

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN MEMBRAN *PLATELET RICH FIBRIN*
TERHADAP EKSPRESI *ALPHA SMOOTH MUSCLE ACTIN* DAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA PADA KERATITIS
Pseudomonas aeruginosa (STUDI EKSPERIMENTAL PADA
ORYCTALOGUS CUNICULUS)**



Oleh:

Bimanda Rizki Nurhidayat
NIM. 012015653101

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN MEMBRAN *PLATELET RICH FIBRIN*
TERHADAP EKSPRESI *ALPHA SMOOTH MUSCLE ACTIN* DAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA PADA KERATITIS
Pseudomonas aeruginosa (STUDI EKSPERIMENTAL PADA
ORYCTALOGUS CUNICULUS)**

Oleh:
Bimanda Rizki Nurhidayat, dr.

NIM:
012015653101

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN MEMBRAN *PLATELET RICH FIBRIN*
TERHADAP EKSPRESI *ALPHA SMOOTH MUSCLE ACTIN* DAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA PADA KERATITIS
Pseudomonas aeruginosa (STUDI EKSPERIMENTAL PADA
ORYCTALOGUS CUNICULUS)**

Diajukan sebagai syarat memperoleh gelas Magister Kedokteran Klinik
(M. Ked. Klin)
Program Studi Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:
Bimanda Rizki Nurhidayat, dr.

NIM:
012015653101

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

Menyetujui tesis yang berjudul:

Pengaruh Pemberian Membran *Platelet Rich Fibrin* Terhadap Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin* Dan *Transforming Growth Factor Beta* Pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Studi Eksperimental Pada *Oryctolagus Cuniculus*)

Akan dipresentasikan dan diteruskan menjadi suatu penelitian oleh:

dr. Bimanda Rizki Nurhidayat

Pembimbing 1



Dr. Nurwasis, dr., Sp.M (K)

NIP. 19580619 198611 1 001

Pembimbing 2



Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M (K)

NIP. 19680110 199703 2 003

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik

Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



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

NIP. 19650227 199003 1 010

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS

Laporan tesis ini diajukan oleh:

Nama : dr. Bimanda Rizki Nurhidayat
NIM : 012015653101
Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata
Judul : Pengaruh Pemberian Membran *Platelet Rich Fibrin*
Terhadap Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin* Dan
Transforming Growth Factor Beta Pada Keratitis
Pseudomonas aeruginosa (Studi Eksperimental Pada
Oryctolagus Cuniculus)

Laporan Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo
Pada Kamis, 06 Oktober 2022

Panitia Penguji:

1. Ketua Penguji : Dr. Ismi Zuhria, dr., Sp.M(K)
2. Penguji : Dr. Nurwasis, dr., Sp.M(K)
3. Penguji : Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)
4. Penguji : Dr. Wimbo Sasono, dr., Sp.M(K)
5. Penguji : Dr. Diah Indriani., SSi., Msi.

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini

Nama : dr. Bimanda Rizki Nurhidayat

NIM : 011728016304

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Angkatan : Januari 2018

Jenjang : PPDS

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan Tesis saya yang berjudul:

Pengaruh Pemberian Membran *Platelet Rich Fibrin* Terhadap Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin* Dan *Transforming Growth Factor Beta* Pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Studi Eksperimental Pada *Oryctolagus Cuniculus*)

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 01 September 2022
Penulis



dr. Bimanda Rizki N.
NIM. 012015653101

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT dengan selesainya Tesis dengan judul ***Pengaruh Pemberian Membran Platelet Rich Fibrin Terhadap Ekspresi Alpha Smooth Muscle Actin Dan Transforming Growth Factor Beta Pada Keratitis Pseudomonas aeruginosa (Studi Eksperimental Pada Oryctolagus Cuniculus).***

Dalam penyelesaian laporan penelitian ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, bimbingan, masukan, serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat:

1. **Dr. Nurwasis dr., Sp.M(K)** sebagai pembimbing I yang selalu memberikan pengarahan, bimbingan, dan motivasi serta referensi dan koreksi dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. **Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)** sebagai pembimbing II dan Kepala Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo yang selalu memberikan pengarahan, bimbingan, dan motivasi serta referensi dan koreksi dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. **Djoko Legowo, drh., M.Kes** sebagai konsultan Patologi Anatomi yang telah memberikan bimbingan dan konsep penelitian dalam penyusunan usulan penelitian ini.

