

Artikel Penelitian

Efektivitas Pemberian Secretome secara Intravena Dibandingkan dengan Intratrakeal terhadap Paru-paru Tikus Sprague Dawley yang Terpapar Asap Rokok Kretek

Chrispian O. Mamudi,^{1*} Ronald W. Kartika,² Muhamad A.P Pasa,¹
Erma M.Sumbayak,³ Siufui Hendrawan⁴

¹Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

²Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

³Departemen Histopatologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

⁴Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

*Penulis korespondensi: chrispian.oktafbipian@ukrida.ac.id

Diterima 01 Juni 2025; Disetujui 26 Agustus 2025

<https://doi.org/10.23886/ejki.13.1149.1>

Abstrak

Sistem pernapasan manusia membutuhkan paru-paru untuk memenuhi kebutuhan oksigen tubuh. Namun, gangguan dan kelainan pada paru dapat mengganggu fungsi sistem pernapasan dan dapat membahayakan fungsinya jika tidak ditangani dengan serius. Asap rokok adalah penyebab utama kerusakan paru, yang juga dapat menyebabkan peradangan dan perubahan histologi. Studi ini dilakukan di laboratorium dan menggunakan pengambilan simple random sampling. Penelitian eksperimental ini menggunakan tikus jantan Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok kretek selama 18 hari. Secretome diberikan sebanyak 0,4 ml pada hari ke-5, 10, dan 15 melalui rute intravena dan intratrakeal. Tikus dibagi menjadi empat kelompok: kontrol negatif, kontrol positif (paparan asap tanpa secretome), secretome intravena, dan secretome intratrakeal. Pemeriksaan histopatologi paru dilakukan dengan pewarnaan hematoxilin-eosin untuk menilai perubahan jaringan. Tikus yang menerima secretome secara intratrakeal menunjukkan perbaikan histologis paru yang lebih signifikan dibandingkan kelompok intravena, ditandai dengan penurunan kejadian pneumonia, fibrosis, peribronkiolitis, dan trakeitis. Uji statistik menunjukkan bahwa pemberian intratrakeal memiliki pengaruh terapeutik yang lebih baik dibandingkan intravena ($p < 0,05$ pada sebagian besar parameter). Pemberian secretome secara intratrakeal lebih efektif dalam memperbaiki kerusakan paru-paru akibat paparan asap rokok dibandingkan rute intravena. Temuan ini mendukung penggunaan secretome melalui rute lokal sebagai pendekatan terapeutik yang menjanjikan untuk penyakit paru-paru akibat paparan toksik.

Kata kunci: asap rokok, paru-paru, secretome.

Effectiveness of Intravenous versus Intratracheal Secretome Administration in the Lungs of Sprague Dawley Rats Exposed to Kretek Cigarette Smoke

Abstract

The lungs play a vital role in fulfilling the body's oxygen requirements. However, pulmonary disorders and structural abnormalities can impair respiratory function and pose serious health risks if left untreated. Cigarette smoke is a major contributor to lung damage, often leading to inflammation and histopathological changes. This laboratory-based experimental study employed simple random sampling and involved male Sprague Dawley rats exposed to kretek cigarette smoke for 18 consecutive days. Secretome therapy was administered at a dose of 0.4 ml on days 5, 10, and 15 via two different routes: intravenous and intratracheal. Subjects were divided into four groups: negative control, positive control (smoke exposure without secretome), intravenous secretome, and intratracheal secretome. Lung tissue was analyzed histologically using hematoxylin-eosin staining. Rats treated with intratracheal secretome demonstrated significantly improved lung architecture compared to those receiving intravenous administration, as evidenced by reduced incidence of pneumonia, fibrosis, peribronchiolitis, and tracheitis. Statistical analysis revealed that intratracheal delivery yielded superior therapeutic outcomes ($p < 0.05$ across most parameters). In conclusion, intratracheal administration of secretome is more effective than intravenous delivery in mitigating lung injury caused by kretek cigarette smoke. These findings highlight the potential of localized secretome therapy as a promising intervention for toxin-induced pulmonary diseases.

Keywords: cigarette smoke, lungs, secretome.

Pendahuluan

Paru-paru merupakan bagian penting dari sistem pernapasan manusia yang berperan dalam memenuhi kebutuhan oksigen tubuh. Berbagai kondisi dapat menyebabkan gangguan atau kelainan pada paru-paru, yang apabila tidak ditangani secara tepat dapat membahayakan fungsi sistem pernapasan, bahkan berisiko menyebabkan kematian. Paru-paru berfungsi sebagai organ utama dalam proses pertukaran gas, yaitu mengambil oksigen dari udara ke dalam darah dan mengeluarkan karbon dioksida dari tubuh melalui proses ekshalasi. Kerusakan sekecil apa pun pada paru-paru dapat mengganggu fungsi tubuh secara keseluruhan dan berpotensi fatal. Penyakit paru-paru dapat menghambat proses pernapasan serta menimbulkan gangguan kesehatan jangka pendek maupun jangka panjang, seperti asma, penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), dan tuberkulosis.¹

Asap rokok dapat memicu peradangan serta perubahan histologis pada paru-paru, sehingga menjadi salah satu penyebab utama kerusakan organ tersebut. Kebiasaan merokok sulit dihentikan karena kandungan nikotin dalam rokok bersifat adiktif. Dibandingkan dengan jenis rokok lainnya, rokok kretek memiliki kadar nikotin dan tar yang lebih tinggi. Rokok juga sering dikaitkan dengan berbagai penyakit paru-paru dan jantung. Perokok memiliki risiko hingga tiga puluh kali lipat lebih tinggi untuk mengalami kanker atau disfungsi paru-paru. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa kebiasaan merokok dapat menurunkan fungsi paru-paru, termasuk kapasitas vital paksa (*forced vital capacity/FVC*) pada orang dewasa.²⁻⁴ Menghisap asap rokok menyebabkan perubahan akut pada paru-paru, termasuk penurunan resistensi terhadap udara, batuk, dan iritasi saluran pernapasan.⁵⁻⁷

Saat ini, perkembangan obat-obatan telah mengalami kemajuan yang signifikan, khususnya di Indonesia, sehingga berbagai jenis pengobatan baru dapat diakses. Namun, distribusi obat-obatan tersebut belum merata di seluruh wilayah Indonesia, terutama di daerah yang sulit dijangkau. Akibatnya, banyak wilayah pedalaman belum memperoleh akses terhadap terapi terbaru

seperti secretome. Secretome merupakan kumpulan molekul bioaktif yang disekresikan oleh sel, meliputi protein, lipid, asam ribonukleat (RNA), dan faktor pertumbuhan, yang berperan penting dalam komunikasi antarsel serta modulasi lingkungan mikro.

