

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Identitas Penelitian	iii
DAFTAR ISI.....	1
DAFTAR TABEL.....	2
DAFTAR GAMBAR.....	3
RINGKASAN PENELITIAN.....	4
BAB 1. PENDAHULUAN	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	9
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN	28
LAMPIRAN 2. LUARAN PENELITIAN.....	31

DAFTAR TABEL

Mulai isi daftar tabel di sini

Tabel 1. Effect of filtered kretek cigarette smoke on the bronchial lumen in <i>Sprague Dawley</i> rats	18
Tabel 2. Pengaruh asap rokok kretek filter pada lapisan mukosa bronkus dan lapisan otot polos bronkus pada tikus Sprague Dawley	18
Tabel 3. Imunohistokimia pada paru tikus Sprague Dawley	19
Tabel 4. Data hasil pengukuran qPCR p53	21

...

DAFTAR GAMBAR

Mulai isi daftar gambar di sini ...

Gambar 1. Histologi trakea Sprague Dawley	11
Gambar 2. Mekanisme regulasi p53 tipe liar (p53-wt) dan p53 mutan (p53-mut) dan peran potensial antibodi p53 (p53-Abs).	12
Gambar 3. Perlakuan asap rokok kretek filter terhadap tikus <i>Sprague Dawley</i>	17
Gambar 4. Perbandingan penampilan dan berat paru-paru tikus Sprague Dawley	17
Gambar 5. Tampilan dinding bronkial tikus Sprague Dawley.	18
Gambar 6. Tampilan paru tikus <i>Sprague Dawley</i> dengan scanning electron microscope	20
Gambar 7. Optimasi qPCR untuk penentuan kadar mRNA p53	20
Gambar 7. Perbandingan ekspresi mRNA p53.....	22

RINGKASAN PENELITIAN

Mulai isi Ringkasan di sini ... (Ringkasan 1 alinea, 1 spasi, padat tetapi lengkap berisi: Permasalahan, Maksud, Tujuan, Manfaat penelitian, Metode Penelitian, *keterkaitan topik penelitian dengan road map penelitian ketua peneliti dan Road Map Penelitian Fakultas*, Mitra (bila ada), Hasil sementara, Kesimpulan sementara, rencana tindak lanjut, luaran yang telah atau akan dihasilkan)

Untuk menggali lebih dalam tentang pengaruh asap rokok terhadap paru-paru, kami menggunakan tikus *Sprague-Dawley* sebagai hewan model. Apakah asap rokok berpengaruh terhadap kadar p53 dan terjadinya abnormalitas sel paru tikus, antara lain sel epitel, dan makrofag alveoler secara histologi?. Oleh karena itu kami bermaksud untuk mengetahui hubungan abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveoler secara histologi dengan kadar p53 pada paru *Sprague-Dawley* setelah dipapari asap rokok.

Tujuan penelitian ini yaitu ingin mengetahui pengaruh asap rokok kretek terhadap perubahan kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?. Perlakuan terhadap tikus dilakukan dengan paparan asap rokok 1 dan 2 batang/hari selama 1 bulan terhadap kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*.

Nilai hasil penelitian ini dapat digunakan untuk memberi masukan baru tentang abnormalitas sel epitel, dan makrofag paru yang dipapari asap rokok. Pengambilan keputusan bagi pemerintah dalam mendukung green healthy life yang menjadi salah satu poin pada road map penelitian Universitas Trisakti. Lebih terinci untuk bidang ilmu, hasil penelitian ini juga dapat digunakan untuk menyumbang aspek dasar tentang dampak negatif asap rokok terhadap abnormalitas sel epitel, dan makrofag paru pada tikus *Sprague Dawley* yang dipapari asap rokok.

Berdasar data hasil pengukuran, memperlihatkan bahwa perlakuan tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 1 batang/hari maupun 2 batang/hari selama 30 hari berpengaruh terhadap ekspresi gen p53. Ada peningkatan ekspresi gen p53 pada tikus yang dipapari asap rokok kretek filter. Hal tersebut terbukti bahwa kadar mRNA tikus kelompok 2 dan 3 lebih tinggi (up regulation) dibanding kelompok 1 ($p=0.000$). Tikus yang dipapari asap rokok menunjukkan kadar mRNA paru yang meningkat. Perbedaan jumlah rokok kretek filter yang digunakan untuk memapari tikus tidak menyebabkan perbedaan ekspresi gen p53 (nilai fold change), terbukti kadar mRNA antara kelompok 2 tidak berbeda dengan kelompok 3 ($p=0.688$).

Kata Kunci :

Mulai isi maks 5 Kata Kunci di sini ...

Asap rokok, sel epitel, makrofag alveoler, p53

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mulai isi latar belakang di sini

Di Indonesia, banyak penduduk yang merokok, khususnya remaja.¹ Rokok dapat diperoleh di pasar, tetapi banyak pula yang dibuat secara manual di rumah-rumah penduduk. Komponen utama rokok adalah tembakau (*Nicotiana tabacum* Linn.) yang menjadi masalah kesehatan dunia. Meskipun demikian banyak penduduk tetap merokok. Telah dilaporkan bahwa di seluruh dunia, lebih dari 8 juta penduduk meninggal setiap tahunnya akibat merokok. Lebih dari 7 juta diantaranya meninggal karena mengkonsumsi rokok secara langsung, sedangkan 1.2 juta terpapar rokok (perokok pasif).² Telah dilaporkan bahwa pada 7 dekade terakhir, sebanyak 41.3 juta penduduk di Inggris, USA, dan Kanada meninggal akibat merokok. Sebagian besar penduduk yang meninggal di ketiga negara tersebut berusia produktif. Karena merokok merupakan faktor risiko beberapa penyakit, maka sebaiknya berhenti merokok di usia sebelum 40 tahun.³ Indonesia merupakan salah satu negara di Asia Tenggara dengan penduduk yang sebagian besar perokok.⁴ Lebih dari itu, bahwa jumlah perokok di Indonesia yang begitu besar senang untuk merokok kretek baik filter maupun non filter.

Secara umum, rokok kretek filter dibuat di pabrik rokok. Rokok kretek filter mempunyai ciri bahwa di salah satu ujungnya dipasang filter. Dewasa ini, di pasaran dapat ditemukan rokok kretek filter dan rokok kretek non filter, keduanya mengandung daun tembakau sebagai komponen utamanya, dan dicampur dengan cengkeh dan saus.⁵ Perlu diketahui bahwa industri rokok di Indonesia sebagian besar ($\pm 80\%$) menggunakan tembakau lokal, antara lain tembakau Temanggung, Weleri, Yogyakarta, Muntilan, Boyolali, Paiton, Kasturi, dan Madura.⁶ Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry)⁷ yang sudah dikeringkan digunakan sebagai campuran tembakau dalam rokok kretek filter. Selain itu juga diberi saus dengan rasa khusus untuk setiap rokok kretek filter.⁸ Di Kabupaten Klaten, Jawa Tengah, Indonesia, saus rokok kretek filter tersebut dikenal dengan sebutan "woor".

Rokok kretek mengandung campuran zat kimia. Lebih dari 4000 zat kimia telah berhasil diidentifikasi.⁹ Asap rokok mengandung gas (92%) dan partikel padat (8%).¹⁰ Hasil penelitian memperlihatkan bahwa partikel dalam asap rokok sangat berbahaya baik bagi perokok aktif maupun perokok pasif.¹¹ Pada perokok aktif, asap rokok yang berupa gas dan partikel terhirup dari mulut sampai ke alveoli. Telah diteliti bahwa ada deposisi partikel dalam asap rokok di sepanjang saluran pernafasan manusia.¹² Lebih dari itu dinyatakan bahwa asap rokok menyebabkan kelainan pada sistem respirasi. Selain itu, juga diperlihatkan bahwa polutan udara, termasuk akibat asap rokok mempengaruhi penyakit pada pernafasan.¹³ Selain itu, telah diperlihatkan bahwa rasio pengurangan diameter saluran udara konduksi adalah 0.79, sedangkan untuk saluran udara asinar (acinar air ways) adalah 0.94.¹⁴ Fakta tersebut menunjukkan adanya perbedaan morfometrik bronkus antara kondisi normal dibandingkan dengan kondisi patologis. Sebuah penelitian terbaru menunjukkan bahwa efek stres pada sistem pernafasan mengakibatkan displasia bronkopulmoner. Dalam model tikus displasia bronkopulmoner,

tampaknya perubahan akut dan kronis telah terjadi. Selanjutnya, ditunjukkan bahwa asap rokok dikaitkan dengan displasia bronkopulmoner.¹⁵ Selain itu, asap rokok juga memiliki radikal bebas yang menyebabkan gangguan saluran napas, sehingga terjadi kelainan pada paru-paru. Apalagi asap rokok mengandung partikel yang merusak jaringan paru-paru sehingga menyebabkan kerusakan permanen yang disebut penyakit paru obstruktif kronik (PPOK).¹⁶ Penelitian lain menunjukkan bahwa PPOK disebabkan oleh asap rokok.¹⁷

Secara umum sistem pernapasan tikus terdiri dari hidung, faring, laring, trakea, bronkus primer, dan paru-paru (bronkiolus dan alveolus). Letak trakea tikus di bagian ventral leher (memanjang dari laring sampai rongga dada), bentuknya seperti kanal, dan semifleksibel. Penampang melintang jaringan trakea normal menunjukkan epitel kolumnar berlapis semu bersilia, silia, membran basal, dan sel basal.¹⁸ Penelitian terbaru menunjukkan bahwa komponen struktur paru-paru tikus adalah pembuluh darah, bronkus, bronkus terminal, bronkiolus respiratorik, duktus alveolar, kantung alveolar, dan alveoli. Secara lebih rinci, mikrograf elektron transmisi untuk menunjukkan kapiler darah, eritrosit, epitel yang melapisi bronkus terminal, sel epitel bersilia, sel Clara (serosa), membran basal, serat kolagen, dan alveoli.¹⁹ Selain itu, telah didemonstrasikan tentang sistem pernapasan bawah mencit (bronkiolus, saluran alveolar, dan alveoli) baik secara kualitatif maupun kuantitatif.²⁰

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa sistem pernapasan tikus yang terpapar gas menunjukkan peningkatan elastisitas jaringan dan resistensi jaringan. Pada perlakuan ini gas yang digunakan adalah residu gliserol.²¹ Sebuah studi baru-baru ini juga melaporkan bahwa tikus (kontrol) yang tidak diobati telah menunjukkan bahwa bronkiolus mereka dikelilingi oleh serat kolagen. Kelompok tikus yang terpapar asap rokok elektrik menunjukkan deposisi kolagen di daerah peribronkiolar. Pada kelompok tikus yang diberi asap rokok konvensional, tampak deposisi kolagen di bronkiolus, serta lendir intra bronkiolus.²²

Selain itu, juga ditunjukkan bahwa asap rokok mempengaruhi struktur anatomi sistem pernapasan. Struktur anatomi sistem pernapasan dapat berubah karena pengaruh asap rokok seperti sel goblet. Sel goblet ditemukan di dalam trakea, bronkus, dan bronkiolus yang lebih besar di saluran pernapasan. Telah ditunjukkan bahwa hiperplasia sel goblet ditemukan di PPOK.²³ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa merokok adalah faktor risiko utama untuk PPOK. Selain itu, perokok tersebut juga mengalami hiperplasia sel basal, hiperplasia sel mukosa, dan metaplasia skuamosa.²⁴

Dalam penerapan diagnosis PPOK, diperlukan penilaian kualitatif dan kuantitatif.²⁵ Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian histologi tentang abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveolar pada paru *Sprague-Dawley* setelah dipapari asap rokok. Apakah zat karsinogenik pada asap rokok memicu proliferasi sel paru secara tidak terkendali?. Pertanyaan kami tersebut sesuai dengan pernyataan bahwa hilangnya atau mutasi p53 diketahui menyebabkan ketidakstabilan genetik global dan untuk mempromosikan mutasi pro-tumorigenik tambahan karena peran penting dalam mengatur perbaikan DNA, siklus sel, kematian sel terprogram, dan penuaan seluler.²⁶ Untuk menggali lebih

dalam tentang pengaruh asap rokok terhadap paru-paru, kami menggunakan tikus *Sprague-Dawley* sebagai hewan model. Apakah asap rokok berpengaruh terhadap kadar p53 dan terjadinya abnormalitas sel paru tikus, antara lain sel epitel, dan makrofag alveoler secara histologi?. Oleh karena itu kami bermaksud untuk mengetahui hubungan abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveoler secara histologi dengan kadar p53 pada paru *Sprague-Dawley* setelah dipapari asap rokok.

