



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jalan Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131  
Telepon 031-5020251, 031-5030253, Fax 031-5022472  
Website : <http://www.fk.unair.ac.id>, Email : [dekan@fk.unair.ac.id](mailto:dekan@fk.unair.ac.id)

**SALINAN**

**KEPUTUSAN  
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
NOMOR 48/UN3.1.1/KD/2019**

**TENTANG**

**PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR  
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
ATAS NAMA RESTI YUDHAWATI MELIANA, dr.,Sp.P**

**DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,**

- Menimbang :
- a. bahwa ujian disertasi tahap I Jenjang Doktor telah dilaksanakan, selanjutnya mahasiswa yang dinyatakan lulus dari ujian tahap I tersebut berhak mengikuti ujian tahap II yang disebut Ujian Doktor Terbuka;
  - b. bahwa nama-nama Penyanggah Ujian Doktor Terbuka yang tercantum dalam lampiran Keputusan ini dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk ditetapkan sebagai penyanggah Ujian Doktor Terbuka;
  - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran tentang Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran.
- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
  2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
  3. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
  4. Undang-Undang Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);

5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga Di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
8. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 38 Tahun 2017 tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 21 Tahun 2014 tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga;
10. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1947/H3/KR/2011 tentang Penetapan Ruang Lingkup Program Studi dalam Kategori Monodisiplin, Interdisiplin dan Multidisiplin untuk Pengelolaan Program Magister dan Program Doktor;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1732/UN3/2015 tentang Pengangkatan Dekan Fakultas dan Direktur Sekolah Pascasarjana Periode 2015-2020.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan : KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN TENTANG PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN ATAS NAMA RESTI YUDHAWATI MELIANA, dr.,Sp.P.

PERTAMA: ...

**PERTAMA** : Menetapkan Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran atas nama Resti Yudhawati Meliana, DR.,Sp.P. yang dilaksanakan pada tanggal, 18 Pebruari 2019 dengan susunan nama sebagai berikut:

1. Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr.,Sp.P(K)
2. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
3. Dr. Soedarsono, dr.,Sp.P(K)
4. Dr. Willy Sandhika, dr.,M.Si.,Sp.PA(K)
5. Dr. Gatot Soegiarto, dr.,Sp.PD.,K-AI.,FINASIM
6. Dr. E. Djoko Poetranto, drh.,MS
7. Dr. Laksmi Wulandari, dr.,Sp.P(K),FCCP
8. Dr. Achmad Chusnu Romdhoni, dr.,Sp.THT-KL.,FICS
9. Dr. Sunarjo, dr.,MS.,M.Sc
10. Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K)

**KEDUA** : Dalam menjalankan tugasnya sebagaimana dimaksud dalam diktum PERTAMA, berpedoman pada peraturan dan ketentuan yang berlaku serta mempertanggungjawabkan tugasnya kepada Dekan Fakultas Kedokteran.

**KETIGA** : Biaya untuk keperluan tersebut dibebankan pada dana Rencana Kegiatan dan Anggaran Tahunan (RKAT) Fakultas Kedokteran.

**KEEMPAT** : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Surabaya  
pada tanggal 15 Pebruari 2019

DEKAN,

ttd

**SOETOJO**

NIP 195606081986121001

Salinan sesuai dengan aslinya  
Kepala Bagian Tata Usaha,

  
Lilik Erlinawati Farida  
NIP 196510201987022001

SALINAN disampaikan Yth.  
1. Rektor Universitas Airlangga  
2. Yang bersangkutan

**DISERTASI**

**MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN  
EPITELALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED  
MESENCHIMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS  
SYNDROME* AKIBAT VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC  
AVIAN INFLUENZA H5N1***



**RESTI YUDHAWATI MELIANA**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2019**

# DISERTASI

MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN  
EPITELALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED*  
*MESENCHIMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS*  
*SYNDROME* AKIBAT VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC*  
*AVIAN INFLUENZA H5N1*



