

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Pajanan asap rokok merupakan faktor risiko utama terjadinya beberapa penyakit paru, seperti fibrosis paru, emfisema, dan kanker paru (Aoshiha, 2003). Penyakit fibrosis paru ditandai dengan adanya perubahan struktur berupa terbentuknya jaringan fibrosa yang bersifat progresif dan ireversibel yang dapat menyebabkan gangguan sistem pertukaran gas dan kematian pada penderitanya akibat kegagalan fungsi pernafasan. Penyakit fibrosis paru sering tidak memberikan respons terhadap pengobatan, sehingga angka kematian masih tinggi. Terapi yang dianggap cukup efektif adalah transplantasi paru yang membutuhkan biaya besar, dan risiko terjadi rejeksi atau penolakan organ transplan (Dheda, 2005; Wynn, 2011).

Beberapa penelitian observasional mendapatkan peningkatan risiko terkena fibrosis paru idiopatik (FPI) secara bermakna pada perokok dan mereka yang terpapar asap rokok (Oh, 2012). Demikian juga pada studi kasus-kontrol yang dilakukan oleh Baumgartner, *et al* (1997) menunjukkan bahwa merokok adalah faktor risiko yang potensial untuk terjadi dan berkembangnya FPI.

Insidens FPI di seluruh dunia pada laki-laki diperkirakan mencapai 10,7 kasus per 100.000 penduduk per tahun, dan pada wanita 7,4 kasus per 100.000 penduduk per tahun. Sedang prevalensi pada laki-laki diperkirakan mencapai 20 kasus per 100.000 penduduk dan pada wanita 13 kasus per 100.000 penduduk. Beberapa bukti menyatakan bahwa insidens fibrosis paru dari tahun ke tahun semakin meningkat. Angka kematian akibat fibrosis paru diperkirakan mencapai 64,3 kematian per 1 juta penderita laki-laki dan 58,4 kematian per 1 juta penderita wanita (Godfrey, 2012).

Saat ini, Indonesia masih menjadi negara ketiga dengan jumlah perokok aktif terbanyak di dunia (61,4 juta perokok) setelah Cina dan India, dan sekitar 67,4% pria dan 4,5% wanita di Indonesia adalah perokok aktif (Rachmaningtyas, 2013). *The Global Adult Tobacco Survey* (GATS) pada 2011 mendapatkan prevalensi merokok orang dewasa Indonesia sebesar 36,1%, dan data orang dewasa yang terpapar asap rokok di tempat-tempat umum mencapai 85,4%, di rumah mencapai 78,4%, dan di tempat bekerja mencapai 51,3%. Tjandra Yoga Aditama memaparkan bahwa pengeluaran makro negara akibat pajanan asap rokok mencapai Rp 254,41 triliun, lebih besar daripada pendapatan negara dari cukai rokok yang hanya mencapai Rp 55 triliun per tahun (Kementerian Kesehatan RI, 2012).

Asap tembakau lingkungan (*Environmental Tobacco Smoke/ETS*) merupakan hasil dari kombinasi *sidestream smoke* (85%) dan sebagian kecil *mainstream smoke* (15%) yang dihembuskan oleh perokok. *Sidestream smoke* relatif mengandung konsentrasi komponen gas toksik yang lebih tinggi dibanding *mainstream smoke* (Ambrose, 2004). Asap tembakau lingkungan juga mengandung *lipopolysaccharide* (LPS), Larson, *et al* (2004) menunjukkan bahwa lingkungan perokok mengandung kadar endotoksin 120 kali lebih tinggi daripada lingkungan yang bebas asap rokok. Oleh karena itu, manusia yang terpapar asap tembakau lingkungan akan terpapar bahan kimia yang konsentrasinya 50 kali lebih tinggi daripada si perokok sendiri (Domagala-Kulawik, 2008).

Asap rokok mengandung dan menghasilkan berbagai *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), seperti *superoxide radical*, *hydrogen peroxide*, *hydroxyl radical*, dan *peroxynitrite*, yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel epitel alveoli, sehingga terjadi fibrosis paru (Aoshiba, 2003). Kerusakan oksidatif terjadi bila ada gangguan keseimbangan antara pembentukan ROS/RNS yang merupakan oksidan atau radikal bebas, dan produksi antioksidan sebagai sistem pertahanan. Antioksidan adalah senyawa yang mampu melindungi sel dalam melawan oksidan atau radikal bebas. Oleh

karena itu, paru memerlukan sumber tambahan antioksidan untuk mencegah terjadinya jejas akibat *air-borne* oksidan (Bowler, 2002).

