UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

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^{o}C (6 jaringan) dan sampel tanpa RNA later® yang disimpan pada suhu -80^{o}C (2 jaringan), dan dikuantifikas 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

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

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

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB I
PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Trimethyltin chloride (TMT) adalah senyawa organotin yang bersifat neurotoksik dengan rumus kimia (CH3)3Sn 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 subtipe neurotransmitter yaitu beta 2-adrenergik (β2AR) 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

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

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 limphocytus* 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

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

jaringan adiposa dan fibrosa (Li Guo, 2019). Proses tersebut dikenal dengan istilah involusi. Involusi thymus biasanya disertai dengan meningkatnya penyakit yang berhubungan dengan *immunosenescence*, diantaranya keganasan, penyakit autoimun, dan kerentanan terhadap infeksi (Jie-han Li *et al*., 2020)

Thymus yang mengalami involusi juga mengalami pengurangan jumlah *Thymic Epithelial Cells* (TECs), berkurangnya TECs menyebabkan sitokin yang dihasilkan juga berkurang, sehingga mempengaruhi pematangan dari *lymphocytus* T (Liu Z, et al 2021). Pada medulla thymus terdapat m*edullar thymic epithelial cells* (mTECs), yaitu sel utama pada sistem imun sentral yang mengekspresikan gen *Autoimmune Regulatory* (AIRE). Cacat pada mTEC akan mengakibatkan penurunan ekspresi *Autoimmune Regulatory* (AIRE) (Thomas, 2020). Gen AIRE mengkode protein yang berperan penting pada seleksi negatif *lymphocytus* T. Seleksi negatif diperlukan untuk mencegah *thymocytus* yang mengenali antigen diri mengalami pematangan. Meskipun ekspresi AIRE juga ditemukan di *nodus lymphaticus*, liver dan jaringan usus buntu, namun ekspresi AIRE paling tinggi ditemukan pada thymus (Rezzani, 2014). Oleh karena itu, selain melihat morfologi thymus, diperlukan analisis ekspresi gen AIRE untuk mengkaji pengaruh TMT terhadap thymus.

Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa jaringan thymus pada tikus yang mengalami *immunosenescence* mengalami perubahan fungsi dan struktur. Induksi TMT memiliki efek neurotoksisitas. Namun, belum diketahui apakah TMT dapat menyebabkan *imunosenescence*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah TMT dapat *immunosenescence,* yang dilihat melalui ekspresi gen AIRE dan struktur histologi thymus pada hewan coba.

I.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka permasalahan pada penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi gen AIRE pada thymus tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi TMT dibandingkan dengan kontrol?
2. Apakah terdapat perbedaan gambaran struktur histologi thymus tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi TMT dibandingkan dengan kontrol?

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

3. Apakah TMT dapat menginduksi *immunosenescence* pada organ thymus tikus *Sprague-Dawley*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini yaitu untuk melakukan karakterisasi tikus yang diinduksi dengan TMT, khususnya:

1. Mengkaji perbedaan ekspresi gen AIRE pada thymus tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi TMT dibandingkan dengan kontrol.
2. Mengkaji perbedaan gambaran struktur histologi thymus tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi TMT dibandingkan dengan kontrol.
3. Mengkaji apakah induksi TMT dapat menyebabkan *immunosenescence* pada organ thymus tikus *Sprague-Dawley*

I.4 Keaslian Penelitian

Peneliti melakukan pencarian publikasi artikel referensi melalui laman Pubmed dan Google cendekia. Pada laman Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov) dilakukan pencarian dengan beberapa kata kunci, yaitu "TMT, thymus, AIRE, *Sprague-Dawley*, aging" dan diperoleh 28 judul, yang selanjutnya didapat 7 artikel penelitian yang memiliki kemiripan dengan tujuan riset ini (tabel 1.1.).

