

**EFEK PEMBERIAN PIRFENIDONE TERHADAP
DIFERENSIASI SEL INTERSTITIAL KATUP
KELINCI YANG DIINDUKSI OLEH TGF- β 1
BERDASARKAN EKSPRESI α - *SMOOTH MUSCLE*
*ACTIN***

**Karya Akhir untuk Mendapatkan Keterangan Keahlian di Bidang
Kardiologi dan Kedokteran Vaskular**



Peneliti

Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr.

NIM 011818136307

Pembimbing

Mochammad Yusuf, dr., PhD, Sp.JP(K), FIHA, FESC, FAsCC

Prof. Dr. dr. Budi S. Pikir, Sp.PD, Sp.JP (K), FIHA, FasCC

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
DEPARTEMEN ILMU PENYAKIT JANTUNG DAN PEMBULUH DARAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**

2022

**EFEK PEMBERIAN PIRFENIDONE TERHADAP
DIFERENSIASI SEL INTERSTITIAL KATUP
KELINCI YANG DIINDUKSI OLEH TGF- β 1
BERDASARKAN EKSPRESI α - *SMOOTH MUSCLE*
*ACTIN***

KARYA AKHIR

**Untuk Mendapatkan Keterangan Keahlian pada
Program Pendidikan Dokter Spesialis-1
Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

Oleh:

Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr.

NIM 011818136307

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 DEPARTEMEN
KARDIOLOGI DAN KEDOKTERAN VASKULAR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA RSUD Dr.
SOETOMO SURABAYA**

2022

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA AKHIR

EFEK PEMBERIAN PIRFENIDONE TERHADAP DIFERENSIASI SEL INTERSTITIAL KATUP KELINCI YANG DIINDUKSI OLEH TGF- β 1 BERDASARKAN EKSPRESI α - *SMOOTH MUSCLE ACTIN*

Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr.
NIM 011818136307

Karya akhir ini telah disetujui untuk diajukan pada tanggal 13 Oktober 2022
Oleh:

Pembimbing

Mochammad Yusuf, dr., PhD, Sp.JP(K)


.....

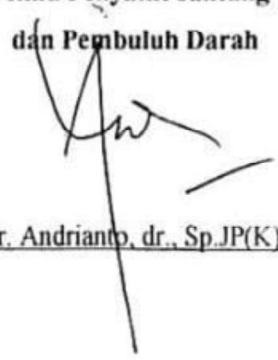
Prof. Dr. dr. Budi S. Pikir, Sp.PD, Sp.JP (K)


.....

Mengetahui,

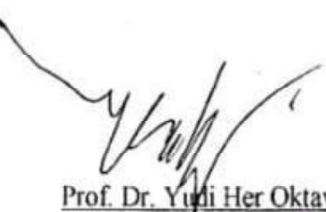
Koordinator Program Studi

Ilmu Penyakit Jantung
dan Pembuluh Darah


Dr. Andrianto, dr., Sp.JP(K)

Ketua Departemen

Kardiologi dan Kedokteran Vaskular


Prof. Dr. Yudi Her Oktaviono, dr.
Sp.JP (K), MM

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS
HASIL PENELITIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr

NIM : 011818136307

Judul Penelitian : **EFEK PEMBERIAN PIRFENIDONE TERHADAP
DIFERENSIASI SEL INTERSTITIAL KATUP
KELINCI YANG DIINDUKSI OLEH TGF- β 1
BERDASARKAN EKSPRESI α – *SMOOTH MUSCLE
ACTIN***

Dengan ini menyatakan bahwa karya akhir ini adalah hasil karya saya sendiri dan benar keasliannya serta berasal dari data asli dan bukan hasil rekayasa. Apabila di kemudian hari penelitian ini mengandung plagiasi atau penjiplakan atau hasil karya orang lain, maka saya bersedia bertanggung jawab. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan

Surabaya, 13 Oktober 2022

Yang membuat pernyataan,



Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr.

