

**EKSPRESI mRNA *AUTOIMMUNE REGULATORY* (AIRE) DAN
GAMBARAN HISTOLOGI THYMUS TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG
DIINDUKSI *TRIMETHYLTIN CHLORIDE* (TMT)**

Tesis S-2



Diajukan oleh

Aluh Sri Yuliana Ulfa

21/475813/PKU/19324

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR & BIOMEDIS
MINAT UTAMA HISTOLOGI & BIOLOGI SEL
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS
GADJAH MADA
YOGYAKARTA
Juli 2023**



TESIS

Judul

Eksresi MRNA Autoimmune Regulatory (Aire) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley yang Diinduksi Trimethyltin

dipersiapkan dan disusun oleh:

Aluh Sri Yuliana Ulfa
21/475813/PKU/19324

dan telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal: 7 Juli 2023

Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama:

Jajah Fachiroh, SP, M.Si, Ph.D

Ketua Dewan Penguji

dr. Nur Arfan, Ph.D

Pembimbing Pendamping:

Dewi Kartikawati Paramita, S.Si, M.Si, Ph.D

Anggota Dewan Penguji

dr. Widya Wasityastuti, M.Sc, M.Med.Ed, Ph.D

Pembimbing Pendamping:

Anggota Dewan Penguji

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Master pada Program Pascasarjana
Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan
Universitas Gadjah Mada

Tanggal 04 SEP 2023



dr. Nur Arfan, Ph.D

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Aluh Sri Yuliana Ulfa
NIM : 21/476378/PKU/19398
Tahun Terdaftar : 2021
Program Studi : Magister Ilmu Biomedik
Fakultas/Sekolah : Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan
Universitas Gadjah Mada

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Tesis ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu Lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang/Lembaga lain, kecuali secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam Daftar Pustaka.

Dengan demikian, saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur - unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah tesis ini dikemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis orang lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 9 Juni 2023



Aluh Sri Yuliana Ulfa
21/476378/PKU/19398

PRAKATA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat dan, petunjuk, kemudahan dan hidayah Allah SWT sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “EKSPRESI mRNA *AUTOIMMUNE REGULATORY* (AIRE) DAN GAMBARAN HISTOLOGI THYMUS TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG DIINDUKSI *TRIMETHYLTIN CHLORIDE* (TMT)”. Tujuan penyusunan Tesis ini adalah untuk memenuhi sebagian persyaratan derajat kesarjanaan S2 pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, minat utama Histologi dan Biologi Sel.

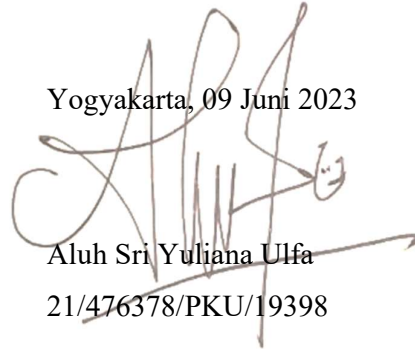
Dalam penulisan Tesis ini tentunya tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh sebab itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang begitu mendalam kepada:

1. Ibu Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, saran, dan bantuan selama penyusunan tesis ini.
2. Ibu Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, saran, dan bantuan selama penyusunan tesis ini.
3. Ketua penguji dr. Nur Arfian, Ph.D, selaku ketua tim dosen penguji yang telah memberikan banyak saran untuk perbaikan tesis.
4. Penguji dr. Widya Wasityastuti, M.Sc, M.Med.Ed, Ph.D, selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak saran dan masukan dalam perbaikan tesis
5. dr. Rina Susilowati, PhD selaku kepala Departemen Histologi dan Biologi Sel, sekaligus dosen yang telah memberi bimbingan, dukungan, semangat, masukan dan saran yang bermanfaat dalam penulisan tesis ini.
6. drg. Yustina Andwi Ari Sumiwi, M.Kes selaku dosen minat Histologi dan Biologi Sel yang sudah berkenan menjadi pengamat independen dalam penelitian ini, turut serta memberikan bimbingan, dukungan, semangat, masukan dan saran yang bermanfaat dalam penulisan tesis ini.

