

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
PRASYARAT GELAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN .....	vii
SUMMARY .....	viii
ABSTRAK .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum .....	3
1.3.2 Tujuan khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat teoritis .....	4
1.4.2 Manfaat praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Anatomi Kornea .....	5
2.2 Anatomi Limbus.....	6
2.3 Sel Punca .....	8
2.4 Karakteristik Sel Punca .....	8
2.4.1 Sel punca belum berdiferensiasi ( <i>undifferentiated</i> ).....	8
2.4.2 Sel Punca Mampu Memperbanyak diri sendiri ( <i>self renewal</i> ) .....	9
2.4.3 Sel Punca Dapat Berdiferensiasi Menjadi Lebih dari satu jenis sel	10
2.5 Jenis Sel Punca .....	11
2.5.1 Sel punca embrionik ( <i>Embryonic stem cell</i> ).....	11
2.5.2 Sel punca dewasa ( <i>Adult Stem cell</i> ) .....	11
2.5.3 Sel punca mesenkimal .....	12
2.6 Sel Punca Epitel Kornea .....	14
2.7 Sel Punca Limbus .....	15
2.8 Sel Limbal <i>Niche</i> .....	19
2.9 Identifikasi Sel Punca Limbal.....	20
2.9.1 <i>Cytokeratin</i> .....	20
2.9.2 Protein <i>Cytosolic</i> .....	21
2.9.3 Protein <i>Nuclear (p63)</i> .....	22
2.9.4 <i>Cell surface protein</i> .....	24

2.10	Identifikasi Sel Punca Mesenkimal .....	24
2.10.1	CD90 ( <i>Thy-1</i> ).....	25
2.10.2	CD105 (endoglin).....	25
2.11	Identifikasi Sel Punca Embrional.....	25
2.11.1	<i>Octamer-binding protein 4 (oct4)</i> .....	26
2.12	Kultur Pada Sel Punca Limbus.....	26
2.12.1	Metode isolasi .....	27
2.12.2	Kultur pada sel punca limbal <i>niche</i> .....	29
2.13	Media Kultur .....	30
2.14	Immunositokimia .....	34
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL</b> .....	<b>35</b>
3.1	Kerangka Konseptual penelitian.....	36
<b>BAB 4</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	<b>37</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	37
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	37
4.3	Variabel Penelitian .....	37
4.4	Definisi Operasional .....	37
4.5	Sarana Penelitian .....	38
4.6	Protokol Penelitian .....	39
4.7	Cara Kerja Penelitian.....	40
4.7.1	Pengambilan jaringan Limbus kornea .....	40
4.7.2	Prosedur isolasi sel punca limbus .....	40
4.7.3	Prosedur <i>passage</i> sel punca limbus .....	40
4.7.4	Prosedur fiksasi sel punca limbus.....	42
4.7.5	Prosedur Fiksasi disk glass .....	42
4.8	Analisa data Penelitian .....	43
4.8.1	Analisis deskriptif.....	43
<b>BAB 5</b>	<b>HASIL PENELITIAN</b> .....	<b>44</b>
5.1	Unit Penelitian.....	45
5.2	Ekspresi p63 .....	46
5.3	Ekspresi Oct4 .....	48
5.4	Ekspresi CD105.....	50
<b>BAB 6</b>	<b>PEMBAHASAN</b> .....	<b>53</b>
6.1	Ekspresi p63 .....	57
6.2	Ekspresi Oct4 .....	58
6.3	Ekspresi CD105.....	59
6.4	Kelemahan Penelitian.....	60
<b>BAB 7</b>	<b>PENUTUP</b> .....	<b>61</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>63</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Anatomi limbus dimana terdapat sel limbal <i>niche</i> dan sel punca limbal .....	7
Gambar 2.2	Sel punca limbus yang terdapat pada <i>limbal niche</i> , memberi kehidupan kepada <i>eTAC</i> , <i>eTAc</i> akan membelah dan menjadi <i>TACs</i> . <i>TAC</i> akhirnya bermigrasi secara sentripetal menuju daerah kornea sentral dan berdiferensiasi menjadi sel epitel korneal .....	16
Gambar 2.3	<i>Palisades of vogt (POV)</i> pada limbus di kornea yang merupakan tempat dari sel punca limbus.....	17
Gambar 2.4	Marker sel punca mesenkimal .....	24
Gambar 2.5	Ekspansi dari sel punca limbal, A) suatu biopsi dengan ukuran kecil diambil dari mata; B) Kemudian ditaruh di media yang cocok; C) sel punca yang telah diekspansi akan bisa dipindah kepada donor.....	27
Gambar 2.6	Sistem kultur eksplant. suatu spesimen diletakkan pada membran <i>amniotik</i> dan udara kering pada beberapa menit, sehingga memungkinkan terjadinya adhesi pada kultur sampai ke substratnya .....	28
Gambar 2.7	Sistem kultur secara suspensi, Dimana mengijinkan <i>enzymatic</i> mengeluarkan satu sel epitel jaringan limbal.....	29
Gambar 2.8	Kultur pada sel limbus, timbul tiga macam pola yang berbeda. A) <i>Holoclon</i> es mempunyai koloni yang terbesar, dan banyak mengandung sel punca limbus; B) <i>Meroclon</i> es mempunyai ukuran yang lebih kecil dengan batas yang iregular; C) <i>Paraclon</i> es mempunyai ukuran terkecil.....	31
Gambar 4.1	Protokol penelitian .....	39
Gambar 5.1	Perkembangan sel punca <i>early passage</i> : a) <i>Passage</i> 1; b) <i>Passage</i> 2; C) <i>Passage</i> 3; D) <i>Passage</i> 4.....	45
Gambar 5.2	Perkembangan sel punca <i>late passage</i> : a) <i>Passage</i> 1; b) <i>Passage</i> 2; C) <i>Passage</i> 3; D) <i>Passage</i> 4.....	45
Gambar 5.3	Gambaran dari ekspresi p63 pada (a.) <i>Early passage</i> sel; dan (b.) <i>Late Passage</i> .....	47
Gambar 5.4	Gambaran dari ekspresi Oct4 pada (a.) <i>Early passage</i> sel; dan (b.) <i>Late Passage</i> .....	49
Gambar 5.4	Gambaran dari ekspresi CD105 pada (a.) <i>Early passage</i> sel; dan (b.) <i>Late Passage</i> .....	51