RESTI YUDHAWATI MELIANA

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2019

**DISERTASI**

**MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN  
EPITEL ALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED  
MESENCHYMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS  
SYNDROME* AKIBAT VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC  
AVIAN INFLUENZA H5N1***

**RESTI YUDHAWATI MELIANA**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2019**

**MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN  
EPITEL ALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED  
MESENCHYMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS  
SYNDROME* AKIBAT VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC  
AVIAN INFLUENZA H5N1***

**DISERTASI**

Untuk Memperoleh Gelar Doktor  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor  
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan  
Dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir  
Tahap 2 (Terbuka)

Pada hari : Senin  
Tanggal : 18 Februari 2019  
Pukul : 10.00 WIB

**Oleh:**

**Resti Yudhawati Meliana  
011417017343**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2019**

**LEMBAR PENGESAHAN**

DISERTASI

MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN EPITEL  
ALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED*  
*MESENCHYMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS*  
*SYNDROME* AKIBAT PAPARAN VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC*  
*AVIAN INFLUENZA H5N1*

TELAH DISETUJUI  
PADA TANGGAL 8 APRIL 2019

Oleh

Promotor

Prof. Dr. M. Amin, dr., Sp.P(K)  
NIP. 194708101974121002

Kopromotor

Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh  
NIP. 195910031987011001



**Disertasi ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji Ujian Tahap II (Terbuka)  
Pada Tanggal : 18 Februari 2018**

---

**PANITIA PENGUJI:**

**Ketua** : Dr. Sunarjo, dr., MS, MSc

**Anggota** :

1. Prof. Dr. M. Amin, dr., SpP(K)
2. Prof. Dr. Fedik A Rantam, drh
3. Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K)
4. Dr. Laksmi Wulandari, dr., SpP(K)
5. Dr. Gatot Soegiarto, dr., SpPD, K-Ai
6. Dr. Achmad C. Romdhoni, dr., Sp.THTKL(K), FICS
7. Dr. Emanuel D. Poetrianto, drh
8. Dr. Soedarsono, dr., SpP(K)
9. Dr. Willy Sandhika, dr., M.Si., Sp.PA(K)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
Tentang Panitia Penguji Disertasi  
Nomor : 403/UN3.1.1/KD/2018  
Tanggal : 27 Desember 2018

## RINGKASAN

### MEKANISME IMUNOREGULASI DAN REGENERASI KERUSAKAN EPITEL ALVEOLAR SETELAH PEMBERIAN *BONE MARROW DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL* PADA *ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME* AKIBAT VIRUS *HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA H5N1*

*Acute respiratory distress syndrome* (ARDS) adalah kegagalan pernapasan akut yang merupakan komplikasi akibat *acute lung injury* (ALI). ARDS ditandai dengan kerusakan alveolar difus yang pada akhirnya mengakibatkan hipoksemia berat dan gagal napas. Virus *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) H5N1 merupakan salah satu penyebab tingginya insiden ARDS. Indonesia adalah negara dengan jumlah kumulatif penderita avian influenza terbanyak setelah Mesir, dengan angka kematian tertinggi di dunia, sejak tahun 2003 tercatat 200 kasus dengan 168 kematian, dua di antaranya terjadi pada tahun 2015 dan semuanya meninggal karena gagal napas akut. Pada tahun 2017 ditemukan kembali 1 kasus kematian akibat avian influenza H5N1, setelah tidak ditemukan kasus H5N1 pada tahun 2016 (WHO, 2018; Kemenkes RI, 2017).