7. Ibu Dra. Dewajani Purnomosari, M.Si., Ph.D, Ibu Dian Eurike Septyaningtrias, S.Ked., M.Sc., Ph.D dan dr. Satrio Adi Wicaksono, M.Biomed atas masukan dan saran yang bermanfaat dalam penulisan tesis ini.
8. Ayahanda Ir. H. I Wayan Gede Anang Zaini Akbar, M.Sc dan Ibunda Dra. Hj. Ni Komang Eka Rugaiyah., M.Si, Ayah dan Ibu Mertua , Drs Sumarji, M.M dan Dra Sri Hartini, M.Pd, suami Dr. Candra Ahmadi, Ananda kesayangan Gabriel Arsyah Ahmadi, dan Mikhaila Arsyanda Ahmadi serta keluarga besar di Bali yang selalu memberikan doa, semangat dan dorongan dalam segala hal.
9. Hibah Dana Masyarakat FKKMK UGM 2021 dan dana internal Departemen Histologi dan Biologi Sel FKKMK UGM, yang telah mendanai penelitian payung dengan judul “KARAKTERISASI PENANDA PENUAAN SECARA HISTOLOGI, IMUNOLOGI DAN BIOLOGI MOLEKULER TERKAIT FUNGSI PADA TIKUS YANG DIINDUKSI *TRIMETHYLTIN*”.
10. Prof. Dr. I Nyoman Jampel, M.Pd (Rektor UNDIKSHA Periode 2019-2023), Prof. Dr. I Wayan Lasmawan, M.Pd (Rektor UNDIKSHA Periode 2023-2027), Dr. Gede Rasben Dantes, S.T, M.T.I (Wakil Rektor I UNDIKSHA), Prof. Dr. M. Ahmad Djojogugito, dr. Sp.OT(K), MHA, MBA (Dekan Fakultas kedokteran UNDIKSHA), dan Dr. dr. Ni Luh Kadek Alit Arsani, S.Ked., M.Biomed (Wakil Dekan II Fakultas kedokteran UNDIKSHA) serta Beasiswa Rektor Universitas Pendidikan Ganesha Bali yang telah membiayai biaya perkuliahan
11. Ibu Sumaryati dan Dewi Setyawati, Amd. selaku laboran di Laboratorium Histologi dan Biologi Sel, dan Fatin Asfarina Amd. A.K. laboran di Laboratorium Riset Terpadu FK-KMK UGM, yang selalu membimbing, dan memberi motivasi.
12. Seluruh staf Bagian Ilmu Histologi dan Biologi Sel dan Staf Program Studi Magister Ilmu Biomedik FKKMK UGM.
13. Rekan seperjuangan *Histolovers* yaitu Tere, Rifka, Alvi, Devi, Helga, Uun, Putri, yang saling memberi semangat dan motivasi dalam suka dan duka.
14. Rekan-rekan seperjuangan Program Studi Magister Ilmu Biomedik FKKMK UGM angkatan 2021.
15. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas seluruh bantuannya baik secara langsung maupun tidak langsung.

Semoga tesis ini dapat memberikan banyak manfaat bagi seluruh pihak dan mampu memberikan sumbangsih yang bermakna bagi ilmu pengetahuan. Akhir kata, Penulis menyadari bahwa penulisan Tesis ini masih membutuhkan banyak penyempurnaan. Oleh karena itu, kritik, saran, serta penelitian berkelanjutan yang membangun akan sangat diharapkan dari semua pihak dan kalangan. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Yogyakarta, 09 Juni 2023