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Contoh pertumbuhan sel punca limbus dan ekspansi medium .....	32
Tabel 5.1	Hasil pengamatan ekspresi p63 <i>Early passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	47
Tabel 5.2	Hasil pengamatan ekspresi P63 <i>Late passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	48
Tabel 5.3	Hasil pengamatan ekspresi Oct4 pada <i>Early passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	49
Tabel 5.4	Hasil pengamatan ekspresi Oct4 pada <i>Late passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	50
Tabel 5.5	Hasil pengamatan ekspresi CD105 pada <i>Early passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	51
Tabel 5.6	Hasil pengamatan ekspresi CD105 pada <i>Late passage</i> dengan pemeriksaan imunositokimia .....	52

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Organisasi Penelitian.....	67
Lampiran 2	Jadwal Penelitian.....	68
Lampiran 3	Rincian pengeluaran.....	69
Lampiran 4	Tabel Pengamatan.....	70
Lampiran 5	Dokumen Laik Etik.....	71
Lampiran 6	Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	72

## DAFTAR SINGKATAN

aMEM	: <i>Minimum Essential Medium Alpha Modification</i>
ABCG2	: <i>ATP-Binding Cassette Subfamily G Member2</i>
DNp63a	: <i>Isoform alpha p63</i>
ng	: <i>mikro gram</i>
ATP	: <i>Adenosine Tri Phospate</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
CK	: <i>Cytokeratin</i>
Cx	: <i>Connexin</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ESC	: <i>Epithelial Stem Cell</i>
et al	: <i>Et alii</i>
EGF-R	: <i>Growth Factor Receptors</i>
eTAC	: <i>Early Transient Amplifying Cell</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FITC	: <i>Fluorescein isothiocyanate</i>
GP	: <i>Gas Permeable</i>
HA	: <i>Hyaluronic Acid</i>
HEMA	: <i>Hydroxy-ethyl methacrylate</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
ICM	: <i>Inner Cell Mass</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
kDa	: <i>kilo Dalton</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
K	: <i>Keratin</i>
LESCs	: <i>Limbus Epithelial Stem Cells</i>
LSC	: <i>Limbal Stem Cell</i>
mg	: <i>mili gram</i>
ml	: <i>mili liter</i>
mL	: <i>mili Lambert</i>
mm	: <i>mili metre</i>
mM	: <i>mili Molar</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
ng	: <i>nano gram</i>
nM	: <i>nano Molar</i>
Oct4	: <i>Octamer-binding protein 4</i>
p63	: <i>Protein 63 kilo Dalton</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PFA	: <i>Paraformaldehyde</i>
PMC	: <i>Post Mitotic Cells</i>
PKCG	: <i>Protein Kinase C Gamma</i>
POU	: <i>Pit-Oct-Unc</i>
POV	: <i>Palisades of Vogt</i>
TAC	: <i>Transient Amplifying Cells</i>