Tabel 1.1 Persamaan dan perbedaan penelitian yang mirip dengan usulan penelitian

Peneliti	Kesimpulan	Perbedaan dengan penelitian tesis
Jie-han Li, *et al* 2020	Curcumin, dengan dosis 100 mg/kg/hari, telah terbukti membalikkan kondisi *senescence* dan meningkatkan ekspresi gen AIRE pada thymus yang mengalami *senescence* akibat induksi D-gal.	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*
Li Guo, *et al* 2019	*Gallat Acid* (GA) dapat menghambat involusi thymus dan memperbaiki struktur thymus pada model *sensescence* dengan meningkatkan ekspresi FOXN1, sehingga berpotensi meningkatkan sistem imun pada orang tua.	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Liu Z, *et al* 2021	TMT dapat menginduksi stress oksidatif, mengaktifkan jalur NFkB/NLRP3/IL-1B, dan menginduksi apoptosis serta necroptosis jaringan ren tikus TMT dosis awal menyebabkan apoptosis dan TMT dosis tinggi menyebabkan necroptosis	Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*
Ting Ting Wei, *et al* 2020	Dosis Resveratrol (RSV) mempengaruhi struktur morfologi thymus, proliferasi sel, serta proses *sensescence* seluler dan apoptosis.	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*
K.Taraszka Hastings, *et al* 2017	Nab2, sebagai co-regulator dari faktor transkripsi Egr1, Egr2, dan Egr3, memainkan peran penting dalam modulasi aktivasi *lymphocytus* T perifer dan berhubungan dengan respon terhadap stres dan involusi thymus yang terkait dengan usia	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*
Zhihong Wang, *et al* 2020	Pemberian BMSC pada model tikus *sensescence* dapat memperbaiki struktur thymus dan fungsi kekebalan yang terganggu oleh *sensescence* , ditandai dengan peningkatan rasio sel CD4+T/CD8+T dan regulasi sitokin, seperti peningkatan IL-2 dan penurunan IL-10.	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*
Satrio Adi 2019	Induksi trimethyltin dosis tunggal 8 mg/kgBB secara intraperitoneal pada tikus model *senescence* berdampak pada penurunan jumlah neuron plexus myentericus jejunoileum, namun tidak mempengaruhi volume tunica muscularis jejunoileum dibandingkan dengan kontrol.	Induksi TMT, Ekspresi gen AIRE, Gambaran histologi thymus, pengaruh induksi TMT pada *immunosenescence*

Selain referensi diatas penelitian terkait dampak induksi TMT terhadap *immunosenescence* pada *organa lymphoidea sekundaria* sudah pernah dilaporkan sebelumnya (Utami, 2022, Thesis judul "Ekspresi Gen IL-6, TNf-A, BCL-2, P16 dan Gambaran Histologi Lien Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi *Trimethyltin*" belum dipublikasikan), akan tetapi pengamatan pada *organa lymphoidea primaria*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

terutama untuk mengamati AIRE dan struktur histologi thymus tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi TMT belum pernah dilaporkan.

I.5 Manfaat Penelitian

Secara umum, penelitian ini diharapkan menyumbangkan informasi karakterisasi hewan model *immunosenescence* yang diinduksi dengan TMT ditinjau dari sisi *immunosenescence*. Secara khusus, hasil penelitian ini diharapkan mampu memberi gambaran dampak induksi *immunosenescence* oleh TMT pada *immunosenescence* thymus. Hasil yang didapat berpotensi dalam pengembangan penelitian berkaitan dengan *immunosenescence*.

