

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	ix
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	xii
KATA PENGANTAR	xiii
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	17
A. Latar Belakang	17
B. Rumusan Masalah.....	21
C. Tujuan Penelitian	22
1. Tujuan umum	22
2. Tujuan khusus	22
D. Manfaat Penelitian	22
E. Keaslian dan Kebaruan Penelitian	23
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	25
A. Tinjauan Pustaka	25
1. <i>Chronic limb-threatening ischemia</i>	25
2. <i>Hindlimb ischemia</i>	25
3. Neovaskularisasi – Arteriogenesis dan Angiogenesis.....	27
a. Arteriogenesis.	27
b. Angiogenesis.....	31
c. Mekanisme molekuler angiogenesis.....	37
4. MikroRNA	41
a. Biogenesis dan fungsi MikroRNA.....	41
b. MikroRNA yang berperan pada CLTI.....	43
c. <i>Profiling</i> mikroRNA.	56
d. Pendekatan terapi mikroRNA.....	60
e. Pendekatan nanopartikel (NP) sebagai pembawa mikroRNA ke sel target.	62
5. Eksosom	65
a. Definisi eksosom.....	65
b. Biogenesis eksosom.....	67

c. Komposisi biologis eksosom dan fungsinya.....	69
e. Biodistribusi eksosom.....	71
f. Uptake eksosom	72
g. Metode isolasi eksosom.....	75
h. Karakterisasi eksosom.	78
i. Berbagai sumber eksosom dan perannya pada CLTI.	79
j. Eksosom <i>human umbilical cord mesenchymal stem cells</i>	81
B. Kerangka Teori.....	84
C. Kerangka Konsep.....	86
D. Hipotesis Penelitian.....	86
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	87
A. Rancangan Penelitian	87
B. Populasi dan Subjek Penelitian.....	87
1. Populasi dan Subjek Penelitian.....	87
2. Estimasi Besar Sampel	87
C. Lokasi Penelitian	88
D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	88
1. Variabel Penelitian.....	88
2. Definisi Operasional	89
E. Instrumen Penelitian	91
a. Alat penelitian	91
b. Bahan penelitian	91
c. Tahapan penelitian.....	92
F. Analisis Data.....	106
G. Etika Penelitian	108
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	109
A. Hasil Penelitian	109
1. Eksosom memperbaiki derajat nekrosis secara makroskopis dan mikroskopis	110
2. Eksosom meningkatkan arteriogenesis.....	115
3. Eksosom meningkatkan angiogenesis	117
4. Ekspresi mikroRNA dan gen tervalidasi	118
5. Gen ontologi dan analisis <i>pathway</i>	128
6. Analisis ekspresi mRNA VEGF, CD31, dan VE-Cadherin	131
B. Pembahasan.....	136
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	146
A. Kesimpulan	146

B. Saran.....	146
RINGKASAN	148
SUMMARY	152
DAFTAR PUSTAKA	156
LAMPIRAN 1	174
LAMPIRAN 2.....	175

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian dan Kebaruan Penelitian	23
Tabel 2. Daftar mikroRNA yang terlibat pada eksperimen model tikus <i>hindlimb ischemia</i>	55
Tabel 3. Komposisi Eksosom dan Perannya.....	70
Tabel 4. Ringkasan Metode Isolasi Eksosom	76
Tabel 5. Definisi Operasional	89
Tabel 6. <i>Up-regulated and down-regulated miRNAs</i> pada kelompok HLI+eksosom vs HLI+sekretom vs HLI+PBS vs <i>sham-operated</i>	119
Tabel 7. Analisis 25 gen tervalidasi pada kelompok HLI+eksosom vs HLI+sekretom vs HLI+PBS vs <i>sham-operated</i>	122