...

1.2. Perumusan Masalah

Mulai isi perumusan di sini ...

1.1. Perumusan Masalah

Dari uraian di atas muncul masalah yang menarik yaitu:

1.1.1. Masalah Umum

Apakah paparan asap rokok kretek mempengaruhi kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?

1.1.2. Masalah Khusus

1.1.2.1. Apakah paparan asap rokok 1 batang/hari selama 1bulan mempengaruhi kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?

1.1.2.2. Apakah asap rokok kretek 2 batang/hari selama 1 bulan lebih besar pengaruhnya terhadap kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?

1.3. Tujuan Penelitian

Mulai isi Tujuan Penelitian di sini...

1.1.1. TUJUAN UMUM

Mengetahui pengaruh asap rokok kretek terhadap perubahan kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?

1.2.2. TUJUAN KHUSUS

1.2.2.1. Mengetahui pengaruh paparan asap rokok 1 batang/hari selama 1 bulan terhadap kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*.

1.1.2.2. Mengetahui pengaruh paparan asap rokok 2 batang/hari selama 1 bulan terhadap kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*?

1.4. Batasan Penelitian

Mulai isi Batasan Penelitian di sini

- 1.3.1. Asap rokok kretek yaitu asap rokok kretek filter sebagai hasil pembakaran 1 atau 2 rokok kretek filter yang dipaparkan terhadap tikus setiap hari selama 1 bulan.
- 1.3.2. *Sprague Dawley* adalah hewan coba berupa tikus yang diperlakukan sebagai kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. *Sprague Dawley* yang dipapari asap rokok kretek sebagai kelompok perlakuan, sedangkan yang tidak dipapari asap rokok sebagai kelompok kontrol.

...

1.5. Kaitan Penelitian dengan Road Map Penelitian Pribadi dan Road Map Penelitian Fakultas

Mulai isi kaitan penelitian dengan road map di sini...

Fokus penelitian ini memperlihatkan efek asap rokok kretek filter pada tingkat sel yaitu mempengaruhi kadar p53 di paru tikus *Sprague-Dawley*. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menjelaskan tingkat keparahan abnormalitas sel pada paru tikus sehubungan dengan kadar p53. Hasil tersebut berhubungan dengan *Road Map* Penelitian Fakultas yang menekankan pada *green healthy life*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Mulai isi Tinjauan Pustaka di sini... Pustaka 10 tahun terakhir, minimal 15 pustaka primer, dilengkapi DOI-bila ada, dihimbau melakukan sitasi pada paper yang telah dipublikasikan pada www.trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id). Sitasi dari karya ilmiah yang ditulis oleh penulis usakti dimaksudkan untuk meningkatkan webometric, pemeringkatan kinerja penelitian, akreditasi prodi/AIPT

2.1. Tinjauan Pustaka

Di Indonesia, banyak penduduk yang merokok, khususnya remaja.¹ Rokok dapat diperoleh di pasar, tetapi banyak pula yang dibuat secara manual di rumah-rumah penduduk. Komponen utama rokok adalah tembakau (*Nicotiana tabacum* Linn.) yang menjadi masalah kesehatan dunia. Meskipun demikian banyak penduduk tetap merokok. Telah dilaporkan bahwa di seluruh dunia, lebih dari 8 juta penduduk meninggal setiap tahunnya akibat merokok. Lebih dari 7 juta diantaranya meninggal karena mengkonsumsi rokok secara langsung, sedangkan 1.2 juta terpapar rokok (perokok pasif).² Telah dilaporkan bahwa pada 7 dekade terakhir, sebanyak 41.3 juta penduduk di Inggris, USA, dan Kanada meninggal akibat merokok. Sebagian besar penduduk yang meninggal di ketiga negara tersebut berusia produktif. Karena merokok merupakan faktor risiko beberapa penyakit, maka sebaiknya berhenti merokok di usia sebelum 40 tahun.³ Indonesia merupakan salah satu negara di Asia Tenggara dengan penduduk yang sebagian besar perokok.⁴ Lebih dari itu, bahwa jumlah perokok di Indonesia yang begitu besar senang untuk merokok kretek baik filter maupun non filter.

Secara umum, rokok kretek filter dibuat di pabrik rokok. Rokok kretek filter mempunyai ciri bahwa di salah satu ujungnya dipasang filter. Dewasa ini, di pasaran dapat ditemukan rokok kretek filter dan rokok kretek non filter, keduanya mengandung daun tembakau sebagai komponen utamanya, dan dicampur dengan cengkeh dan saus.⁵ Perlu diketahui bahwa industri rokok di Indonesia sebagian besar ($\pm 80\%$) menggunakan tembakau lokal, antara lain tembakau Temanggung, Weleri, Yogyakarta, Muntilan, Boyolali, Paiton, Kasturi, dan Madura.⁶ Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry)⁷ yang sudah dikeringkan digunakan sebagai campuran tembakau dalam rokok kretek filter. Selain itu juga diberi saus dengan rasa khusus untuk setiap rokok kretek filter.⁸ Di Kabupaten Klaten, Jawa Tengah, Indonesia, saus rokok kretek filter tersebut dikenal dengan sebutan "woor".

Asap rokok diketahui terdiri atas gas (92%) dan bahan padat atau partikulat (8%).^{27, 28} Gas dan partikulat dari rokok disalurkan ke alveoli.²⁹ Selain itu juga dinyatakan bahwa rokok berpengaruh terhadap aktivitas dan fungsi otak serta mengganggu psikologi pecandu rokok.³⁰ Rokok kretek mengandung campuran zat kimia. Lebih dari 4000 zat kimia telah berhasil diidentifikasi.⁹ Asap rokok mengandung gas (92%) dan partikel padat (8%).¹⁰ Hasil penelitian memperlihatkan bahwa partikel dalam asap rokok sangat berbahaya baik bagi perokok aktif maupun perokok pasif.¹¹ Pada perokok aktif, asap rokok yang berupa gas dan partikel terhirup dari mulut sampai ke alveoli. Telah diteliti bahwa ada deposisi partikel dalam asap rokok di sepanjang saluran pernafasan manusia.¹² Lebih dari itu dinyatakan bahwa asap rokok

menyebabkan kelainan pada sistem respirasi. Selain itu, juga diperlihatkan bahwa polutan udara, termasuk akibat asap rokok mempengaruhi penyakit pada pernafasan.¹³ Selain itu, telah diperlihatkan bahwa rasio pengurangan diameter saluran udara konduksi adalah 0.79, sedangkan untuk saluran udara asinar (acinar air ways) adalah 0.94.¹⁴ Fakta tersebut menunjukkan adanya perbedaan morfometrik bronkus antara kondisi normal dibandingkan dengan kondisi patologis. Sebuah penelitian terbaru menunjukkan bahwa efek stres pada sistem pernapasan mengakibatkan displasia bronkopulmoner. Dalam model tikus displasia bronkopulmoner, tampaknya perubahan akut dan kronis telah terjadi. Selanjutnya, ditunjukkan bahwa asap rokok dikaitkan dengan displasia bronkopulmoner.¹⁵ Selain itu, asap rokok juga memiliki radikal bebas yang menyebabkan gangguan saluran napas, sehingga terjadi kelainan pada paru-paru. Apalagi asap rokok mengandung partikel yang merusak jaringan paru-paru sehingga menyebabkan kerusakan permanen yang disebut penyakit paru obstruktif kronik (PPOK).¹⁶ Penelitian lain menunjukkan bahwa PPOK disebabkan oleh asap rokok.¹⁷

Secara umum sistem pernapasan tikus terdiri dari hidung, faring, laring, trakea, bronkus primer, dan paru-paru (bronkiolus dan alveolus). Letak trakea tikus di bagian ventral leher (memanjang dari laring sampai rongga dada), bentuknya seperti kanal, dan semifleksibel. Penampang melintang jaringan trakea normal menunjukkan epitel kolumnar berlapis semu bersilia, silia, membran basal, dan sel basal.¹⁸ Penelitian terbaru menunjukkan bahwa komponen struktur paru-paru tikus adalah pembuluh darah, bronkus, bronkus terminal, bronkiolus respiratorik, duktus alveolar, kantung alveolar, dan alveoli. Secara lebih rinci, mikrograf elektron transmisi untuk menunjukkan kapiler darah, eritrosit, epitel yang melapisi bronkus terminal, sel epitel bersilia, sel Clara (serosa), membran basal, serat kolagen, dan alveoli.¹⁹ Selain itu, telah didemonstrasikan tentang sistem pernapasan bawah mencit (bronkiolus, saluran alveolar, dan alveoli) baik secara kualitatif maupun kuantitatif.²⁰

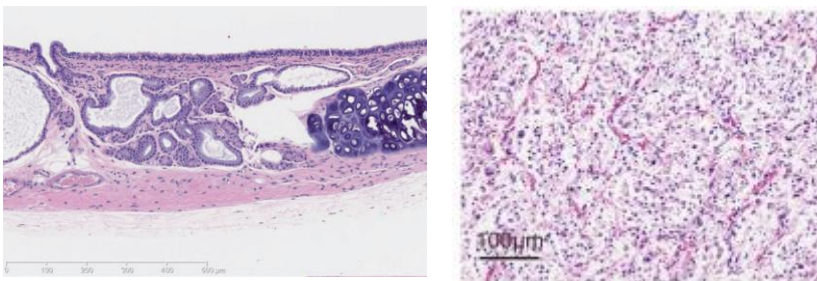
Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa sistem pernapasan tikus yang terpapar gas menunjukkan peningkatan elastisitas jaringan dan resistensi jaringan. Pada perlakuan ini gas yang digunakan adalah residu gliserol.²¹ Sebuah studi baru-baru ini juga melaporkan bahwa tikus (kontrol) yang tidak diobati telah menunjukkan bahwa bronkiolus mereka dikelilingi oleh serat kolagen. Kelompok tikus yang terpapar asap rokok elektrik menunjukkan deposisi kolagen di daerah peribronkiolar. Pada kelompok tikus yang diberi asap rokok konvensional, tampak deposisi kolagen di bronkiolus, serta lendir intra bronkiolus.²²

Selain itu, juga ditunjukkan bahwa asap rokok mempengaruhi struktur anatomi sistem pernapasan. Struktur anatomi sistem pernapasan dapat berubah karena pengaruh asap rokok seperti sel goblet. Sel goblet ditemukan di dalam trakea, bronkus, dan bronkiolus yang lebih besar di saluran pernapasan. Telah ditunjukkan bahwa hiperplasia sel goblet ditemukan di PPOK.²³ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa merokok adalah faktor risiko utama untuk PPOK. Selain itu, perokok tersebut juga mengalami hiperplasia sel basal, hiperplasia sel mukosa, dan metaplasia skuamosa.²⁴

Dalam penerapan diagnosis PPOK, diperlukan penilaian kualitatif dan kuantitatif.²⁵ Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian histologi tentang abnormalitas sel epitel, dan makrofag

alveoler pada paru *Sprague-Dawley* setelah dipapari asap rokok. Kami bermaksud untuk menyajikan perubahan kuantitatif pada bronkiolus dan bronkiolus respiratorik yang disebabkan oleh efek asap kretek filter. Perubahan kuantitatif pada bronkiolus dan bronkiolus respiratorius penting dilakukan agar diagnosis yang berhubungan dengan kelainan jaringan paru dapat ditentukan secara lebih objektif.