Pengembangan terapi saat ini mengutamakan terapi yang memiliki kemampuan imunomodulator, inhibitor kaskade sinyal intraseluler yang digunakan virus untuk replikasi dan memiliki kemampuan regenerasi. Terapi berbasis sel merupakan pendekatan terapi baru yang potensial. Terapi allotransplantasi *bone marrow derived mesenchymal Stem Cell* (BM-MSC) memiliki efek menguntungkan pada model eksperimental cedera paru akut baik oleh karena bahan kimia maupun infeksi bakteri. Penelitian tentang pemberian BM-MSC pada ARDS akibat infeksi virus pernapasan akut belum banyak dan menunjukkan hasil yang bertentangan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi BM-MSC pada ARDS akibat paparan virus HPAI H5N1 dan menjelaskan mekanismenya.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental, randomize control group pre-test dan post-test design* pada hewan coba mencit BALB/c. Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap. Tahap 1 merupakan tahap prakondisi yang membuat kerusakan paru akut dengan cara instilasi virus HPAI A/turkey/East Java/Av154/2013 (H5N1) secara intranasal. Dosis virus yang digunakan adalah dosis letal yaitu  $1 \times 10^{-3}$ , berdasarkan hasil penelitian pendahuluan menyebabkan kematian pada 100% mencit (MLD100) pada hari ke-7. Tahap 2 adalah mencit dengan kerusakan paru akut yang diberikan terapi BM-MSC. Kuantitas BM-MSC yang digunakan pada penelitian ini adalah  $5,5 \times 10^5$  dengan *booster* sebanyak dua kali. Identifikasi dan karakterisasi BM-MSC dilakukan dengan pemeriksaan imunositokimia dan *flowcytometri* yang menunjukkan CD 105 positif dan CD 45 negatif. Pemeriksaan ekspresi  $\beta$ -catenin, ekspresi PGE2, ekspresi NF $\kappa$ B, ekspresi IL-1 $\beta$ , ekspresi RAGE, ekspresi pSftpc, ekspresi Aqp5+, PaO2/FiO2, titer virus dan luas kerusakan paru dilakukan secara periodik. Uji statistik menggunakan Anova dan analisis jalur. Etika penelitian disetujui oleh Animal Care and Use Committee (ACUC), Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

Penelitian ini membuktikan pemberian BM-MSC pada mencit model kerusakan paru akut akibat HPAI H5N1 meningkatkan ekspresi  $\beta$ -catenin, meningkatkan ekspresi PGE2, meningkatkan ekspresi Sftpc, meningkatkan ekspresi Aqp5+, meningkatkan kadar PaO2/FiO2, menurunkan ekspresi NF $\kappa$ B, menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$ , menurunkan ekspresi RAGE, menurunkan ekspresi TNF $\alpha$ , menurunkan skor HE. Pemberian BM-MSC tidak terbukti menurunkan titer virus dan tidak dapat menjelaskan

perbaikan kerusakan paru akut melalui mekanisme regenerasi.

Temuan baru pada penelitian ini adalah, faktor terlarut yang dilepaskan oleh BM-MSc mampu memberikan efek imunoregulasi dan regenerasi sel alveolar tipe 1 dan alveolar tipe 2 melalui aktivasi PGE2 endogen. Adanya kerusakan paru akut akibat pelepasan sitokin proinflamasi TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang berlebih pada daerah jejas, diperkirakan akan memicu BM-MSc untuk melepaskan berbagai macam faktor terlarut dan mengubah lingkungan mikro pada daerah jejas, yang akan mengaktifkan PGE2 endogen, untuk selanjutnya akan meningkatkan akumulasi  $\beta$ -catenin endogen pada sitoplasma. Akumulasi  $\beta$ -catenin yang berlebihan dalam sitoplasma akan mengaktifkan jalur imunoregulasi dan regenerasi. Aktivitas jalur imunoregulasi akibat peningkatan  $\beta$ -catenin melalui mekanisme *cross regulation* akan menyebabkan penurunan faktor transkripsi NF $\kappa$ B, sehingga aktivitas gen proinflamasi dan ekspresi RAGE menurun, mekanisme ini dapat mencegah kerusakan paru lebih lanjut. Aktifitas  $\beta$ -catenin juga akan meningkatkan proliferasi progenitor sel AT2 dan AT1 yang berfungsi dalam mekanisme regenerasi. Berdasarkan besaran pengaruh dan signifikansinya dari kedua mekanisme tersebut, mekanisme imunoregulasi lebih dominan untuk mencegah terjadinya kerusakan fungsi paru lebih lanjut, yang ditandai dengan penurunan skor HE. Penurunan skor HE dapat mencegah terjadinya ARDS berdasarkan penghitungan rasio PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>. Penelitian ini memiliki keterbatasan sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, karena adanya faktor – faktor lain yang belum diteliti yang mungkin dapat mempengaruhi potensi dan mekanisme MSC eksogenus pada perbaikan kerusakan paru akut.

