

PROPOSAL
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS (PUF)

**HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS SPRAGUE DAWLEY AKIBAT PAPARAN
ASAP ROKOK KRETEK**

TIM PENELITIAN

dr. David Tjahyadi, M.Kes.	(0322047304)	Ketua
dr. Endrico Xavierees, M.Biomed	(0303058803)	Anggota
Joey Joshua Vidova Tjahyadi	030002000061	Anggota
Laurentia Gabrielle	030002000065	Anggota



KEDOKTERAN
Fakultas Kedokteran
UNIVERSITAS TRISAKTI
2025/2026



UNIVERSITAS TRISAKTI

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Jl. Kyai Tapa No. 1 Grogol, Jakarta Barat 11440, Indonesia

Telp. 021-5663232 (hunting), ext. 8141, 8161, Fax. 021-5684021

<http://lppm.trisakti.ac.id/>

lppm@trisakti.ac.id

LEMBAR PENGESAHAN USULAN PROGRAM PENELITIAN TAHUN AKADEMIK 2025/2026 1084/PUF/FK/2025-2026

1. **Judul Penelitian** : HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS SPRAGUE DAWLEY AKIBAT
2. **Skema Penelitian** : PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK
3. **Ketua Tim Pengusul** : Penelitian Unggulan Fakultas (PUF)
 - a. Nama : dr. David Tjahyadi, M.Kes.
 - b. NIDN : 0322047304
 - c. Jabatan/Golongan : Asisten Ahli/III-C
 - d. Program Studi : KEDOKTERAN
 - e. Perguruan Tinggi : Universitas Trisakti
 - f. Bidang Keahlian : HISTOLOGI
Gading Arcadia Blok B No. 62 RT 009 RW 022, Pegangsaan Dua,
Kelapa Gading, Jakarta Utara
 - g. Alamat Kantor/Telp/Fak/surel :
+62215663232513
davesaboch@trisakti.ac.id
4. **Anggota Tim Pengusul**
 - a. Jumlah anggota : Dosen 1 orang
 - b. Nama Anggota 1/bidang keahlian : dr. Endrico Xavierees, M.Biomed/Biokimia
 - c. Jumlah mahasiswa yang terlibat : 2 orang
 - d. Jumlah alumni yang terlibat : 0 orang
 - e. Jumlah laboran/admin : 0 orang
5. **Waktu Penelitian**
 - Bulan/Tahun Mulai : Agustus 2025
 - Bulan/Tahun Selesai : Juni 2026
 - Hak Kekayaan Intelektual
 - Artikel Ilmiah
 - Bahan Ajar
6. **Luaran yang dihasilkan** :
 - Hak Kekayaan Intelektual
 - Artikel Ilmiah
 - Bahan Ajar
7. **Biaya Total** : Rp0,-
(0)

Ketua Program Studi



dr. Fransisca Chondro, M.Biomed.

NIDN: 0329088304

Jakarta,
Ketua Tim Pengusul



dr. David Tjahyadi, M.Kes.

NIDN: 0322047304

Direktur



Prof. Dr. H. Astri Rinanti, M.T., IPM., ASEAN Eng.

NIDN: 0308097001

Dekan



Dr. dr. Yenny, Sp.F.K.

NIDN: 0317127401

IDENTITAS PENELITIAN

Skema Penelitian	: Penelitian Unggulan Fakultas (PUF)
Judul Penelitian	: HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS SPRAGUE DAWLEY AKIBAT PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK
Fokus Penelitian	: Green Healthy Life
Rumpun Penelitian	: Perilaku Kesehatan
Mata Kuliah yang terkait	: BS1
Topik Pengabdian kepada Masyarakat yang terkait	: Penyuluhan kesehatan tentang hidup sehat tanpa rokok

Tim Peneliti

Peneliti	NIK/ NIM	Posisi	Status	Program Studi	Fakultas
dr. David Tjahyadi, M.Kes.	31710822 04730004	Ketua	Dosen Universitas Trisakti	KEDOKT ERAN	FK
dr. Endrico Xavierees, M.Biomed	31730703 05880003	Anggota	Dosen Universitas Trisakti	KEDOKT ERAN	FK
Joey Joshua Vidova Tjahyadi	03000200 0061	Anggota	Mahasiswa Universitas Trisakti	KEDOKT ERAN	FK
Laurentia Gabrielle	03000200 0065	Anggota	Mahasiswa Universitas Trisakti	KEDOKT ERAN	FK

Lokasi dan atau Tempat Penelitian	:
Masa Penelitian	
Mulai	: Agustus 2025
Berakhir	: Juni 2026
Dana diusulkan	: Rp99.990.000,-
Sumber Pendanaan	: 5.2.03.08.01
Target Kesiapterapan Teknologi	: TKT 3
Produk Inovasi	:
Luaran	: Hak Kekayaan Intelektual Artikel Ilmiah Bahan Ajar

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Identitas Dan Uraian Umum	iii
DAFTAR ISI.....	1
RINGKASAN PROPOSAL.....	2
BAB 1. PENDAHULUAN	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	9
BAB 4. JADWAL PENELITIAN.....	13
BAB 5. RENCANA ANGGARAN BIAYA (RAB).....	14
DAFTAR PUSTAKA	15
LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN	17
LAMPIRAN 2. SURAT KESEDIAAN BERKOMITMEN	18

RINGKASAN PROPOSAL

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), Luaran yg direncanakan)

Latar belakang:

Hasil penelitian mendemonstrasikan bahwa asap rokok mengandung zat yang merugikan kesehatan. Selain abnormalitas histologi jantung dan otak tikus, juga telah didemonstrasikan tentang ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53. Belum ada penelitian yang mendemonstrasikan hubungan paparan asap rokok dengan histopatologi, sitometrik, histometric sel hepatosit pada hepar tikus, ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53 pada hepar tikus.