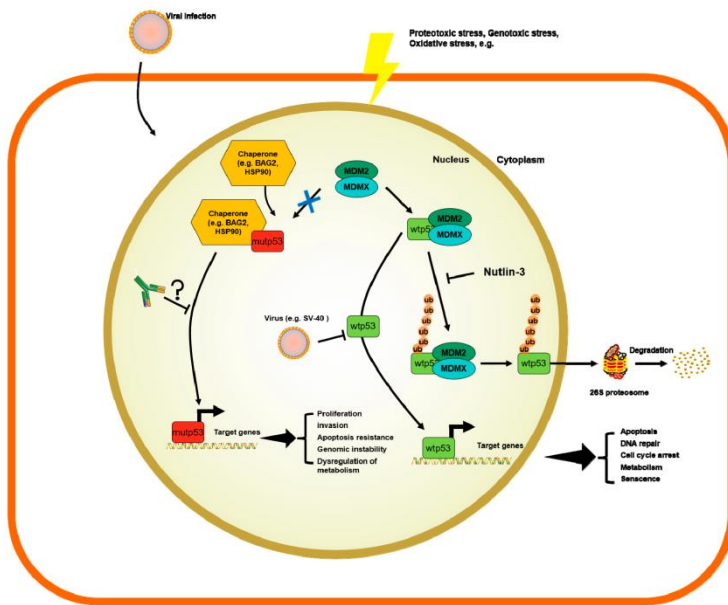
Apakah zat karsinogenik pada asap rokok memicu proliferasi sel paru secara tidak terkendali?. Pertanyaan kami tersebut sesuai dengan pernyataan bahwa hilangnya atau mutasi p53 diketahui menyebabkan ketidakstabilan genetik global dan untuk mempromosikan mutasi pro-tumorigenik tambahan karena peran penting dalam mengatur perbaikan DNA, siklus sel, kematian sel terprogram, dan penuaan seluler.²⁶ Gangguan asap rokok dapat memicu abnormalitas sel di trakea, misalnya sel epitel yang langsung terpapar dengan asap rokok saat mengalir dari hidung ke sistem saluran nafas selanjutnya. Tampilan sel epitelial pada trake tikus, makrofag di bronchioles, disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Histologi trakea Sprague Dawley^{31, 32}

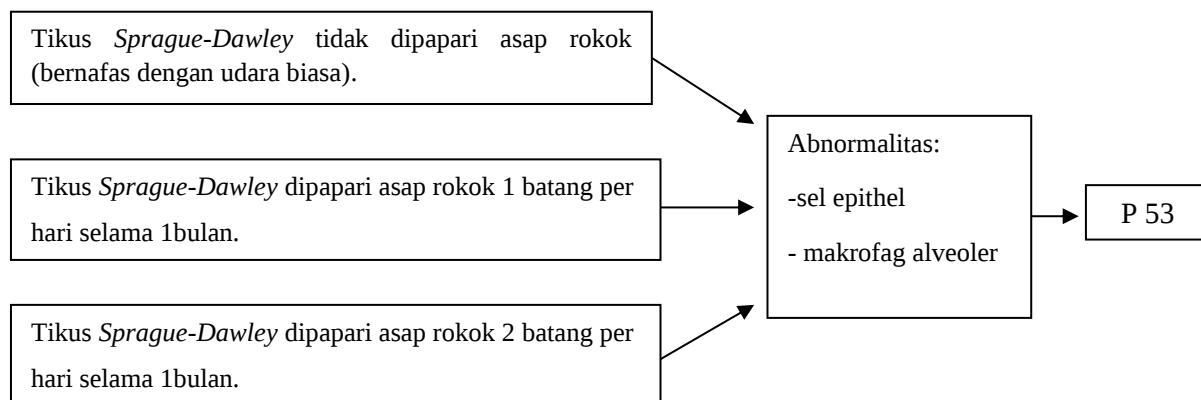
Gen p53 merupakan gen suppressor umor yang memiliki peran penting pada regulasi siklus sel dan apoptosis dan sering mengalami mutasi pada kanker. Adenokarsinoma paru menyumbang 40% dari kanker paru-paru, penyebab utama kematian terkait kanker di seluruh dunia, dan terapi saat ini hanya memberikan manfaat kelangsungan hidup yang terbatas. Sekitar setengah dari adenokarsinoma paru memiliki mutasi pada TP53 (p53), menjadikan mutan ini sebagai target yang menarik untuk terapi kanker paru. Karena p53 mutan tetap tidak dapat ditargetkan, fenotipe yang bergantung pada p53 mutan mewakili peluang penargetan alternatif, tetapi prevalensi dan relevansi terapeutik dari efek tersebut (peningkatan fungsi dan aktivitas dominan-negatif) pada adenokarsinoma paru tidak jelas. Data ini menunjukkan bahwa potensi terapi bertarget p53 sebanding di semua genotipe yang kekurangan p53 dan dapat menjelaskan tingginya insiden p53 pada hilangnya heterozigositas. Sebaliknya, peningkatan fungsi p53 mutan dan kerentanan terkait dapat bervariasi sesuai dengan jenis mutasi. Khususnya, telah diidentifikasi sensitivitas spesifik p53 R270H terhadap simvastatin pada tumor paru, dan aktivitas transkripsi yang mendasarinya.³³

Mekanisme regulasi p53 tipe liar (p53-wt) dan p53 mutan (p53-mut) dan peran potensial antibodi p53 (p53-Abs) disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme regulasi p53 tipe liar (p53-wt) dan p53 mutan (p53-mut) dan peran potensial antibodi p53 (p53-Abs).³⁴

2.2. Kerangka Konsep Penelitian



Bagan 1. Kerangka konsep pengaruh asap rokok terhadap kadar p53 pada paru tikus *Sprague-Dawley*

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Mulai isi waktu dan tempat di sini ...

3.1. Waktu

Penelitian dilakukan antara bulan Oktober 2022 sd Juni 2023.

3.2. Lokasi

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti-Jakarta, dan di Laboratorium LPPT UGM Unit 4, Yogyakarta.

3.2. Metode Penelitian

Mulai isi Metodologi Penelitian di sini...

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan hewan coba tikus *Rattus novergicus* galur *Sprague-Dawley* yang dipapari dengan asap rokok kretek filter, sedangkan kelompok kontrol adalah kelompok tikus yang bernafas dengan udara biasa (*experimental and control group design*). Pemilihan tikus kedalam kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan secara random (*randomize controle trial*).

3.4. Sampel Penelitian

Jumlah tikus per kelompok dihitung dengan rumus $(n - 1) (t - 1) \geq 15$. Besar sampel yang digunakan sebanyak minimal 8 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 24 ekor tikus jantan *Rattus novergicus* galur *Sprague-dawley* yang dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing 8 ekor.

3.5. Kriteria Inklusi Dan Eksklusi

Tikus *Rattus novergicus* galur *Sprague-Dawley* jantan yang berumur sekitar 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram sebagai kriteria inklusi, sedangkan kriteria ekslusinya apabila tikus mati saat perlakuan.

3.6. Bahan Dan Cara Perlakuan terhadap tikus *Sprague-Dawley*

Tikus ditempatkan dalam kandang secara individual. Tikus diberi makan dan minum pada libitum sesuai standar. Ruang perlakuan dilengkapi AC dengan suhu $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, kelembaban $55 \pm 5\%$, dan lampu artificial fluorescent (12:12 jam, siklus terang dan gelap). Penelitian ini diusahakan untuk memperoleh lolos kaji etik. Pada penelitian ini ada 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1, 2, dan 3.

Semua tikus yang telah dikelompokkan, diperlakukan dalam smoking chamber. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol, tikus bernafas dengan udara biasa tanpa dipapari asap rokok. Kelompok 2 adalah kelompok tikus yang dipapari asap rokok dengan dosis 1 batang/ekor/hari selama 1 bulan. Kelompok 3 adalah kelompok tikus yang dipapari asap rokok dengan dosis 2 batang/ekor/hari selama 1 bulan. Paparan asap rokok dilakukan dengan membuka katup oksigen terlebih dahulu, kemudian rokok dipasangkan pada pipa yang dihubungkan dengan pompa, selanjutnya rokok dibakar dan pompa dinyalakan sehingga asap akan masuk ke dalam smoking chamber dan terhirup tikus. Setelah selesai perlakuan selama 1 bulan, tikus dikorbankan dengan euthanasia. Tikus dibius terlebih dahulu dengan xylain dan ketamin, kemudian dilakukan koleksi organ sesuai prosedur yang telah ditetapkan. Koleksi organ dilakukan dalam larutan neutral buffer formalin (NBF) 10%, selanjutnya sample organ dibuat slide preparat mikroskop untuk menentukan abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveoler pada paru tikus. Selain itu, sample organ juga diperiksa kadar p53.

3.7. Visualisasi paru tikus

3.7.1. Pengecatan hematoxylin eosin (HE)

Pengecatan HE dilakukan untuk memvisualisasi abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveoler pada paru tikus.

3.7.2. Immunohistokimia (IHC)

Immunostaining dapat digunakan untuk mempertegas kuantisasi populasi sel dengan imunoperoksidase atau immunoalkaline phosphatase.³⁵ Pewarnaan immunohistokimia menggunakan antibody p53 produksi bio genex. Sistem skoring dengan pedoman 0=negatif, 1=positif (<10%), 2=positif (10% sampai 50%), dan 3=positif (>50%)

3.7.2. Scanning Electron Microscopy

Semua sampel jaringan dilapisi sputter dengan 3 nm platinum dalam resolusi tinggi Turbo-Pumped Sputter Coater Q150T (Quorum Technologies Ltd, Ringmer, UK) sebelum pemeriksaan mereka di bawah mikroskop elektron pemindaian FEI Nova NanoSEM 450 lapangan (Thermo Fisher Scientific, Brno, Republik Ceko). Opsi Navigasi Montase dari perangkat lunak SEM, v. 6.3.4.3233 (Helios NanoLab, Thermo Fisher Scientific, Brno, Republik Ceko) digunakan untuk memetakan seluruh bagian jaringan pada resolusi rendah. Selanjutnya, analisis SEM akhir dilakukan pada tegangan

percepatan mulai dari 2 kV hingga 5 kV dan ukuran titik 3 menggunakan Everhart–Thornley Detector (ETD), Circular Backscatter Detector (CBS), dan Through the Lens Detector (TLD)^{36, 37}

3.7.3. Penentuan kadar p53

Pengukuran kadar p53 dilakukan menggunakan real time-polychain reaction (q PCR). Bahan yang digunakan adalah sample jaringan paru tikus Sprague Dawley. Sampel jaringan paru diisolasi RNAny, selanjutnya hasilnya berupa larutan dalam tabung 1.5 mL yang disimpan pada suhu – 80 °C. Reagen yang digunakan untuk mengukur kadar RNA yaitu Bioline SensiFast Sybr Lo-ROX One-step kit, Zymo Research Quick-RNATM MiniPrep Plus, dan Geneaid Micropestle. Target gen p53 mouse menggunakan sense primer (5' to 3') AGGCCTTGGAAGTCAAGGAT, sedangkan antisense primer (5' to 3') TGAGTCAGGCCCTTCTGTCT, dengan ukuran 140 bp.³⁸ Analisis QPCR menggunakan SYBR Green Master Mix (Bio-rad) dalam system Bio-rad CFX96 qPCR. Gen glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) digunakan sebagai control internal.³⁹

3.7.4. Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh lolos kaji etik dari Komisi Ethical Clearance, Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada dengan nomor: 00012/04/LPPT/VI/2022.