## SUMMARY

### MECHANISMS OF IMMUNOREGULATION AND REGENERATION OF ALVEOLAR EPITHELIAL DAMAGE AFTER ADMINISTRATION OF BONE MARROW DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL IN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME INDUCED BY HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA H5N1 VIRUS

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is type of acute respiratory failure due to lung injury from a variety of precipitants. Pathologically ARDS is characterised by diffuse alveolar damage which finally causes hypoxemia and respiratory failure. Highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 virus is one of the causative agents with a high incident rate in Acute respiratory distress syndrome. Indonesia is the country with the second highest cumulative number of avian influenza patients, after Egypt, with the highest mortality rate in the world. Since 2003, there have been 200 cases with 168 mortalities, both of them occurred in 2015 and all of them died due to acute respiratory distress syndrome. In 2017, it was also found 1 more mortality case because of avian influenza H5N1 after its absence in 2016.

The current therapy development prioritizes therapies having immunomodulator ability, inhibitor of the intracellular signal cascades which are used by virus to replicate and have regeneration ability. A cell-based therapy is a new potential therapy approach. Bone marrow derived mesenchymal Stem Cell (BM-MSC) allotransplantation therapy has beneficial effects in acute lung injury experimental models, due to chemical substances and bacteria infection. Study related BM-MSC administration in ARDS due to acute respiratory virus infection is limited and indicates conflicting result. The aim of this study is to provide information about the potential therapeutic roles of BM-MSC in ARDS due to HPAI H5N1 virus infection and to explain its mechanism.

This is a *true experimental*, with *randomized control group pre-test and post-test design* in BALB/c mice. This study was divided into 2 stages. Stage 1 was preconditioning phase which created acute lung injury by instillation of HPAI A/turkey/East Java/Av154/2013 (H5N1) virus intranasally. The lethal dose used was  $1 \times 10^{-3}$ , and based on the previous study, it caused mortality in 100% mice (MLD100) on day 7. Stage 2 was mice with acute lung injury given BM-MSC therapy. The BM-MSC quantity applied in this study was  $5,5 \times 10^5$  with *booster* applied twice. Identification and characterization of BM-MSC were conducted by doing immunocytochemical and *flow cytometry* examination, indicating CD 105 positive and CD 45 negative.  $\beta$ -catenin, PGE2, NF $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , RAGE, Sftpc, Aqp5+, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> level, viral titer and area of lung injury were measured periodically. Statistical analysis was performed using Anova and path analysis. This study was approved by Animal Care and Use Committee (ACUC), Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga.

The results of this study had proven that the administration of BM-MSC in acute lung injury induced by HPAI H5N1 increased the expression of  $\beta$ -catenin, PGE2, Sftpc, Aqp5+ and ratio of PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, while decreased the expression of NF $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , RAGE, TNF $\alpha$ , and HE score. The BM-MSC administration did not prove to decrease the viral titer and was not able to explain the regeneration of acute lung damage by means of regeneration mechanism.