Salah satu sumber secretome yang saat ini banyak diteliti dalam bidang kedokteran regeneratif adalah sel punca mesenkimal (*mesenchymal stem cells/MSCs*), yang diketahui menghasilkan secretome dengan potensi imunomodulator, antiinflamasi, antifibrotik, dan pro-regeneratif yang kuat.^{8,9} Berbeda dengan terapi berbasis sel, penggunaan secretome menawarkan sejumlah keunggulan, seperti tingkat keamanan yang lebih tinggi, stabilitas penyimpanan yang baik, serta kemudahan dalam pemberian, tanpa risiko pembentukan tumor atau reaksi penolakan imun. Dalam konteks penyakit paru-paru, seperti PPOK atau kerusakan akibat paparan asap rokok, secretome telah terbukti mampu menurunkan tingkat peradangan dan memperbaiki struktur serta fungsi jaringan paru-paru pada berbagai model hewan.^{10,11}

Secretome dianggap sebagai sumber yang baik untuk terapi berbasis sel, terutama dalam pengobatan regeneratif. Komponen yang disekresikan sel ini berperan dalam memodulasi sistem kekebalan tubuh, meningkatkan kelangsungan hidup sel, serta mendorong proses regenerasi jaringan.¹²⁻¹⁴ Secretome menunjukkan potensi terapeutik yang luas dalam pengobatan berbagai kondisi penyakit berat, baik akibat gaya hidup maupun faktor genetik. Terapi ini telah digunakan untuk penyakit muskuloskeletal, gastrointestinal, kardiovaskular, serta gangguan pernapasan seperti kerusakan paru-paru akibat paparan asap rokok kretek.

Secretome memiliki kemampuan dalam menstimulasi regenerasi jaringan sehingga dimanfaatkan dalam pengobatan trauma, stroke, dan penyakit neurodegeneratif seperti cedera tulang belakang (SCI), cedera otak traumatik (TBI), stroke iskemik (IS), dan penyakit Parkinson (PD). Secretome juga memiliki sifat imunomodulator yang kuat melalui sekresi molekul antiinflamasi seperti interleukin-10 (IL-

10), yang berperan dalam mengurangi peradangan dan mempercepat penyembuhan.

Efektivitas secretome sangat bergantung pada komposisi bioaktif yang dihasilkan oleh sel punca mesenkimal dan dipengaruhi oleh kondisi kultur, seperti hipoksia.^{12–14} Pemberian secretome melalui jalur injeksi dipilih karena memungkinkan absorpsi yang lebih cepat dan efisien dibandingkan jalur oral, yang rentan terhadap degradasi enzimatis di saluran pencernaan serta efek lintas hati pertama (*first-pass metabolism*).¹⁵ Suntikan merupakan prosedur medis yang umum digunakan secara global, terutama bagi pasien dengan gangguan menelan atau mual. Injeksi umumnya dilakukan melalui jalur intravena, subkutan, atau intramuskular, tergantung pada tujuan terapi dan target jaringan.¹⁵

Pemberian melalui jalur intravena dan intratrakeal dipilih berdasarkan target organ, misalnya paru-paru secara langsung terhubung dengan trakea sebagai bagian dari sistem pernapasan. Jalur intratrakeal dinilai lebih tepat karena memungkinkan distribusi lokal secretome ke jaringan paru-paru yang rusak akibat paparan asap rokok, sehingga efek regeneratif dan antiinflamasi dapat dimaksimalkan secara topikal.^{13,16} Studi sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian intratrakeal menghasilkan konsentrasi bioaktif secretome yang lebih tinggi di paru-paru dan mempercepat proses penyembuhan melalui modulasi makrofag serta pengurangan infiltrasi inflamasi.¹³

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh kebutuhan untuk mengevaluasi efektivitas secretome sebagai terapi regeneratif terhadap kerusakan paru-paru akibat paparan asap rokok kretek. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perubahan histologis paru-paru tikus Sprague Dawley yang terpapar asap rokok kretek dan menerima terapi secretome melalui dua jalur pemberian, serta menentukan jalur yang paling efektif.

Metode

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Krida Wacana pada bulan Juli

hingga Agustus 2023. Tikus dibagi secara acak (*simple random sampling*) ke dalam empat kelompok perlakuan dan masing-masing mendapatkan intervensi yang berbeda.

Kriteria inklusi meliputi tikus jantan dengan berat badan 250 gram, berusia 2–3 bulan, kondisi sehat secara anatomi dan fisiologis, aktif, serta tidak menunjukkan kelainan. Tikus akan dikeluarkan dari penelitian jika mengalami kematian atau menunjukkan tanda-tanda sakit selama periode intervensi.

Perhitungan jumlah sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer $(n-1)(t-1) \geq 15$ di mana $t=4$ (jumlah kelompok), sehingga diperoleh nilai $n \geq 6$ per kelompok. Untuk mengantisipasi risiko seleksi bias dan *dropout*, jumlah tersebut ditambah sebesar 20%, sehingga tiap kelompok terdiri atas 8 ekor tikus.

Empat kelompok yang dimaksud terdiri atas: (1) kelompok kontrol positif (paparan asap rokok tanpa secretome), (2) kelompok secretome intravena, (3) kelompok secretome intratrakeal, dan (4) kelompok kontrol negatif (tanpa paparan rokok dan tanpa secretome). Secretome diberikan sebanyak 0,4 ml pada hari ke-5, 10, dan 15 melalui rute intravena (melalui vena ekor) atau secara intratrakeal setelah anestesi dengan eter. Paparan asap rokok kretek diberikan selama 18 hari (12 hisapan/hari), dilanjutkan dengan penyuntikan secretome 0,4 ml pada hari ke-5, 10, dan 15. Tabel 1 menunjukkan pembagian kelompok perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini.