3.3. Metode Analisis

Mulai isi Metode Analisis di sini...

Uji statistik yang dipilih pada penelitian ini adalah one way anova untuk menguji kemaknaan berat paru tikus, cytometric bronkioler tikus, maupun kadar p53 antar 3 kelompok perlakuan. Perbedaan antar kelompok dinyatakan jika hasil analisis memperlihatkan nilai $P < 0.05$.

3.4. Indikator Capaian Penelitian

Mulai isi Indikator Capaian di sini...

ASPEK		CHECKLIST
SKALA UNGGULAN	Skala Internasional	
	Skala Nasional	
	Skala Lokal	+
TOPIK/TEMA RISET	Top Down	
	Semi Top Down	+
	Bottom Up	
SKEMA PENDANAAN	Block Grant	+
	Kompetitif	
PELAKSANA RISET	Pusat Penelitian	+

	Individu	
	Riset Group	
SUMBER DANA	Dana Desentralisasi	
	DP2M (30%)	
	Mandiri PT	+
	Kerjasama Luar negeri	
	Sumber Lain-lain	
KEY PERFORMANCE INDICATOR	Jurnal	+
	HKI	+
	Teknologi Tepat Guna	
	S3	
	Seminar	
	Publikasi Internasional	+
	Buku Ajar	
	Lain_lain (BUNGA RAMPAI)	
MANAGEMEN PENGELOLAAN	LEMLIT	
	Fakultas	+
	Pusat Penelitian/Studi/Pengkajian	
BUKU PANDUAN	Buku Panduan Penelitian Usakti	+
	Buku Panduan Skim DP2M	
ALOKASI DANA DESENTRALISASI	0-50%	-
	50-75%	-
	75-100%	-

JADWAL PELAKSANAAN PENELITIAN

No	Kegiatan	2022			2023						
		Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Maret	April	Mei	Juni	Juli
1	Persiapan kandang dan pembuatan chamber pengasapan										
2	Aklimatisasi & perlakuan										
3	Pengasapan tikus										
4	Pembuatan slide										
5	Pengukuran biometrik sel pada otak tikus										
6	Analisis data dan pembuatan laporan										

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mulai isi HASIL DAN PEMBAHASAN di sini...Setiap hasil perlu dianalisis, mengacu dan didukung oleh literatur yang relevan ...

4.1. Perlakuan tikus *Sprague-Dawley*

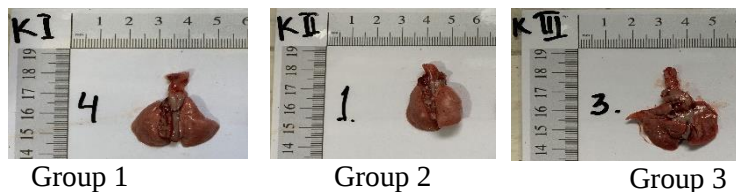


Gambar 3. Perlakuan asap rokok kretek filter terhadap tikus *Sprague Dawley*.

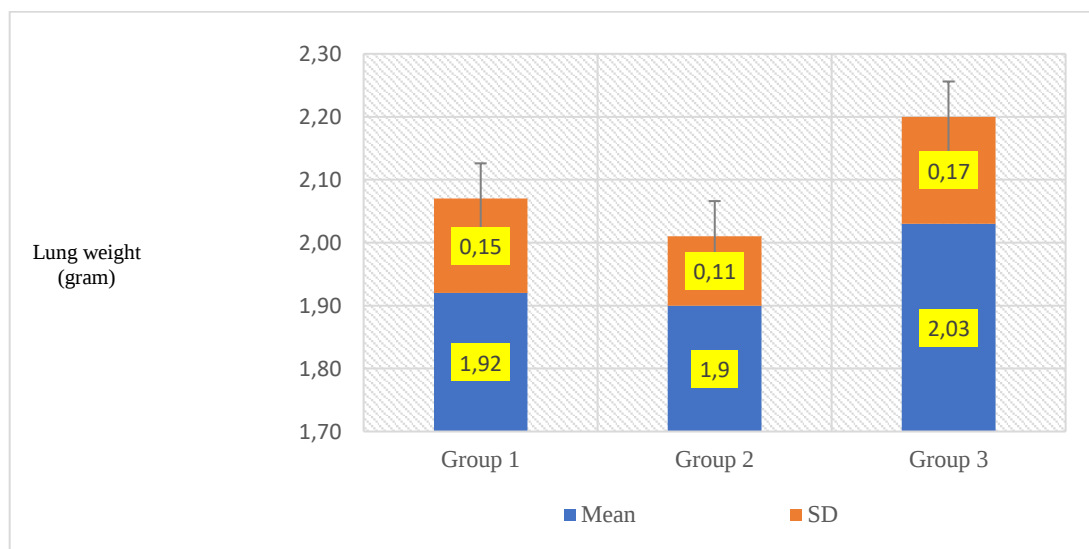
4.2. Visualisasi paru tikus

4.2.1. Pengecatan hematoxylin eosin (HE)

Pengecatan HE dilakukan untuk memvisualisasi abnormalitas sel epitel, dan makrofag alveoler pada paru tikus.



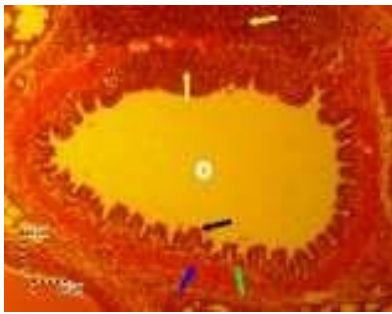
A.



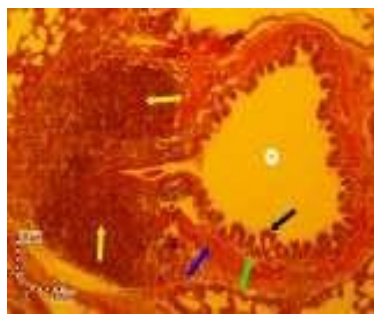
B.

Gambar 4. Perbandingan penampilan dan berat paru-paru tikus *Sprague Dawley*. A = Gambar makroskopik paru-paru tikus. B = perbandingan berat paru-paru tikus antar kelompok. Kelompok 1 (kontrol), tikus bernapas menggunakan udara biasa tanpa terpapar asap rokok kretek filter. Kelompok 2, kelompok tikus yang terpapar asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari perlakuan. Kelompok 3, kelompok tikus yang terpapar asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari perlakuan.

Penampilan dinding bronkial paru-paru tikus Sprague Dawley yang diwarnai hematoksin & eosin diamati menggunakan mikroskop cahaya, disajikan pada gambar 3.



Kelompok 1.



Kelompok 2.



Kelompok 3.

Gambar 5. Tampilan dinding bronkial tikus Sprague Dawley yang dicat H&E, pembesaran 00 x. Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas menggunakan udara biasa tanpa paparan asap rokok kretek filter. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari perlakuan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari perlakuan.

Table 1. Effect of filtered kretek cigarette smoke on the bronchial lumen in *Sprague Dawley* rats

Lumen bronkial	Group 1	Group 2	Group 3
Length (µm)	83.94±4.94	65.61±7.72**	54.94±6.43**
Width (µm)	52.06±2.83	35.96±5.98**	35.42±7.54**
Area (µm ²)	2048.43±63.73	1514.79±57.98**	1541.07±78.18**
Perimeter (µm)	189.79±4.04	161.66±1.48**	156.19±5.21**

Keterangan: Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas menggunakan udara biasa tanpa paparan asap rokok kretek filter. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari perlakuan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari perlakuan. **P<0.01.

Tabel 2. Pengaruh asap rokok kretek filter pada lapisan mukosa bronkus dan lapisan otot polos bronkus pada tikus Sprague Dawley

Tebal bronkus	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
area lapisan mukosa (µm ²)	1527.04±77.30	1303.08±68.02**	1164.28±30.20**
Δ perimeter lapisan mukosa (µm)	45.12±1.74	72.78±4.87**	44.22±3.18
Area otot polos (µm ²)	1092.52±64.16	1473.33±50.07**	850.63±78.88**
Δ perimeter otot polos (µm)	26.30±3.69	21.32±5.72*	35.49±7.82**

Keterangan: Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas menggunakan udara biasa tanpa paparan asap rokok kretek filter. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari perlakuan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapar asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari perlakuan. Luas lapisan mukosa (µm²)=luas lapisan mukosa luar (µm²)-luas lapisan mukosa dalam (µm²). Δ perimeter lapisan mukosa (µm)=perimeter lapisan mukosa luar (µm)-perimeter lapisan mukosa dalam (µm). *P<0,05; **P<0,01.

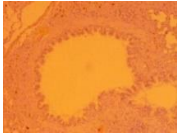
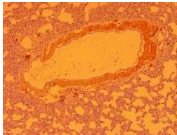
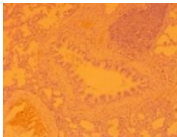
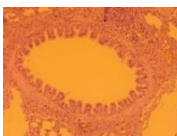
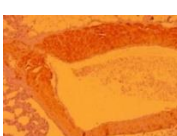
Penampakan dinding bronkus pada kelompok 1 menunjukkan struktur histologis yang normal, sedangkan pada kelompok 2 menunjukkan struktur histologis yang tidak normal yaitu hiperplasia lapisan

mukosa bronkus tikus Sprague Dawley. Pada kelompok 3 tikus Sprague Dawley menunjukkan bronkokonstriksi. Pada table 1 memperlihatkan bahwa asap rokok menyebabkan perbedaan panjang, lebar, area, dan perimeter dari lumen bronkus. Pada table 2 memperlihatkan bahwa asap rokok menyebabkan perbedaan tebal bronkus. Hasil penelitian ini dapat dijadikan pedoman bahwa asap rokok 1 batang/hari maupun 2 batang/hari merubah ukuran normal baik pada lumen bronkus maupun tebal otot polos penyusun bronkus. Selain itu, juga menyebabkan perubahan sel menjadi hyperplasia sel-sel mukosa bronkus, dan terjadi bronkokonstriksi pada tingkat jaringan.

4.2.2. Imunohistokimia (IHK)

Hasil IHK p53 pada pru tikus Sprague Dawley antara kelompok control dengan kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Imunohistokimia pada pru tikus Sprague Dawley

Kelompok	Hasil imunohistokimia	Interpretasi
1.		Mutan negative
		Mutan positif
2.		Wild type negatif
		Mutan negatif
3.		Wild type negatif
		Mutan positif

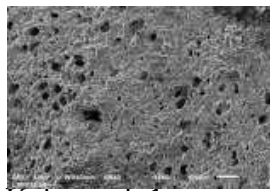
Keterangan: Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas dengan udara biasa, tanpa dipapari asap rokok. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari percobaan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari percobaan.

