

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acute Lung Injury (ALI) adalah kerusakan pada jaringan paru-paru yang memicu respons inflamasi akut pada paru-paru. ALI merupakan bentuk ringan dari kondisi *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) dengan tingkat kematian yang tinggi. *Acute Lung Injury* (ALI) merupakan komplikasi serius yang sering terjadi pada pasien kritis, dengan angka kematian yang tinggi. Analisis data dari 459 ICU di berbagai negara menunjukkan bahwa terdapat 10,4% dari total pasien ICU dan 23,4% dari pasien yang membutuhkan ventilator mengalami ARDS. Dengan presentase tingkat keparahan, antara lain 30.0% ARDS ringan, 46.6% ARDS sedang, dan 23.4% ARDS berat. Angka mortalitas pasien ARDS cukup tinggi, yaitu 35,3% di ICU dan 40,0% di rumah sakit (Mokra, 2020). Pengobatan dengan obat anti-inflamasi dan penggunaan ventilator membantu mengatasi ALI, namun tidak cukup mengatasi mortalitas dan morbiditas yang tinggi pada pasien ALI (Q. H. Liu *et al.*, 2024).

ALI ditandai dengan kerusakan jaringan paru-paru yang disebabkan oleh beberapa faktor, baik dari dalam maupun luar paru-paru yang memicu inflamasi akut pada paru-paru. ALI/ARDS ringan dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik gangguan secara langsung maupun tidak langsung pada sistem paru-paru. Penyebab langsung, meliputi aspirasi isi lambung,

pneumonia jaringan paru-paru, serta cedera pada dada, seperti akibat kecelakaan atau luka tusukan yang menyebabkan kerusakan langsung pada paru-paru. Penyebab tidak langsung seperti respons inflamasi sistemik yang berhubungan dengan pankreatitis, sepsis, atau trauma multipel. ALI/ARDS berkembang akibat adanya serangan ganda pada paru-paru (Bosma *et al.*, 2010). ALI ditandai dengan respons inflamasi yang berlebihan dan kerusakan struktural pada paru-paru. Sel darah putih bergerak ke alveoli, melepaskan enzim dan mediator inflamasi yang dapat merusak jaringan paru-paru. Produksi sitokin pro-inflamasi meningkatkan peradangan dan mengganggu fungsi paru-paru. Apoptosis sel epitel alveolar dalam jumlah besar mengganggu integritas alveolar dan kemampuan paru-paru untuk menukar gas (Zhu *et al.*, 2022).

Nilai hipoksemia pada ALI sebesar ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ antara 200-300 mmHg) disertai tanda-tanda klinis, seperti takipnea, sianosis yang tidak tahan terhadap oksigen, penurunan kepatuhan paru, dan infiltrat alveolar pada rontgen dada (Mokra, 2020). Kerusakan pada sawar epitel dan endotel yang terjadi akibat inflamasi akut pada ALI, berakibat pada kebocoran cairan dan protein ke dalam ruang alveolar. Cedera pada sel epitel alveolar tipe I dan II dapat meningkatkan permeabilitas membran yang menyebabkan masuknya cairan edema kaya protein ke dalam alveolar. Cedera pada sel epitel alveolar mengganggu regulasi saluran Na epitel dan pompa $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{ATPase}$, yang berperan penting dalam reabsorpsi cairan dari ruang alveolar. Kerusakan pada sel epitel alveolar tipe II dapat

menyebabkan defisiensi surfaktan, yang selanjutnya memperburuk fungsi paru-paru (Johnson B. S & Matthay, 2010).

Faktor penyebab ALI yang beragam menyebabkan kompleksitas yang tinggi sehingga pengobatan ALI sampai saat ini belum ditemukan. Pengobatan ALI dan ARDS masih menjadi tantangan besar dalam bidang perawatan intensif karena kondisi yang kompleks (Grommes & Soehnlein, 2011), sehingga perlu dicari pengobatan ALI masih terus dicari yang paling efektif. ARDS tidak termasuk penyakit tunggal dengan penyebab spesifik, melainkan sebuah sindrom. ARDS merupakan kumpulan gejala yang muncul sebagai respons tubuh terhadap kondisi berbeda. Kondisi yang beragam menjadikan ARDS menjadi kondisi yang kompleks sehingga sulit diidentifikasi dalam tes spesifik. Diagnosis ARDS umumnya dilakukan berdasarkan kriteria klinis yang telah ditetapkan. Oleh karena itu, belum ada yang diakui untuk diagnosis ARDS (Griffiths *et al.*, 2019). Tingkat kematian dan komplikasi yang tinggi pada ALI/ARDS masih menjadi tantangan yang sulit dalam pengobatan meskipun sudah ada kemajuan dalam dunia medis (Rey-Parra *et al.*, 2012).