Tujuan:

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan asap rokok kretek pada histopatologi, sitometric, histometric, ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53, kolagenasi hepar tikus ?

Metode:

Sampel penelitian berupa hepar tikus yang diperlakukan dengan asap rokok kretek 1 batang/hari selama 30 hari. Pada penelitian ini ada 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1, dan 2. 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 (30 hari). Setelah selesai perlakuan, tikus dikorbankan, organ hepar dikoleksi dan disimpan dalam bufer NBF 10%. Analisis abnormalitas hepar dengan pengecatan HE, Trichrome Masson, Giemsa, IHK unyutuk menentukan ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53. Data yang diperoleh berupa histopatologi hepar tikus, ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53, kolagenasi, gambaran scanning electron microscope, dan kolagenasi. Analisis data dilakukan untuk membandingkan histometrik maupun sitometrik hepatosit antara kelompok kontrol (kelompok 1) dengan kelompok perlakuan (kelompok 2). Analisis data tersebut menggunakan uji independent sample t test, dengan nilai $P < 0,05$ dinyatakan berbeda.

Hasil : -----

Kesimpulan : -----

Kata Kunci :

Mulai isi maks 5 Kata Kunci di sini ...

Kretek, hepatosit, p53, kolagenasi, radang

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mulai isi latar belakang di sini ...

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari proyek penelitian pengaruh asap rokok kretek terhadap organ tikus Sprague Dawley. Tahap pertama yang kami amati dari proyek penelitian tersebut fokus pada organ paru, selanjutnya organ otak, kemudian jantung. Penelitian ini focus pada organ hepar tikus. Asap rokok kretek mengandung campuran senyawa kimia yang kompleks. Campuran senyawa kompleks tersebut berupa zat racun, dan juga nikotin. Kandungan senyawa kimia dalam asap rokok telah berhasil diidentifikasi mengandung lebih dari 4000 jenis [Lin et al., 2021]. Selain itu, hasil penelitian kami memperlihatkan bahwa rokok kretek mengandung nikotin sekitar 3.8 µg/g. Hasil penelitian yang lain memperlihatkan bahwa asap rokok yang dihisap mengandung nikotin sekitar mg/cig 0.80 - 1.79 mg/batang [Piadé et al., 2014]. Hasil penelitian lain memperlihatkan bahwa kandungan nikotin per batang kretek berkisar 1.5 – 2.1 mg/batang [Suharyanto et al., 2023].

Hasil penelitian tentang asap rokok kretek telah berpengaruh terhadap paru, dan otak tikus [Parwanto et al., 2024 ; Tjahyadi et al., 2023^{a,b}]. Paparan asap rokok telah terbukti mengubah ukuran bronkiolus maupun respiratory bronkiolus. Selain itu juga telah didemonstrasikan bahwa paparan asap rokok meningkatkan ekspresi gen p53 pada paru tikus [Parwanto et al., 2024]. Buka hanya pada paru tikus, ternyata bahwa asap rokok juga mempengaruhi otak tikus. Asap rokok terbukti menurunkan kepadatan sel piramidal di korteks serebral, dan sel Purkinje di korteks serebelum [Tjahyadi et al., 2023^a]. Selain itu juga didemonstrasikan bahwa paparan asap rokok kretek menyebabkan hiperplasia mukosa bronkial dan bronkokonstriksi pada tikus Jantan [Tjahyadi et al., 2023^b]. Hasil penelitian terkini juga memperlihatkan bahwa asap rokok meningkatkan stres oksidatif, inflamasi dan disfungsi vaskuler [Khudhur et al., 2025]. Telah dibuktikan bahwa ada hubungan dosis-respons yang kuat antara merokok dan tiga domain yang berbeda dari penanda kardiovaskular subklinis yaitu peradangan, trombosis, dan aterosklerosis subklinis [Yao et al., 2025].

Zat yang dikandung dalam asap rokok dihirup ke organ respirasi, selanjutnya zat racun yang ada dalam asap rokok tersebut mengikuti aliran darah sampai ke organ tubuh. Telah dijelaskan di atas bahwa paru-paru maupun otak dipengaruhi oleh asap rokok kretek. Zat racun dalam asap rokok yang dihirup ke paru-paru selanjutnya mengikuti aliran darah sampai ke otak, dan organ lain. Dalam penelitian kami terkini, zat racun dalam asap rokok tersebut juga mempengaruhi jantung. Zat racun dalam asap rokok telah dibuktikan mempengaruhi paru, otak dan jantung [Parwanto et al., 2024 ; Tjahyadi et al., 2023^{a,b}]. Berdasar uraian di atas, kami menduga bahwa zat racun dalam asap rokok juga mempengaruhi organ hati. Satu hal yang perlu diingat bahwa hati memiliki fungsi detoksifikasi terhadap zat yang bersifat toksik. Menarik untuk diteliti tentang pengaruh asap rokok kretek terhadap hati. Menjadi hal baru dalam penelitian ini karena kami memfokuskan pada pengaruh asap rokok terhadap perubahan sel hepatosit dan inti selnya baik secara kualitatif maupun kuantitatif, kolagenasi jaringan hati, dan ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53.