Berdasarkan pedoman Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) dari University of California, San Francisco (UCSF) dan University of California, Davis (UC Davis), volume pemberian intratrakeal pada tikus dewasa sebaiknya di bawah 0,07 mL, meskipun beberapa panduan menetapkan batas maksimum hingga 0,5 mL per hewan. Dalam studi ini, digunakan dosis secretome sebesar 0,4 mL melalui jalur intratrakeal, yang mendekati ambang toleransi atas pada tikus dewasa. Oleh karena itu, prosedur dilakukan dengan anestesi penuh dan pemantauan ketat sebagai bagian dari pendekatan eksperimen eksploratif.^{17,18}

Tabel 1. Pembagian Kelompok Penelitian

Kelompok Tikus	Perlakuan
Kelompok 1: kontrol positif	- Paparan asap rokok kretek (18 hari, 12 hisapan/hari) - Tidak diberikan secretome
Kelompok 2: secretome intravena	- Paparan asap rokok kretek (18 hari, 12 hisapan/hari) - Secretome 0,4 ml disuntikkan intravena → Hari ke-5, ke-10, dan ke-15 - Injeksi melalui vena ekor
Kelompok 3: secretome intratrakeal	- Paparan asap rokok kretek (18 hari, 12 hisapan/hari) - Secretome 0,4 ml disuntikkan intratrakeal → Hari ke-5, ke-10, dan ke-15 - Injeksi dilakukan setelah anestesi dengan eter
Kelompok 4: kontrol negatif	- Tanpa paparan asap rokok - Tidak diberikan secretome

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rokok kretek sebagai sumber paparan, secretome yang diperoleh dari Laboratorium Tarumanagara Human Cell Technology, serta berbagai alat pendukung, antara lain spuit 25 mL dan 1 mL, alat fiksasi tikus untuk injeksi, larutan eter sebagai anestesi, perlengkapan bedah untuk diseksi paru-paru, dan mikroskop dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) untuk analisis histopatologi.

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana dengan nomor surat keputusan: 1552/SLKE-IM/UKKW/FKIK/KE/VII/2023.

Paparan asap rokok kretek diberikan kepada semua tikus dalam kelompok perlakuan, kecuali kelompok kontrol negatif. Setiap tikus dimasukkan ke dalam wadah tertutup, kemudian diberikan paparan asap rokok sebanyak 12 kali hisapan menggunakan spuit 25 mL, setara dengan 0,34 mg nikotin. Paparan dilakukan selama 18 hari berturut-turut, dengan jeda pada hari ke-5, ke-10, dan ke-15 untuk pelaksanaan penyuntikan secretome.

Penyuntikan secretome dilakukan pada hari ke-5, ke-10, dan ke-15 melalui dua jalur, yaitu intravena dan intratrakeal. Jalur intravena dilakukan melalui ekor tikus yang dimasukkan ke dalam alat fiksasi, sedangkan jalur intratrakeal dilakukan setelah pemberian larutan eter sebagai anestesi, kemudian secretome disuntikkan langsung ke trakea. Dosis secretome yang

diberikan adalah 0,4 mL per tikus. Penyuntikan dilakukan pada kelompok dua dan tiga.

Sebelum pengambilan organ, tikus diberi larutan eter untuk menginduksi ketidaksadaran. Setelah tikus tidak sadar, dilakukan pembedahan untuk mengambil organ paru-paru, yang kemudian dianalisis secara histopatologis menggunakan mikroskop dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan histopatologi paru (pneumonia, fibrosis, peribronkiolitis, bronkiolitis, edema pulmonum, dan trakeitis) yang bersifat kategorik dianalisis secara statistik menggunakan uji Chi-square atau Fisher's Exact Test untuk mengetahui perbedaan proporsi antar kelompok. Untuk melihat pengaruh pemberian *secretome* melalui dua rute berbeda terhadap parameter histologi dibandingkan dengan kontrol, digunakan uji *post hoc LSD (Least Significant Difference)* setelah ANOVA satu arah. Nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak statistik SPSS versi 30.

Hasil

Sebanyak 25 ekor tikus digunakan dalam penelitian ini. Kelompok kontrol positif, secretome intravena, dan secretome intratrakeal masing-masing terdiri atas 6 ekor tikus. Sementara kelompok kontrol negatif terdiri atas 7 ekor tikus. Kelompok pertama disuntikkan *sekretome* melalui

intravena, sedangkan kelompok kedua disuntikkan *sekreto* melalui intratakeal.

Tabel 2 memperlihatkan frekuensi kelainan histopatologi paru akibat paparan asap rokok kretek dan menunjukkan perlakuan dari beberapa kelompok. Diagnosis kelainan histopatologis paru-paru, seperti pneumonia, fibrosis, peribronkiolitis, bronkiolitis, edema pulmonum,

Dalam penelitian ini, paparan asap rokok kretek diberikan kepada semua kelompok, kecuali kelompok kontrol negatif, dengan metode pemaparan di dalam toples. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif, kelompok satu, dan kelompok dua mengalami kelainan histologis paru-paru secara dominan, sedangkan sampel yang tidak dimasukkan ke dalam toples menunjukkan kelainan yang minimal.

dan trakeitis, dilakukan melalui pemeriksaan preparat jaringan paru-paru di bawah mikroskop cahaya. Identifikasi kelainan didasarkan pada gambaran histologi khas, seperti infiltrasi sel inflamasi, penebalan septa alveolar, kerusakan jaringan bronkiolar, akumulasi cairan di alveolus, serta proliferasi fibroblas dan deposisi kolagen.

Derajat kelainan dinilai berdasarkan jumlah tikus dalam setiap kelompok yang menunjukkan kelainan histologis (frekuensi absolut) untuk masing-masing parameter. Penilaian dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif dengan mencatat jumlah tikus yang memperlihatkan gambaran kelainan tertentu, sehingga perbandingan antar kelompok dapat dilakukan berdasarkan frekuensi kemunculan kelainan pada sampel.

Tabel 2. Frekuensi Efek Paparan Asap Rokok Kretek yang Menunjukkan Kelainan Histopatologis tertentu Berdasarkan Pemeriksaan Mikroskopis

Kelompok	Jumlah tikus masing-masing kelompok					
	Pneumonia	Fibrosis	Peribroncheolitis	Broncheolitis	Edema pulmonum	Tracheitis
1	4	0	3	2	0	1
1	4	0	3	2	0	1
1	4	0	3	2	0	1
1	4	0	3	2	0	1
1	2	0	2	1	1	0
1	2	0	2	1	1	0
2	3	3	3	0	0	2
2	3	3	3	0	0	2
2	3	0	3	2	0	1
2	3	0	3	2	0	1
2	1	3	3	1	0	2
2	1	3	3	1	0	2
3	3	0	3	2	0	3
3	3	2	3	2	0	3
3	2	0	3	2	0	0
3	2	0	3	2	0	0
3	2	0	3	2	0	0
3	2	0	3	2	0	0
3	2	0	3	2	0	0
4	1	0	2	2	0	0
4	1	0	2	2	0	0
4	1	0	2	2	0	0
4	0	0	2	1	1	2
4	0	0	2	1	1	2
4	0	0	2	1	1	2
4	0	0	2	1	1	2

Tabel 3. Pengaruh Pemberian Secretome Melalui Intravena maupun Intratrakeal terhadap Tikus yang Diberikan Paparan Asap Rokok Kretek