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Pustaka

II.1.1 *Trimethyltin Chloride* (TMT) dan Dampak Paparannya terhadap Tubuh

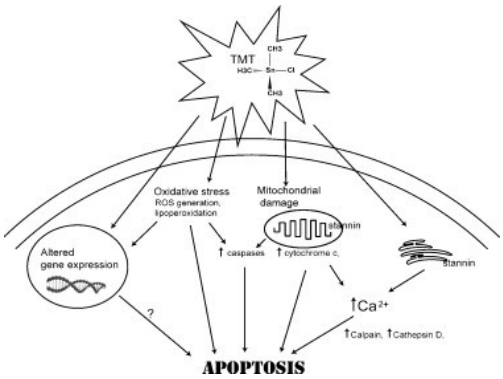
Trimethyltin Chloride (TMT) adalah salah satu senyawa organotin dengan rumus kimia (CH3)3Sn, yang paling banyak digunakan dalam bidang industri dan pertanian. TMT tersebar luas di tanah, sistem perairan, bahan makanan, dan barang-barang rumah tangga. TMT memiliki fungsi sebagai penstabil panas plastik yang baik dan fungisida dalam bidang pertanian (Kim, 2019). TMT dalam tubuh manusia dapat menyebabkan degenerasi saraf khususnya hippocampus. Intoksikasi TMT dapat menimbulkan defisit perilaku dan kognitif yang berat pada manusia dan hewan coba, seperti kecacatan memori, kebingungan, kejang, tinnitus, insomnia, dan depresi (Tang, 2013).

Cemaran TMT dapat dijumpai di lingkungan, seperti pada air laut sebanyak 0.98 hingga 20 ng/L dan pada air muara ditemukan sebanyak 415 ng/L. Sampel urin Pekerja pabrik logam terdeteksi mengandung TMT sebesar 2,23 hingga 7,93 μM. Sampel urin Pekerja yang terpapar stabilisator TMT. Memiliki konsentrasi TMT sebesar 3,75 – 13,31 μM (Ferraz, 2018). Masih belum ada batasan serta ketentuan batas minimal atau maksimal berkaitan dengan konsentrasi TMT. Saat ini masih dalam proses penelitian berkaitan dengan Batasan tersebut (Ferraz, 2018).

Paparan TMT dalam tubuh memicu peningkatan produksi *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS), protein karbonil, dan malondialdehid, yang memicu apoptosis melalui peningkatan kadar *Reaktif Species Nitrogen* (RNS) dan lipoperoksida (Funk, 2011). TMT juga merusak stannin, yang merupakan sejenis protein yang terdapat di dalam mitokondria dan memainkan peran penting dalam transportasi protein (Billingsley, 2006). Kerusakan ini berkontribusi pada pelepasan sitokrom-C dan aktivasi jalur caspase, yang memicu apoptosis sel. Retikulum endoplasma merupakan tempat dimana TMT meningkatkan konsentrasi kalsium, yang merangsang calpain dan cathepsin D, dan menginduksi apoptosis (Geloso, 2011). Paparan TMT mengganggu fungsi mitokondria dalam neuron, meningkatkan

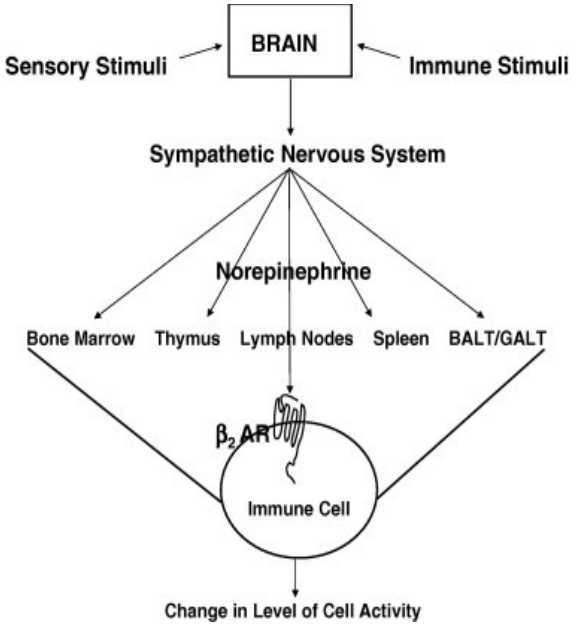
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang
Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

produksi kalsium, dan menginduksi apoptosis melalui peningkatan ekspresi *cytochrome* C (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Mekanisme sel akibat paparan TMT. Paparan TMT mengakibatkan apoptosis.melalui berbagi jalur diantaranya perubahan ekspresi gen, ROS, kerusakan mitokondria dan kerusakan protein stannin (Geloso, 2011)