The new finding of this study is that the soluble factor released by BM-MSC was able to provide with immunoregulation and regeneration effects of type 1 and type 2

## ABSTRACT

### MECHANISMS OF IMMUNOREGULATION AND REGENERATION OF ALVEOLAR EPITHELIAL DAMAGE AFTER ADMINISTRATION OF BONE MARROW DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL IN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME INDUCED BY HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA H5N1 VIRUS

Resti Yudhawati M

**Background:** Highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 virus is one of the causative agents with a high incident rate in *Acute respiratory distress syndrome* (ARDS). Studies on therapeutic administration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) in ARDS caused by the viral infection have been limited and shown conflicting results.

**Objective:** The aim of this study was to investigate for therapeutic potential of BM-MSCs administration in ARDS caused by a HPAI H5N1 virus, and to explain its mechanism.

**Methods:** There were 86 BALB/c mice used in this study. The animal model was divided into four groups; healthy control, ARDS control, ARDS group with PBS therapy and ARDS group with BM-MSC therapy. The model of acute lung injury was made by instillation of HPAI A/turkey/East Java/Av154/2013 (H5N1) virus, with dosage of  $1 \times 10^{-3}$  intranasally. The BM-MSC quantity applied in this study was  $5,5 \times 10^5$  with booster applied twice. The expression of  $\beta$ -catenin, PGE2, NF $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , RAGE, Sftpc and Aqp5+ were measured by immunohistochemistry staining. Lung injury was scored by haematoxylin-eosin staining. Viral titer was calculated by Haemagglutination (HA) examination. Blood gas examination was done to know the PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio.

**Results:** This study had proven that the administration of BM-MSC in acute lung injury induced by HPAI H5N1 increased the expression of  $\beta$ -catenin, PGE2, Sftpc, Aqp5+ and the level of PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, while decreased the expression of NF $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , RAGE, TNF $\alpha$ , and HE score. Path analysis proves that there is a correlation between PGE2,  $\beta$ -catenin, NF $\kappa$ B and TNF $\alpha$ .

**Conclusions:** The administration of BM-MSCs had a tendency to inhibit acute lung injury caused by the HPAI H5N1 virus. Mechanism immunoregulation is more dominant to inhibit further damage of pulmonary function, through the PGE2,  $\beta$  catenin, NF $\kappa$ B and TNF $\alpha$  pathway.

**Keywords:** Aqp5+, ARDS,  $\beta$ -catenin, BM-MSC, IL-1 $\beta$ , NF $\kappa$ B, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, PGE2, RAGE, Sftpc, Viral titer.

alveolar cells by activating PGE 2 endogen. The existence of acute lung injury due to excessive TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  proinflammation cytokine release in the lesion was predicted to trigger BM-MSc to release some kinds of soluble factors and change the micro environment in the lesion area, which later would activate PGE2 endogen, subsequently increase  $\beta$ -catenin endogen accumulation in cytoplasm. Excessive  $\beta$ -catenin accumulation in cytoplasm activated immunoregulation and regeneration pathways. Activation of immunoregulation pathway due to  $\beta$ -catenin increase by means of *cross regulation* mechanism would cause the decrease of NF $\kappa$ B transcription factor, thus proinflammation gene activities and RAGE expression declined.  $\beta$ -catenin activity would also improve AT2 and AT1 proliferation progenitor cells which work in regeneration mechanism. Based on the effect and its significance, between both mechanisms, immunoregulation mechanism was more dominant to prevent occurrence of further lung injury, marked by the decrease of HE score. The decrease of HE score can prevent ARDS according to PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio. This study has limitation, hence further study needs to be conducted because there are other factors that have not been studied yet which are very likely able to affect the potential of exogenous MSC administration and its mechanism in the repair of acute lung injury.

## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| Sampul Depan .....  | i       |
| Sampul Dalam.....   | ii      |
| Lembar Pengajuan.....   | iii     |
| Lembar Pengesahan.....  | iv      |
| PANITIA PENGUJI.....  | v       |
| UCAPAN TERIMA KASIH.....  | vi      |
| RINGKASAN.....  | ix      |
| SUMMARY.....  | xi      |
| ABSTRAK .....   | xiii    |
| ABSTRACT.....   | xiv     |
| DAFTAR ISI .....  | xv      |
| DAFTAR TABEL.....   | xx      |
| DAFTAR GAMBAR.....  | xxi     |
| DAFTAR LAMPIRAN .....   | xxiv    |
| DAFTAR SINGKATAN.....   | xxv     |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>  |         |
| 1.1 Latar Belakang .....  | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....   | 6       |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....   | 6       |
| 1.3.1 Tujuan umum .....   | 6       |
| 1.3.2 Tujuan khusus .....   | 6       |
| 1.4 Manfaat .....   | 7       |
| 1.4.1 Manfaat teoritik penelitian .....   | 7       |
| 1.4.2 Manfaat praktis penelitian .....  | 7       |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>   |         |
| 2.1 Influenza A .....   | 8       |
| 2.1.1 Struktur dan patogenesis virus influenza .....                                      | 8       |
| 2.1.2 Respons imun <i>host</i> terhadap influenza A virus .....                           | 9       |
| 2.1.3 Aktifasi jalur sinyal seluler <i>host</i> yang diinduksi oleh virus influenza ..... | 12      |
| 2.1.4 <i>Nuklir faktor-κB</i> (NFκβ) .....  | 13      |

|   |    |
|---|----|
| 2.1.5 Jalur NF $\kappa$ B dan replikasi virus .....                                     | 14 |
| 2.2 <i>Cytokine Storm</i> .....   | 14 |
| 2.3 Imunopatogenesis ALI/ARDS Yang Diinduksi oleh Infeksi Virus Influenza..             | 17 |
| 2.4 <i>Danger Associated Molecular patterns</i> (DAMPs) pada ARDS.....                  | 19 |
| 2.4.1 Interaksi antara HMGB1 dan RAGE.....  | 19 |
| 2.5 Anatomi Paru .....  | 22 |
| 2.5.1 Elemen dasar struktural jaringan paru .....                                       | 22 |
| 2.5.2 Aspek struktural dari sistem pertahanan paru .....                                | 26 |
| 2.5.3 Aquaporin 5 (Aqp5+) pada kerusakan paru .....                                     | 27 |
| 2.5.4 SFTPC pada kerusakan paru .....   | 28 |
| 2.6 Dasar – Dasar Perkembangan Paru .....   | 29 |
| 2.6.1 Sel progenitor pada perkembangan endoderm paru .....                              | 31 |
| 2.6.2 Peran faktor transkripsi pada regulasi dan diferensiasi sel epitel paru .....     | 32 |
| 2.6.3 Jalur perkembangan dan regenerasi paru akibat cedera .....                        | 32 |
| 2.7 Protein $\beta$ catenin.....  | 33 |
| 2.7.1 Struktur protein beta catenin .....   | 34 |
| 2.7.2 Fungsi $\beta$ -catenin .....   | 37 |
| 2.7.3 <i>Cross-Regulasi</i> antar jalur sinyal $\beta$ -catenin dan NF $\kappa$ B ..... | 38 |
| 2.8 Perkembangan Paru dan Jalur Sinyal Wnt .....  | 39 |
| 2.8.1 Sinyal Wnt dan MSC melalui proses transdiferensiasi.....                          | 40 |
| 2.9 Prostaglandin E2 pada cedera paru .....   | 40 |
| 2.10 <i>Stem cell</i> .....   | 42 |
| 2.10.1 Klasifikasi stem sel .....   | 43 |
| 2.10.2 Pembagian stem sel dewasa ( <i>Adult Stem Cell</i> , ASC) .....                  | 44 |
| 2.10.3 Mekanisme regenerasi <i>Stem cell</i> .....                                      | 44 |
| 2.10.4 <i>Stem cell</i> dan progenitor sel endogen pada paru .....                      | 45 |
| 2.10.5 <i>Stem Cell</i> dan progenitor eksogen pada paru .....                          | 48 |
| 2.11 <i>Mesenchymal Stem Cells</i> (MSC) .....  | 49 |
| 2.11.1 Immunobiologi <i>mesenchymal stem cell</i> .....                                 | 51 |
| 2.11.2 Komunikasi antara MSC dan jaringan yang rusak .....                              | 52 |
| 2.11.3 MSC dan Inflamasi <i>Niche</i> .....   | 54 |
| 2.11.4 Peran Mesenchymal stem cell eksogen pada cedera paru .....                       | 55 |
| 2.11.5 Peran immunomodulasi MSC eksogen pada cedera paru .....                          | 56 |
| 2.11.6 Peran immunomodulasi MSC eksogen pada cedera paru akibat influenza ..            | 58 |