1.2. Perumusan Masalah

Mulai isi perumusan di sini ...

1.2.1. Masalah umum

Masalah umum yang kami temukan yaitu: apakah asap rokok kretek berpengaruh terhadap hati.

1.2.2. Masalah khusus

- a. Apakah asap rokok kretek berpengaruh terhadap hepatosit?

- b. Apakah asap rokok berpengaruh terhadap kolagenasi pada jaringan hati?.
- c. Apakah asap rokok kretek berpengaruh terhadap ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53?.

1.3. Tujuan Penelitian

Mulai isi Tujuan Penelitian di sini...

1.3.1. Tujuan umum

Mengetahui pengaruh asap rokok kretek terhadap hati.

1.3.2. Tujuan khusus

- a. mengetahui pengaruh asap rokok kretek terhadap hepatosit.
- b. mengetahui pengaruh asap rokok terhadap kolagenasi pada jaringan hati.
- c. mengetahui pengaruh asap rokok terhadap ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53.

1.4. Batasan Penelitian

Mulai isi Batasan Penelitian di sini...

Asap rokok kretek adalah asap yang dihasilkan oleh pembakaran rokok kretek.

Hepar yaitu organ dari tikus *Rattus novergicus*, galur Sprague Dawley.

Kolagenasi yaitu proses pembentukan kolagen pada jaringan.

Gen p53 yaitu gen yang mengkode sintesis protein p53.

Ekspresi gen p53 merupakan proses ekspresi gen p53 yang menghasilkan protein p53.

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

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

Penelitian kali ini focus pada pengaruh asap rokok kretek terhadap organ hati tikus Sprague Dawley. Kami ingin memperlihatkan efek asap rokok kretek pada tingkat sel yaitu histopatologi, ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53, dan kolagenasi pada hepar tikus. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menjelaskan terjadinya abnormalitas hepar ditinjau secara histopatologi, ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53, dan sintesis kolagen. 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, dihindari 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, pementrian kinerja penelitian, akreditasi prodi/AIPT

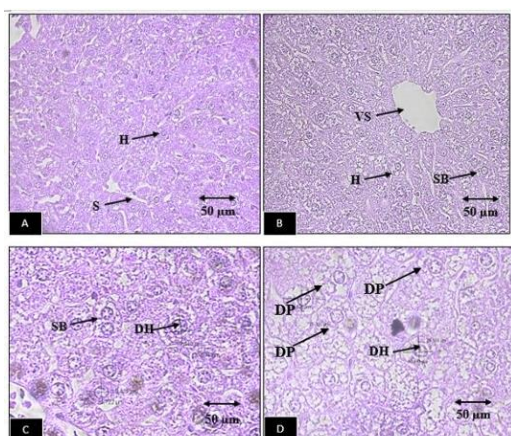
Asap rokok kretek mengandung campuran senyawa kimia yang kompleks. Campuran senyawa kompleks tersebut berupa zat racun, dan juga nikotin. Kandungan senyawa kimia dalam asap rokok telah berhasil diidentifikasi mengandung lebih dari 4000 jenis [Lin et al., 2021]. Selain itu, hasil penelitian kami memperlihatkan bahwa rokok kretek mengandung nikotin sekitar 3.8 µg/g. Hasil penelitian yang lain memperlihatkan bahwa asap rokok yang dihisap mengandung nikotin sekitar mg/cig 0.80 - 1.79 mg/batang [Piadé et al., 2014]. Hasil penelitian lain memperlihatkan bahwa kandungan nikotin per batang kretek berkisar 1.5 – 2.1 mg/batang [Suharyanto et al., 2023].

Zat yang dikandung dalam asap rokok dihirup ke organ respirasi, selanjutnya zat racun yang ada dalam asap rokok tersebut mengikuti aliran darah sampai ke organ tubuh. Telah dijelaskan di atas bahwa paru-paru maupun otak dipengaruhi oleh asap rokok kretek. Zat racun dalam asap rokok yang dihirup ke paru-paru selanjutnya mengikuti aliran darah sampai ke otak, dan organ lain. Dalam penelitian kami terkini, zat racun dalam asap rokok tersebut juga mempengaruhi jantung. Zat racun dalam asap rokok telah dibuktikan mempengaruhi paru, otak dan jantung [Parwanto et al., 2024 ; Tjahyadi et al., 2023^{a,b}].

Hasil penelitian tentang asap rokok kretek telah berpengaruh terhadap paru, dan otak tikus [Parwanto et al., 2024 ; Tjahyadi et al., 2023^{a,b}]. Paparan asap rokok telah terbukti mengubah ukuran bronkiolus maupun respiratory bronkiolus. Bukan hanya pada paru tikus, ternyata bahwa asap rokok juga mempengaruhi otak tikus. Asap rokok terbukti menurunkan kepadatan sel piramidal di korteks serebral, dan sel Purkinje di korteks serebelum [Tjahyadi et al., 2023^a]. Selain itu juga didemonstrasikan bahwa paparan asap rokok kretek menyebabkan hiperplasia mukosa bronkial dan bronkokonstriksi pada tikus Jantan. Selain itu juga diperlihatkan bahwa asap rokok memengaruhi ketebalan sel otot polos, dan menyebabkan displasia sel epitel pernapasan di paru-paru tikus. Pengaruh asap rokok kretek filter terhadap lumen bronkus tikus, meliputi panjang, lebar, keliling dan luas area [Tjahyadi et al., 2023^b]. Fakta ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa asap rokok memengaruhi ketebalan sel otot polos dan menginduksi disregulasi yang memengaruhi fungsi sel epitel pernapasan sehingga mengakibatkan displasia [González-Luis, et al., 2020]. Hasil penelitian terkini juga memperlihatkan bahwa asap rokok meningkatkan stres oksidatif, inflamasi dan disfungsi vaskuler [Khudhur et al., 2025]. Telah dibuktikan bahwa ada hubungan dosis-respons yang kuat antara merokok dan tiga domain yang berbeda dari penanda kardiovaskular subklinis yaitu peradangan, trombosis, dan aterosklerosis subklinis [Yao et al., 2025].