Sistem saraf simpatik berpengaruh pada *organa lymphoidea primari*a dan *sekundaria (*lihat gambar 2.2). Paparan TMT mengakibatkan apoptosis neuron, sehingga terjadi disregulasi sistem saraf simpatis yang mengakibatkan penurunan produksi neurotransmitter (epinnephrin) yang membawa sinyal ke *organa lymphoidea primari*a dan *sekundaria* (Nance, 2007).



Gambar 2.2 Sinyal dari sistem saraf simpatik berpengaruh pada kerja sel-sel sistem imun simpatik. Paparan TMT menyebabkan kerusakan sistem saraf simpatik dan penurunan sinyal neurotransmitter ke *organa lymphoidea* (Nance, 2007)

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

II.1.2 *Senescence*

Senescence adalah perubahan fisiologis secara bertahap yang biasanya terjadi seiring bertambahnya usia pada semua organisme hidup. Semua organ manusia, hewan, tumbuhan, dan organisme bersel tunggal mengalami proses tersebut. Fenomena ini antara lain penurunan jumlah sel, penurunan laju metabolisme, dan peningkatan penyakit. *Senescence* juga dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti lingkungan, psikologi (stres), aktivitas fisik, merokok, dan radiasi sinar ultraviolet (Pangkahila, 2007)

Mekanisme dan pengaruh proses *senescence* sangat kompleks. Pada tingkat biologis, *senescence* dikaitkan dengan akumulasi bertahap dari berbagai variasi kerusakan molekuler dan seluler. Seiring waktu, kerusakan ini menyebabkan penurunan cadangan fisiologis secara bertahap, meningkatnya risiko berbagai penyakit, dan penurunan kapasitas individu secara umum. Bahkan, dapat mengakibatkan kematian (Irianti, 2022).

II.1.3 *Cellular Senescence*

Cellular senescence, adalah proses penghentian proliferasi permanen pada sel sebagai respon terhadap berbagai penyebab stres (Child, 2015). *Cellular senescence* adalah proses yang bertujuan untuk menghilangkan sel yang tidak diinginkan untuk menginduksi pembaharuan *(remodelling)* jaringan *Cellular senescence* juga merupakan faktor utama yang berkaitan dengan *senescence* dan penyakit terkait usia.

Cellular senescence berdasarkan sifat rangsangan dapat dikategorikan menjadi *senescence* yang bergantung pada telomer atau *senescence* terkait replikasi, dan *senescence* non-telomerik atau *senescence* dini yang diinduksi stres (sinyal dan stres mitogenik berlebihan). Berbagai jenis rangsangan dalam menginduksi *senescence* seluler tampak bahwa disfungsi telomer dan stres oksidatif dapat menyebabkan *senescence* replikasi dan stres yang menginduksi *senescence* dini. Stres onkogen dan genotoksik akan menghasilkan *senescence* dini yang diinduksi onkogen dan *senescence* dini yang diinduksi stress (Kamal, 2020).