### **BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

|  |    |
|--|----|
| 3.1 Kerangka konseptual .....            | 59 |
| 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual ..... | 60 |
| 3.3 Hipotesis .....                      | 62 |

### **BAB 4 METODE PENELITIAN**

|   |    |
|---|----|
| 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....                              | 63 |
| 4.2 Populasi Penelitian tahap 1 .....                                 | 65 |
| 4.2.1 Sampel penelitian tahap 1 .....                                 | 65 |
| 4.2.2 Kriteria inklusi penelitian tahap 1 .....                       | 65 |
| 4.2.3 Kriteria eksklusi penelitian tahap 1 .....                      | 65 |
| 4.2.4 Kriteria putus uji ( <i>drop out</i> ) penelitian tahap 1 ..... | 65 |
| 4.2.5 Pengelompokan hewan coba pada penelitian tahap 1 .....          | 66 |
| 4.2.6 Sampel pada penelitian tahap 1 .....                            | 66 |
| 4.2.7 Randomisasi .....   | 66 |
| 4.2.8 Variabel penelitian tahap 1 .....                               | 66 |
| 4.2.9 Instrumen dan prosedur pengumpulan data .....                   | 67 |
| 4.2.10 Definisi operasional dan istilah .....                         | 72 |
| 4.3 Subjek Penelitian Tahap 2 .....                                   | 75 |
| 4.3.1 Sampel penelitian tahap 2 .....                                 | 75 |
| 4.3.2 Kriteria inklusi pada penelitian tahap 2 .....                  | 75 |
| 4.3.3 Kriteria eksklusi pada penelitian tahap 2 .....                 | 75 |
| 4.3.4 Besar sampel penelitian tahap 2 .....                           | 75 |
| 4.3.5 Teknik randomisasi pada penelitian tahap 2 .....                | 75 |
| 4.3.6 Variabel penelitian tahap 2 .....                               | 75 |
| 4.3.7 Prosedur penelitian tahap 2 .....                               | 76 |
| 4.3.8 Definisi operasional dan istilah .....                          | 78 |
| 4.4 Tempat penelitian .....   | 79 |
| 4.5 Waktu penelitian .....  | 79 |
| 4.6 Rancangan Analisis .....  | 80 |
| 4.7 Kerangka Operasional Penelitian .....                             | 81 |

### **BAB 5 HASIL PENELITIAN**

|  |    |
|--|----|
| 5.1 Karakteristik sampel penelitian .....                      | 82 |
| 5.2 Kultur dan Identifikasi <i>Mesenchymal Stem Cell</i> ..... | 84 |