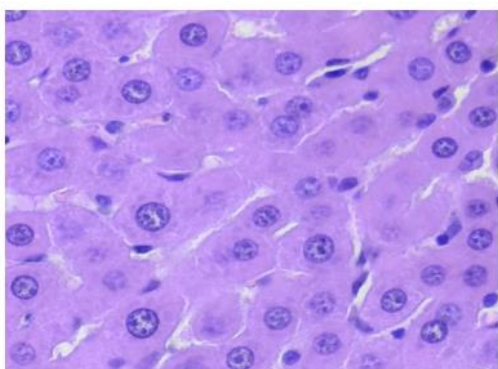
Akibat paparan asap rokok mengakibatkan nekrosis yang disertai infiltrasi limfosit di jaringan. Nekrosis adalah kematian sel. Nekrosis merupakan cedera sel akibat proses patologis, tidak dapat dipulihkan dan akhirnya mati (Khalid et al., 2025). Nekrosis adalah kematian sel yang tidak terkendali. Ambang batas nekrosis merupakan tanda degenerasi biologis yang ireversibel. Hingga saat ini, nekrosis dianggap sebagai aspek biologi yang kacau dan tak terkendali, dengan dampak besar pada morbiditas dan mortalitas (Kern et al., 2025). Ciri necrosis spesifik yang disertai reaksi radang. Lebih rinci dijelaskan bahwa nekrosis dapat terjadi akibat adanya efek penghambatan dari Receptor-interacting protein kinase 3 (RIP3)(Jarabíková et al., 2025). Meskipun terdapat interaksi antara berbagai mekanisme kematian sel yang kompleks dalam jalur kematian sel, penelitian lebih lanjut pada beberapa sel target diperlukan untuk menentukan strategi pengobatannya (Kwong et al., 2025).

Secara histologi, struktur mikroskopis sel hepar mencit (*Mus musculus*) jantan disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur mikroskopis sel hepar mencit (*Mus musculus*) jantan. Pewarnaan HE dengan perbesaran 200x (A&B) dan 400x (C&D). Keterangan : (A) dan (C) kelompok kontrol, (B) dan (D) kelompok perlakuan, (H) hepatosit, (S) sinusoid, (VS) vena sentralis, dan (DH) diameter hepatosit. Sumber: [Fitriani et al., 2020]

Hepar yang difiksasi dengan NBF 10% menunjukkan hepatosit tersusun radier, inti sel terwarnai ungu, sitoplasma terwarnai merah, hepatosit berukuran normal $16 \pm 0,2 \mu\text{m}$ dengan jarak yang rapat [Djaelani et al., 2025]. Gambaran struktur histologi hepar tikus putih (*Ratus norwegicus*) yang dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan fiksatif BNF 10% disajikan pada gambar 2.

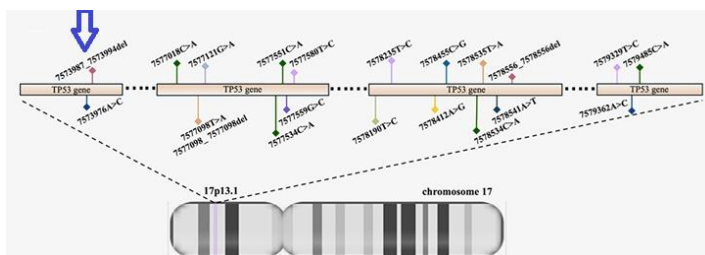


Gambar 2. Gambaran struktur histologi hepar tikus putih (*Ratus norwegicus*) yang dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan fiksatif BNF 10%, perbesaran gambar 400x. Sumber: [Djaelani et al., 2025].

Organ hati terdiri atas beberapa lobus. Setiap lobus hati disusun oleh lobulus. Lobulus merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Lobulus berupa badan heksagonal yang terdiri atas sel hati berbentuk kubus, tersusun radial yang mengelilingi vena sentralis dan mengalirkan darah dari lobulus. Antara sel hati yang satu dengan yang lainnya terdapat kapiler-kapiler yang disebut sebagai sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteria hepatica. Sinusoid di batasi oleh sel fagositik atau sel Kupffer yang merupakan sistem monosit makrofag. Sel Kupffer (KC) adalah makrofag yang ada di jaringan hati, sejak embryogenesis [Huang et al., 2025]. Sel fagositik tersebut berfungsi memakan kuman dan benda asing dalam darah. Makrofag dalam hati yang berupa sel Kupffer