Aluh Sri Yuliana Ulfa

21/476378/PKU/19398

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	II
DAFTAR ISI	VII
DAFTAR GAMBAR	IX
DAFTAR TABEL	X
DAFTAR LAMPIRAN	XI
INTISARI	XIII
ABSTRACT	XIV
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.4 Keaslian Penelitian	4
I.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1 Tinjauan Pustaka	6
II.1.1 <i>Trimethyltin Chloride</i> (TMT) dan Dampak Paparannya terhadap Tubuh	6
II.1.2 <i>Senescence</i>	8
II.1.3 <i>Cellular Senescence</i>	8
II.1.4 <i>Immunosenescence</i>	10
II.1.5 Dampak <i>Senescence</i> pada Thymus	11
II.1.5.1 Thymus	11
II.1.5.2 <i>Senescence</i> pada Thymus	13
II.1.5.3 <i>Autoimmune Regulatory</i> (AIRE)	14
II.2 Landasan teori	15
II.3 Kerangka Teori	17

II.4 Kerangka Konsep	17
II.5 Hipotesis	18
BAB III 22	
III.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	19
III.1.1 Perijinan Etik	19
III.1.1 Jenis Penelitian dan Jumlah Sampel	19
III.2 Variabel Penelitian	20
III.3 Definisi Operasional	20
III.4 Bahan dan Alat Penelitian	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
IV.1 Hasil	30
IV.1.1 Ekspresi Gen AIRE	30
IV.1.2 Karakteristik Histologi	31
IV.2 Pembahasan	34
BAB V PENUTUP	38
V.1 Kesimpulan	38
V.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme sel akibat paparan TMT	7
Gambar 2.2	Sinyal dari sistem saraf simpatik	7
Gambar 2.3	Tingkatan stres selular	9
Gambar 2.4	Jalur Efektor tiga fase sel <i>senescence</i>	10
Gambar 2.5	Dampak <i>immunosenescence</i>	11
Gambar 2.6	a. Anatomi thymus anak. b. Anatomi thymus dewasa c. Gambar histologi thymus anak (HE 25x) d. Gambar histologi thymus dewasa menampakkan tanda involusi	12
Gambar 2.7	<i>Senescence</i> thymus akibat induksi D-galaktosa	14
Gambar 2.8	Representasi Skematis Gen AIRE	15
Gambar 2.9	Kerangka teori penelitian	17
Gambar 2.10	Kerangka konsep penelitian	22
Gambar 3.1	Alur Penelitian	30
Gambar 4.1	Grafik perbandingan ekspresi mRNA AIRE kelompok yang diinduksi TMT dibandingkan kelompok kontrol dinyatakan dalam geomean	32
Gambar 4.2	Perbandingan gambaran histologi thymus kontrol dibandingkan dengan yang diberi perlakuan TMT dengan pewarnaan <i>Hematoxylin and Eosin</i> (HE)	

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Persamaan dan perbedaan penelitian yang mirip dengan usulan penelitian	4
Tabel 3.1	Jumlah sampel thymus yang digunakan	20
Tabel 3.2	Komposisi 2x reverse transcriptase (RT) master mix	24
Tabel 3.3	Thermal cycler sintesis cDNA	24
Tabel 3.4	Komposisi q-PCR master mix	24
Tabel 3.5	Primer spesifik mRNA AIRE dan GAPDH	25
Tabel 3.6	Kondisi PCR	26
Tabel 3.7	Parameter yang dinilai pada preparat thymus dengan pengecatan <i>Hematoxylin and Eosin</i>	27
Tabel 3.8	Nilai Kappa	2 8
Tabel 3.9	Jadwal Kegiatan Penelitian	29
Tabel 4.1	Hasil Pengamatan Histologi irisan thymus pada tikus dengan perlakuan TMT dibandingkan kontrol	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Amandemen Izin Etik	49
Lampiran 2.	Gambar Elektroforesis Isolasi RNA THY-TMT	56