NIM. 011818136307

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr.
NIM : 011818136307
Program Studi : Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah
Departemen : Kardiologi dan Kedokteran Vaskular
Fakultas : Kedokteran Universitas Airlangga
Jenis : Karya Akhir
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga Surabaya Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non – Exclusive Royalty Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Efek Pemberian Pirfenidone terhadap Diferensiasi Sel Interstitial Katup Kelinci yang Diinduksi oleh TGF- β 1 Berdasarkan Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin*”
Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non eksklusif ini, Universitas Airlangga Surabaya berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 13 Oktober 2022

Yang membuat pernyataan,



Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr
NIM 011818136307

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, rahmat dan anugerah-Nya sehingga karya akhir dengan judul “Efek Pemberian Pifnenidone terhadap Diferensiasi Sel Interstitial Katup Kelinci yang Diinduksi oleh TGF- β 1 Berdasarkan Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin*” telah terselesaikan dengan baik. Penulis menyadari bahwa karya akhir ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Kepada Mochammad Yusuf, dr., PhD, Sp.JP(K) dan Prof. Dr. dr. Budi S. Pikir, Sp.PD, Sp.JP (K) selaku pembimbing karya akhir, pembimbing metodologi penelitian dan statistik serta sebagai koordinator penelitian, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan, dukungan dan semangat yang telah diberikan untuk menyelesaikan penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis juga menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT, Ak., CMA selaku rektor Universitas Airlangga; Prof. Dr. dr. Soetojo, Sp.U(K) dan Prof. Dr. dr. Budi Santoso, Sp.OG(K) selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga; dr.H. Harsono dan Dr. dr. Djoni Wahyuhadi, Sp.BS(K) selaku direktur RSUD dr. Soetomo Surabaya atas kesempatan belajar yang diberikan. Muhammad Aminuddin, dr., Sp.JP(K), FIHA., FAsCC selaku Kepala Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular FK Unair saat penulis memulai pendidikan saat penulis memulai pendidikan atas kesempatan untuk menempuh pendidikan, bimbingan serta bantuannya selama pendidikan.

2. dr. Muhammad Aminuddin, Sp.JP(K) dan dr. Agus Subagjo, Sp.JP(K) selaku kepala Departemen Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah saat kami menempuh pendidikan dan Prof. Dr. Yudi Her Oktaviono, dr. Sp.JP(K), MM selaku kepala Departemen Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah saat ini atas kesempatan belajar yang diberikan
3. Andrianto, dr., Sp.JP(K), FIHA, FAsCC selaku Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah FK Unair pada saat ini atas kesempatan menempuh pendidikan, dan bimbingan serta bantuannya selama pendidikan.
4. Seluruh staf pengajar Program Studi Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSUD dr. Soetomo: Prof. Dr. R.M. Yogiarto, Sp.JP(K), Prof. Dr. dr. Djoko Soemantri, Sp.JP(K), Prof. Dr. dr. Budi Susetyo Pikir, Sp.JP(K), Prof. Dr. dr. Rochmad Romdhoni, Sp.JP(K), dr. RP. Soeharsohadi, Sp.JP(K), dr. Iswanto Pratanu, Sp.JP(K), dr. Esti Hindariati, Sp.JP(K), dr. Budi Baktijasa, Sp.JP(K), Dr. dr. I Gde Rurus Suryawan, Sp.JP(K), dr. Bambang Herwanto, Sp.JP(K), Dr. dr. Achmad Lefi, Sp.JP(K), Prof. Dr. dr. Yudi Her Oktaviono, Sp.JP(K), Dr. dr. J. Nugroho Eko P., Sp.JP(K), Dr. dr. Andrianto, Sp.JP(K), dr. Moh. Budiarto, Sp.JP(K), dr. M. Yusuf A, Sp.JP(K), Ph.D, Dr. dr. Meity Ardiana, Sp.JP(K), dr. Rosi Amrilla Fagi, Sp.JP(K), dr. Rerdin Julario, Sp.JP(K), dr. Aldhi Pradana, Sp.JP(K), dr. Nia Dyah Rahmianti, Sp.JP, dr. Ratih Rachmanyati Pasah, Sp.JP, dr. Alisia Yuana Putri, Sp.JP, dr. Nadya Lutfah, Sp.JP, dr. Anudya Kartika Ratri, Sp.JP, dr. Rendra Mahardhika Putra, Sp.JP,

dr. Suryo Ardi Hutomo, Sp.JP, dr. Dian Paramita K, Sp.JP, dr. Christian Pramudita B, Sp.JP, dr. Hendri Susilo, Sp.JP, dr. Irma Maghfirah, Sp.JP, dr. M. Rafdi Amadis, Sp.JP atas segala bimbingan, bantuan dan semangat yang diberikan selama pendidikan.