Hasil IHK pada penelitian ini memperlihatkan ada sampel jaringan paru yang bereaksi negative maupun positif terhadap antibody p53 yang digunakan sebagai penanda karakteristik molekuler. Protein p53 perlu diperiksa dengan IHK sehubungan dengan pemeriksaan q PCR.

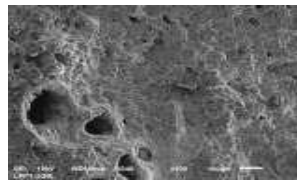
4.2.3. Scanning Electron Microscopy

Tampilan paru tikus Sprague Dawley dengan scanning electron microscopy (SEM) disajikan pada

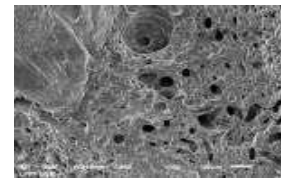
Gambar 6.



Kelompok 1.



Kelompok 2.



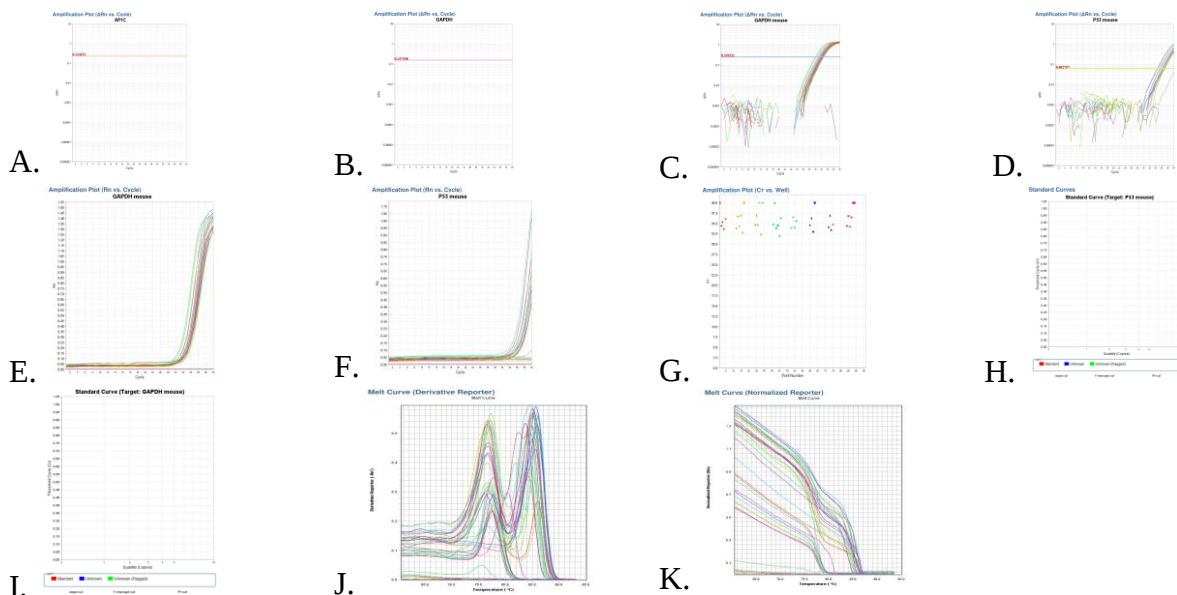
Kelompok 3.

Gambar 6. Tampilan paru tikus *Sprague Dawley* dengan scanning electron microscope (pembesaran 100X). Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas dengan udara biasa, tanpa dipapari asap rokok. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari percobaan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari percobaan.

Hasil SEM terhadap paru tikus memperlihatkan tampilan yang lebih jelas terhadap bronkus, dan bronkus respiratorius. Untuk mengukur diameter bronkus, dan bronkus respiratorius kami menggunakan Optilab plus, sehingga slide yang digunakan dicat dengan HE (lihat 4.2.1.).

4.2.4. kadar p53

Optimasi qPCR untuk penentuan kadar mRNA untuk p53 disajikan pada gambar 7.



Gambar 7. Optimasi qPCR untuk penentuan kadar mRNA untuk p53. A. Amplification plot (ΔR_n vs cycle) AP1C; B. Amplification plot (ΔR_n vs cycle) GAPDH; C. Amplification plot (ΔR_n vs cycle) GAPDH mouse; D. Amplification plot (ΔR_n vs cycle) p53 mouse; E. Amplification plot (R_n vs cycle) GAPDH mouse; F. Amplification plot (R_n vs cycle) p53 mouse; G. Amplification plot (Cr vs Well); H. Standard curve (target p53 mouse); I. Standard curve (target GAPDH mouse); J. Melte curve (derivative curve); K. Melte curve (normalized reporter).

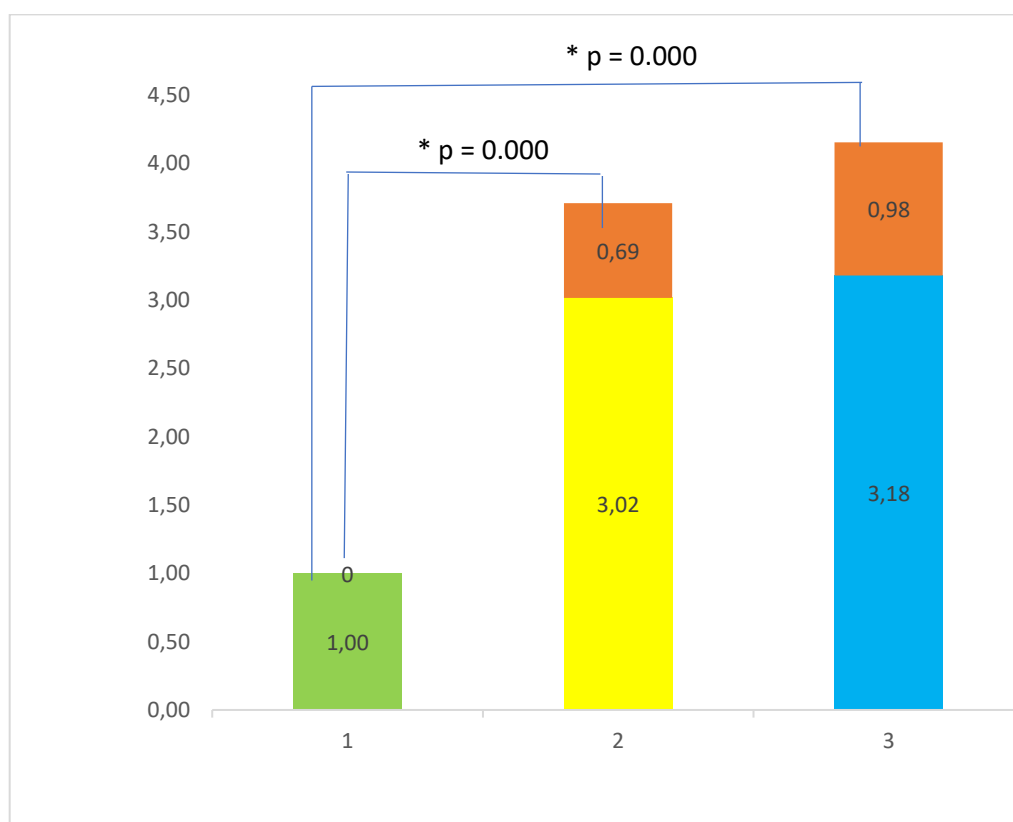
Tabel 4. Data hasil pengukuran qPCR p53

PARU TIKUS: GEN P53					
Target	Sampel	CT mean	ΔCT (mean)	$\Delta\Delta CT$	RQ
			CTtarget-CT HKG	ΔCT target- ΔCT Kontrol	$2^{-\Delta\Delta CT}$
GAPDH	K1.1	32.65268			
GAPDH	K1.2	32.58251			
GAPDH	K1.3	33.88753			
GAPDH	K1.4	31.50494			
GAPDH	K1.5	33.24927			
GAPDH	K1.6	33.32427			
GAPDH	K2.1	32.81113			
GAPDH	K2.2	32.14648			
GAPDH	K2.3	33.02317			
GAPDH	K2.4	33.13082			
GAPDH	K2.5	32.51875			
GAPDH	K2.6	33.18375			
GAPDH	K3.1	31.66943			
GAPDH	K3.2	33.79503			
GAPDH	K3.3	34.24113			
GAPDH	K3.4	34.54912			
GAPDH	K3.5	29.52644			
GAPDH	K3.6	30.52644			
P53	K1.1	34.90527	2.25	2.07	1.00
P53	K1.2	34.54678	2.27		1.00
P53	K1.3	34.67465	2.64		1.00
P53	K1.4	34.44846	2.94		1.00
P53	K1.5	34.27763	1.03		1.00
P53	K1.6	34.43573	1.98		1.00
P53	K2.1	31.17274	-1.64	-1.64	3.11
P53	K2.2	32.90408	0.76	-1.32	2.49
P53	K2.3	33.4224	0.40	-1.68	3.19
P53	K2.4	33.13961	0.01	-2.07	4.19
P53	K2.5	31.39374	-1.13	-1.13	2.18
P53	K2.6	30.11698	-1.55	-1.55	2.93
P53	K3.1	32.56723	0.90	-1.17	2.25
P53	K3.2	33.58365	-0.21	-2.29	4.88
P53	K3.3	32.73654	-1.50	-1.50	2.84
P53	K3.4	35.39152	0.84	-1.23	2.35
P53	K3.5	29.9529	0.43	-1.65	3.13
P53	K3.6	31.42676	-1.86	-1.86	3.62
P53	K4.1	31.36583	-1.92	-1.92	3.77
P53	K4.2	32.18765	-1.74	-1.74	3.34

P53	K4.3	33.75706	-0.15	-2.22	4.66
P53	K4.4	31.78965	-1.63	-1.63	3.09
P53	K4.5	33.57954	-0.17	-2.25	4.75
P53	K4.6	33.13627	-1.77	-1.77	3.41

Ekspresi gen target, Ct gen p53 dinormalisasi dengan Ct gen GAPDH, hasilnya dibandingkan dengan sampel control, dan perubahan 1 kali lipat diperoleh untuk sampel normal, dan perubahan lipatan di atas 1 menunjukkan regulasi naik dan nilai Ct di bawah 1 dianggap regulasi turun [Sadia, et al., 2020].⁴⁰ Dari 6 sampel, semuanya menunjukkan regulasi naik, dan tidak menunjukkan regulasi turun. Semua sampel menunjukkan ekspresi gen abnormal dibandingkan dengan sampel dari tikus yang tidak dipapari asap rokok kretek filter.

Data ekspresi gen target, Ct gen p53 dinormalisasi dengan Ct gen GAPDH. Rata-rata nilai Ct gen p53 dan rata-rata nilai Ct gen GAPDH dibandingkan. Perhitungan didasarkan pada metode $\Delta\Delta Ct$ atau Livak.⁴¹ (Livak dan Schmittgen, 2001)



Gambar 8. Perbandingan ekspresi mRNA p53

Keterangan: Kelompok 1 (kontrol), tikus bernafas dengan udara biasa, tanpa dipapari asap rokok. Kelompok 2, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 1 batang/hari selama 30 hari percobaan. Kelompok 3, kelompok tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 2 batang/hari selama 30 hari percobaan. Kadar mRNA kelompok 1 berbeda dengan kelompok 2 maupun kelompok 3 ($p = 0.000$), sedangkan kelompok 2 tidak berbeda dengan kelompok 3 ($p = 0.688$).