Pemodelan ALI secara *in-vitro* dilakukan untuk membantu menentukan pengobatan yang efektif untuk ALI. Model *in-vitro* merupakan tahap awal dalam pengembangan obat. Model *in-vitro* digunakan untuk memprediksi bagaimana perilaku obat sebelum dilakukan uji klinis. Model *in-vitro* dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu model *in-vitro* berbasis sel dan model *in-vitro* berbasis non-sel (Xu *et al.*, 2021). Model *in-vitro*

diterima secara luas untuk menyaring kandidat obat sebelum studi praklinis *in-vivo*. Pemodelan ALI secara *in-vitro* dapat membantu dalam memahami kompleksitas ALI dan pengembangan obat yang lebih efektif. Model *in-vitro* dapat memberikan informasi tentang peran sel imun dalam respons inflamasi, membantu menentukan spektrum faktor yang disekresikan oleh sel imun, dan memeriksa mekanisme komunikasi antar sel dan reaksi imun yang menyerupai inflamasi pada jaringan paru-paru selama pneumonia virus. Model *in-vitro* memungkinkan penggunaan sel manusia, yaitu sel lini (*cell line*) atau sel primer dari donor, untuk mengeksplorasi aspek fisiologis biologi manusia. Selain itu, model *in-vitro* memungkinkan untuk menerapkan berbagai pendekatan yang lebih luas untuk mempelajari mekanisme patogenesis molekuler dan seluler dari cedera paru yang dimediasi oleh peradangan (Shevtsova *et al.*, 2022).

Lipopolisakarida (LPS) adalah komponen utama pada permukaan bakteri Gram-negatif yang berperan penting dalam proses infeksi melalui infeksi melalui interaksi bakteri dengan sistem imun inang dan resistensi terhadap antibiotik (Bertani & Ruiz, 2018). Induksi LPS secara langsung ke sel A549 merupakan metode yang digunakan untuk mensimulasikan kondisi inflamasi akut karena cedera sel (Zeng *et al.*, 2024). Induksi LPS kepada sel A549 sering digunakan sebagai model untuk mempelajari penyakit inflamasi paru-paru. Dosis 1 µg/mL LPS mampu menstimulasi sel A549 untuk melepaskan faktor inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan sel. (Q. H. Liu *et al.*, 2024). Model cedera paru-paru yang diinduksi LPS

berperan dalam penelitian ALI dan ARDS. LPS dapat memicu respons inflamasi akut pada paru-paru. LPS mengaktifkan faktor transkripsi, seperti NF- κ B yang merangsang produksi sitokin pro-inflamasi. Sitokin pro-inflamasi akan menarik sel-sel imun, seperti neutrofil dan makrofag ke lokasi cedera yang melepaskan enzim proteolitik dan spesies oksigen reaktif yang memperburuk kondisi paru-paru (H. Liu *et al.*, 2024).

Selain paparan inflamasi menggunakan LPS, model ALI juga disimulasikan melalui teknik goresan atau *scratch assay*, yaitu pembuatan luka buatan pada permukaan sel. Ketika terjadi goresan pada sel, sel-sel di sekitar luka goresan akan rusak. Sel-sel yang mengalami kerusakan akan menghasilkan sinyal berupa sitokin dan kemokin yang menarik sel-sel lain ke lokasi luka untuk melawan infeksi. Sinyal ini juga merangsang sel-sel di sekitar luka untuk bermigrasi dan berproliferasi untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Radstake *et al.*, 2023).

Kemajuan dalam bidang biologi sel punca memberikan pendekatan terapi baru yang menjanjikan. Terapi sel punca menawarkan harapan baru dalam pengobatan ALI/ARDS. Sel punca, khususnya sel pluripoten dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel epitel alveolar sehingga dapat mengganti sel-sel yang rusak akibat ALI/ARDS. Sel punca, seperti sel punca mesenkimal (MSC) dapat memodulasi respons imun agar tidak merusak jaringan tubuh. Pada ALI/ARDS terdapat kerusakan pada penghalang epitel yang menyebabkan gangguan pada pertukaran gas dan produksi surfaktan. Sel punca berpotensi untuk berdiferensiasi menjadi sel

epitel dan endotel yang baru untuk menggantikan sel-sel yang rusak dan memulihkan fungsi penghalang epitel, serta dapat melepaskan faktor pertumbuhan dan perbaikan sel yang ada yang dapat merangsang produksi surfaktan (Hayes *et al.*, 2012).