5. Dr. Purwati, dr., Sp.PD, FINASIM, selaku kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga Surabaya beserta jajaran staf dan teknisnya (Deya Karsari, drh., M.Si., dkk) yang telah memberikan saya kesempatan dan dukungan untuk melakukan penelitian di tempat tersebut, memberikan bantuan, dukungan, dan arahan untuk menyelesaikan karya akhir ini.
6. Ketua Departemen dan Seluruh Staf Pengajar Divisi Kardiologi Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo : Prof. Dr. dr. Teddy Ontoseno, Sp.A(K), Sp.JP, Dr. dr. Mahrus A. Rahman, Sp.A(K), dr. I Ketut Alit Utamayasa, Sp.A(K), dan dr. Taufiq Hidayat, Sp.A(K) yang telah banyak membimbing penulis selama masa pendidikan di Divisi Kardiologi Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak.
7. Ketua Departemen/SMF dan seluruh staf pengajar Ilmu Penyakit Dalam, Ilmu Penyakit Paru dan Kedokteran Respirasi, Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, serta Anestesiologi dan Reanimasi beserta staf pengajar atas kesempatan belajar serta bimbingannya selama pendidikan.
8. Kepala Ruangan Rawat Inap PPJT, Poliklinik Jantung, ICCU, IDIK, IRD dan Ekokardiografi beserta seluruh staf paramedis RSUD Dr. Soetomo

Surabaya dan karyawan bagian Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah FK Unair atas segala bimbingan, kerjasama, motivasi dan bantuannya selama pendidikan.

9. Seluruh karyawan Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular FK Unair – RSUD Dr. Soetomo, mbak Sri Rejeki, mbak Lita, Pak Donny, mbak Fita, mbak Anna, mbak Herlina, pak Tomo, pak Rin, pak Bambang (Alm.) atas segala bantuannya selama penulis menjalani pendidikan
10. Seluruh pasien yang telah dirawat maupun subyek penelitian atas ketulusan dan kerjasamanya, sekaligus menjadi guru bagi penulis selama pendidikan.
11. Rekan-rekan seangkatan penulis Ni Putu Anggun Laksmi, dr., Muhammad Gani Ariftrianto, dr., Wisda Medika Valentidenta, dr., Muhammad Dedy Pratama, dr., Aprilia Romdiyana, dr., Fatimah Azzahra, dr., dan Denisa Nugrahita Asmarani Ranuh, dr. atas kerjasama, dukungan, motivasi dan semangat selama pendidikan.
12. Rekan satu tim penelitian saya Ardianto Nandiwardhana, dr. dan IGN Iswan Ranuh, dr.
13. Seluruh rekan-rekan PPDS-1 Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga khususnya atas segala kerjasama, bantuan dan semangat selama pendidikan.
14. Orang tua penulis: Ayah saya (Alm) Eko Hargiyanto yang semasa hidupnya selalu mengajarkan nilai-nilai positif dalam kehidupan, Ibu saya Dewi Retno Suminar, dan kakak serta adik-adik saya yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan dan semangat selama masa pendidikan.

15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu – persatu, yang turut membantu dan mendukung penulis selama menjalani pendidikan.

Penulis menyadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu diharapkan sumbang saran dan kritik dari semua pihak demi perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap karya akhir ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Tidak lupa penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas segala kekurangan dan kesalahan yang dilakukan selama menjalani pendidikan.