Perlakuan	Kelainan	p value
Kelompok 2 (Secara Intravena)	Pneumonia	0,044
	Fibrosis	0,001
	Peribronkiolitis	0,032
	Bronkiolitis	0,059
	Edem Pulomonal	0,145
Kelompok 3 (Secara Intrakeal)	Trakheitis	0,102
	Pneumonia	0,044
	Fibrosis	0,003
	Peribronkiolitis	0,032
	Bronkiolitis	0,007
	Edem Pulomonal	0,145
	Trakheitis	0,575

Tabel 3 menunjukkan perbandingan pengaruh pemberian secretome melalui jalur intravena dan intratrakeal terhadap berbagai parameter histopatologis paru-paru. Berdasarkan hasil analisis LSD menunjukkan bahwa pemberian secretome secara intravena berdampak signifikan terhadap pneumonia, fibrosis, peribronkiolitis, dan bronkiolitis ($p < 0,05$).

Sementara itu, pemberian secretome secara intratrakeal memberikan pengaruh signifikan terhadap pneumonia, fibrosis, dan peribronkiolitis ($p > 0,05$).

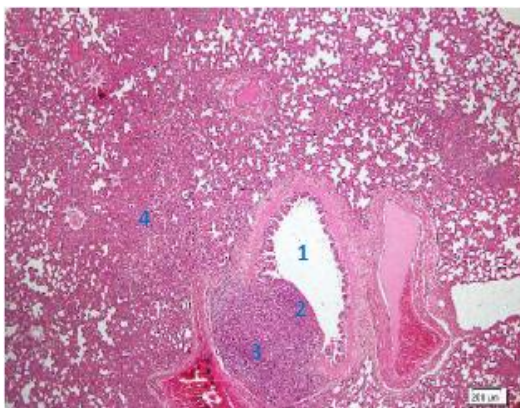
Tabel 4 menunjukkan jumlah tikus pada masing-masing kelompok perlakuan yang mengalami kelainan histopatologis paru-paru, meliputi pneumonia, peribronkiolitis, bronkiolitis, trakeitis, edema pulmonum, dan fibrosis. Kelompok kontrol positif serta kelompok yang menerima secretome secara intravena menunjukkan angka kejadian pneumonia yang tinggi, yaitu enam dari enam tikus. Sebaliknya, kelompok yang menerima secretome secara intratrakeal menunjukkan penurunan jumlah kasus pneumonia, namun mengalami peningkatan kejadian fibrosis. Kelompok kontrol negatif memperlihatkan jumlah kelainan histopatologis yang paling minimal dibandingkan kelompok lainnya, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1 hingga Gambar 12

Tabel 4. Hasil Histologi Preparat Paru-paru Tikus Menggunakan Pewarnaan He
Jumlah Tikus

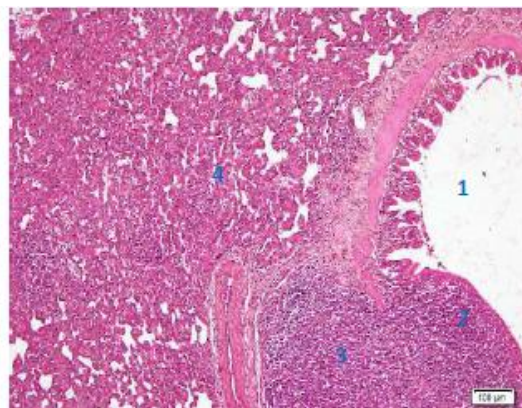
Kelompok Perlakuan	Pneumonia	Peribroncheolitis	Broncheolitis	Tracheitis	Edema Pulmonum	Fibrosis
Kelompok 1 (n=6)	6	3	2	1	0	0
Kelompok 2 (n=6)	6	2	1	0	1	0
Kelompok 3 (n=7)	3	3	2	2	0	3
Kelompok 4 (n=7)	2	0	2	2	2	0

Hasil Histologi

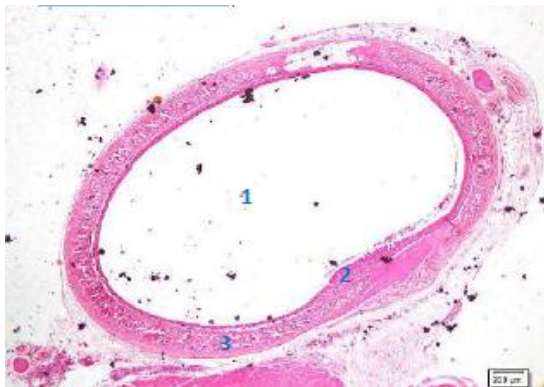
Kelompok Kontrol Positif



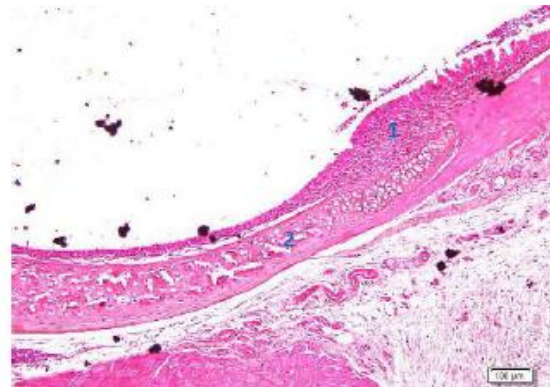
Gambar 1a. Pneumonia. 1. Broncheolus, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mukosa, 3. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus, dan 4. Pneumonia. HE x40



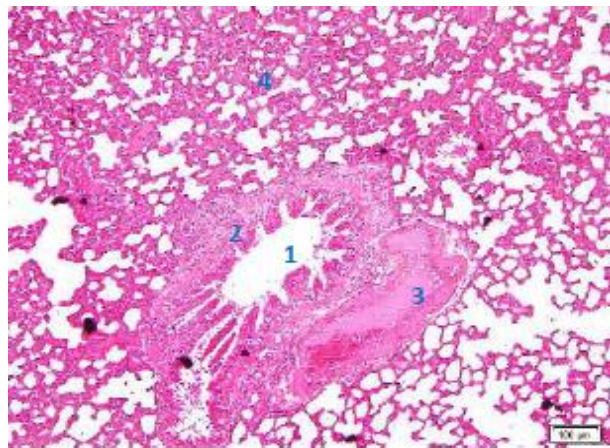
Gambar 1b. Pneumonia. 1. Broncheolus, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mukosa, 3. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus, dan 4. Pneumonia. HE x100



