaimana peran protein bioaktif yang dihasilkan sel maupun yang terkandung di dalam sekretom terhadap proses migrasi sel dan penutupan luka model ALI secara *in vitro*?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang tujuan dilakukannya penelitian ini antara lain:

- 1.3.1. Mengembangkan model ALI menggunakan sel lestari A549 untuk mengetahui interaksi biologis dan fisiologis dalam studi interaksi sel dan sekresi molekul bioaktif.
- 1.3.2. Mengidentifikasi efek terapi sel dengan *co-culture* dan terapi sekretom terhadap kecepatan regenerasi sel uji A549 yang diberi induksi *scratch* dan LPS sebagai model ALI yang ditinjau dari morfologi sel dan uji karakterisasi.
- 1.3.3. Menganalisis protein bioaktif yang dihasilkan dari terapi sel dengan *co-culture* dan terapi sekretom terhadap proses migrasi sel A549 sebagai model ALI secara *in vitro*.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini dapat meningkatkan wawasan penulis serta memperluas pengetahuan mengenai terapi regeneratif berbasis sel punca dan turunannya, seperti sekretom. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran dan pemahaman yang lebih jelas mengenai pengembangan model *in-vitro* ALI yang lebih representatif dan dapat digunakan dalam pengembangan terapi regeneratif.

Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam memperluas pemahaman mengenai efektivitas terapi berbasis sel punca maupun turunannya, seperti sekretom dalam memperbaiki kerusakan

jaringan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah yang kuat bagi pengembangan terapi alternatif ALI yang lebih efektif dan memiliki risiko efek samping lebih rendah dibandingkan terapi konvensional yang diberi obat golongan kortikosteroid (*dexamethasone*).

Hasil yang diperoleh diharapkan dapat menjadi dasar untuk mengembangkan pendekatan terapi yang lebih efektif, khususnya pada ALI di masa mendatang, serta turut memperkaya ilmu pengetahuan di bidang biomedis.