Surabaya, 13 Oktober 2022

Yang membuat pernyataan,



Erlangga Diasmara Hargiyanto, dr

NIM 01181813630

ABSTRAK

Efek Pemberian Pirfenidone terhadap Diferensiasi Sel Interstitial Katup Kelinci yang Diinduksi oleh TGF- β 1 Berdasarkan Ekspresi Alpha Smooth Muscle Actin

Erlangga Diasmara Hargiyanto, Mochamad Yusuf Alsagaff, Budi Susetyo Pikir

Latar Belakang: Penyakit jantung rematik merupakan sekuele dari demam rematik akut yang masih merupakan masalah kesehatan masyarakat. Pemberian antibiotik jangka panjang pada proses peradangan kronis dengan inflamasi yang steril selain memiliki compliance yang jelek, juga berpotensi menimbulkan resistensi antibiotik. Pada penyakit jantung rematik, diferensiasi sel interstitial katup menjadi miofibroblas berperan penting dalam proses *remodelling* dan fibrosis katup. TGF- β 1 telah dibuktikan pada berbagai studi sebagai sitokin utama yang terlibat dalam induksi diferensiasi miofibroblastik. Pemberian pirfenidone dengan mekanisme utama menghambat TGF- β 1 akan memberikan alternatif terapi sehingga proses fibrosis katup dapat diminimalisir.

Tujuan: Membuktikan kemampuan penghambatan pirfenidone dosis 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L terhadap diferensiasi sel interstitial katup kelinci yang diinduksi oleh TGF- β 1 menjadi miofibroblas berdasarkan ekspresi α -SMA dibandingkan control dan membuktikan signifikansi perbedaan pada masing-masing dosis yang diberikan.

Metode: Penelitian ini merupakan *in vitro* laboratory experimental posttest only control group design. Sel interstitial katup diisolasi dari katup jantung kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*), diinduksi fibrosis dengan pemberian TGF- β 1 5 ng/ml. Sel interstitial katup yang di-pretreatment dengan TGF- β 1 diberikan perlakuan penghambatan dengan pirfenidone dosis 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L. Penghambatan diferensiasi miofibroblastik diamati dengan metode imunositokimia berdasarkan ekspresi α SMA. Kemaknaan statistik dianalisis dengan uji statistik *Kruskal-Wallis* kemudian *Post-hoc Mann-Whitney* dengan nilai $p < 0.05$ sebagai batas kemaknaan.

Hasil: Pemberian pirfenidone dosis 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L secara signifikan menurunkan diferensiasi miofibroblastik sel interstitial katup terinduksi TGF- β 1 yang ditandai dengan penurunan ekspresi α SMA pada semua kelompok perlakuan. Ekspresi α SMA pada kelompok pirfenidone dosis 500 μ M/L sebesar 4.590 (2.79-5.49). Ekspresi α SMA pada kelompok pirfenidone dosis 100 μ M/L sebesar 5.340 (3.57-12.23) dan potensi penghambatan terbesar dimiliki oleh kelompok perlakuan dengan ekspresi α SMA terendah berada pada kelompok pirfenidone dosis 1000 μ M/L dengan rerata penurunan ekspresi dibandingkan kontrol (3.945 (2.76-5.42) vs 31.745 (21.46-45.09); $p < 0.001$). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Pirfenidone dosis 100 μ M/L

dengan 500 $\mu\text{M/L}$ ($p=0.001$), namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Pirfenidone dosis 500 $\mu\text{M/L}$ dengan 1000 $\mu\text{M/L}$ ($p=0.197$).

Kesimpulan: Pirfenidone dosis 100 $\mu\text{M/L}$, 500 $\mu\text{M/L}$, dan 1000 $\mu\text{M/L}$ secara signifikan dapat menghambat diferensiasi sel interstitial katup menjadi miofibroblas berdasarkan ekspresi αSMA . Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Pirfenidone dosis 100 $\mu\text{M/L}$ dengan 500 $\mu\text{M/L}$, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Pirfenidone dosis 500 $\mu\text{M/L}$ dengan 1000 $\mu\text{M/L}$.