Gambar 2a. Tracheitis. 1. Trachea, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa, dan 3. Tulang rawan trachea. HE x40

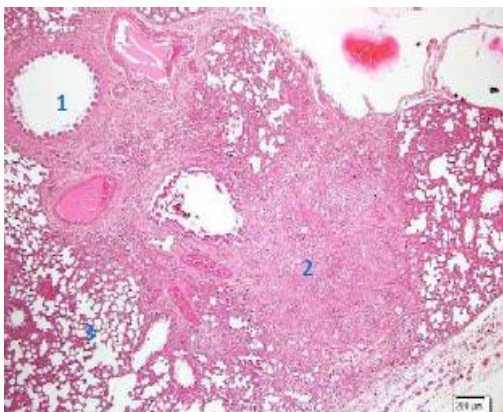


Gambar 2b. Tracheitis. 1. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa, dan 2. Tulang rawan trachea. HE x100

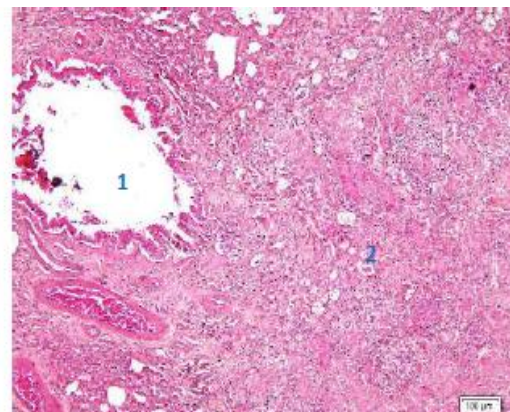


Gambar 3. Oedema pulmonum. 1. Bronchiole, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mukosa, 3. Oedema pulmonum, dan 4. Pneumonia. HE x100

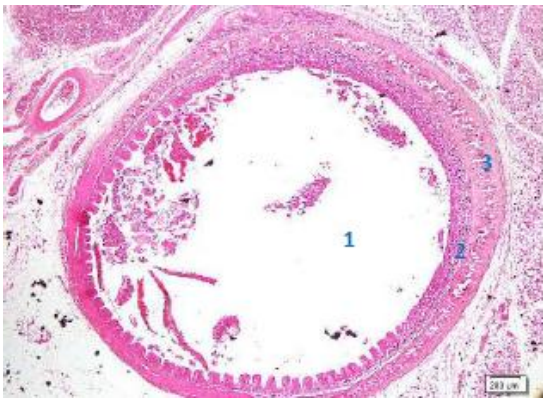
Kelompok Pemberian Intravena



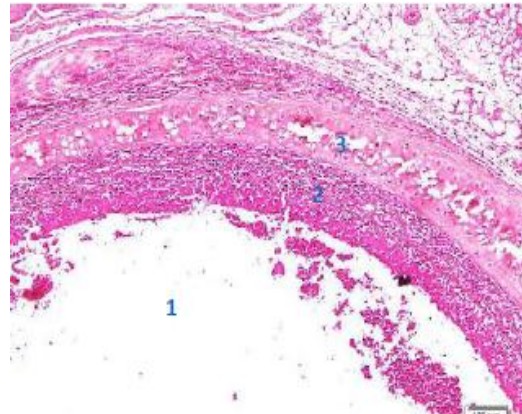
Gambar 4a. Fibrosis. 1. Bronchiole, 2. Pneumonia disertai fibrosis, dan 3. Alveolus. HE x40



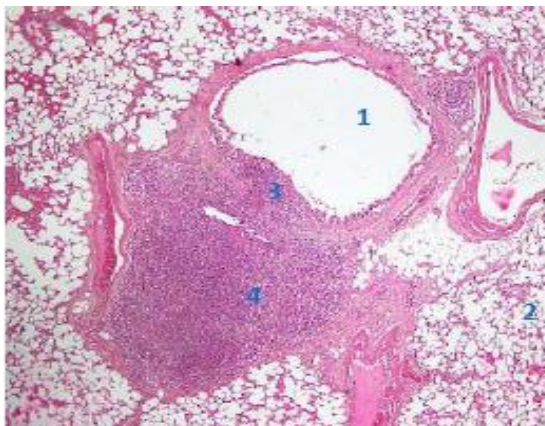
Gambar 4b. Fibrosis. 1. Bronchiole, dan 2. Pneumonia disertai fibrosis secara ekstensif. HE x100



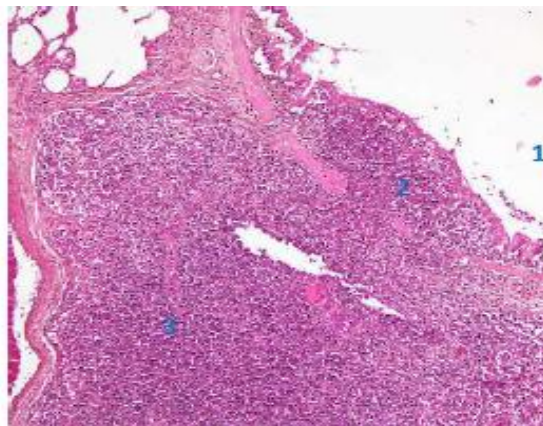
Gambar 5a. Tracheitis. 1. Trachea, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa, dan 3. Tulang rawan trachea. HE x40



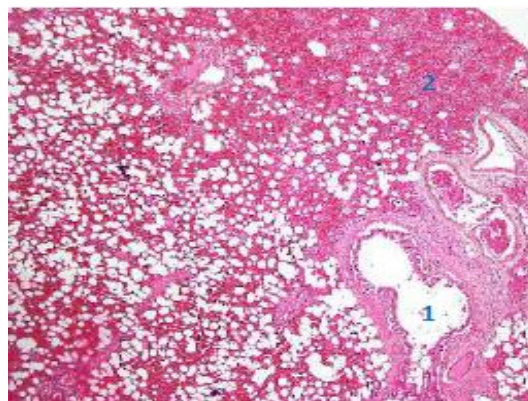
Gambar 5b. Tracheitis. 1. Trachea, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa, dan 3. Tulang rawan trachea. HE x100



Gambar 6a. Broncheolitis. 1. Broncheolus, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa broncheolus, dan 3. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus. HE x100