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tipe Angiogenesis	33
Gambar 2. Proses Angiogenesis	34
Gambar 3. Peran berbagai molekul dalam proses percabangan pembuluh darah.	40
Gambar 4. Biogenesis dan Fungsi mikroRNA	43
Gambar 5. Peran MikroRNA 126 terhadap angiogenesis	45
Gambar 6. MikroRNA 143-3p terhadap proses arteriogenesis	48
Gambar 7. MiR-17-92 <i>cluster</i> terhadap proses arteriogenesis	50
Gambar 8. Hubungan mikroRNA, gen, proses biologis, dan fenotipe.....	58
Gambar 9. Bagan algoritma MultiMir.....	60
Gambar 10. Nanopartikel sebagai pengangkut mikroRNA.....	65
Gambar 11. Biogenesis Eksosom	69
Gambar 12. <i>Uptake</i> eksosom.....	73
Gambar 13. Rute internalisasi eksosom	75
Gambar 14. Kerangka teori penelitian.....	84
Gambar 15. Kerangka konsep penelitian	86
Gambar 16. Gambaran klinis tungkai mencit setelah pemberian terapi eksosom, sekretom, PBS, dan <i>sham-operated</i>	111
Gambar 17. Visualisasi diagram batang derajat nekrosis makroskopis dari empat kelompok perlakuan.....	112
Gambar 18. Gambaran histopatologi otot gastrocnemius mencit untuk penilaian derajat nekrosis mikroskopis setelah pemberian terapi eksosom, sekretom, PBS, dan <i>sham-operated</i>	114
Gambar 19. Visualisasi diagram batang derajat nekrosis mikroskopis dari empat kelompok perlakuan.....	115
Gambar 20. Gambar histopatologi otot <i>adductor</i> mencit untuk penilaian arteriogenesis	116
Gambar 21. Visualisasi diagram batang rerata rasio total luas lumen arteriol dari empat kelompok perlakuan.....	116
Gambar 22. Gambaran histopatologi otot gastrocnemius mencit yang menunjukkan rasio jumlah CD31 iskemik/non-iskemik setelah pemberian terapi eksosom, sekretom, PBS, dan <i>sham-operated</i>	117
Gambar 23. Visualisasi diagram batang rerata rasio sel CD31 iskemik/non-iskemik dari empat kelompok perlakuan	118
Gambar 24. Hasil analisis GO kelompok HLI+eksosom dan HLI+ <i>sham-operated</i>	128
Gambar 25. Hasil analisis GO kelompok HLI+sekretom dan HLI+ <i>sham-operated</i>	128
Gambar 26. Hasil analisis GO kelompok HLI+eksosom dan HLI+PBS.	129
Gambar 27. Hasil analisis GO kelompok HLI+sekretom dan HLI+PBS.....	129

Gambar 28. Hasil analisis GO kelompok HLI+eksosom dan HLI+sekretom...	130
Gambar 29. Hasil analisis mirPath mmu-mir-15b dan mmu-let-7f.....	130
Gambar 30. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA VEGF pada otot aduktor.	131
Gambar 31. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA VEGF pada otot gastrocnemius.	132
Gambar 32. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA Cadherin pada otot aduktor.....	133
Gambar 33. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA Cadherin pada otot gastrocnemius.....	133
Gambar 34. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA CD31 pada otot aduktor.	134
Gambar 35. Visualisasi diagram batang hasil analisis ekspresi mRNA CD31 pada otot gastrocnemius.	135