Kata Kunci: Sel interstitial katup, miofibroblas, α -Smooth Muscle Actin, pirfenidone.

ABSTRACT

Effect of Pirfenidone on Rabbit Valve Interstitial Cell Differentiation Induced by TGF- β 1 Based on Alpha Smooth Muscle Actin Expression

Erlangga Diasmara Hargiyanto, Mochamad Yusuf Alsagaff, Budi Susetyo Pikir

Background: Rheumatic heart disease is a sequela of acute rheumatic fever which is still a public health problem. In rheumatic heart disease, the differentiation of valve interstitial cells into myofibroblasts plays an important role in the remodeling process and valve fibrosis. TGF- β 1 has been proven in various studies as the main cytokine involved in the induction of myofibroblastic differentiation. The administration of pirfenidone with the main mechanism of inhibiting TGF- β 1 will provide alternative therapy so that the process of valve fibrosis can be minimized.

Objective: To analyze the inhibitory ability of pyrfernidone doses of 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L on the differentiation of rabbit valve interstitial cells induced by TGF- β 1 into myofibroblasts based on α SMA expression compared to control and analyze the significance of the differences at each dose given.

Methods: This study is an in vitro laboratory experimental posttest only control group design. Valve interstitial cells isolated from heart valves of New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), induced fibrosis by administration of TGF- β 1 5 ng/ml. Valve interstitial cells pretreated with TGF- β 1 were given inhibitory treatment with pirfenidone at doses of 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L. Inhibition of myofibroblastic differentiation was observed by immunocytochemical method based on α SMA expression. Statistical significance was analyzed by Kruskal-Wallis statistical test and then Post-hoc Mann-Whitney with $p < 0.05$ as the limit of significance.

Results: The administration of pirfenidone in doses of 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L significantly decreased TGF- β 1-induced myofibroblastic differentiation of valve interstitial cells, which was characterized by a decrease in α SMA expression in all treatment groups. The expression of α SMA in the 500 μ M/L dose of pirfenidone group was 4,590 (2.79-5.49). The expression of α SMA in the 100 μ M/L dose of pyrfernidone group was 5.340 (3.57-12.23) and the greatest inhibitory potential belonged to the treatment group with the lowest α SMA expression in the 1000 μ M/L dose of pirfenidone group with a mean decrease in expression compared to control (3,945 (2.76-5.42) vs 31,745 (21.46-45.09); $p < 0.001$). There were significant difference between 100 μ M/L vs 500 μ M/L dose of Pirfenidone ($p=0.001$), but there was no significant difference between 500 μ M/L vs 1000 μ M/L dose of Pirfenidone ($p=0.197$).

Conclusion: Pirfenidone doses of 100 μ M/L, 500 μ M/L, dan 1000 μ M/L could significantly inhibit the differentiation of valve interstitial cells into myofibroblasts based on SMA expression. There were significant differences between 100 μ M/L

vs 500 $\mu\text{M/L}$ dose of Pirfenidone, but there was no significant difference between 500 $\mu\text{M/L}$ vs 1000 $\mu\text{M/L}$ dose of Pirfenidone.

Keywords: Valve interstitial cells, myofibroblasts, α -Smooth Muscle Actin, pirfenidone.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR GAMBAR.....	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Akademis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Katup Jantung.....	7
2.2. Sel Interstitial Katup (<i>Valvular Interstitial Cell</i>)	7
2.2.1. Definisi dan Karakterisasi Sel Interstitial Katup.....	7
2.2.2. Jenis Sel Interstitial Katup	9
2.2.3. Morfologi Sel Interstitial Katup	17
2.2.4. Marka Spesifik VIC.....	18
2.2.5. Diferensiasi Sel Interstitial Katup.....	19
2.3. Matrik Ekstrasel Penyusun Katup	22
2.4. Sifat dan Peran Biokimia <i>Transforming Growth Factor- β1</i>	23
2.5. Miofibroblas	25
2.6. Fibrosis	29
2.7. Patogenesis Fibrosis Katup pada Demam Rematik Akut	30
2.8. Efek In vitro TGF- β 1 pada Fibroblas dan Miofibroblas	32
2.9. Patologi Perubahan Katup pada Penyakit Jantung Rematik.....	33
2.10. Mekanisme Antifibrosis Pirfenidone	34
2.11. Dosis Pirfenidone sebagai antifibrosis pada penelitian in vitro.....	36
2.12 Ekstrapolasi dosis hewan ke manusia.....	37
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	38
3.1. Kerangka Konsep.....	38
3.2. Keterangan Kerangka Konsep.....	39
3.3. Hipotesis Penelitian	39
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	41