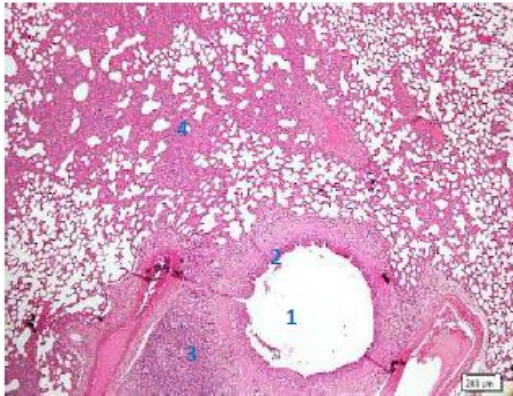


Gambar 6b. Broncheolitis. 1. Broncheolus, 2. Alveolus, 3. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mucosa broncheolus, dan 4. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus. HE x40

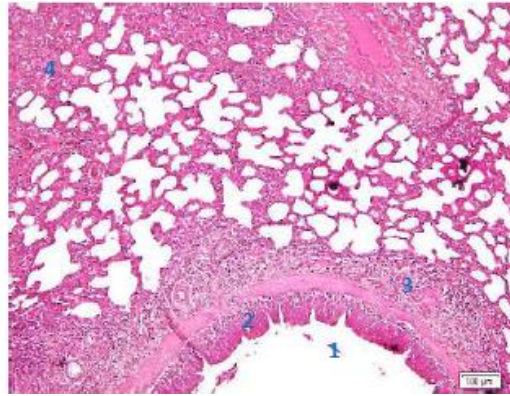


Gambar 7. Pneumonia. 1. Broncheolus, dan 2. Pneumonia dan haemorrhagi. HE x40

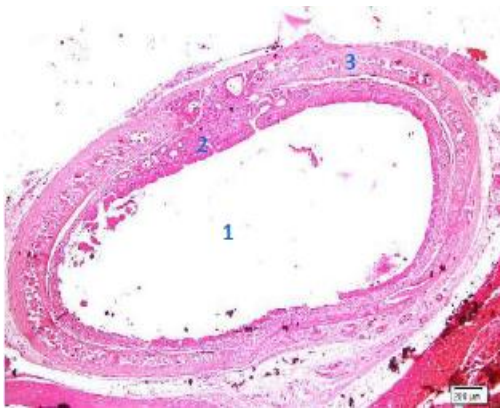
Kelompok Pemberian Intratrakea



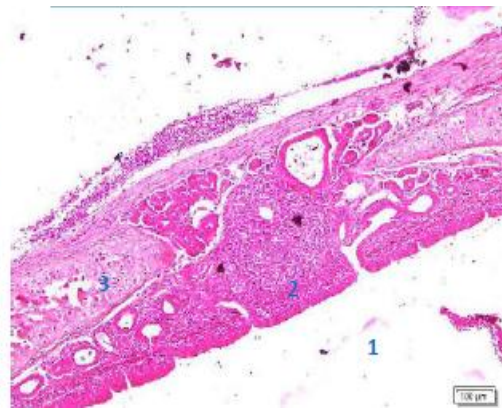
Gambar 8a. Pneumonia. 1. Bronchiole, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mukosa bronchiole, 3. Akumulasi sel mononuclear pada peribronchiole, dan 4. Pneumonia. HE x40



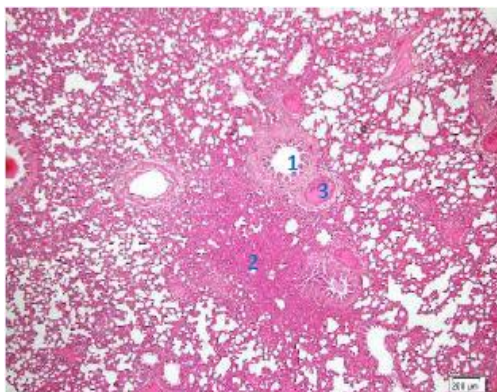
Gambar 8b. Pneumonia. 1. Bronchiole, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada villi mukosa bronchiole, 3. Akumulasi sel mononuclear pada peribronchiole, dan 4. Pneumonia. HE x100



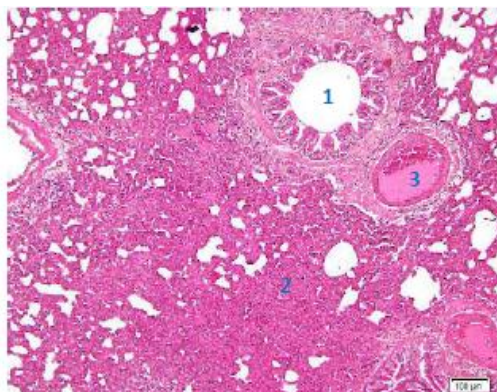
Gambar 9a. Tracheitis. 1. Trachea, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear villi mukosa trachea, dan 3. Tulang rawan trachea. HE x100



Gambar 9b. Tracheitis. 1. Trachea, 2. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear villi mukosa trachea, dan 3. Tulang rawan trachea. HE x40

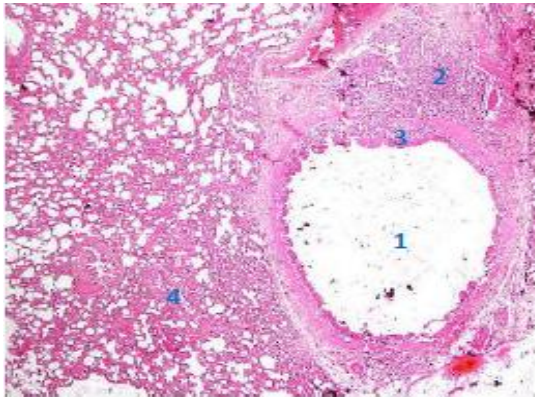


Gambar 10a. Fibrosis. 1. Bronchiole, 2. Pneumonia diikuti dengan pembentukan jaringan fibrosis, dan 3. Oedema. HE x40

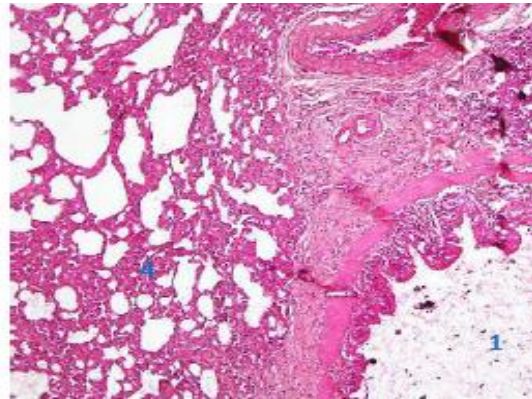


Gambar 10b. Fibrosis. 1. Bronchiole, 2. Pneumonia diikuti dengan pembentukan jaringan fibrosis, dan 3. Oedema. HE x100