Secara teori, paru yang telah mengalami fibrosis tidak dapat kembali normal, dan sampai saat ini belum ada terapi yang terbukti efektif dapat menghambat atau menghentikan progresifitas dan menyembuhkan penyakit tersebut. Beberapa obat yang ada mampu mengurangi keluhan penderita atau memperlambat progresifitas penyakit, seperti prednison dan *N-acetylcysteine*. *Methotrexate* dan *cyclosporine* merupakan obat immunosupresan yang sering digunakan sebagai terapi fibrosis paru. Beberapa obat baru seperti *pirfenidone*, *imatinib*, *interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ), *etanercept*, dan *bosentan* masih dalam penelitian (Mayo Clinic Staff, 2012; Datta, 2011).

Pemahaman tentang patogenesis fibrosis paru masih terus berkembang dan belum tuntas. Dahulu inflamasi kronis dianggap sebagai satu-satunya penyebab fibrosis paru. Ilmu pengetahuan yang terus berkembang menghasilkan hipotesis baru yang menyatakan bahwa adanya jejas epitel dan proses pemulihan kerusakan jaringan yang tidak terkontrol atau terganggu merupakan penyebab fibrosis (Strieter, 2009).

Pada FPI, secara patologis didapatkan adanya jejas pada sel epitel alveoli (*alveolar epithelial cell / AEC*), akumulasi fibroblas, dan diferensiasi miofibroblas. Keadaan ini menyebabkan kontraksi struktur alveoli dan deposisi matriks ekstrasel (*extracellular matrix / ECM*) seperti kolagen-1 dan 3, serta fibronektin. Walaupun patogenesis FPI belum dipahami sepenuhnya, tetapi beberapa penelitian mendapatkan adanya penurunan produksi *prostaglandin E2* (PGE2) pada penderita FPI. Pemberian sinyal PGE2 mempunyai banyak fungsi inhibitor pada sel-sel paru yang secara potensial mampu menghambat fibrogenesis, termasuk kemampuan PGE2 dalam membatasi diferensiasi miofibroblas yang diinduksi oleh *transforming growth factor-beta1* (TGF- $\beta$ 1), dan memang fibrosis jaringan terutama berhubungan dengan TGF- $\beta$ 1 (Bozyk, 2011; Wynn, 2011). Konsentrasi *interleukin-1beta* (IL-

1 $\beta$ ) pada penderita FPI diketahui juga menurun secara bermakna sehingga terjadi ketidakseimbangan antara IL-1 $\beta$  dan IL-1Ra dan terjadi proses pemulihan yang tidak terkontrol sampai terbentuk jaringan fibrotik (Keane, 2005).

Adanya jejas pada epitel yang mendasari patogenesis fibrosis paru memberikan spekulasi bahwa pemberian sel punca dan *progenitor* mampu berperan pada reepitelialisasi alveoli, sehingga dapat memutus siklus *epithelial-mesenchymal crosstalk* dan menghentikan progresifitas penyakit, bahkan mungkin mengurangi lesi yang sudah ada. Perubahan lingkungan mikro paru dan rangsangan jejas yang menetap ikut berperan dalam proses pemulihan yang patologis. Pemahaman yang lebih baik tentang keterlibatan sel *progenitor* dalam proses pemulihan epitel alveoli, dan regulasinya, dapat membantu pengembangan strategi pengobatan fibrosis paru melalui modulasi fenotip sel *progenitor* endogen. Peran inflamasi dalam patogenesis FPI masih bersifat kontroversial, pemberian obat-obat anti inflamasi terbukti tidak efektif, oleh karena itu intervensi pada sel punca mesenkim (*mesenchymal stem cells / MSCs*) dan sel epitel alveoli tipe II (*type II AEC*) beserta lingkungan mikronya mungkin dapat menjadi pilihan terapi yang potensial pada penyakit fibrosis paru (McNulty, 2012).

Aktivitas  $\beta$ -*catenin* meningkat pada sel epitel alveoli hewan coba yang mengalami jejas akibat pajanan oksidan, pemberian *bleomycin*, ataupun induksi ventilator (Flozak, 2010). Peningkatan jalur transduksi *Wnt- $\beta$ -catenin* menjadi salah satu patogenesis fibrosis paru (Konigshoff and Eickelberg, 2010). Penurunan regulasi pemberian sinyal  $\beta$ -*catenin* dapat mengurangi pembentukan jaringan fibrosis pada paru hewan coba *murine* yang mendapat *bleomycin* (McNulty, 2012). Keterlibatan sel punca mesenkim dalam pemulihan kerusakan jaringan paru tampak pada ekspresi *cluster of differentiation 90* (CD90) yang kuat dan lemahnya ekspresi CD45 (Lau, 2012).

