

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN VASCULAR *ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS
PADA PERLUKAAN STROMA KORNEA KELINCI
(Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**



Oleh :

ARANTRINITA

NIM. 011618016304

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2021

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN VASCULAR *ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS
PADA PERLUKAAN STROMA KORNEA KELINCI
(Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Oleh :

ARANTRINITA

NIM:

011618016304

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS
PADA PERLUKAAN STROMA KORNEA KELINCI
(Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Diajukan sebagai syarat memperoleh gelar Magister Kedokteran Klinik

(M.Ked.Klin)

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

ARANTRINITA

NIM:

011618016304

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD dr. SOETOMO**

SURABAYA

2021

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Arantrinita
NIM : 011618016304
Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata
Angkatan : Januari 2017
Jenjang : PPDS-I

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan hasil penelitian saya berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS
PADA PERLUKAAN STROMA KORNEA KELINCI
(Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 9 Maret 2021



(dr. Arantrinita)

LEMBAR PENGESAHAN

Menyetujui hasil laporan penelitian yang berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN VASCULAR *ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS
PADA PERLUKAAN STROMA KORNEA KELINCI
(Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Diajukan sebagai syarat memperoleh gelar Magister Kedokteran Klinik (M.Ked.Klin)

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

Arantrinita, dr.

Pembimbing Utama



Dr. Reni Prastyani, dr., SpM, M.Kes

NIP. 197408302006042001

Pembimbing Kedua



Dr. Prihartini Widiyanti drg., M.Kes, S. Bio, CCD

NIP.197502222009122001

NIP.

Mengetahui,

**Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**



Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K)

NIP. 19650227 199008 1 010

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS

Laporan tesis ini diajukan oleh:

Nama : Arantrinita, dr

NIM : 011618016304

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Judul : **Pengaruh Pemberian Komposit Kolagen-Kitosan- Natrium Hialuronat Terhadap Tingkat Neovaskularisasi dan Ekspresi Protein Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) sebagai Reaksi Angiogenesis pada Perlukaan Stroma Kornea Kelinci (Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo

Pada tanggal 8 Maret 2021

Panitia Penguji:

1. Ketua Penguji : Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)
2. Penguji : Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes
3. Penguji : Dr. Imam Susilo, dr., Sp.PA(K)
4. Penguji : Dr. Prihartini Widiyanti drg., M.Kes, S. Bio, CCD
5. Penguji : Dr. Reni Prastyani, dr., Sp.M., M.Kes

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT karena dengan limpahan rahmat dan karunia-Nya penelitian ini dapat diselesaikan. Banyak pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga dalam kesempatan ini saya menghaturkan rasa hormat, penghargaan, dan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. **Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)** sebagai Ketua Penguji dan Kepala Departemen yang telah dengan sabar memberikan dorongan, arahan, dan semangat kepada kami untuk menyelesaikan penelitian kami.
2. **Yulia Primitasari, dr., Sp.M(K)** sebagai Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Mata yang telah dengan sabar memberikan dorongan, arahan, dan semangat kepada kami untuk menyelesaikan penelitian kami.
3. **Dr. Reni Prastyani, dr., Sp.M, M.Kes** sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktu ditengah kesibukan tugas memberikan bimbingan, koreksi, dukungan semangat serta pengarahan dalam penyusunan penelitian ini.
4. **Dr. Prihartini Widiyanti drg., M.Kes, S. Bio, CCD**, sebagai pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, semangat, dan bahan kepustakaan yang bermanfaat dalam penyusunan penelitian ini.
5. **Dr. Imam Susilo, dr., Sp.PA(K)** sebagai pembimbing dan konsultan ahli Patologi Anatomi yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan penelitian ini.
6. **Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes**, sebagai konsultan ahli Penelitian dan Statistika yang memberikan bimbingan dan arahan yang bermanfaat dalam penyusunan penelitian ini.

7. **Ria Sandy Deneska, dr., SpM(K)** sebagai dosen wali/ Ibu asuh yang telah memberikan semangat dan arahan dalam penyusunan penelitian ini.
8. **Prof. Dr. Hendrian Dwikoloso Soebagjo, dr., Sp.M(K)** selaku koordinator penelitian yang telah memberikan semangat dan arahan dalam penyusunan penelitian ini .
9. **Seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar** Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Unair/RSUD Dr. Soetomo atas bimbingannya selama ini.
10. **Teman-teman sejawat PPDS I** Ilmu Kesehatan Mata atas segala dukungan, bantuan, dan dorongan semangatnya.
11. **Moderator dan Sekretaris Sidang** yang telah memimpin sidang dalam penyajian penelitian ini.

Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan telah membantu seluruh proses penyusunan usulan penelitian ini, kami ucapkan terima kasih. Semoga amal baik yang telah diberikan mendapat balasan yang setimpal serta mendapatkan berkah dan rahmat Allah SWT.

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

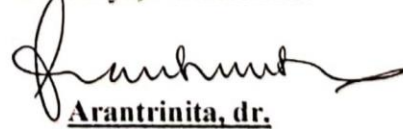
Sebagai civitas akademika Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arantrinita, dr
NIM : 011618016304
Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata
Departemen : Pascasarjana
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas tesis saya yang berjudul “Pengaruh Pemberian Komposit Kolagen-Kitosan- Natrium Hialuronat Terhadap Tingkat Neovaskularisasi dan Ekspresi Protein *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) sebagai Reaksi Angiogenesis pada Perlukaan Stroma Kornea Kelinci (Studi Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)”

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Airlangga berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelola, dalam bentuk pangkalan data, merawat, dan mempublikasikan tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 9 Maret 2021


Arantrinita, dr.
NIM: 011618016304

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN KOMPOSIT KOLAGEN-KITOSAN- NATRIUM
HIALURONAT TERHADAP TINGKAT NEOVASKULARISASI DAN
EKSPRESI PROTEIN *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR*
(VEGF) SEBAGAI REAKSI ANGIOGENESIS PADA PERLUKAAN STROMA
KORNEA KELINCI NEW ZEALAND**

Arantrinita

Kornea merupakan media refrakta penting pada mata dimana mendukung dua pertiga dari total kekuatan refraktif mata. Jaringan kornea bersifat avaskuler dan memiliki kelebihan *angiogenic privilege*, merupakan kemampuan kornea untuk mempertahankan kondisi avaskuler dengan cara mencegah timbulnya neovaskularisasi yang tumbuh dari jaringan sekitar. Tetapi, proses inflamasi pada penyembuhan luka kornea dapat mempengaruhi kondisi tersebut sehingga menimbulkan kekeruhan dan timbul pembuluh darah pada jaringan kornea. Hal ini dapat menyebabkan gangguan penglihatan hingga kebutaan. Keratoplasti adalah modalitas terapi utama untuk menggantikan jaringan kornea patologis, tetapi karena keterbatasan donor keratoplasti, maka saat ini telah banyak dikembangkan terapi alternatif untuk memulihkan regenerasi kornea salah satunya adalah penggunaan biomaterial dalam bentuk alat prostetik dengan bahan komposit. Komposisi komposit yang baik dapat mengurangi akumulasi dan pergantian komponen matriks ekstraseluler pada cedera jaringan, memediasi respon imun, mencegah neovaskularisasi dan mengurangi deposisi fibroblas sehingga mengurangi terbentuknya jaringan parut. Beberapa penelitian terbaru mengembangkan komposisi untuk mencapai kriteria tersebut, diantaranya adalah komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat.

Komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat merupakan biopolimer natural yang dinilai memiliki sifat biokompatibilitas yang baik, biodegradabel, dan tidak beracun. Kolagen adalah protein yang paling banyak dalam jaringan mamalia dan komponen utama dari matriks ekstraseluler alami. Kitosan merupakan senyawa turunan kitin polisakarida, memiliki kesamaan struktur terhadap glikosaminoglikan, memiliki sifat seperti jaringan tubuh manusia dan dapat diuraikan oleh enzim pada manusia. Asam hialuronat adalah glikosaminoglikan paling sederhana dan ditemukan hampir setiap jaringan mamalia, merupakan polisakarida utama dari matriks ekstraseluler, terletak di permukaan maupun di dalam sel. Sehingga diharapkan dari ketiga komposisi tersebut dapat diperoleh kelebihan yaitu selain mudah diperoleh dan diproduksi, komposit tersebut aman dan dapat meningkatkan regenerasi jaringan kornea.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan desain *randomized post test only group design* untuk mengevaluasi perbedaan tingkat neovaskularisasi dan ekspresi protein VEGF pada kelinci jantan dewasa New Zealand yang dilakukan perlakuan stroma kornea dan implantasi membran komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat. Sebanyak 20 ekor kelinci putih jantan dewasa New Zealand (30 mata) dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama adalah mata kiri tanpa perlakuan apapun. Kelompok kedua adalah mata kanan yang dilakukan perlakuan stroma kornea. Kelompok ketiga adalah mata kanan yang dilakukan perlakuan stroma kornea dan implantasi komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat. Pada hari ke-14 dilakukan sedasi, dinilai tingkat neovaskularisasi secara klinis, dilakukan enukleasi, kemudian jaringan kornea dilakukan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan antibodi anti VEGF.