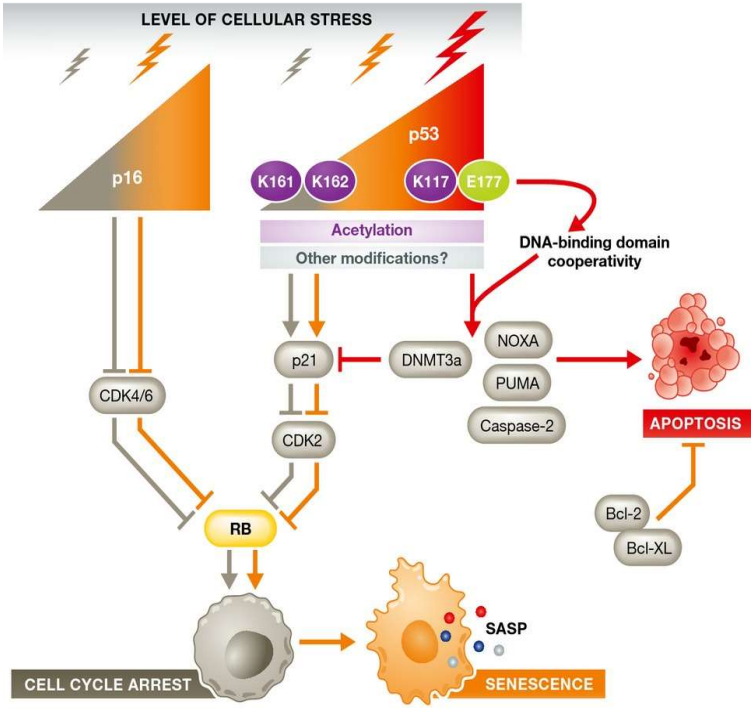
Cellular senescence memegang peran penting dalam proses regenerasi jaringan melalui tiga tahapan utama. Tahap pertama adalah penghentian proliferasi

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

sel, yang bertujuan mencegah pertumbuhan sel yang tak terkendali. Kemudian, sel menghasilkan *Senescence-Associated Secretory Phenotype* (SASP), yang berfungsi untuk mengirim sel-sel imun dan merubah matriks ekstraseluler, suatu komponen vital dalam jaringan. Pada tahap terakhir, sel-sel progenitor di dekatnya dimobilisasi untuk menggantikan jaringan yang hilang atau rusak (Muñoz, 2014). *Cellular Senescence* juga membatasi respon fibrotik, mencegah pembentukan jaringan parut yang berlebihan akibat kerusakan jaringan. Namun, pada kondisi patologis, jika sel ini tidak dapat dihilangkan secara efisien, akan terjadi akumulasi yang dapat mengganggu fungsi normal jaringan dan organ, sehingga menyebabkan penurunan fungsi tubuh secara keseluruhan (Munoz, 2014; Nadia, 2021)."

Derajat stres seluler menentukan respon sel yang dihasilkan, dalam bentuk pengaktifan jalur pensinyalan penghentian *senescence* atau menuju ke apoptosis (lihat Gambar 2.3). Stres selular derajat tinggi akan mengaktifkan P53-P21, yang memicu pengaktifan protein pro-apoptosis intraselular lain seperti NOXA, PUMA, BAX/BAD (Childs *et al*., 2014). Apoptosis digunakan sebagai bentuk pertahanan tubuh, dan pada masa perkembangan berkontribusi dalam pembentukan jaringan tubuh (Childs *et al*.,2015). Stres selular derajat rendah atau sedang dapat memicu pengaktifan protein P21, P16 dan protein anti-apoptosis. Pengaktifan protein P16 secara langsung menghambat kerja *cyclin-dependent kinase* (CDK) 4/6 dan protein *retinoblastoma* (RB), sehingga terjadi penghentian siklus sel secara permanen tanpa menyebabkan kerusakan DNA (Coppe *et al*., 2011). Penghentian siklus sel merupakan penyebab utama sel mengalami *senescence* (Childs *et al*., 2014;). Ekspresi protein P16 secara fisiologis dapat mencegah proliferasi sel, membantu *remodelling* serta penyembuhan luka pada jaringan (Sun *et al.*, 2018). Namun, akumulasi P16 pada kondisi *senescence* dapat mempercepat produksi fenotip penanda penuan, perubahan fungsi *lymphocytus* T dan perubahan pada organ (Palacio *et al*., 2019).