DAFTAR SINGKATAN

AGTR1	: <i>Angiotensin II receptor type 1</i>
AKT	: <i>Protein kinase B</i>
Alix	: <i>ALG-2 interacting protein X</i>
ALK5	: <i>Activin receptor-like kinase 5</i>
ANG-1	: <i>Angiopoietin-1</i>
ANG-2	: <i>Angiopoietin-2</i>
α -SMA	: <i>A-smooth muscle-actin</i>
BALB/c	: <i>Bagg Albino/c</i>
bFGF	: <i>Basic fibroblast growth factor</i>
CD31	: <i>Cluster of differentiation 31</i>
CLTI	: <i>Chronic limb-threatening ischemia</i>
DLL4	: <i>Delta-like-4</i>
CDC25A	: <i>Cell division cycle 25 A</i>
DGCR8	: <i>Digeorge Syndrome Chronic Region 8</i>
EGFL7	: <i>Epidermal growth factor-like domain 7</i>
eRNA	: <i>Extracellular RNA</i>
eNOS	: <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
EPCs	: <i>Endothelial progenitor cells</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinases</i>
ESCRT	: <i>Endosomal sorting complexes required for transport</i>
EVH-1	: <i>Enabled/vasodilator-stimulated phosphoprotein homology-1</i>
FFPE	: <i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factors</i>
FGFR1	: <i>Fibroblast growth factor receptor 1</i>
FZD4	: <i>Frizzled class receptor 4</i>
GAPDH	: <i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase</i>
GCH1	: <i>GTP cyclohydrolase 1</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GO	: <i>Gene Ontology</i>
HLI	: <i>Hindlimb ischemia</i>
HIF	: <i>Hypoxia-induced factor</i>
HSP	: <i>Heat shock protein</i>
HUVEC	: <i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>
ICAM-1	: <i>Intracellular adhesion molecule</i>
IGF-2	: <i>Insulin-like growth factor 2</i>
IGF2R	: <i>Insulin-like growth factor II receptor</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>

iPSCs	: <i>Induced pluripotent stem cells</i>
IRF	: <i>Interferon regulatory factor</i>
ITGA-5	: <i>Integrin subunit alpha 5</i>
KEGG	: <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
LRP6	: <i>Low-density lipoprotein receptor-related protein 6</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinases</i>
MALP-2	: <i>Macrophage-activating lipopeptide-2</i>
MCP-1	: <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MEK	: <i>MAPK/ERK Kinase</i>
MHC	: <i>Major histocompatibility complex</i>
MiRNA	: <i>Micro Ribonucleic acid</i>
MMP9	: <i>Matrix metalloproteinase 9</i>
mTOR	: <i>Mammalian target of rapamycin</i>
MT1-MMP	: <i>Membrane type 1-matrix metalloproteinase</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
NRARP	: <i>Notch-regulated ankyrin repeat protein</i>
Nrf2	: <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
NRP-1	: <i>Neuropilin 1</i>
NTA	: <i>Nanoparticle tracking analysis</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PGC-1 α	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1-α</i>
PIGF	: <i>Placental growth factor</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-kinases</i>
PIK3R2	: <i>Phosphatidylinositol-3-kinase regulatory subunit 2</i>
PECAM-1	: <i>Platelet endothelial cell adhesion molecule 1</i>
PDGF- β	: <i>Platelet-derived growth factor β</i>
PDGFR- β	: <i>Platelet-derived growth factor receptor β</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
Pre-mRNA	: <i>Precursor messenger RNA</i>
Pri-miRNA	: <i>Primary transcripts</i>
PTEN	: <i>Phosphatase and tensin homolog</i>
RAF	: <i>Rapidly Accelerated Fibrosarcoma</i>
RASA1	: <i>RAS p21 protein activator 1</i>
RASSF-2	: <i>Ras association domain family</i>
RISC	: <i>RNA-induced silencing complex</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SDF-1 α	: <i>Stromal cell-derived factor 1 α</i>
SOCS1	: <i>Suppressor of cytokine signaling 1</i>
SPRED1	: <i>Sprouty-related EVH1 domain containing 1</i>

SRC	: <i>Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src</i>
STAT3	: <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor β</i>
TIE-2	: <i>Tyrosine kinase 2</i>
TIMPs	: <i>Tissue inhibitor of metalloproteinases</i>
TNF- α	: <i>Tumour Necrosis Factor alpha</i>
TSG101	: <i>Tumour susceptibility 101</i>
TSP1	: <i>Thrombospondin 1</i>
TRAF	: <i>TNF receptor-associated factor</i>
VE-Cadherin	: <i>Vascular Endothelial Cadherin</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR2	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>
3UTR	: <i>Untranslated regions</i>