Co-culture merupakan suatu teknik kultivasi yang terdiri lebih dari satu sel pada suatu wadah kultur. *Co-culture* dapat diaplikasikan pada penelitian tentang pengobatan karena memberikan model yang sesuai dengan kondisi *in vivo* (Goers *et al.*, 2014). Sekretom merupakan molekul yang disekresi oleh sel ke media kultur. Sekretom mengandung vesikel ekstraseluler (EV), faktor pertumbuhan, kemokin, dan sitokin. Sekretom dijadikan sebagai agen terapeutik bebas sel. Formulasi sekretom yang diberikan kepada model ALI terbukti efektif dan aman sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif baru untuk terapi regeneratif bebas sel (non-invasif) (Kudinov *et al.*, 2022).

Captopril memiliki potensi untuk mengurangi keparahan cedera paru-paru dengan cara menghambat *angiotensin-converting enzyme* (ACE). ACE berperan dalam merubah angiotensin I menjadi angiotensin II penyebab penyempitan pembuluh darah (Y. Chen *et al.*, 2019). Sepsis merupakan kondisi dimana respons inflamasi berlebihan yang menyebabkan kerusakan pada fungsi organ dan risiko kematian. Kegagalan pada paru-paru akibat sepsis menyebabkan ARDS atau ALI. Atorvastatin menawarkan pengobatan baru bagi pasien dengan sepsis dengan menghambat jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan

pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dipicu oleh *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) *oxidase* (NOX2) sehingga dapat mengurangi kerusakan jaringan (Y. Zhang *et al.*, 2024).

Model ALI pada penelitian kali ini menggunakan sel A549 yaitu sel yang berasal dari adenokarsinoma paru-paru yang memiliki karakteristik yang mirip dengan sel epitel alveolar tipe II (Garcia-de-Alba, 2021). Sel epitel alveolar tipe II sendiri berperan penting dalam fisiologi dan patologi paru-paru, sehingga sel A549 sering digunakan sebagai model *in vitro* untuk meniru fungsi sel tersebut. Dalam penelitian ini, sel A549 diinduksi dengan lipopolisakarida (LPS) dosis 2.566 µg/mL dan diberi perlakuan *scratch* untuk menciptakan kondisi kerusakan dan inflamasi, yang mensimulasikan lingkungan inflamasi pada paru-paru pada kondisi *Acute Lung Injury* (ALI). Model ALI diberikan berbagai perlakuan, seperti obat-obatan farmakologis dan terapi biologis untuk mengevaluasi efektivitas terapi yang diberikan dalam menekan respon inflamasi, mempercepat regenerasi, dan mengurangi kerusakan jaringan. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal dalam pengembangan terapi yang potensial dalam mengatasi gangguan inflamasi pada paru-paru, yaitu *Acute Lung Injury*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh induksi LPS dan perlakuan *scratch* terhadap morfologi dan jumlah A549 sebagai model *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI)?

2. Bagaimana pengaruh induksi LPS dan *scratch* terhadap kadar penanda inflamasi (IL-8) dan angiogenin pada sel A549 sebagai model *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI)?
3. Bagaimana perbedaan pengaruh inflamasi antara induksi LPS dan *scratch* pada sel A549 sebagai model *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI)?
4. Bagaimana pengaruh masing-masing perlakuan dan potensi terapi yang diberikan sebagai kandidat obat pengembangan baru *Acute Lung Injury* (ALI) pada sel A549?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis pengaruh induksi LPS dan *scratch* terhadap morfologi dan jumlah sel A549 sebagai pemodelan *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI).
2. Mengukur kadar penanda inflamasi (IL-8) dan angiogenin pada sel A549 untuk memahami profil inflamasi yang dipicu dalam model *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI).
3. Membandingkan efek inflamasi antara induksi LPS dan *scratch* pada sel A549 untuk mengetahui perbedaan potensi inflamasi kedua perlakuan dalam model *in-vitro Acute Lung Injury* (ALI).
4. Mengetahui efek yang disebabkan oleh masing-masing perlakuan dan potensi terapi yang diberikan sebagai kandidat obat pengembangan baru *Acute Lung Injury* (ALI) pada sel A549.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengobatan baru yang lebih efektif dan aman untuk mengatasi *Acute Lung Injury* (ALI).