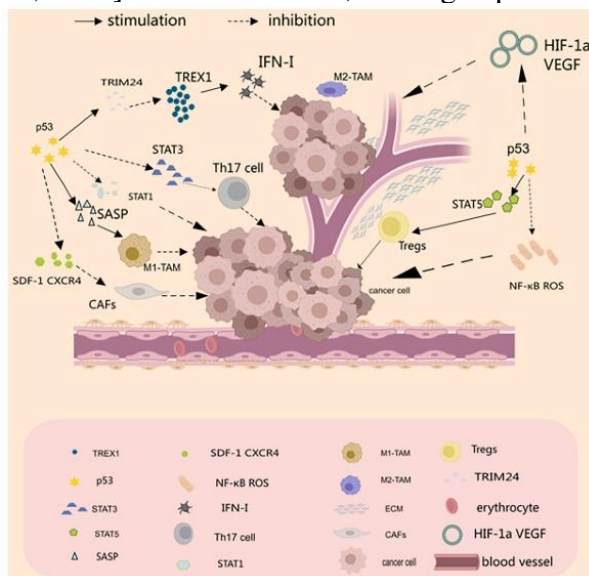
diperkirakan lebih dari 50%. Oleh karena itu hati berfungsi untuk melawan invasi bakteri dan zat toksik. Meskipun demikian, kerusakan hepatosit dapat terjadi, tandanya yaitu degenerasi sel. Degenerasi pada hepatosit terjadi karena cedera sebagai akibat zat toksik. Tanda degenerasi hepatosit yaitu pembengkakan atau edema. Selain itu, degenerasi sel dapat berupa degenerasi parenkimatos, hidropik dan meleak. Degenerasi parenkimatos paling ringan diantara degenerasi yang lain. Tanda degenerasi parenkimatos yaitu ada pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma [Fitriani et al., 2020].

Merokok berhubungan dengan hasil kelangsungan hidup yang lebih buruk dan insiden sirosis hati dan penyakit kardiovaskular yang lebih tinggi [Yang et al., 2025]. Juga telah didemonstrasikan bahwa merokok berhubungan dengan penyakit hati berlemak non alkohol (non-alkoholic fatty acid disease) [Joe et al., 2025]. Selain itu juga telah didemonstrasikan bahwa paparan asap rokok meningkatkan ekspresi gen p53 pada paru tikus [Parwanto et al., 2024]. Mutasi antigen tumor p53 (TP53m) merupakan perubahan genom yang paling sering terdeteksi (18.7 - 48 % pada pasien hepatocellular carcinoma masing-masing mempengaruhi 18,7%~48% [Li et al., 2025]. Pada manusia, gen p53 terletak pada kromosom 17. Profil mutasi TP53 pada manusia disajikan pada gambar 3.



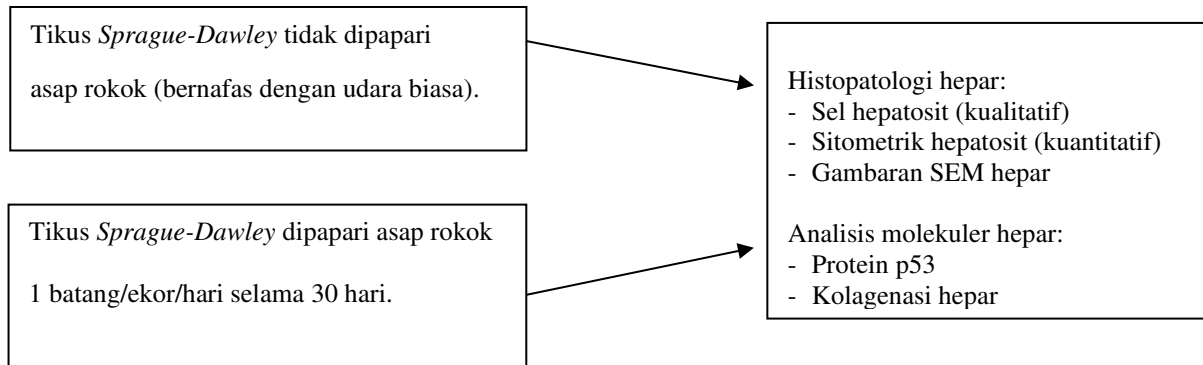
Gambar 3. Letak gen p53 manusia pada kromosom 17p. Sumber: [Li et al., 2025].

Hasil penelitian terkini juga mendemonstrasikan bahwa kanker terjadi karena mutasi yang menonaktifkan gen p53. Selain itu sebagian besar kanker juga menonaktifkan jalur p53 dengan meningkatkan inhibitor p53, mengurangi aktivator p53, atau menonaktifkan target hilir p53 [Zhao et al., 2025]. Secara skematis, hubungan p53 dengan kanker disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Hubungan p53 dengan kanker. Sumber: [Zhao et al., 2025]

Kerangka konsep penelitian



Bagan 1. Kerangka konsep pengaruh asap rokok terhadap histopatologi hepar tikus.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Mulai isi waktu dan tempat di sini

Penelitian dilakukan antara bulan Desember 2025 sd Mei 2026. Tempat penelitian dilakukan yaitu:

- Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti-Jakarta.
- Laboratorium Farmasi, Program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Laboratorium Patologi Anatomi FKMK UGM, Yogyakarta.
- LPPT UGM, Yogyakarta.

Penelitian tersebut meliputi pemberian paparan asap rokok terhadap tikus, pembuatan slide prepare histologi, visualisasi ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53 dengan imunohistokimia, Pengamatan histologi (visualisasi kolagen, pengukuran sitometrik dan histometrik hepar). dari slide preparat hepar tikus dilakukan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia. Pengamatan scanning electron microscope hepar tikus dilakukan di LPPT UGM, Yogyakarta

3.2. Metode Penelitian

Mulai isi Metodologi Penelitian di sini...