4. **Dr. Diah Indriani, SSi. MSi** sebagai konsultan Statistika yang telah memberikan bimbingan mengenai statistika dan konsep penelitian dalam penyusunan usulan penelitian ini.
5. **Yulia Primitasari, dr., SpM(K)** sebagai Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan semangat dan kesempatan untuk ditampilkannya laporan hasil penelitian ini.
6. **Dr. Luki Indriaswati, dr., SpM(K)** selaku koordinator penelitian yang telah memberikan motivasi dan arahan dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini.
7. **Indri Wahyuni, dr., Sp.M(K)** sebagai pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi dalam penyusunan penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
8. **Para Guru Besar dan seluruh staf pengajar** Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang memberikan saran dan motivasi selama penyusunan laporan hasil penelitian ini.
9. **Nandang Sudrajat, dr. dan Oggy Satriya Putra, dr.,** yang telah berjuang bersama, memberikan dorongan dan semangat hingga terselesaikannya penelitian ini.
10. **Teman-teman sejawat PPDS I** Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan bantuan dan dorongan semangat dalam penyusunan penelitian ini.

11. **Bapak/Ibu moderator dan sekretaris sidang**, yang telah memimpin jalannya presentasi hasil penelitian ini.
12. **Tim Audiovisual** yang telah memberikan bantuan dalam presentasi hasil penelitian ini.
13. **Tim sekretariat PPDS I** Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
14. **Orang tua dan mertua saya, istri saya tercinta dr.Novyta Devi Yulian, serta anak-anak saya Almaeera Biandra Maheswari dan Gendhis Aruna Shareefah**
15. **Semua pihak** yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu atas semua bantuannya sehingga terselesaikannya laporan usulan penelitian ini, tidak lupa kami haturkan banyak terima kasih. Semoga amal baiknya diberikan balasan yang setimpal dan selalu mendapatkan berkah dan rahmat dari Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa.

Surabaya, 01 September 2022

Penulis

dr. Bimanda Rizki N.
NIM. 012015653101

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Membran *Platelet Rich Fibrin* Terhadap Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin* Dan *Transforming Growth Factor Beta* Pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Studi Eksperimental Pada *Oryctolagus Cuniculus*)

Bimanda Rizki Nurhidayat, Nurwasis, Evelyn Komaratih, Djoko Legowo, Diah Indriani, Nandang Sudrajat, Oggy Satriya Putra

Keratitis merupakan peradangan kornea dari berbagai penyebab dan manifestasi klinis, karena gangguan mekanisme pertahanan yang disebabkan oleh cedera atau defek epitel kecil, berbagai jenis patogen atau pengaruh lingkungan dapat menyebabkan peradangan kornea. Mikroba penyebab tersering antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Pyogenes*. Interaksi yang kompleks antara bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan inang, bakteri ini memiliki kemampuan khas yaitu memicu respon imun yang hebat dan menyebabkan kerusakan jaringan lokal. Fibrosis dapat terbentuk dan menyebabkan kehilangan penglihatan, serta pada kasus yang berat dapat menyebabkan perforasi kornea atau menyebar ke jaringan sekitarnya. Kekeruhan kornea adalah penyebab kebutaan kelima di dunia, dengan prevalensi sebesar 3,2% pada kasus yang dilaporkan. Organisasi WHO melaporkan bahwa 6 juta populasi dunia yang mengalami kebutaan disebabkan karena penyakit kornea. Diantara semua etiologi seperti infeksi, trauma, peradangan, degenerasi, dan kekurangan gizi, kasus keratitis infeksi merupakan penyebab utama kebutaan kornea di negara maju dan negara berkembang, dengan perkiraan kasus sebesar 2,5-799 per 100.000 penduduk per tahun. Pada studi di India, dilaporkan 57,52% kasus kekeruhan kornea disebabkan karena keratitis infeksi dengan lokasi kekeruhan kornea tersering di area sentral sebesar 49,35% dan sikatrik kornea berupa nebula sebesar 42,85%.

Tujuan perawatan medis keratitis adalah untuk mengobati infeksi dan mencegah komplikasi seperti perforasi kornea, kemudian membantu proses reepitelisasi dengan manajemen awal pengobatan menggunakan terapi medikamentosa, dan jika tidak responsif maka dilanjutkan dengan intervensi bedah. Membran *Platelet-rich fibrin* (PRF) adalah generasi kedua konsentrat platelet yang dikembangkan pertama kali oleh Choukroun *et al* dari Perancis yang digunakan di bidang oral dan maksilofasial. Membran PRF banyak mengandung matriks protein serta faktor pertumbuhan yang penting dalam membantu proses penyembuhan luka seperti *platelet-derived growth factors* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *transforming growth factor* (TGF- β) yang dilepaskan bertahap selama 7 hingga 28 hari. Matriks fibrin yang merupakan gabungan dari trombosit terkonsentrasi, *growth factor*, sitokin, circulating stem cell, dan sedikit leukosit akan memiliki peran kemotaktik dalam penyembuhan luka. Selain itu, membran PRF juga memberikan fungsi mekanis sebagai kerangka tempat proliferasi, diferensiasi dan migrasi sel yang penting untuk regenerasi jaringan. Kombinasi fungsi mekanis dan kemotaktik dari membran PRF membuatnya cocok

sebagai biomaterial *autologous* untuk rekonstruksi, perbaikan, dan pemeliharaan permukaan okuli.