|   |     |
|---|-----|
| 5.3 Identifikasi Terjadinya Homing MSC pada Jaringan Paru Mencit.....   | 87  |
| 5.4 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia .....   | 89  |
| 5.4.1 Hasil pengamatan ekspresi PGE2 .....  | 89  |
| 5.4.2 Hasil pengamatan ekspresi $\beta$ -catenin .....  | 92  |
| 5.4.3 Hasil pengamatan ekspresi NF $\kappa$ $\beta$ .....   | 96  |
| 5.4.4 Hasil pengamatan ekspresi RAGE .....  | 99  |
| 5.4.5 Hasil pengamatan ekspresi sitokin proinflamatori .....  | 101 |
| 5.4.6 Hasil pengamatan ekspresi Sftpc .....   | 107 |
| 5.4.7 Hasil pengamatan ekspresi Aqp5+ .....   | 110 |
| 5.5 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Jaringan Paru Mencit .....  | 114 |
| 5.6 Hasil Pemeriksaan Titer Virus .....   | 120 |
| 5.7 Hasil Pemeriksaan Rasio PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> .....  | 123 |
| 5.8 Hasil Analisis Jalur .....  | 126 |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>   |     |
| 6.1 Kultur MSC .....  | 130 |
| 6.2 <i>Mesenchymal Stem Cell</i> Allotransplantasi .....  | 131 |
| 6.3 Homing .....  | 132 |
| 6.4 Ekspresi PGE2 Endogen Pada Kerusakan Paru Akut Akibat Virus HPAI H5N1<br>Setelah Pemberian BM MSC.....                        | 134 |
| 6.5 Ekspresi $\beta$ -catenin Endogen Pada Kerusakan Paru Akut Setelah Pemberian BM-<br>MSC .....                                 | 135 |
| 6.6 Ekspresi NF $\kappa$ $\beta$ Pada Kerusakan Paru Akut Setelah Pemberian BM-MSC<br>.....                                       | 136 |
| 6.7 Ekspresi <i>Receptor For Advanced Glycation End Product</i> (RAGE) Pada Kerusakan<br>Paru Akut Setelah Pemberian BM-MSC ..... | 137 |
| 6.8 Pengaruh Pemberian BM-MSC Terhadap Aktivasi Sitokin Proinflamatori .....  | 138 |
| 6.8.1 Ekspresi IL-1 $\beta$ .....   | 138 |
| 6.8.2 Ekspresi TNF $\alpha$ .....   | 139 |
| 6.9 Ekspresi Sftpc Pada Kerusakan Paru Akut Setelah Pemberian BM-<br>MSC.....   | 140 |
| 6.10 Ekspresi Aqp5+ Pada Kerusakan Paru Akut Setelah Pemberian BM-MSC....   | 140 |
| 6.11 Pengaruh Pemberian BM-MSC Terhadap Luas Kerusakan Paru .....   | 142 |
| 6.12 Pengaruh Pemberian BM-MSC Terhadap Titer Virus .....   | 143 |

|  |     |
|--|-----|
| 6.13 Pengaruh Pemberian BM-MSc Terhadap Rasio PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> .....   | 145 |
| 6.14 Mekanisme Imunregulasi dan Regenerasi Setelah Pemberian BM-MSc Pada Kerusakan Paru Akut Akibat Paparan Virus HPAI H5N1.....                           | 145 |
| 6.14.1 Mekanisme imunregulasi setelah pemberian BM-MSc pada kerusakan paru akut akibat paparan virus HPAI H5N1 .....                                       | 146 |
| 6.14.2 Mekanisme regenerasi paru terhadap perbaikan kerusakan jaringan.....  | 151 |
| 6.15 Efek Peningkatan Titer Virus Terhadap Kerusakan Jaringan .....  | 153 |
| 6.16 Peran Efek Parakrin Dalam Mekanisme Imunregulasi dan Regenerasi Setelah Pemberian BM-MSc Pada Kerusakan Paru Akut Akibat Paparan Virus HPAI H5N1..... | 155 |
| 6.17 Temuan Akademis Baru.....   | 156 |
| 6.18 Implikasi Hasil Penelitian .....  | 157 |
| 6.19 Keterbatasan Penelitian .....   | 159 |
| <b>BAB 7 PENUTUP</b>   |     |
| 7.1 Kesimpulan .....   | 160 |
| 7.2 Saran .....  | 161 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 162 |