3.2.1. Sampel Penelitian

Besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel minimum yaitu $N = 10 : (2 - 1) + 1 = 5$ ekor tikus per kelompok. Tikus dikorbankan setelah percobaan selesai. Organ hepar dikoleksi untuk pembuatan preparat slide, profil protein dan pengukuran kadar protein p53. Penelitian ini merupakan kelanjutan dari tahun yang lalu. Oleh karena itu, pada penelitian ini kami menggunakan organ hepar tikus sebagai sampel penelitian yang telah dikoleksi tahun yang lalu.

3.2.2. 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 eksklusinya apabila tikus mati saat perlakuan.

3.2.3. Perlakuan tikus

Tikus dipelihara dalam kandang secara individual, diberi makan dan minum pada libitum sesuai standar. Ruang pemeliharaan tikus selsma perlakuan dilakukan sesuai standar yang kami tentukan sebelumnya. Pada penelitian ini ada 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1, dan 2. 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. Paparan asap rokok dilakukan dengan membuka katup oksigen terlebih dahulu, kemudian rokok dipasang 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 di korbakan 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 histopatologi hepar tikus, pemeriksaan ekspresi gen p53 dalam bentuk protein p53, kolagenasi, observasi scanning electron microscope.

3.3. Visualisasi hepar tikus

3.3.1. Pengecatan hematoxylin eosin (HE), trikrom Masson, dan Giemsa

Pengecatan HE dilakukan untuk memvisualisasi abnormalitas sel hepatosit. Ketebalan jaringan hepar tikus yang disiapkan untuk pembuatan slide, adalah 3 mm. Jaringan hepar pada blok parafin dipotong dengan ketebalan 5 μ m. Selanjutnya, bagian jaringan diwarnai dengan hematoxylin dan eosin (HE), trikrom Masson, dan Giemsa. Pengamatan dilakukan pada sel hepatosit baik secara histologi maupun secara histometrik.

3.3.2. Visualisasi protein p53 hepar tikus

Pengecatan preparat Imunohistokimia (IHC) p53 hepar tikus dilakukan untuk menentukan kadar protein. Dilakukan deparafinasi preparat (blok parafin) dengan xylene sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit. Selanjutnya dilakukan rehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95 % dan etanol 70% masing masing selama 2 menit, 2 menit, 1 menit, dan terakhir dengan air selama 1 menit. Tahap selanjutnya yaitu perendaman dalam peroxidase blocking solution pada suhu kamar, selama 10 menit. Preparat diinkubasi dalam prediluted blocking serum pada suhu 25°C, selama 10 menit. Berikutnya, preparat direndam dalam antibodi monoklonal anti-p53 pada suhu 25°C, selama 10 menit. Preparat selanjutnya dicuci dengan Phosphate Buffer Saline (PBS) selama 5 menit. Setelah dicuci, preparat diinkubasi dengan antibodi sekunder (conjugated to horse radish peroxidase) pada suhu 25°C, selama 10 menit. Selanjutnya, preparat dicuci dengan PBS selama 5 menit. Berikutnya, preparate diinkubasi dengan peroksidase 25°C selama 10 menit, kemduian dicuci PBS selama 5 menit. Preparat selanjutnya diinkubasi dengan kromogen DAB (Diaminobenzinidine)

25°C, selama 10 menit. Tahap berikutnya, preparat diinkubasi dengan Hematoxylin Eosin (HE) selama 3 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir. Preparat dibersihkan, kemudian ditetesi dengan mounting media, dan ditutup dengan coverslip. Pengamatan terhadap ekspresi p53 (warna coklat) pada sel (preparate) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x 20 x. Penentuan kadar protein p53 dilakukan dengan menggunakan program image J. Caranya sebagai berikut: 1. Gambar di split dg color deconvolution (pilih yg H DAB), ambil gambar yg DAB. 2. Set threshold. 3. Set measurement. 4. Measure. Perhitungan kadar p53 dilakukan oleh 3 pengamat, kemudian hasilnya ditampilkan dalam rerata $\pm$ SD (standard of deviation). Selanjutnya, ekspresi p53 dinyatakan sebagai persentase untuk membandingkan kelompok kontrol dengan perlakuan.

Scanning Electron Microscopy (SEM)

Turbo- Pumped Sputter Coater Q150T (Quorum Technologies Ltd, Ringmer, UK) dengan 3 nm platinum dalam resolusi tinggi digunakan sebagai pelapis terhadap semua sampel jaringan. Pemeriksaan jaringan yang Nampak menggunakan mikroskop electron. Mikroskop electron yang digunakan yaitu jenis FEI Nova NanoSEM 450 lapangan (Thermo Fisher Scientific, Brno, Republik Ceko). Pemetaan seluruh bagian jaringan pada resolusi rendah dipilih Opsi Navigasi Montase dari perangkat lunak SEM, v. 6.3.4.3233 (Helios NanoLab, Thermo Fisher Scientific, Brno, Republik Ceko). Analisis SEM akhir dilakukan pada tegangan percepatan mulai dari 2 kV - 5 kV.

3.9. Etika Penelitian

Penelitian ini diusahakan untuk memperoleh lolos kaji etik dari Komisi Etik Riset, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti.

3.3. Metode Analisis

Mulai isi Metode Analisis di sini...