Sampel sejumlah 12 kelinci putih New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) dilakukan induksi keratitis dengan inokulasi *Pseudomonas aeruginosa*. Dua hari setelah dilakukan induksi keratitis, kelinci dibagi menjadi dua kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak 6 kelinci. Kelompok pertama adalah kelinci yang diberi terapi antibiotik saja, sedangkan kelompok kedua adalah kelinci yang diberi terapi antibiotik dan membran *Platelet Rich Fibrin* (PRF). Ekspresi α -SMA dan TGF- β pada lapisan epitel, stroma dan endotel kornea dievaluasi dengan pemeriksaan imunohistokimia pada hari ke-10 setelah induksi keratitis.

Berdasarkan uji statistik apabila data berdistribusi normal menggunakan *independent t test* atau jika data tidak berdistribusi normal menggunakan *Mann-Whitney test*, hasil ekspresi α -SMA menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi α -SMA pada lapisan endotel kornea antara kelompok antibiotik dengan kelompok antibiotik + membran PRF dengan hasil $p=0,028$. Sedangkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan epitel ($p=0,079$) dan lapisan stroma ($p=0,080$). Hasil rerata ekspresi α -SMA di lapisan endotel kornea pada kelompok K1 adalah 2,90 dan pada kelompok K2 adalah 0,97, sehingga menunjukkan rerata ekspresi α -SMA pada kelompok antibiotik + membran PRF lebih sedikit dibandingkan kelompok antibiotik saja.

Hasil ekspresi TGF- β menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi TGF- β di lapisan epitel kornea antara kelompok antibiotik (K1) dengan kelompok antibiotik + membran PRF (K2) dengan hasil $p=0,003$. Sedangkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan stroma ($p=0,440$) dan lapisan endotel ($p=0,740$). Hasil rerata ekspresi TGF- β di lapisan epitel kornea pada kelompok K1 adalah 2,60 dan pada kelompok K2 adalah 0,27, sehingga menunjukkan rerata ekspresi TGF- β pada kelompok antibiotik + membran PRF lebih sedikit dibandingkan kelompok antibiotik saja.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa membran PRF dapat menurunkan ekspresi α -SMA dan TGF- β di hari ke-10 pada kornea hewan model keratitis *Pseudomonas aeruginosa*.

SUMMARY

The Effect Of Rich Fibrin Platelet Membrane On Expression Of Alpha Smooth Muscle Actin and Transforming Growth Factor Beta In *Pseudomonas Aeruginosa* Keratitis (Experimental Study In *Oryctolagus Cuniculus*)

Bimanda Rizki Nurhidayat, Nurwasis, Evelyn Komaratih, Djoko Legowo, Diah Indriani, Nandang Sudrajat, Oggy Satriya Putra

Keratitis is a knowledge of a variety of causes and minor manifestations because impaired defense mechanisms caused by defects of various kinds, types, or environmental influences can cause inflammation. The most common causative microbes include *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pyogenes*. The complex between the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* and its host, this bacterium has the unique ability to trigger intense immune interactions and cause local tissue damage. Scar tissue can form and cause vision loss, and in severe cases, it can perforate or spread to surrounding tissue. Turbidity is the fifth leading cause of blindness in the world, with a prevalence of 3.2% in reported cases. The WHO organization reports that 6 million of the world's population are blind due to disease. Among all etiologies of infection, trauma, inflammation, degeneration, and malnutrition, infectious keratitis is the leading cause of blindness in developed and developing countries, with an estimated 2.5-799 cases per 100,000 population per year. In a study in India, it was reported that 57.52% of other opacities were caused by infectious keratitis, with the most common location being in the area of 49.35% and nebula-like cicatricial at 2.85%. The goals of treatment for keratitis are to eradicate infectious microbes, improve the integrity of the ocular surface and the clarity of the cornea. Unfortunately, treatment for tissue regeneration caused by infective keratitis was still ineffective. Current routine treatment has certain clinical limitations. Platelet-rich fibrin (PRF) as a source of growth factor has been widely used in various therapeutic fields so that it can accelerate the wound healing process. One of the studies on the use of PRF in cases of corneal opacification due to infective keratitis showed that the application of PRF could reduce the inflammatory reaction and neovascularization formation so PRF was expected to be used for ocular surface reconstruction.