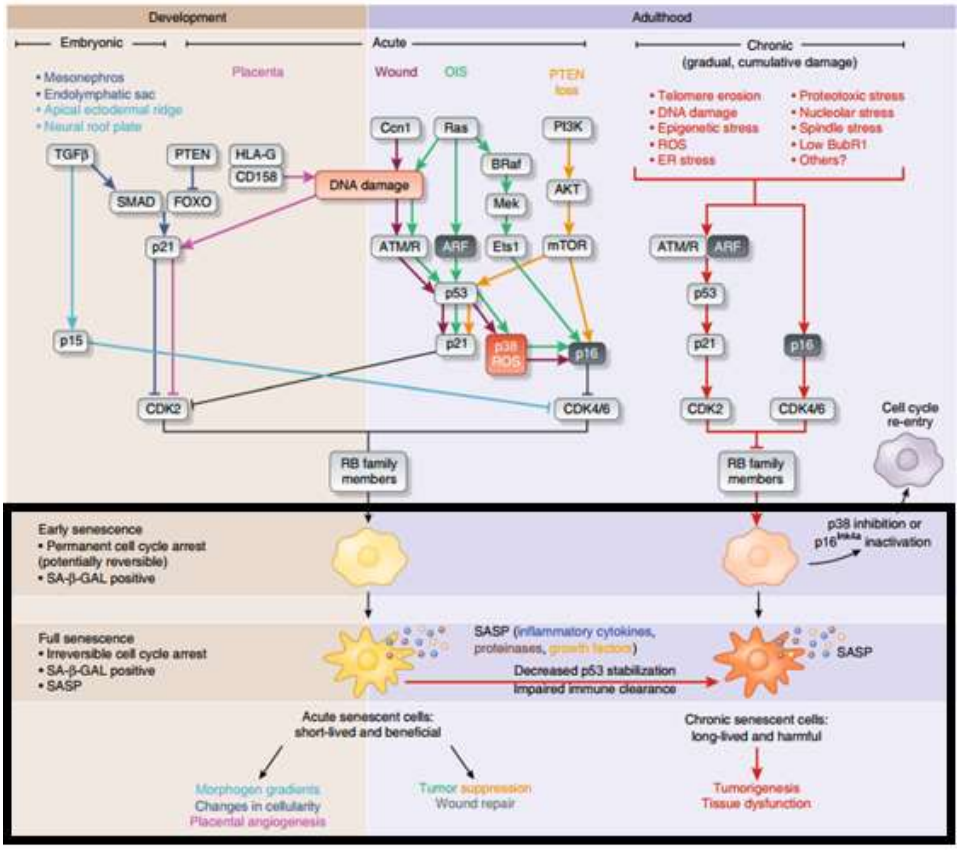
UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/



Gambar 2.3 Tingkatan stres selular . Stres sel tinggi memicu apoptosis, sementara stres rendah menghentikan siklus sel dan memicu *senescence*, yang berkontribusi pada penyembuhan luka tetapi juga dapat mempercepat *sensescence (*Childs *et al.,* 2014*).*

Sel *senescence* dapat terjadi pada pada masa perkembangan maupun dewasa, dan dapat diklasifikasikan menjadi 3 fase yaitu: fase embrionik, fase akut dan fase kronik, sebagaimana terlihat pada Gambar 2.4 (Childs, 2015). *Senescence* fase akut dan embrionik pada sel *senescence* terdapat fungsi dan mekanisme yang berbeda, akan tetapi, karena sifat fisiologisnya, berujung pada morfogenesis. Kondisi ini berbeda dengan sel *senescence* fase kronis, yang menunjukkan adanya disfungsi eliminasi sel-sel imun dan menurunnya stabilitas protein P53 semakin berkurang, mengakibatkan sel *senescence* mengakibatkan tidak bekerjanya jalur apoptosis, sehingga dapat menghasilkan SASP yang berperan sebagai perantara disfungsi jaringan secara parakrin dan disregulasi sistem imun. (López-Otín, 2013).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/