Hasil penelitian 14 hari setelah perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan tingkat neovaskularisasi pada kelompok tanpa perlakuan, kelompok perlakuan stroma, dan kelompok implant komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat ($p = 0.012$, $\alpha < 0.05$). Empatpuluh persen kelinci yang mendapat komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat menghasilkan tingkat neovaskularisasi yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan perlakuan stroma yang tidak diberikan komposit biomaterial karena pembuluh darah yang baru berguna mengawali proses penyembuhan luka dengan mekanisme mengantarkan faktor penyembuhan ke lesi. Begitu pula dengan persentase ekspresi protein VEGF pada kelompok tanpa perlakuan, kelompok perlakuan stroma, dan kelompok implant komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat terdapat perbedaan yang signifikan ($p = 0.000$, $\alpha < 0.05$). Komposit kolagen-kitosan-natrium hialuronat menghasilkan ekspresi protein VEGF yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan perlakuan stroma yang tidak diberikan komposit biomaterial menunjukkan berlangsungnya proses penyembuhan luka.

SUMMARY

THE EFFECT OF COLLAGEN-CHITOSAN-NATRIUM HYALURONATE COMPOSITE BIOMATERIAL ON NEOVASCULARIZATION LEVEL AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) PROTEIN EXPRESSION AS ANGIOGENESIS REACTION IN RABBIT CORNEAL STROMA'S WOUND

Arantrinita

Cornea is an essential refractory tissue in the eye that supports two-thirds of the eye's total refractive power. Corneal tissue is avascular and has angiogenic privilege, which is the cornea's ability to maintain its avascular condition by preventing neovascularization that grows from the surrounding tissue. However, the inflammatory process in corneal wound healing can affect this condition, causing cloudiness and blood vessels to appear in the corneal tissue that can lead to visual disturbances to blindness. Keratoplasty is the primary therapeutic modality to replace pathological corneal tissue. Due to limited donor keratoplasty, many alternative therapies developed to restore corneal regeneration, one of which is biomaterials in prosthetic devices with composite materials. An excellent composite composition can reduce the accumulation and replacement of extracellular matrix components in tissue injury, mediate the immune response, prevent neovascularization and reduce fibroblast deposition, thereby reducing scar tissue formation. Several recent studies have developed compositions to achieve these criteria, including collagen-chitosan-sodium hyaluronic composites.

Collagen-chitosan-sodium hyaluronic composite is a natural biopolymer considered to have good biocompatibility, biodegradable, and non-toxic properties. Collagen is the most abundant protein in mammalian tissues and a significant component of the biological extracellular matrix. Chitosan is a polysaccharide chitin derivative compound, has a similar structure to glycosaminoglycans, has properties like human body tissues, and can be broken down by enzymes in humans. Hyaluronic acid is the simplest glycosaminoglycan and found in almost every mammalian tissue. It is the extracellular matrix's main polysaccharide, located both on the surface and inside the cell. So that from the three compositions, advantages can be obtained; in addition to being easy to get and produce, the composite is safe and can increase corneal tissue regeneration.

This study is a true experimental study with a randomized posttest only group design to evaluate differences in the level of neovascularization and VEGF expression in adult male New Zealand rabbits with corneal stromal injury and implantation of a

collagen-chitosan-sodium hyaluronic composite membrane. 20 New Zealand adult male white rabbits (30 eyes) were divided into three groups. The first group is the left eye without any treatment. The second group was the right eye with the corneal stromal injury. The third group was the right eye with corneal stromal injury and implantation of the collagen-chitosan-sodium hyaluronic composite. On day 14, we performed sedation on the rabbit, and we assessed the degree of neovascularization clinically. Then rabbits were enucleated, and the corneal tissue was examined for immunohistochemistry using anti-VEGF antibodies.

The results of the study showed that there were significant differences in the level of neovascularization between control, stromal injury group, and composite group ($p = 0.012$, $\alpha < 0.05$). Forty percent of rabbits who received the collagen-chitosan-sodium hyaluronic composite produced significantly higher levels of neovascularization than stromal injuries that were not given biomaterial composites because the new blood vessels were used to initiate the wound healing process by delivering healing factors to the lesions. Likewise, the percentage of VEGF expression in the untreated group, the stromal injury group, and the collagen-chitosan-sodium hyaluronic composite implant group had a significant difference ($p = 0.000$, $\alpha < 0.05$). Collagen-chitosan-sodium hyaluronic composites produced significantly lower VEGF expression compared to stromal injuries that were not given biomaterial composites, indicating that the wound healing process was ongoing.