Histopatologi hepar tikus dianalisis secara kualitatif untuk membandingkan antara histologi hepar tikus yang normal (kelompok 1) dengan histologi hepar tikus kelompok perlakuan (kelompok 2). Perbandingan histologi tentang akumulasi kolagen (kolagenasi) pada hepar tikus antara kelompok 1 dengan kelompok 2 dianalisis secara kualitatif. Perbandingan sitometrik sel hepatosit antara kelompok 1 dengan kelompok 2 dianalisis dengan independent sample t test. Perbandingan nucleometrik sel hepatosit antara kelompok 1 dengan kelompok 2 dianalisis dengan independent sample t test. Perbandingan area protein p53 sebagai hasil ekspresi gen p53 (secara imunohistokimia) antara kelompok 1 dengan kelompok 2 dianalisis dengan independent sample t test. 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)	
MANAGEMENT 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%	-

BAB 4. JADWAL PENELITIAN

Mulai isi Jadwal Penelitian di sini... Penelitian dilaksanakan dalam durasi 6 sd 10 bulan

No	Kegiatan	2025			2026					
		Nov	Des	Jan	Feb	Maret	April	Mei	Juni	Juli
1	Persiapan organ jantung tikus									
2	Pembuatan slide									
3	Analisis histologi, histopatologi otot jantung tikus									
5	Elektroforesis									
6	Analisis data dan pembuatan laporan									

...

BAB 5. RENCANA ANGGARAN BIAYA (RAB)

No	Komponen	Total
I. Biaya Langsung		
A	Tenaga Ahli dan Tenaga Penunjang	6.600.000
B.1	Biaya bahan habis, peralatan, sewa peralatan	85.830.000
B.2	Perjalanan dan transport lokal	2.400.000
	Sub Total	94.830.000
II. Biaya Tidak Langsung		
A	Laporan, Seminar, dan Publikasi	600.000
B	Forum Group Disscusion	4.560.000
	Sub Total	5.160.000
	TOTAL	99.990.000

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.lemmit.trisakti.ac.id). Sitasi dari karya ilmiah yang ditulis oleh penulis usakti dimaksudkan untuk meningkatkan webometric, pemeringkatan kinerja penelitian, akreditasi prodi/AIPT

Djaelani MA, Tana S, Mardiaty SM. Gambaran Preparat Histologis Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Dibuat Menggunakan Beberapa Fiksatif dan Proses Pencucian. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 2025, 10(1): 48-54. <https://doi.org/10.14710/baf.10.1.2025.48-54>

Fitriani RN, Sitasiwi AJ, Isdadiyanto S. Struktur hepar dan rasio bobot hepar terhadap bobot tubuh mencit (*Mus musculus* L.) jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 2020, 5(1), 75-83. <https://doi.org/10.14710/baf.5.1.2020.75-83>

González-Luis GE, Westering-Kroon EV, Villamor-Martinez E, et al. Tobacco smoking during pregnancy is associated with increased risk of moderate/severe bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Front Pediatr* 2020;8:160. doi: 10.3389/fped.2020.00160

Huang H, Balzer NR, Seep L. et al. Kupffer cell programming by maternal obesity triggers fatty liver disease. *Nature* 2025: 1-32. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-09190-w>

Joe H, Oh JE, Cho YJ, et al. Association between smoking status and non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2025, 20(6)(e0325305):1-11. doi: 10.1371/journal.pone.0325305.

Khudhur ZO, Smail SW, Awla HK, et al. The effects of heavy smoking on oxidative stress, inflammatory biomarkers, vascular dysfunction, and hematological indices. *Sci Rep* 2025, 15 (18251):1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-03075-8>

Li J, Bai L, Xin Z et al. TERT-TP53 mutations: a novel biomarker pair for hepatocellular carcinoma recurrence and prognosis. *Sci Rep* 2025, 15(3620): 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87545-z>

Lin J, Taggart M, Borthwick L, et al. Acute cigarette smoke or extract exposure rapidly activates TRPA1-mediated calcium influx in primary human airway smooth muscle cells. *Sci Rep* 2021; 11(1): 9643. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-89051-4> PMID: 33953304

Parwanto E, Tjahyadi D, Sisca S, et al. Low Doses of Kretek Cigarette Smoke Altered Rat Lung Histometric, and Overexpression of the p53 Gene. *Open Respir Med J*, 2024; 18 (e18743064285619): 1-13. <http://dx.doi.org/10.2174/0118743064285619240327055359>

Piadé JJ, Roemer E, Dempsey R, et al., Toxicological assessment of kretek cigarettes: Part 2: Kretek and American-blended cigarettes, smoke chemistry and *in vitro* toxicity. *Reg Toxicol Pharmacol* 2014, 70 (S15–S25): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.12.001>

Suharyanto S, Rahmadhani AS. Analysis of nicotine levels in tingwe (linting dewe) cigarette using ultraviolet-vision spectrophotometry method. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 2023, 20 (2):104-109].