Kelompok Kontrol Negatif



Gambar 12a. Broncheolitis. 1. Broncheolus, 2. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus, 3. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada mukosa broncheolus, dan 4. Pneumonia. HE x40



Gambar 12b. Broncheolitis. 1. Broncheolus, 2. Akumulasi sel mononuclear pada peribroncheolus, 3. Nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada mukosa broncheolus, dan 4. Pneumonia. HE x100

Diskusi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok kretek menyebabkan kelainan histopatologis paru-paru yang signifikan, terutama pada kelompok kontrol positif, dengan temuan berupa pneumonia, peribronkiolitis, bronkiolitis, dan fibrosis. Temuan ini sejalan dengan bukti sebelumnya bahwa asap rokok mengandung radikal bebas dan partikel toksik yang dapat memicu peradangan saluran napas serta merusak jaringan alveolar.^{2-4,6}

Pemberian secretome secara intratrakeal pada kelompok tiga menunjukkan perbaikan profil histopatologis yang lebih baik dibandingkan kelompok kontrol positif maupun kelompok yang menerima secretome secara intravena. Penurunan kejadian pneumonia dan peningkatan fibrosis ringan pada kelompok ini mengindikasikan adanya proses penyembuhan jaringan yang didorong oleh aktivitas antiinflamasi dan regeneratif dari secretome. Secretome, sebagai produk parakrin dari sel punca mesenkimal (MSC), diketahui mengandung berbagai faktor bioaktif seperti interleukin-10, TGF- β , VEGF, dan eksosom yang berperan dalam modulasi sistem imun serta regenerasi epitel.^{8,9,11,13,14}

Secara khusus, efek protektif yang lebih menonjol pada kelompok intratrakeal

dibandingkan kelompok intravena dapat dijelaskan melalui mekanisme distribusi lokal. Jalur intratrakeal memungkinkan konsentrasi komponen bioaktif secretome yang lebih tinggi langsung pada jaringan paru-paru yang terpapar, sehingga mempercepat proses perbaikan mukosa bronkial dan jaringan interstisial. Temuan ini sejalan dengan studi eksperimental sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian terapi seluler atau derivatifnya secara lokal pada jaringan target menghasilkan efek terapeutik yang lebih kuat dan spesifik.^{13,16,20}

Sementara itu, kelompok kontrol negatif menunjukkan insiden kelainan histopatologis yang paling minimal, memperkuat bahwa perubahan yang diamati pada kelompok lain berkaitan langsung dengan paparan asap rokok dan perlakuan yang diberikan. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini memberikan bukti awal bahwa secretome berpotensi menjadi kandidat terapi biologis dalam penanganan kerusakan jaringan paru-paru akibat paparan asap toksik. Meski demikian, diperlukan penelitian lanjutan dengan pendekatan molekuler dan fungsional untuk mengelaborasi mekanisme spesifik serta menguji efektivitas jangka panjangnya.

Temuan ini sejalan dengan studi Porzionato et al.¹⁶ yang mengevaluasi efek jangka panjang

pemberian vesikel ekstraseluler (EV) dari sel punca mesenkimial (MSC-EVs) melalui jalur intratrakeal pada model tikus dengan *bronchopulmonary dysplasia* (BPD). Studi tersebut menunjukkan bahwa pemberian MSC-EVs secara intratrakeal secara signifikan mampu mencegah penurunan jumlah alveolus, luas permukaan alveolar, dan indeks proliferasi akibat paparan hipoksia, serta mengurangi fibrosis dan proses remodeling pada pembuluh darah paru kecil. Mekanisme perlindungan ini dikaitkan dengan peningkatan jumlah makrofag M2 (CD163⁺), yang diketahui memiliki efek antiinflamasi dan berperan dalam mempercepat regenerasi jaringan paru-paru.¹⁶

Studi yang dilakukan oleh Basalova et al¹⁹ menunjukkan bahwa fraksi secretome yang kaya EV dari MSC mampu menginduksi resolusi fibrosis paru-paru melalui transfer miRNA antifibrotik, seperti miR-29c dan miR-129. Mekanisme ini menyebabkan dediferensiasi myofibroblast serta penurunan jumlah progenitor fibroblast aktif (FAP α ⁺). Temuan tersebut mendukung observasi dalam penelitian ini, di mana kejadian fibrosis lebih banyak dijumpai pada kelompok yang menerima secretome secara intravena dibandingkan kelompok intratrakeal. Hal ini mengindikasikan bahwa efektivitas antifibrotik secretome dapat dipengaruhi oleh jalur pemberian, dengan distribusi lokal melalui jalur intratrakeal berpotensi menghasilkan respons terapeutik yang lebih spesifik dan efisien terhadap jaringan paru yang mengalami kerusakan.¹⁹

Harrell et al¹³ menekankan bahwa potensi terapeutik secretome dari MSC terletak pada kandungan faktor bioaktif seperti IL-10, prostaglandin E2 (PGE₂), dan hepatocyte growth factor (HGF), yang memiliki efek antiinflamasi, imunomodulator, dan pro-regeneratif. Pemberian secretome secara lokal, seperti melalui jalur intratrakeal, diyakini mampu mencapai konsentrasi efektif dengan lebih cepat dan terfokus pada jaringan target.¹³

Mohammadipoor et al²⁰ menjelaskan bahwa produk MSC seperti *conditioned media* (CM) dan EV memiliki keunggulan biologis dan logistik dibandingkan terapi sel hidup. Pemberian intratrakeal juga dianggap lebih aman dan lebih

efisien dalam konteks penyakit paru seperti ARDS dan PPOK, karena dapat langsung mengatasi proses inflamasi lokal dan mempercepat regenerasi alveolus.²⁰

Dengan mengintegrasikan temuan-temuan tersebut, dapat disimpulkan bahwa jalur intratrakeal memungkinkan distribusi secretome langsung ke lokasi cedera paru-paru, sehingga memaksimalkan efek imunomodulator dan antifibrotik serta mengurangi risiko inflamasi sistemik yang mungkin terjadi pada jalur intravena. Oleh karena itu, hasil penelitian ini memperkuat literatur yang ada bahwa secretome memiliki potensi signifikan sebagai terapi regeneratif paru-paru, khususnya bila diberikan secara lokal melalui jalur intratrakeal.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Penggunaan hewan coba sebagai model eksperimental membatasi generalisasi hasil terhadap kondisi fisiologis manusia, sehingga diperlukan studi lanjutan pada model klinis. Penilaian terhadap derajat kelainan histopatologis dilakukan secara semikuantitatif dan bergantung pada interpretasi visual, yang meskipun dilakukan oleh pemeriksa berpengalaman, tetap memiliki potensi bias subyektif. Keterbatasan berikutnya adalah belum dilakukan analisis ekspresi biomolekuler untuk mendukung pemahaman mekanisme kerja secretome secara lebih mendalam. Terakhir, parameter fungsional paru-paru seperti spirometri atau saturasi oksigen tidak dievaluasi, sehingga interpretasi terhadap dampak klinis secretome terhadap fungsi respirasi masih terbatas.