Berdasar data hasil pengukuran tersebut memperlihatkan bahwa perlakuan tikus yang dipapari asap rokok kretek filter 1 batang/hari maupun 2 batang/hari selama 30 hari berpengaruh terhadap ekspresi gen p53. Ada peningkatan ekspresi gen p53 pada tikus yang dipapari asap rokok kretek filter. Hal tersebut terbukti bahwa kadar mRNA tikus kelompok 2 dan 3 lebih tinggi (up regulation) dibanding kelompok 1 ($p=0.000$). Tikus yang dipapari asap rokok menunjukkan kadar mRNA paru yang meningkat. Perbedaan jumlah rokok kretek filter yang digunakan untuk memapari tikus tidak menyebabkan perbedaan ekspresi gen p53 (nilai fold change), terbukti kadar mRNA antara kelompok 2 tidak berbeda dengan kelompok 3 ($p=0.688$).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Mulai isi kesimpulan dan saran di sini ...

Berdasarkan data penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Paparan asap rokok kretek filter dosis rendah 1 batang/hari serta 2 batang/hari selama 30 hari pada tikus Sprague Dawley tidak mempengaruhi perubahan berat paru-paru.
2. Paparan asap rokok kretek filter dosis rendah 1 batang/hari serta 2 batang/hari selama 30 hari pada menyebabkan hiperplasia lapisan mukosa bronkial, serta bronkokonstriksi pada tikus Sprague Dawley yang ditandai dengan pengurangan area dan keliling lumen bronkial, area lapisan mukosa bronkial dan area otot polos muncul pada kelompok perlakuan.
3. Paparan asap rokok kretek filter dosis rendah 1 batang/hari serta 2 batang/hari selama 30 hari berpengaruh terhadap kadar mRNA p53 paru tikus Sprague Dawley.

DAFTAR PUSTAKA

Mulai isi Daftar Pustaka di sini menggunakan system APA (nama belakang, tahun)..... Pustaka 10 tahun terakhir, minimal 15 pustaka primer, dilengkapi DOI-bila ada, dihimbau melakukan sitasi pada paper yang telah dipublikasikan pada www.trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id). Sitasi dari karya ilmiah yang ditulis oleh penulis usakti dimaksudkan untuk meningkatkan webometric, pemeringkatan kinerja penelitian, akreditasi prodi/AIPT

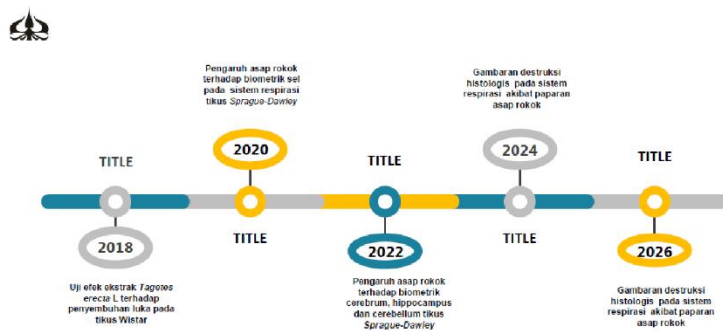
1. Kasri RA, Ahsan A, Wiyono NH, Jacinda AR, Kusuma D. New evidence of illicit cigarette consumption and government revenue loss in Indonesia. *Tobacco Induced Diseases*, 2021, 84, 1-8. <https://doi.org/10.18332/tid/142778>
2. WHO (World Health Organization): Tobacco. May 27th 2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>
3. Jha, P. (2020). The hazards of smoking and the benefits of cessation: a critical summation of the epidemiological evidence in high-income countries. *eLife*, 9(e49979), 1-46. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.49979>
4. SEATCA (Southeast Asia Tobacco Control Alliance). Tobacco Control Atlas ASEAN Region. 4th Ed September 2018. Available online: https://seatca.org/dmdocuments/TobaccoControlAtlas_ASEANRegion_4thEd_Dec2019.pdf.
5. Palipudi, K., Mbulo, L., Kosen, S., Tjandra, A., Kadarmanto, & Qureshi, F. (2015). A Cross Sectional Study of Kretek Smoking in Indonesia as a Major Risk to Public Health. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16 (16), 6883-6888. DOI:<http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.16.6883>. http://journal.waocp.org/issue_3358_3539.html
6. Sukresna, I (2015). Tobacco. The Indonesian Sweetener and Fiber Crops Research Institute (ISFCRI), Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD), Department of the Republic of Indonesia. November 17th, 2015. <http://balittas.litbang.pertanian.go.id/index.php/en/komoditas/tobacco>.
7. ITIS (Integrated Taxonomi Information System). (2020). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry. Taxonomic Serial No.: 506167. September 22nd, 2020. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506167#null/.
8. Arnez, M. (2009). From Tobacco to Kretek: A Success Story about Cloves. *Zeitenblicke*, 8 (3), 1-14. <http://www.zeitenblicke.de/2009/3/arnez/dippArticle.pdf>
9. Lin J, Taggart M, Borthwick L, Fisher A, Brodlie M, Sassano MF, et al. Acute cigarette smoke or extract exposure rapidly activates TRPA1-mediated calcium influx in primary human airway smooth muscle cells. *Scientific Reports* 2021, 11 (9643), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89051-4>
10. Amorós-Pérez, A., Cano-Casanova, L., Román-Martínez, M. C., & Lillo-Ródenas, M. Á. (2021). Comparison of particulate matter emission and soluble matter collected from combustion cigarettes and heated tobacco products using a setup designed to simulate puffing regimes. *Chemical Engineering Journal Advances*, 8(100144), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.100144>.<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666821121000600>
11. Braun M, Fromm EL, Gerber A, Klingelhöfer D, Müller R, Groneberg DA. Particulate matter emissions of four types of one cigarette brand with and without additives: a laser spectrometric particulate matter analysis of secondhand smoke. *BMJ Open* 2019, 9 (e024400), 1-7. doi:10.1136/bmjopen-2018-024400. <https://bmjopen.bmj.com/content/9/1/e024400>
12. Paul, A. R., Khan, F., Jain, A., & Saha, S. C. (2021). Deposition of smoke particles in human airways with realistic waveform. *Atmosphere*, 12 (912), 1-22. <https://doi.org/10.3390/atmos12070912>. [file:///C:/Users/User/Downloads/atmosphere-12-00912%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/atmosphere-12-00912%20(1).pdf)
13. Lee YG, Lee PH, Choi SM, An MH, Jang AS. Effects of Air Pollutants on Airway Diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(9905), 1-17. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189905>.

14. Park K, Jung Y, Son T, Cho YJ, Jeon NL, Kim W, Kim HY. Optimal diameter reduction ratio of acinar airways in human lungs. *PLoS One* 2019, 14(1), e0204191. doi: 10.1371/journal.pone.0204191. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6354962/>
15. González-Luis, G. E., Westering-Kroon, E. V., Villamor-Martinez, E., Huizing, M. J., Kilani, M. A., Kramer, B. W., et al. (2020). Tobacco Smoking During Pregnancy Is Associated With Increased Risk of Moderate/Severe Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pediatrics*, 8(160), 1-10. doi: 10.3389/fped.2020.00160. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7198744/>
16. WHO (World Health Organization), WHO highlights huge scale of tobacco-related lung disease deaths. World Health Organization, 2019. <https://www.who.int/news/item/29-05-2019-who-highlights-huge-scale-of-tobacco-related-lung-disease-deaths>
17. Carvalho JL, Miranda M, Fialho AK, Castro-Faria-Neto H, Anatriello E, Keller AC, et al. Oral feeding with probiotic *Lactobacillus rhamnosus* attenuates cigarette smoke-induced COPD in C57Bl/6 mice: Relevance to inflammatory markers in human bronchial epithelial cells. *PLoS ONE* 2020, 15(4), e0225560, 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225560>
18. Shraideh ZA, Najjar HN. Histological changes in tissues of trachea and lung alveoli of albino rats exposed to the smoke of two types of Narghile Tobacco Products. *JJBS Jordan Journal of Biological Sciences*, 2011, 4(4), 219-224. <http://jjbs.hu.edu.jo/FILES/v4n4/Paper%20Number%205.pdf>
19. Maina JN, Igbokwe CO. Comparative morphometric analysis of lungs of the semifossorial giant pouched rat (*Cricetomys gambianus*) and the subterranean Nigerian mole rat (*Cryptomys foxi*). *Scientific Reports* 2020, 10(5244), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61873-8>
20. Ibe CS, Onyeausi BI, Salami SO, Nzalak JO. (2011). Microscopic Anatomy of the Lower Respiratory System of the African Giant Pouched Rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse 1840) Anatomía Microscópica del Sistema Respiratorio Inferior de la Rata Gigante Africana (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse 1840). *Int J Morphol*, 2011, 29(1), 27-33. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v29n1/art04.pdf>
21. Serra DS, De Brito KBP, Oliveira KL, Oliveira MLM, Cavalcante FSA. Respiratory system of rats exposed to pollutants arising out of heating residual glycerol. *Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications*, 2017, 7 (1), 1000220, 1-5. <http://doi:10.4172/20904541.1000220>.
22. Wawryk-Gawda E, Chylińska-Wrzos P, Zarobkiewicz MK, Chłapek K, Jodłowska-Jędrych B. Lung histomorphological alterations in rats exposed to cigarette smoke and electronic cigarette vapour. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2020, 19, 2826-2832. doi: 10.3892/etm.2020.8530. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7098213/>.
23. Kim V, Criner GJ. Chronic Bronchitis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2013, 187(3), 228-237. DOI: 10.1164/rccm.201210-1843CI. <https://www.atsjournals.org/toc/ajrccm/187/3>
24. Zuo, W. L., Yang, J., Gomi, K., Chao, I. W., Crystal, R. G., & Shaykhiev, R. (2017). EGF-amphiregulin interplay in airway stem/progenitor cells links the pathogenesis of smoking-induced lesions in the human airway epithelium. *Stem Cells*, 35: 824-37. <https://stemcells.journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/stem.2512>
25. Chauhan, N. S., Sood, D., Takkar, P., Dhadwal, D. S., & Kapila, R. (2019). Quantitative assessment of airway and parenchymal components of chronic obstructive pulmonary disease using thin-section helical computed tomography. *Polish Journal of Radiology*, 84: e54-e60. DOI: <https://doi.org/10.5114/pjr.2019.82737>
26. Biegging KT, Mello SS, Attardi LD. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. *Nat. Rev.* 2014, 14, 359–370. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24739573/>
27. Stephen, M. 2010. The toxicological of cigarette smoke and environmental tobacco. Report Assignment-Biochemical Toxicology, BC4927.
28. Ding Y, Zhang L, Jain R, jain N, Wang R, Ashley D and Watson C. 2008. Levels of tobacco-specific nitrosamines and polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from different tobacco varieties. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 17: 3366-71.