Tjahyadi D, Parwanto E, Amalia H, et al.^a Decreased density of pyramidal cells in the cerebral cortex, and Purkinje cells in the cerebellar cortex of Sprague-Dawley rats after being exposed to filtered kretek cigarette smoke. *J Biol Resc* 2023, 96(10757): 1-6. doi:10.4081/jbr.2023.10757

Tjahyadi D, Parwanto E, Sisca S, et al.^b Effects of low-dose filtered kretek cigarette smoke on bronchial smooth muscle in male Sprague-Dawley rats. *Universa Medicina*, 2023, 42(3):263-275. <https://doi.org/10.18051/UnivMed.2023.v42.263-275>

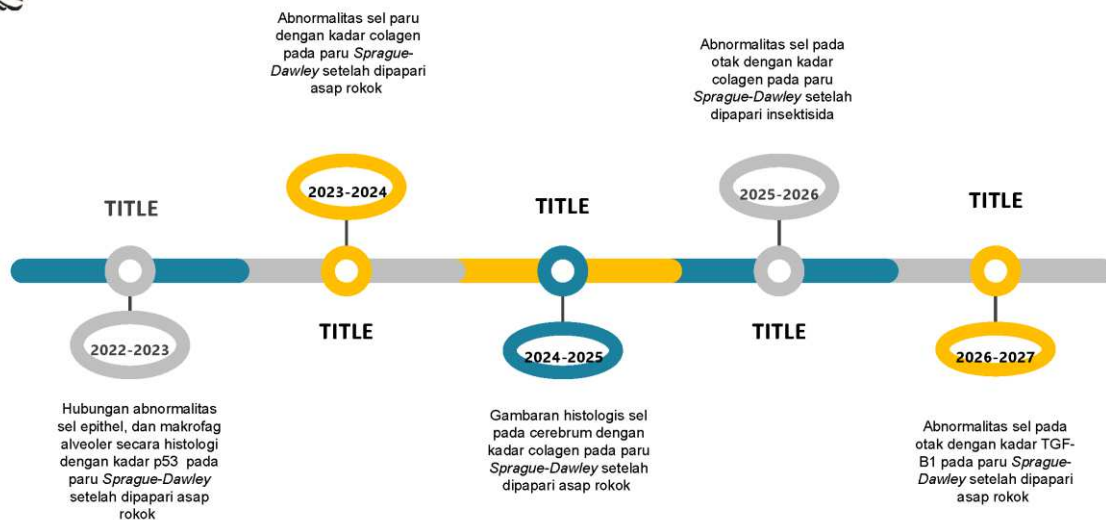
Yang K, Lee J, Han JW, et al. A comprehensive analysis of the impact of smoking on adverse clinical outcomes of steatotic liver diseases. *Ther Adv Gastroenterol* 2025, 18:1-18. doi:10.1177/17562848251331315

Yao Z, Tasdighi E, Dardari ZA, et al. Association between cigarette smoking and subclinical markers of cardiovascular harm. *JACC*. 2025;85(10):1018-1034. doi:10.1016/j.jacc.2024.12.032

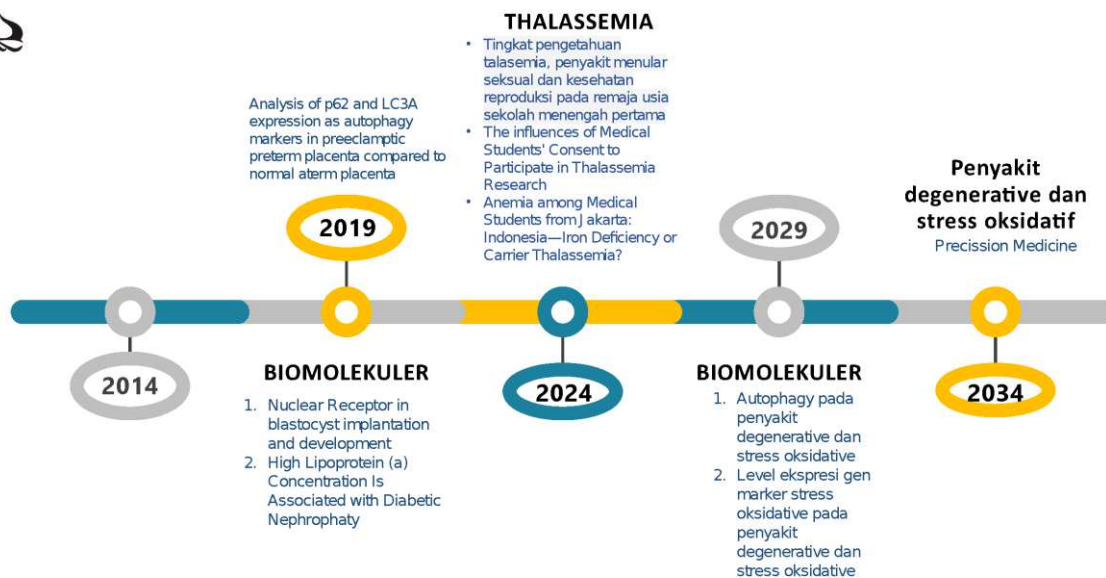
Zhao S, Wen H, Wang B, et al. p53: A player in the tumor microenvironment. *Oncol Res* 2025, 33(4):795-810. doi: 10.32604/or.2025.057317.

...

LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN



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



ROAD MAP PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

<Endrico>, <3659>, <0303058803>

LAMPIRAN 2. SURAT KESEDIAAN BERKOMITMEN

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dr. Apt. Hosea Jaya Edy, S Farm, M Si.
Institusi : Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia

Menyatakan bersedia bekerja sama dalam penelitian berikut:

Judul : Histopatologi hepar tikus Sprague Dawley akibat paparan asap rokok kretek
Peneliti utama : dr. David Tjahyadi, M Kes.
NIK : 2515/USAKTI
Institusi : Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti,
Jakarta, Indonesia
Periode : Tahun 2024-2025.

Demikian surat pernyataan ini kami buat agar dapat bermanfaat.

Jakarta, 09 Agustus 2025

Yang menandatangani pernyataan



dr. David Tjahyadi, M Kes.



Dr. Apt. Hosea Jaya Edy, S Farm, M Si.