Kesimpulan

Pemberian secretome melalui jalur intratrakeal terbukti lebih efektif dalam memperbaiki jaringan paru-paru tikus Sprague Dawley yang terpapar asap rokok kretek dibandingkan jalur intravena. Secretome menunjukkan efek protektif terhadap kerusakan jaringan paru, yang ditunjukkan melalui perbaikan gambaran histopatologis, penurunan tanda-tanda inflamasi, dan perbaikan struktur saluran napas.

Temuan ini memperkuat potensi secretome sebagai terapi regeneratif yang unggul untuk menangani kerusakan paru akibat paparan toksik kronis, khususnya bila diberikan secara lokal melalui jalur intratrakeal. Efektivitas jalur ini dalam mengurangi kejadian fibrosis dan trakeitis menunjukkan bahwa pemberian intratrakeal dapat dipertimbangkan sebagai pendekatan yang lebih potensial dalam pengembangan strategi terapeutik berbasis biologik yang bersifat spesifik dan terarah.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa penulis tidak memiliki asosiasi komersial yang mungkin menimbulkan konflik kepentingan sehubungan dengan artikel yang dikirimkan, dan penulis bertanggung jawab penuh atas pelaksanaan uji coba, memiliki akses penuh terhadap semua data, dan mengendalikan keputusan untuk mempublikasikannya.

Ucapan Terima Kasih

Atas sumbangan *sekretome* dari *Tarumanagara Human Cell Technology Laboratory* dan bantuan Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, SpKK, FINS DV, FAADV (Departemen Kulit dan Kelamin) dan dr. Yohanes Firmansyah, M.Biomed, MH, AIFO-K (Departemen Fisiologi), Universitas Tarumanagara, Jakarta.

Daftar Pustaka

1. Haddad M, Sharma S. Physiology, Lung. Bethesda: StatPearls Publishing LLC; 2023.
2. Münzel T, Hahad O, Kuntic M, Keaney JF, Deanfield JE, Daiber A. Effects of tobacco cigarettes, e-cigarettes, and waterpipe smoking on endothelial function and clinical outcomes. *Eur Heart J*. 2020;41:4057–70. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa460
3. Gibbs K, Collaco JM, McGrath-Morrow SA. Impact of tobacco smoke and nicotine exposure on lung development. *Chest*. 2016;149:552–61. doi: 10.1378/chest.15-1858
4. Lauvita J, Djuartina T, Harjanti DA, Rahardjo Budianto I, Irawan R. Asap rokok konvensional dan elektronik memberikan gambaran kerusakan struktur alveolus yang sama. *Damianus J Med*. 2022;21:44–50. doi: 10.25170/djm.v21i1.2093
5. Peterson LA, Hecht SS. Tobacco, e-cigarettes and child health. *Curr Opin Pediatr*. 2017;29:225–30. doi: 10.1097/MOP.0000000000000456
6. Vinay S, Dharmashekara C, Prasad A, Prasad KS, Srinivasa C, GC K. Smoking and lung cancer: a review. *Asian J Pharm Clin Res*. 2021;14:5–12. doi:10.22159/ajpcr.2021.v14i1.39811
7. Prasad V, Lenzer J, Newman DH. Why cancer screening has never been shown to “save lives”—and what we can do about it. *BMJ*. 2016;352:h6080. doi: 10.1136/bmj.h6080
8. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal stem cell secretome: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 2017;18:1–24. doi: 10.3390/ijms18091852
9. Sudhir RH, Levy O, Inamdar MS, Karp JM. Harnessing the Mesenchymal Stem Cell Secretome for the Treatment of Cardiovascular Disease. *Cell Stem Cell*. 2012;10:244–58. doi: 10.1016/j.stem.2012.02.005.Harnessing
10. Park KS, Kim YS, Kim JH, Choi B, Kim SH, Tan AHK. Trophic molecules derived from human mesenchymal stem cells enhance survival, function, and angiogenesis of isolated islets after transplantation. *Transplantation*. 2010;89:509–17. doi: 10.1097/TP.0b013e3181c7dc99
11. Phinney DG, Pittenger M. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells*. 2017;35:851–8. doi: 10.1002/stem.2575
12. Kolios G, Paspaliaris V. Mesenchyme Stem Cell-Derived Conditioned Medium as a Potential Therapeutic Tool in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Biomedicines*. 2022;10:2298. doi: 10.3390/biomedicines10092298
13. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells*. 2019;8:467. doi: 10.3390/cells8050467
14. Xu Z, Lin L, Fan Y, Huselstein C, De Isla N, He X, et al. Secretome of mesenchymal stem cells from consecutive hypoxic cultures promotes resolution of lung inflammation by reprogramming anti-inflammatory macrophages. *Int J Mol Sci*. 2022;23:4333. doi: 10.3390/ijms23084333
15. Kim J, Jesus O De. Medication routes of administration. Bethesda: StatPearls Publishing LLC; 2023. PMID: 33760436
16. Porzionato A, Zaramella P, Dedja A, Guidolin D, Bonadies L, Macchi V, et al. Intratracheal administration of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles reduces lung injuries in a chronic rat model of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2021;320:L688–704. doi: 10.1152/ajplung.00148.2020
17. Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC), University of California San Francisco. Routes and Volumes of Administration in Mice - IACUC Guideline. *Off Res Institutional Anim Care Use Progr [Internet]*. 2024;(January):1–2. Available from: <https://oacu.oir.nih.gov/sites/default/files/uploads/training-resources/rodentinjection.pdf>
18. Davis U. Acceptable maximum and absolute maximum volumes for research compound administration. *UC Davis*. 2022;1–8.

19. Nataliya B, Mikhail A, Vladimir P, Olga G, Maksim V, Ivan Z, et al. Mesenchymal stromal cells facilitate resolution of pulmonary fibrosis by miR-29c and miR-129 intercellular transfer. *Exp Mol Med.* 2023;55:1399–412. doi: 10.1038/s12276-023-01017-w
20. Mohammadipoor A, Antebi B, Batchinsky AI, Cancio LC. Therapeutic potential of products derived from mesenchymal stem/stromal cells in pulmonary disease. *Respir Res.* 2018;19:1–14. doi: 10.1186/s12931-018-0921-x