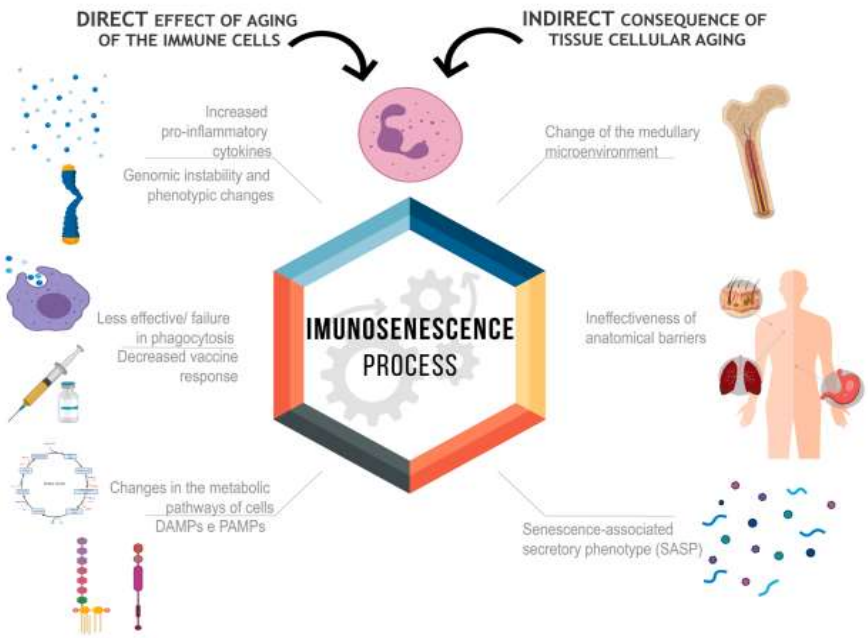
Gambar 2.4 Jalur Efektor tiga fase sel *senescence* . Fase embrionik dan akut sel *senescence* berkontribusi pada morfogenesis, sementara fase kronis menyebabkan disfungsi imun dan jaringan melalui SASP (Childs, 2015).

II.1.4 *Immunosenescence*

Senescence terjadi pada semua sistem. Jika terjadi pada sistem imun dikenal dengan istilah *immunosenescence*. Rodrigues pada tahun 2021 melaporkan bahwa dampak *immunosenescence* dapat bersifat langsung dan tidak langsung (gambar 2.5). Dampak secara langsung ditunjukkan dengan perubahan jumlah dan fungsi sel imun, seperti peningkatan sitokin pro-inflamasi, ketidakstabilan genom yang berdampak pada perubahan fenotip sel *senescence*. Selain itu, terjadi penurunan kemampuan merespon antigen dan penurunan respon terhadap vaksinasi. Selain itu, terdapat perubahan metabolisme sel serta adanya perubahan jumlah DAMPS *(Danger-Associated Molecullar Patterns)* yang berakibat pada penurunan imunitas karena mengalami kesulitan untuk mengenali patogen. Secara tidak langsung *immunosenescence* berdampak pada perubahan lingkungan mikro pada *organa lymphoidea primaria* (medulla ossium dan Thymus), disfungsi pertahanan fisik

Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang
Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tubuh dan sekresi molekul SASP yang dapat menginduksi *senescence* lebih lanjut (Coppe, 2011. Rodrigues, 2021). Disfungsi sistem imun disertai kerusakan fungsional organ, kondisi sel *senescence* dan faktor lingkungan dapat memicu terjadi inflamasi tingkat sedang atau *inflammaging* pada *organa lymphoidea* (Oishi, 2016. Rodrigues, 2021).



Gambar 2.5 Dampak *immunosenescence* (Rodrigues, 2021). *Immunosenescence* merujuk pada *sensescence* sistem imun yang mengubah fungsi sel imun dan merespon vaksinasi, serta mempengaruhi lingkungan organa *lymphoidea*, yang berpotensi memicu *'inflammaging'*.