*Oat* merupakan sumber makanan yang kaya serat dan ekonomis. Beberapa penelitian terakhir menunjukkan bahwa dengan mengonsumsi *oat* sebagai makanan sehari-hari dapat menurunkan risiko beberapa penyakit yang berhubungan dengan inflamasi. *Oat* mampu menurunkan kadar kolesterol dan kadar gula darah 2 jam setelah makan, memodifikasi respons imun, dan mengurangi risiko kanker kolon. Produk *oat* secara keseluruhan mampu menyuplai 3 g serat larut air setiap hari. *Food Drug Administration* (FDA) memberikan rekomendasi bahwa dengan mengonsumsi 3 g  $\beta$ -glucan yang terkandung dalam *oat* akan memberikan manfaat kesehatan (Daou, 2012; Bae, 2010; Björklund, 2005; Zheng, 2013).

*Beta-D-glucan* yang sering disebut  $\beta$ -glucan, merupakan polisakarida alamiah yang dihasilkan oleh sejumlah tanaman seperti gandum (*oat*), *barley*, dan rumput laut. *Beta-glucan* juga merupakan unsur utama dinding sel beberapa bakteri, jamur dan ragi (*yeast*). *Beta-glucan* sudah dapat dipurifikasi dari dinding sel ragi, serta dari *oat* dan *barley*. *Beta-glucan* yang terkandung dalam *oat* dan *barley* tersusun dari (1,3) (1,4)- $\beta$ -D-glucose, dan merupakan komponen serat larut air utama dalam *oat*. *Oat* merupakan sumber makanan yang tidak mahal, maka  $\beta$ -glucan yang berasal dari *oat* lebih murah daripada  $\beta$ -glucan yang berasal dari bakteri, jamur, ataupun *yeast* (Akramiené, 2007; Hofer, 2011; Daou, 2012).

*Beta-glucan* telah dikenal sebagai imunoregulator yang poten, mempunyai kemampuan mempengaruhi imunitas alamiah (*innate immunity*) dan adaptif (*adaptive immunity*). Beberapa literatur juga menyatakan bahwa  $\beta$ -glucan memiliki aktivitas antioksidan, sehingga mempunyai kemampuan dalam memulihkan luka (Erkol, 2012). Aktivitas antioksidan  $\beta$ -glucan secara bermakna lebih tinggi daripada berbagai polimer yang digunakan sebagai bahan makanan (Brindzova, 2008; Kofuji, 2012). Bayrak, *et al* (2008) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa pemberian  $\beta$ -glucan dapat meningkatkan aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) dan melindungi ginjal dari kerusakan akibat reperfusi pada keadaan renal iskemia-reperfusi. *Superoxide dismutase* merupakan antioksidan intrasel yang

secara struktural berupa suatu *metalloenzyme*, mampu mengubah radikal *superoxide* yang terbentuk akibat stres oksidatif menjadi molekul oksigen dan *hydrogen peroxide*. Peneliti lain, Sener, *et al* (2007) mendeteksi pemberian  $\beta$ -glucan dapat mengurangi kerusakan pada ginjal dan kandung kemih yang disebabkan oleh nikotin, dengan meningkatkan konsentrasi *glutathione* (GSH) jaringan secara signifikan. *Glutathione* merupakan senyawa antioksidan intrasel utama yang melindungi kerusakan jaringan akibat stres oksidatif (Erkol, 2012).

Peroksidasi lipid merupakan salah satu penyebab utama kerusakan dan kehancuran membran sel. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan hasil akhir dari peroksidasi lipid, dan kadarnya yang meningkat menjadi indikator adanya kerusakan oksidatif. Sener, *et al* (2005) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa pemberian  $\beta$ -glucan dapat menurunkan konsentrasi MDA dan mengurangi kerusakan jaringan paru yang sekunder disebabkan oleh sepsis abdominal. Beberapa penelitian lain juga mendapatkan kemampuan  $\beta$ -glucan dalam menurunkan konsentrasi MDA, sehingga dapat diartikan bahwa  $\beta$ -glucan mampu menurunkan peroksidasi lipid (Erkol, 2012). Hasil penelitian diatas memberikan pemikiran untuk melakukan studi eksperimental pemberian ekstrak *oat*  $\beta$ -glucan dan *oatmeal* sebagai tindakan pencegahan pada kejadian fibrosis paru akibat pajanan asap rokok.