4.1. Rancangan dan Desain Penelitian	41
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian	42
4.3. Sampel Penelitian	42
4.3.1. Besar Sampel Penelitian	42
4.4. Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional	43
4.4.1 Variabel Independen	43
4.4.2. Variabel Independen	43
4.4.3. Variabel Eksperimental	43
4.4.4. Variabel Kontrol	43
4.5. Alat dan Bahan Penelitian	44
4.6. Prosedur Penelitian	46
4.7. Skema Penelitian	55
4.8. Analisa Data	56
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	58
5.1 Hasil Isolasi Sel Interstitial Katup.	58
5.2 Ekspresi Penanda Sel Interstitial Katup.....	59
5.3 Ekspresi Penanda Miofibroblas	59
5.4 Analisis Kuantitas Penanda VIC dan Miofibroblas	60
5.4.1 Analisis Kuantitas Penanda Vimentin Sel Interstitial Katup.	60
5.4.2 Analisis Kuantitas Penanda α -SMA Miofibroblas	61
5.5 Ekspresi dan Analisis Kuantitas Penanda α SMA pada Kelompok Perlakuan.	62
5.6. Analisis Perbandingan Berbagai Dosis Pirfenidone terhadap Kontrol	

dalam Penghambatan Diferensiasi Miofibroblastik berdasarkan Ekspresi α SMA.....	63
5.7. Analisis Uji Signifikansi antar Dosis Pirfenidone dalam Penghambatan Diferensiasi Miofibroblastik berdasarkan Ekspresi α SMA	68
BAB 6 PEMBAHASAN.....	70
6.1 Hasil Isolasi dan Ekspresi Penanda Sel Interstitial Katup.	70
6.2 Ekspresi Penanda α SMA Miofibroblas	71
6.3 Analisis Kuantitas Ekspresi α SMA Miofibroblas	73
6.4 Efek Pirfenidone terhadap Penghambatan Diferensiasi Miofibroblastik berdasarkan Ekspresi α SMA	75
6.5 Dosis Pirfenidone terhadap Penghambatan Diferensiasi Miofibroblastik berdasarkan Ekspresi α SMA	76
6.6 Keterbatasan Penelitian.	78
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	79
7.1 Kesimpulan.....	79
7.2 Saran.....	80
DAFTAR PUSTAKA.....	81
LAMPIRAN.	95