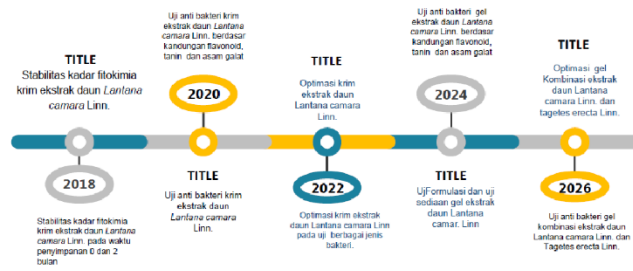
29. Sahu SK, Tiwari M, Bhangare RC, Pandit GG. Particle size distributions of mainstream and exhaled cigarette smoke and predictive deposition in human respiratory tract. *Aerosol Air Qual Res*, 2013, 13:324-332.
30. Liem A. Pengaruh nikotin terhadap aktivitas dan fungsi otak serta hubungannya dengan gangguan psikologis pada pecandu rokok. *Buletin Psikologi* 2010, 18 (2): 37-50.
31. Greeley MA. Immunopathology of the Respiratory System. In: Parker G. (eds) *Immunopathology in Toxicology and Drug Development. Molecular and Integrative Toxicology*. 2017: 419–453. Humana Press, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47385-7_8. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-47385-7_8
32. Wang C, Xie J, Zhao L, Fei X, Zhang H, YunTan Y, et al. Alveolar macrophage dysfunction and cytokine storm in the pathogenesis of two severe COVID-19 patients. *EbioMedicine* 2020, 57 (102833): 1-9.
33. Turrell FK, Kerr EM, Gao M, Thorpe H, Doherty GJ, Cridge J. Lung tumors with distinct p53 mutations respond similarly to p53 targeted therapy but exhibit genotype-specific statin sensitivity. *Gene Dev* 2017, 31(13):1339-1353. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28790158/>
34. Sobhan N, D'Angelo A, Wang X, Young KH, General D, Li Y. Mutant p53 as an Antigen in Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2020, 21(11), 4087; <https://doi.org/10.3390/ijms2111408>
35. Van Noorden S. - Sample schedules for immunostaining. In: Polak JM, Van Noorden S, eds. *Immunohistochemistry*. Bristol, Wright, 1986; pp. 44-48.
36. Khursheed, A. Ultimate resolution limits for scanning electron microscope immersion objective lenses. *Optik* 2002, 113, 67–77.
37. Phifer D, Tr°uma L, Vystav°el T, Wandrol P, Young RJ. Improving SEM imaging performance using beam deceleration. *Micros. Today* 2009, 17, 40–49.
38. Petre CE, Sin SH, Dittmer DP. Functional p53 Signaling in Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Lymphomas: Implications for Therapy. *J Virol* 2007, 81 (4): 1912-1922. doi:10.1128/JVI.01757-06
39. Yang Z, Sun JK-L, Lee MM, et al. Restoration of p53 activity via intracellular protein delivery sensitizes triple negative breast cancer to anti-PD-1 immunotherapy. *J Immuno Ther Cancer* 2022;10:e005068. doi:10.1136/jitc-2022-005068.
40. Sadia H, Bhinder MA, Irshad A, Zahid B, Ahmed R, Ashiq S, et al. Determination of expression profile of p53 gene in different grades of breast cancer tissues by real time PCR. *Afr Health Sci*. 2020 Sep;20(3):1273-1282. doi: 10.4314/ahs.v20i3.32.
41. Livak KJ, Schmittgen TD. Analisis data ekspresi gen relatif menggunakan real-time kuantitatif PCR dan metode 2– ΔΔCT. *Metode*. 2001; 25 (4):402–408.

...

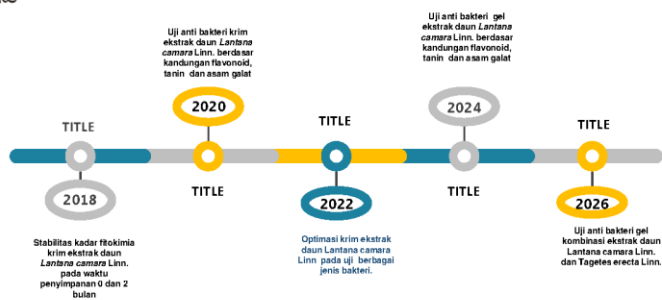
LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN



PETA JALAN PENELITIAN [dr. DAVID TJAHYADI, M KES.]



PETA JALAN PENELITIAN [EDY PARWANTO]



PETA JALAN PENELITIAN [DR. dr. Husnun Amalia, Sp M]

LAMPIRAN 2. LUARAN PENELITIAN

LUARAN 1 :

Kategori Luaran : Hak Kekayaan Intelektual

Status : Tercatat/Tersedia

Jenis HKI : Hak Cipta

Nama HKI : Perbandingan Berat Paru Tikus Sprague Dawley Setelah Dipapari Asap Rokok 1 Batang/hari Selama 30 Hari

No. Pendaftaran : EC00202348495, 23 Juni 2023

Tanggal Pendaftaran : 2023-06-23

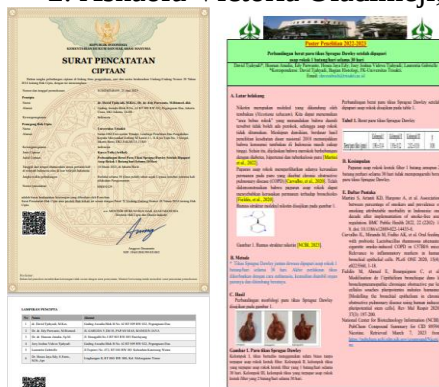
No. Pencatatan : 000481429

Penulis (Tim Peneliti) :

1. dr. David Tjahyadi, M.Kes.
2. Dr. dr. Edy Parwanto, M.Biomed.
3. Dr. dr. Husnun Amalia, Sp.M.
4. JOEY JOSHUA VIDO VAT
5. LAURENTIA GABRIELLE

Penulis (Di Luar Tim Peneliti) :

1. Dr. Apt. Hosea Jaya Edy, S Farm, M Si
2. Ashaolu Victoria Oladimeji, Ph D



LUARAN 2 :

Kategori Luaran : Hak Kekayaan Intelektual

Status : Tercatat/Tersedia

Jenis HKI : Hak Cipta

Nama HKI : Efek Asap Rokok Terhadap Akumulasi Kolagen Pada Bronkial Tikus Sprague Dawley

No. Pendaftaran : EC00202333502, 8 Mei 2023

Tanggal Pendaftaran : 2023-05-08

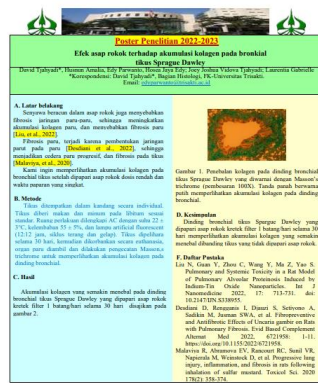
No. Pencatatan : 000466423

Penulis (Tim Peneliti) :

1. dr. David Tjahyadi, M.Kes.
2. Dr. dr. Edy Parwanto, M.Biomed.
3. Dr. dr. Husnun Amalia, Sp.M.
4. JOEY JOSHUA VIDO VAT
5. LAURENTIA GABRIELLE

Penulis (Di Luar Tim Peneliti) :

1. Dr. Apt. Hosea Jaya Edy, S Farm, M Si
2. Ashaolu Victoria Oladimeji, Ph D



LUARAN 3 :

Kategori Luaran : Publikasi di Jurnal

Status : Sedang Direview

Jenis Publikasi Jurnal : Nasional Terakreditasi

Nama Jurnal : UNIVERSA MEDICINA

ISSN : 2407-2230

EISSN : 2407-2230

Lembaga Pengindek : SINTA 1

Url Jurnal : <https://univmed.org/ejurnal/index.php/medicina/index>

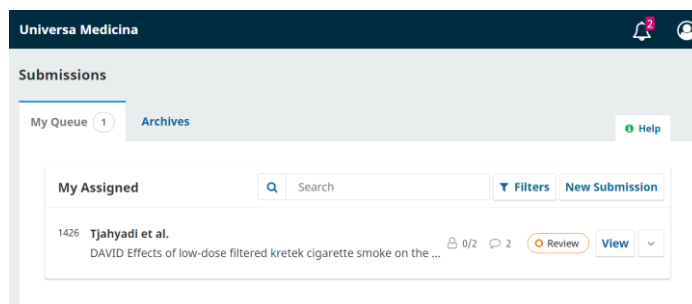
Judul Artikel : Effects of low-dose filtered kretek cigarette smoke on the bronchoconstriction in Sprague Dawley rats

Penulis (Tim Peneliti) :

1. dr. David Tjahyadi, M.Kes. (First Author)
2. Dr. dr. Edy Parwanto, M.Biomed. (Other Author)
3. Dr. dr. Husnun Amalia, Sp.M. (Other Author)
4. JOEY JOSHUA VIDOVAL (Other Author)
5. LAURENTIA GABRIELLE (Other Author)

Penulis (Di Luar Tim Peneliti) :

1. Dr. Apt. Hosea Jaya Edy, S Farm, M Si (Other Author)
2. Ashaolu Victoria Oladimeji, Ph D (Other Author)



Universa Medicina

Back to Submissions

1426 / Tjahyadi et al. / Effects of low-dose filtered kretek cigarette smoke on the bronchoconstriction in Sprague

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Round 1

Round 1 Status

One or more reviewers missed their deadline. The editorial team has been notified and will take action to ensure reviews are completed. You do not need to take any action at this time. You will be notified when a decision has been made.

Review Discussions

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
revision of manuscript #1426-1234-1-RV	davidtjahyadi 2023-05-19 10:14 AM	zincadlr4h4514 2023-05-19 11:54 AM	2	☐
review akhir	davidtjahyadi 2023-06-09 10:24 AM	zincadlr4h4514 2023-06-09 08:09 PM	1	☐

review akhir

Participants

Pusparini Pusparini (bunga_melati)

Adi Hidayat (zincadlr4h4514)

Yenny Yenny (yennyjurnal)

DAVID TJAHYADI (davidtjahyadi)

Messages

Note	From
Yth Prof Adi dan Editor Maaf agak terlambat..... Hasil download perbaikan naskah kami agak berubah posisinya. Sy memerlukan waktu untuk memperbaiki, dan sy telah memperbaikinya. Tks, 0001-1426-1234-1-RV(LN)-DV-0001-2023-04-28—HASIL DOWNLOAD.docx 0001-1426-1234-1-RV(LN)-DV-0001-2023-06-08-ASLI-REVISI-JADI.docx	davidtjahyadi 2023-06-09 10:24 AM
Yth sejawat David, Sayang sejawat tidak menggunakan file yang kami kirim, sebenarnya tidak sulit, gunakan file kami dan tuisan perbaikannya dalam huruf biru. Hal ini mempercepat proses review. Dan jangan kirim perbaikannya kalau tidak menggunakan file kami, terima kasih. Salam, Editor	zincadlr4h4514 2023-06-09 08:09 PM

LAMPIRAN: Hasil analisis statistic paru tikus Sprague Dawley

Descriptives

LENGHT OF BRONCHIAL LUMEN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	83.9433	4.94381	2.01830	78.7551	89.1315	76.68	89.62
Group 2	6	65.6133	7.71747	3.15064	57.5143	73.7123	56.28	76.43
Group 3	6	54.9417	6.43397	2.62666	48.1896	61.6937	48.64	66.04
Total	18	68.1661	13.73900	3.23831	61.3339	74.9984	48.64	89.62

Test of Homogeneity of Variances

LENGHT OF BRONCHIAL LUMEN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.747	2	15	.491