DAFTAR SINGKATAN

AIRE	<i>Autoimmune Regulatory</i>
BB	Berat Badan
CDK	<i>Cyclin-Dependent Kinase</i>
DAMPS	<i>Danger-Associated Molecular Patterns</i>
DCs	<i>Dendritic Cells</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FFPE	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded</i>
HE	<i>Hematoxylin and Eosin</i>
IL-2	<i>Interleukin-2</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
IFN- γ	<i>Interferon gamma</i>
kg	Kilogram
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
TRAs	<i>Tissue-Restricted Antigens</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
mg	<i>miligram</i>
mRNA	<i>Messenger RNA</i>
RB	<i>Retinoblastoma</i>
ROS	<i>Reactive Oksigen Spesies</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RNS	<i>Reaktif Species Nitrogen</i>
SASP	<i>Senescence-Associated Secretory Phenotype</i>
TMT	<i>Trimethyltin Chloride</i>
q-PCR	<i>Quantitative PCR</i>
qRT-PCR	<i>Real-Time Quantitative Reverse Transcription PC</i>

INTISARI

Latar Belakang. *Trimethyltin chloride* (TMT) adalah senyawa organotin yang bersifat neurotoksik. Sifat neurotoksik TMT dapat menyebabkan terjadinya apoptosis neuron, sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel neuron pada tikus. Peningkatan degenerasi neuron akibat induksi TMT memungkinkan adanya imunodefisiensi pada thymus. Faktor transkripsi yang diekspresikan di medulla thymus, yang memiliki peran penting pada toleransi sentral adalah *Autoimmune Regulatory* (AIRE). Penelitian terkait efek pemberian TMT pada *systema organa lymphoidea*, baik *primaria* maupun *sekundaria* diperlukan untuk memastikan potensi induksi *immunosenescence* dari TMT. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah TMT dapat mengakibatkan *immunosenescence*, yang dilihat melalui ekspresi gen AIRE dan struktur histologi thymus pada hewan coba.

Tujuan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji perbedaan ekspresi gen AIRE dan perbedaan gambaran struktur histologi pada thymus tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi TMT dibandingkan dengan kontrol.

Metode. Sebanyak sepuluh sampel thymus tikus *Sprague-Dawley* yang tersimpan dalam cairan formaldehyde 4%, dibuat menjadi *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded* (FFPE). Selain itu, mRNA diisolasi dari jaringan thymus yang disimpan dalam dalam *RNA later*® pada suhu -20°C (6 jaringan) dan sampel tanpa RNA later® yang disimpan pada suhu -80°C (2 jaringan), dan dikuantifikasi mRNA AIRE dengan metode q-PCR menggunakan GAPDH sebagai standar internal. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *geomean*. Pewarnaan dengan *Hematoxylin and Eosin* (HE) diamati oleh dua pengamat independen. Pengamatan histologi dilakukan berdasarkan tiga kriteria: adanya batas yang jelas antara *cortex* dan medula thymi, keberadaan *adipocytus* dalam parenkim, dan keberadaan *adipocytus* pada *capsula* thymi atau dalam septum interlobulare thymi. Beda proporsi tampilan histologi antara kontrol dan TMT dilakukan uji chi square (*p value*).

Hasil. *Geomean* tidak menunjukkan perbedaan ekspresi mRNA AIRE dan GAPDH (beda sebesar 0,03) antara kelompok TMT dibanding kelompok kontrol. Nilai *p* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kedua kelompok pada kriteria pertama dan kedua ($p > 0,05$), namun terdapat perbedaan signifikan pada kriteria ketiga ($p < 0,05$). Hasil pengamatan histologi menunjukkan tidak ada perbedaan antara thymus tikus TMT dan kontrol.

Kesimpulan. Induksi TMT tidak mempengaruhi ekspresi gen AIRE dan tidak mempengaruhi gambaran histologi thymus tikus. Pemberian dosis tunggal TMT sebesar 8 mg/kg berat badan secara intraperitoneal selama 4 minggu tidak cukup untuk menginduksi terjadinya *immunosenescence* pada organ thymus tikus.