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi Jenis dan Fungsi VIC.	10
Tabel 4.1. Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional	43
Tabel 5.1. Rerata Kuantitas Ekspresi Vimentin pada Sel Interstitial Katup	61
Tabel 5.2. Rerata Kuantitas Ekspresi α SMA pada Miofibroblas	61
Tabel 5.3. Uji Normalitas Data dan Mann-Whitney Kelompok Paparan TGF β 1 dan Kontrol	62
Tabel 5.4. Kuantitas Ekspresi α SMA pada Kelompok Perlakuan.....	63
Tabel 5.5. Uji Normalitas Data dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov.....	64
Tabel 5.6. Uji Kruskal-Wallis Pirfenidone dan Kontrol.....	64
Tabel 5.7. Uji Post-hoc Mann-Whitney Pirfenidone dan Kontrol.....	65
Tabel 5.8. Uji Kruskal-Wallis antar Dosis Pirfenidone	68
Tabel 5.9. Uji Post-hoc Mann-Whitney antar dosis Pirfenidone	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur <i>Trilayered</i> Matriks Ekstrasel Katup	8
Gambar 2.2. Jenis Sel Interstitial Katup	9
Gambar 2.3. Stimulus Eksternal Aktivasi VIC dan Fungsi VIC.....	15
Gambar 2.4. Morfologi VIC pada Kultur	17
Gambar 2.5. Diferensiasi Patologis Sel Intertitial Katup.....	21
Gambar 2.6. Peran TGF- β 1	25
Gambar 2.7. Mikrograf Elektron VIC dan Miofibroblas.....	26
Gambar 2.8. Jalur Aktivasi TGF- β 1/ Smad dan MAPK	29
Gambar 2.9. <i>Aschoff Body</i>	32
Gambar 2.10. Penebalan daun katup, korda, dan fusi komisura.....	33
Gambar 2.11. <i>Fish mouth appearance</i> dan Penebalan Aparatus.....	34
Gambar 2.12. Mekanisme antifibrosis Pirfenidone dengan berbagai jalur.....	36
Gambar 2.13. Efek pemberian Pirfenidone dengan berbagai dosis.....	37
Gambar 2.14 Referensi konversi dosis obat hewan ke manusia.....	37
Gambar 5.1 Morfologi Sel Interstitial Katup.....	58
Gambar 5.2 Ekspresi Vimentin pada Sel Interstitial Katup.....	59
Gambar 5.3. Morfologi Sel Miofibroblas	60
Gambar 5.4. Perbandingan Efek Kelompok Perlakuan terhadap Kontrol.....	66
Gambar 5.5 Tampilan Mikroskop Cahaya dan Imunofloresensi	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Anggaran Penelitian.....	95
Lampiran 2 Analisis Hasil Uji Statistik	97
Lampiran 3 Surat Kelaikan Etik	104

DAFTAR SINGKATAN

α -SMA	: α -Smooth Muscle Actin
ALP	: Alkaline phosphatase
Ang (1-7)	: Angiotensin (1-7)
ANOVA	: Analysis of Variance
AT1R	: Angiotensin II type 1 Receptor
aVIC	: activated VIC
BMP	: Bone Morphogenetic Protein
CD	: Cluster of Differentiation
CBF α 1	: CBF-alpha-1
DC	: Dendritic Cell
ECM	: Extracellular Matrix
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
EMT	: Epithelial-Mesenchymal Transition
ENPP1	: Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase
EPC	: Endothelial Progenitor Cell
ERK 1/2	: Extracellular-Signal-Regulated Kinase
FGF	: Fibroblast Growth Factor
FSP1	: Fibroblast-Specific Protein-1
FBS	: Fetal Bovine Serum
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
FOXO1	: Forkhead Box O1
HA	: Hyaluronic Acid
HAS2	: Hyaluronan Synthase 2
HBSS	: Hank's Balanced Salt Solution
HMG-CoA	: 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A
ICAM	: Intracellular Adhesion Molecule
LTBP	: Latent TGF- β -Binding Protein
IL	: Interleukin

JNK	: Jun N-terminal kinase
LAP	: <i>Latency-Associated Peptide</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MCP	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein</i>
MRTF	: <i>Myocardin Related Transcription Factor</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor κB</i>
obVIC	: <i>Osteoblastic VIC</i>
PPi/Pi	: <i>Diphosphate/Monophosphate</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PMC	: <i>Percutaneous Mitral Commissurotomy</i>
PML	: <i>Posterior Mitral Leaflet</i>
PPARγ	: <i>Peroxisome Proliferator Activated γ</i>
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor α</i>
RUN-X2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
TLR	: <i>Toll-like receptors</i>
pVIC	: <i>Progenitor VIC</i>
qVIC	: <i>Quiescent VIC</i>
Smad	: <i>Small mothers against decapentaplegic</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TAVR	: <i>Transcatheter Aortic Valve Replacement</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substance</i>
TLR	: <i>Toll-like receptor</i>
TGF-β1	: <i>Transforming Growth Factor β1</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEC	: <i>Valve Endothelial Cell</i>
VE Cadherin	: <i>Vascular Epithelium Cadherin</i>
VIC	: <i>Valvular Interstitial Cell</i>