ANOVA

LENGHT OF BRONCHIAL LUMEN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups (Combined)	2581.940	2	1290.970	30.885	.000
Linear Term Contrast	2523.290	1	2523.290	60.367	.000
Deviation	58.650	1	58.650	1.403	.255

Within Groups	626.983	15	41.799		
Total	3208.923	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LENGHT OF BRONCHIAL LUMEN

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	18.33000*	3.73269	.000	10.3740	26.2860
	Group 3	29.00167*	3.73269	.000	21.0456	36.9577
Group 2	Group 1	-18.33000*	3.73269	.000	-26.2860	-10.3740
	Group 3	10.67167*	3.73269	.012	2.7156	18.6277
Group 3	Group 1	-29.00167*	3.73269	.000	-36.9577	-21.0456
	Group 2	-10.67167*	3.73269	.012	-18.6277	-2.7156

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

WIDTH OF BRONCHIAL LUMEN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	52.0583	2.82620	1.15379	49.0924	55.0243	48.58	56.33
Group 2	6	35.9567	5.98266	2.44241	29.6782	42.2351	27.36	42.24
Group 3	6	35.4183	7.53929	3.07790	27.5063	43.3303	26.47	49.07
Total	18	41.1444	9.62836	2.26943	36.3564	45.9325	26.47	56.33

Test of Homogeneity of Variances

WIDTH OF BRONCHIAL LUMEN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.322	2	15	.296

ANOVA

WIDTH OF BRONCHIAL LUMEN

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	1072.886	2	536.443	15.994	.000
	Linear Term	830.669	1	830.669	24.766	.000
	Deviation	242.217	1	242.217	7.222	.017

Within Groups	503.103	15	33.540		
Total	1575.989	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: WIDTH OF BRONCHIAL LUMEN

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	16.10167*	3.34366	.000	8.9748	23.2285
	Group 3	16.64000*	3.34366	.000	9.5132	23.7668
Group 2	Group 1	-16.10167*	3.34366	.000	-23.2285	-8.9748
	Group 3	.53833	3.34366	.874	-6.5885	7.6652
Group 3	Group 1	-16.64000*	3.34366	.000	-23.7668	-9.5132
	Group 2	-.53833	3.34366	.874	-7.6652	6.5885

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

AREA BRONCHIAL LUMEN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GROUP I	6	2048.4317	63.73419	26.01938	1981.5467	2115.3166	1986.36	2163.27
GROUP II	6	1514.7883	57.97632	23.66873	1453.9459	1575.6307	1418.82	1592.48
GROUP III	6	1541.0717	78.48448	32.04115	1458.7073	1623.4361	1472.27	1689.88
Total	18	1701.4306	260.50584	61.40181	1571.8841	1830.9771	1418.82	2163.27

Test of Homogeneity of Variances

AREA BRONCHIAL LUMEN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.061	2	15	.941

ANOVA

AREA BRONCHIAL LUMEN

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	1085760.381	2	542880.190	119.902	.000
	Linear Term	772242.509	1	772242.509	170.559	.000
	Deviation	313517.872	1	313517.872	69.244	.000

Within Groups	67915.569	15	4527.705		
Total	1153675.950	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: AREA BRONCHIAL LUMEN

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GROUP I	GROUP II	533.64333*	38.84887	.000	450.8389	616.4477
	GROUP III	507.36000*	38.84887	.000	424.5556	590.1644
GROUP II	GROUP I	-533.64333*	38.84887	.000	-616.4477	-450.8389
	GROUP III	-26.28333	38.84887	.509	-109.0877	56.5211
GROUP III	GROUP I	-507.36000*	38.84887	.000	-590.1644	-424.5556
	GROUP II	26.28333	38.84887	.509	-56.5211	109.0877

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

Perimeter of bronchial lumen (um2)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	189.7883	4.04472	1.65125	185.5437	194.0330	183.68	194.73
Group 2	6	161.6633	1.48218	.60510	160.1079	163.2188	160.23	164.29
3	6	156.1917	5.21317	2.12827	150.7208	161.6626	149.18	162.22
Total	18	169.2144	15.58289	3.67292	161.4653	176.9636	149.18	194.73

Test of Homogeneity of Variances

Perimeter of bronchial lumen (um2)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.335	2	15	.063

ANOVA

Perimeter of bronchial lumen (um2)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	3899.382	2	1949.691	127.894	.000
	Linear Term Contrast	3386.208	1	3386.208	222.125	.000
	Deviation	513.174	1	513.174	33.663	.000
Within Groups		228.669	15	15.245		
Total		4128.050	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Perimeter of bronchial lumen (um2)

LSD

(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	28.12500*	2.25422	.000	23.3202	32.9298
	3	33.59667*	2.25422	.000	28.7919	38.4014
Group 2	Group 1	-28.12500*	2.25422	.000	-32.9298	-23.3202
	3	5.47167*	2.25422	.028	.6669	10.2764
3	Group 1	-33.59667*	2.25422	.000	-38.4014	-28.7919
	Group 2	-5.47167*	2.25422	.028	-10.2764	-.6669

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

Bronchial mucosal layer area (um2)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	1527.0383	77.30075	31.55790	1445.9162	1608.1605	1445.58	1656.54
Group 2	6	1303.0767	68.01582	27.76734	1231.6984	1374.4549	1210.47	1388.76
3	6	1164.2800	30.20217	12.32998	1132.5848	1195.9752	1127.79	1201.00
Total	18	1331.4650	164.42458	38.75525	1249.6986	1413.2314	1127.79	1656.54

Test of Homogeneity of Variances

Bronchial mucosal layer area (um2)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.765	2	15	.205

ANOVA

Bronchial mucosal layer area (um2)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	402033.902	2	201016.951	52.377	.000
	Linear Term	394780.825	1	394780.825	102.863	.000
	Contrast	7253.077	1	7253.077	1.890	.189
Within Groups	Deviation	57568.648	15	3837.910		
Total		459602.550	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Bronchial mucosal layer area (um2)

LSD

(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	223.96167*	35.76735	.000	147.7254	300.1980
	3	362.75833*	35.76735	.000	286.5220	438.9946
Group 2	Group 1	-223.96167*	35.76735	.000	-300.1980	-147.7254
	3	138.79667*	35.76735	.001	62.5604	215.0330
3	Group 1	-362.75833*	35.76735	.000	-438.9946	-286.5220
	Group 2	-138.79667*	35.76735	.001	-215.0330	-62.5604

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

Bronchial mucosal layer perimeter (um)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	45.1217	4.58678	1.87254	40.3081	49.9352	36.88	49.86
Group 2	6	72.7767	6.29624	2.57043	66.1692	79.3842	60.14	76.90
3	6	44.2183	4.12471	1.68391	39.8897	48.5470	36.20	46.99
Total	18	54.0389	14.45248	3.40648	46.8518	61.2259	36.20	76.90

Test of Homogeneity of Variances

Bronchial mucosal layer perimeter (um)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.284	2	15	.757

ANOVA

Bronchial mucosal layer perimeter (um)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups (Combined)	3162.387	2	1581.193	61.054	.000
Linear Term Contrast	2.448	1	2.448	.095	.763
Deviation	3159.939	1	3159.939	122.014	.000
Within Groups	388.472	15	25.898		
Total	3550.859	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Bronchial mucosal layer perimeter (um)

LSD

(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	-27.65500*	2.93815	.000	-33.9175	-21.3925
	3	.90333	2.93815	.763	-5.3592	7.1658
Group 2	Group 1	27.65500*	2.93815	.000	21.3925	33.9175
	3	28.55833*	2.93815	.000	22.2958	34.8208
3	Group 1	-.90333	2.93815	.763	-7.1658	5.3592
	Group 2	-28.55833*	2.93815	.000	-34.8208	-22.2958

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

Bronchial smooth muscle layer area (um2)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	1092.5150	64.15546	26.19136	1025.1880	1159.8420	1003.28	1183.84
Group 2	6	1473.3283	50.07145	20.44158	1420.7816	1525.8751	1430.60	1565.92
3	6	850.6283	78.87617	32.20106	767.8529	933.4038	742.81	968.80
Total	18	1138.8239	270.81458	63.83161	1004.1510	1273.4968	742.81	1565.92

Test of Homogeneity of Variances

Bronchial smooth muscle layer area (um2)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.637	2	15	.543

ANOVA

Bronchial smooth muscle layer area (um2)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups (Combined)	1182566.489	2	591283.244	138.102	.000
Linear Term Contrast	175527.479	1	175527.479	40.997	.000
Deviation	1007039.010	1	1007039.010	235.207	.000
Within Groups	64222.619	15	4281.508		
Total	1246789.108	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Bronchial smooth muscle layer area (um2)

LSD

(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	-380.81333*	37.77789	.000	-461.3350	-300.2917
	3	241.88667*	37.77789	.000	161.3650	322.4083
Group 2	Group 1	380.81333*	37.77789	.000	300.2917	461.3350
	3	622.70000*	37.77789	.000	542.1783	703.2217
3	Group 1	-241.88667*	37.77789	.000	-322.4083	-161.3650
	Group 2	-622.70000*	37.77789	.000	-703.2217	-542.1783

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

Bronchial smooth muscle layer perimeter (um)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Group 1	6	26.3000	3.69481	1.50840	22.4225	30.1775	23.57	33.16
Group 2	6	21.3150	5.71840	2.33453	15.3139	27.3161	12.89	28.35
3	6	35.4867	7.81710	3.19132	27.2831	43.6902	22.70	46.11
Total	18	27.7006	8.25140	1.94487	23.5972	31.8039	12.89	46.11

Test of Homogeneity of Variances

Bronchial smooth muscle layer perimeter (um)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.753	2	15	.488

ANOVA

Bronchial smooth muscle layer perimeter (um)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups (Combined)	620.162	2	310.081	8.657	.003
Linear Term Contrast	253.185	1	253.185	7.068	.018
Deviation	366.978	1	366.978	10.245	.006
Within Groups	537.294	15	35.820		
Total	1157.456	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Bronchial smooth muscle layer perimeter (um)

LSD

(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Group 1	Group 2	4.98500	3.45541	.170	-2.3800	12.3500
	3	-9.18667*	3.45541	.018	-16.5517	-1.8216
Group 2	Group 1	-4.98500	3.45541	.170	-12.3500	2.3800
	3	-14.17167*	3.45541	.001	-21.5367	-6.8066
3	Group 1	9.18667*	3.45541	.018	1.8216	16.5517
	Group 2	14.17167*	3.45541	.001	6.8066	21.5367

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN: Hasil analisis statistik ekspresi gen p53 (mRNA p53)

Descriptives

P53

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok 1	6	1.0000	.00000	.00000	1.0000	1.0000	1.00	1.00
Kelompok 2	6	3.0150	.69287	.28286	2.2879	3.7421	2.18	4.19
Kelompok 3	6	3.1783	.97524	.39814	2.1549	4.2018	2.25	4.88
Total	18	2.3978	1.20830	.28480	1.7969	2.9987	1.00	4.88

ANOVA

P53

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.664	2	8.832	18.514	.000
Within Groups	7.156	15	.477		
Total	24.820	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: P53

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-2.01500*	.39877	.000	-2.8650	-1.1650
	Kelompok 3	-2.17833*	.39877	.000	-3.0283	-1.3284
Kelompok 2	Kelompok 1	2.01500*	.39877	.000	1.1650	2.8650
	Kelompok 3	-.16333	.39877	.688	-1.0133	.6866
Kelompok 3	Kelompok 1	2.17833*	.39877	.000	1.3284	3.0283
	Kelompok 2	.16333	.39877	.688	-.6866	1.0133

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