*Oat* juga mengandung senyawa fenol larut air dengan berat molekul rendah yang unik dan tidak terdapat pada padi-padian lain, disebut *avenanthramides* (Avns). Senyawa ini bersifat antipatogen (*phytoalexins*), yang dihasilkan oleh tanaman sebagai respons terhadap patogen seperti jamur (Okazaki, 2004). Senyawa fenolik ini merupakan sumber aktivitas antioksidan utama dari *oat*. Oleh karena itu, senyawa fenolik dalam *oat* mampu menangkap radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh manusia (Bryngelsson, 2002; Brindzova, 2008).

*Avenanthramides* yang diekstraksi dari *oat* menunjukkan kemampuan antioksidan yang poten secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada percobaan binatang, pemberian ekstrak Avns dari *oat* sampai 100 mg/kg makanan (sekitar 20 mg Avns/kg BB) dilaporkan dapat meningkatkan



aktivitas SOD pada otot kerangka, hati, dan ginjal, serta meningkatkan aktivitas *glutathione peroxidase* pada jantung dan otot kerangka. Pemberian 200 mg/kg makanan yang memberikan sekitar 40 mg Avns/kg BB pada tikus, menurunkan produksi ROS (Meydani, 2009).

Sampai saat ini, di bidang paru belum pernah dilakukan penelitian eksperimental dengan pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* atau *oatmeal* pada kejadian fibrosis paru akibat pajanan asap rokok. Pemahaman patogenesis fibrosis paru yang masih terus berkembang dan belum tuntas, serta belum adanya terapi yang terbukti efektif dapat mengurangi atau menghambat progresifitas pembentukan jaringan fibrosa di paru, membuka peluang untuk dilakukan penelitian eksperimental yang diharapkan dapat menuntaskan pemahaman tentang patogenesis fibrosis paru, dan ditemukannya terapi yang dapat mengurangi atau menghambat progresifitas pembentukan jaringan fibrosa di paru akibat pajanan asap rokok secara optimal.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dapat menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Menjelaskan pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok.

### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap

rokok melalui jalur inflamasi berupa penurunan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.

2. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi berupa peningkatan ekspresi PGE2 pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.
3. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi berupa peningkatan konsentrasi IL-1 $\beta$  pada pemeriksaan ELISA serum darah tepi mencit.
4. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi berupa peningkatan konsentrasi IL-1 $\beta$  pada pemeriksaan ELISA cairan kubah bronkus (BAL) mencit.
5. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur oksidasi berupa peningkatan aktivitas SOD pada pemeriksaan ELISA jaringan paru mencit.
6. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur oksidasi berupa peningkatan konsentrasi GSH pada pemeriksaan ELISA jaringan paru mencit.
7. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat  $\beta$ -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap



rokok melalui jalur oksidasi berupa penurunan konsentrasi MDA pada pemeriksaan ELISA jaringan paru mencit.

8. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur sel punca berupa penurunan ekspresi *β-catenin* pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.
9. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur sel punca berupa peningkatan ekspresi CD90 pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.
10. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur sel punca berupa penurunan ekspresi CD45 pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.
11. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi, oksidasi, dan sel punca berupa penurunan ekspresi kolagen-1 pada pemeriksaan imunohistokimia jaringan paru mencit.
12. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi, oksidasi, dan sel punca berupa perubahan gambaran dan penurunan jumlah skor Klopfleisch dari pemeriksaan histopatologi (HE) yang menampakkan tahap lesi fibrogenesis pada paru mencit

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat teoritis

1. Memberi informasi secara ilmiah dan mendasar tentang pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* terhadap fibrogenesis pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi, oksidasi, dan sel punca.
2. Memberi kontribusi untuk pengembangan penelitian di bidang ilmu penyakit paru dan teknologi pangan.

### 1.4.2 Manfaat praktis

Apabila dalam penelitian ini ditemukan adanya manfaat dari pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* yang dapat menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok, maka diharapkan dapat menurunkan risiko terjadi penyakit fibrosis paru pada individu yang karena lingkungan dan pekerjaannya harus terpajan asap rokok.

Bila didapatkan perbedaan pada pengaruh pemberian ekstrak *oat β-glucan 70%* dan *oatmeal* maka dapat dilakukan penelitian yang lebih mendalam pada bahan yang memang memberikan manfaat lebih, dan mencegah timbulnya anjuran yang tidak berdasar untuk mengonsumsi suatu bahan.