Kata kunci: AIRE, *Hematoxylin and Eosin*, Thymus, Histologi, *Immunosenescence*, TMT

ABSTRACT

Background. Trimethyltin chloride (TMT) is an organotin compound that is neurotoxic. The neurotoxic properties of TMT can cause neuronal apoptosis, leading to a decrease in the number of neuronal cells in rats. The increase in neuronal degeneration due to TMT induction could potentially lead to immunodeficiency in the thymus. A crucial transcription factor expressed in the thymus medulla, playing a significant role in central tolerance, is Autoimmune Regulatory (AIRE). Studies regarding the effects of TMT administration on the primary and secondary lymphoid organ systems are needed to confirm the potential induction of immunosenescence by TMT. Therefore, this study aims to investigate whether TMT can cause immunosenescence, as observed through the expression of the AIRE gene and the histological structure of the thymus in experimental animals.

Objectives. This study aims to examine the differences in the expression of the AIRE gene and the differences in histological structure of the thymus in Sprague-Dawley rats induced with TMT compared to the control group.

Methods. Ten samples of the thymus of Sprague-Dawley rats stored in 4% formaldehyde solution were made into Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE). In addition, mRNA was isolated from thymic tissue stored in RNA later® at -20oC (6 tissues) and samples without later® RNA stored at -80oC (2 tissues), and AIRE mRNA quantified by q-PCR method GAPDH as an internal standard. Measurements are made using a geomean. Staining with Hematoxylin and Eosin (HE) was observed by two independent observers. Histological observations were made based on three criteria: the presence of a clear boundary between the cortex and medulla thymi, the presence of adipocytus in the parenchyma, and the presence of adipocytus in the thymi capsule or in the interlobular septum of the thymi. The difference in the proportion of histological appearance between the control and TMT was carried out by the chi square test (p value).

Results. The geomean showed no difference in AIRE and GAPDH mRNA expression (difference of 0.03) between the TMT group and the control group. The p value indicated that there was no significant difference between the two groups in the first and second criteria ($p > 0.05$), but there was a significant difference in the third criterion ($p < 0.05$). The results of histological observations showed no difference between the thymus of TMT rats and controls.

Conclusion. TMT induction does not affect AIRE gene expression and does not alter the histological appearance of the rat thymus. A single intraperitoneal dose of TMT at 8 mg/kg body weight for 4 weeks is not sufficient to induce immunosenescence in the rat thymus organ.

Keywords: AIRE, Hematoxylin and Eosin, Thymus, Histology, Immunosenescence, TMT

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Trimethyltin chloride (TMT) adalah senyawa organotin yang bersifat neurotoksik dengan rumus kimia $(\text{CH}_3)_3\text{Sn}$ yang sering digunakan untuk induksi *senescence* pada sistem saraf dan dapat mempengaruhi organ-organ lain, di antaranya organ limfoid primer dan organ limfoid sekunder. Paparan TMT terbukti menyebabkan degenerasi *systema nervosum centrale* tikus (Anggraini, 2018; Ghosh, 1990). Penelitian yang dilakukan Fan pada tahun 2021 menunjukkan bahwa TMT akan menghentikan siklus sel, menghambat proliferasi *intestinal porcine epithelial cells* (IPEC-J2) dan menginduksi apoptosis. Senyawa TMT ditemukan luas di tanah, sistem perairan, bahan makanan, dan barang-barang rumah tangga, TMT memiliki fungsi sebagai penstabil panas plastik yang baik dan fungisida dalam bidang pertanian (Kim, 2019).