II.1.5 Dampak *Immunosenescence* dan *Senescence* pada Thymus

II.1.5.1 *Immunosenescence* Organ Limfoid Primer dan Sekunder

Immunosenescence merupakan proses penurunan fungsi sistem kekebalan yang terjadi seiring bertambahnya usia, mempengaruhi organ limfoid primer dan sekunder (Fulop et al., 2018). Dalam organ limfoid primer, seperti thymus dan sumsum tulang, terjadi perubahan signifikan saat *immunosenescence*. Thymus, sebagai organ utama untuk pematangan *lymphocytus* T, mengalami involusi atau pengecilan seiring bertambahnya usia, sebuah proses yang melibatkan penurunan ukuran dan fungsi thymus serta perubahan struktur histologis seperti peningkatan jaringan *adypositus* (Taub, 2005; Goronzy, 2013). Konsekuensinya adalah

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Ekspresi mrna Autoimmune Regulatory (AIRE) dan Gambaran Histologi Thymus Tikus Sprague-Dawley Yang Diinduksi Trimethyltin Chloride (TMT)
Aluh Sri Yuliana Ulfa, Jajah Fachiroh, SP., M.Si., Ph.D;Dewi Kartikawati Paramita, S.Si., M.Si., Ph.D
Universitas Gadjah Mada, 2023 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

penurunan jumlah *lymphocytus* T baru yang dihasilkan, yang berdampak pada fungsi imun (Taub, 2005). Sementara itu, sumsum tulang, sebagai produsen sel hematopoietik termasuk *lymphocytus*, juga menunjukkan penurunan kapasitas produksi sel seiring bertambahnya usia (Geiger, 2013).

Perubahan juga terjadi pada *organa limfoidea sekundaria*, seperti lien, nodus limfatikus, dan jaringan limfoid mukosa. Misalnya, lien dan nodus limfatikus mengalami perubahan struktural dan fungsional, seperti penurunan jumlah dan fungsi folikel germinal dan penurunan respons terhadap antigen (Thompson, 2017). Jaringan limfoid mukosa juga menunjukkan penurunan jumlah dan fungsi sel limfoid intraepitelial dan *lymphocytus* T (Man *et al*., 2017).

Perubahan yang terjadi akibat *immunosenescence* berkontribusi pada penurunan kemampuan tubuh untuk merespons infeksi dan vaksin, peningkatan risiko penyakit autoimun dan kanker, serta peningkatan respon inflamasi sistemik (Fulop et al., 2018). Proses *immunosenescence* kompleks dan dipengaruhi oleh banyak faktor, termasuk faktor genetik, lingkungan, dan gaya hidup (López-Otín, 2013).

II.1.5.2 Thymus

Thymus terletak di mediastinum tepatnya pada posterior sternum dan anterior aorta. Thymus terdiri dari dua lobus piramidal, dan dihubungkan oleh jaringan areolar, serta diselubungi oleh kapsula fibrosa yang invaginasi membaginya menjadi lobulus-lobulus. Jumlah organ thymus dan posisi anatomis lobus berbeda pada semua spesies. Sebagai contoh, ayam memiliki tujuh, hiu lima, dan amfibi tiga thymus, sedangkan mamalia seperti manusia dan tikus, hanya memiliki satu thymus yang terdiri dari dua lobus bilateral. Thymus primordial berkembang di daerah faring pada awal kehidupan janin dan mencapai akhir di mediastinum melalui penurunan progresif. Selanjutnya thymus di bagian dalam servikal akan muncul sebagai thymus ektopik(Hastings, 2017; Kalhor, 2019).

Thymus merupakan organ limfoid primer sebagai tempat perkembangan dan pematangan *lymphocytus* T sehingga menghasilkan *lymphocytus* T yang imunokompeten, serta berperan untuk induksi toleransi sentral sehingga mencegah terjadinya penyakit autoimun. Thymus terbentuk lengkap saat lahir dan aktif memproduksi *lymphocytus* T sampai pubertas hingga mengalami involusi dengan