Sifat neurotoksik TMT dapat menyebabkan terjadinya apoptosis neuron, sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel neuron pada tikus (Wicaksono, 2021) terutama pada *systema nervosum centrale* (Lee et al., 2016). Oleh, karena itu, sehingga banyak digunakan pada beberapa penelitian terkait kerusakan sistem saraf pada tikus (Boyer, 1989). Jika terjadi apoptosis pada neuron, secara neuroanatomi, tidak terjadi suplai saraf parasimpatis pada *organa lymphoidea*. Jalur utama regulasi neuron terhadap sistem imun adalah melalui sistem saraf simpatis dan neurotransmitter seperti norepinefrin (NE) dari *systema nervosum centrale*. Sel imun, khususnya *lymphocytus*, mengekspresikan reseptor subtype neurotransmitter yaitu beta 2-adrenergik ($\beta_2\text{AR}$) untuk meregulasi aktivitas sel imun (Nance, 2007). Peningkatan degenerasi neuron akibat induksi TMT memungkinkan adanya imunodefisiensi pada thymus. Penelitian terkait efek pemberian TMT pada *systema organa lymphoidea* lainnya, baik primaria maupun secundaria diperlukan untuk memastikan potensi induksi *immunosenescence*.

Immunosenescence adalah disregulasi imunitas yang berkontribusi pada peningkatan terhadap kerentanan penyakit yang terkait dengan *senescence*. Kondisi tersebut merusak kemampuan individu mengembangkan respon imun protektif

sehingga mudah mengalami infeksi, kegagalan vaksinasi, keganasan, dan proses autoimun (Allen, 2020). Penurunan fungsional dari sistem imun yang disebabkan *immunosenescence* berkaitan dengan usia, termasuk pada organ thymus yang merupakan organ kunci dalam perkembangan dan maturasi *limphocytus* T. Proses ini berdampak pada penurunan kualitas dan kuantitas *limphocytus* T yang dihasilkan oleh thymus (Gruver, 2007). *Immunosenescence* berdampak pada menurunnya jumlah dan fungsi *lymphocytus*, sehingga tubuh menjadi rentan terhadap infeksi, kanker, inflamasi kronis dan juga inflamasi terkait nutrisi. *Senescence* diikuti oleh perubahan struktur dan fungsi jaringan di berbagai organ, seperti pada kelenjar *thymus* yang mengalami involusi sehingga menurunkan fungsi sistem imun (Fulop *et al*, 2010).

Pengamatan proses *immunosenescence* pada manusia secara longitudinal yang mengalami *senescence* secara alami memerlukan waktu yang lama. Oleh karena itu, pengamatan pada hewan coba yang diinduksi agen kimiawi menjadi pilihan yang tepat (Rezzani, 2014). Pada penelitian menggunakan model hewan tikus *Sprague-Dawley*, diamati bahwa proses *immunosensescence* ditandai dengan atrofi thymus dan penurunan *output lymphocytus* T secara signifikan (Danielle Aw Silva, 2007). Beberapa penelitian membuktikan bahwa efek neurotoksik dari TMT mempengaruhi sistem saraf, tetapi belum ada yang membahas mengenai dampak pemberian TMT pada jaringan thymus. Oleh karena itu, pada penelitian ini dikaji efek TMT pada organ thymus.

Thymus merupakan *organa lymphoidea primaria* yang terletak di rongga dada, yaitu di mediastinum anterior. Thymus juga merupakan tempat pematangan *lymphocytus* T (sel T). Thymus adalah organ tempat perkembangan *thymocytus* untuk menjadi *lymphocytus* T melalui proses yang dinamakan thymopoiesis. Proses pematangan *lymphocytus* T berperan penting pada respon tubuh terhadap patogen asing dan menjaga toleransi terhadap antigen tubuh. Seiring bertambahnya usia, thymus akan tergantikan oleh jaringan adiposa dan fibrosa (K Tarazka Hastings, 2017). Pada manusia, di usia pubertas sistem imun mencapai puncaknya, kemudian jaringan thymus akan mulai menyusut. Pada usia 40 tahun jaringan thymus semakin menipis, dan pada usia 60 tahun thymus akan sulit ditemukan, karena stroma yang semula terisi *lymphocytus* T digantikan oleh