The goal of medical treatment of keratitis is for infection and complications such as perforation of initial treatment, then assisting the reepithelialization process with treatment management using medical therapy, and if not, proceeding with surgical intervention. Platelet-rich fibrin membrane (PRF) is a second-generation platelet concentrate developed by Choukroun et al. from France for use in the oral and maxillofacial fields. The PRF membrane contains a lot of matrix proteins and growth factors that are important in helping the wound healing process, such as platelet-derived growth factors (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), and transforming growth factor (TGF- β), which run gradually for 7 to 28 days. Fibrin matrix which is a

combination of platelet concentration, growth factors, cytokines, circulating stem cells, and few leukocytes will have a chemotactic role in wound healing. In addition, the PRF membrane also serves as a framework for cell proliferation, differentiation, and migration which is important for tissue regeneration. The mechanical and chemotactic functions of PRF membranes make them suitable as autologous biomaterials for the reconstruction, repair, and maintenance of ocular surfaces.

A sample of 12 New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) was subjected to keratitis induction by inoculation of *Pseudomonas aeruginosa*. Two days after the induction of keratitis, the rabbits were divided into two groups, with six rabbits in each group. The first group was rabbits treated with antibiotics alone, while the second group was rabbits treated with antibiotics and Platelet Rich Fibrin (PRF) grafts. The expression of α -SMA and TGF- β in the epithelial, stromal, and endothelial layers had an immunohistochemical examination on day ten after keratitis induction.

Based on the statistical test if the data were normally distributed using the independent t-test or if the data were not normally distributed using the Mann-Whitney test, the results of α -SMA expression showed a significant difference in the expression of α -SMA in the endothelial layer between the antibiotic group and the antibiotic group + PRF membrane with results $p=0.029$. Meanwhile, there was no significant difference between groups in the epithelial layer ($p=0.079$) and the stromal layer ($p=0.080$). The mean result of α -SMA expression in the endothelial layer of the group in the K1 group was 2.90 and in the K2 group was 0.97, indicating that the mean α -SMA expression in the antibiotic+graft PRF group was less than the antibiotic alone group.

The results of TGF- β expression showed significant differences in TGF- β in the epithelial layer of expression between the antibiotic group (K1) and the antibiotic group+PRF membrane (K2) with $p=0.003$. Meanwhile, there was no significant difference between groups in the stromal layer ($p=0.440$) and the endothelial layer ($p=0.740$). The average TGF- expression in the more epithelial layer in the K1 group, was 2.60 and in the K2 group was 0.27, indicating the mean TGF- β expression in the antibiotic+PRF graft group compared to the antibiotic alone group.

The conclusion from the results of this study was that the PRF membrane could reduce the expression of α -SMA and TGF- β on day 10 in animal models of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Membran *Platelet Rich Fibrin* Terhadap Ekspresi *Alpha Smooth Muscle Actin* Dan *Transforming Growth Factor Beta* Pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Studi Eksperimental Pada *Oryctolagus Cuniculus*)

Bimanda Rizki Nurhidayat, Nurwasis, Evelyn Komaratih, Djoko Legowo, Diah Indriani, Nandang Sudrajat, Oggy Satriya Putra

Latar Belakang: Salah satu jenis keratitis mikroba yang paling umum adalah keratitis bakteri. Penyebab paling sering adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yang muncul lebih parah, dan menyebabkan kerusakan jaringan lokal. Fibrosis dapat terbentuk dan menyebabkan kehilangan penglihatan, dan perforasi kornea serta menyebar ke jaringan sekitarnya pada kasus yang berat.

Metode: *Pseudomonas aeruginosa* disuntikkan ke dalam kornea 10 ekor kelinci secara intrastromal dan dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor kelinci, kelinci dengan keratitis bakterial diberikan levofloxacin sebagai kelompok 1 dan kelinci dengan keratitis bakterial diberikan levofloxacin dan membran *Platelet Rich Fibrin* (PRF) sebagai kelompok 2. Levofloxacin diberikan dua hari setelah induksi dan pembentukan keratitis. Pada hari ke 10 mata dilakukan enukleasi untuk mengetahui pengaruh PRF terhadap ekspresi TGF- β dan α -SMA pada kornea dengan pemeriksaan pewarnaan imunohistokimia (IHC). Data ekspresi TGF- β dan α -SMA dianalisis menggunakan uji-t independen dan Mann Whitney untuk membandingkan kelompok karena hasil analisis signifikan.

Hasil: Terdapat perbedaan ekspresi α -SMA yang bermakna antara kelompok 1 dan kelompok 2 pada lapisan endotel, dengan $p=0,028$. Hasil ekspresi TGF- β menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok 1 dan kelompok 2 pada lapisan epitel, dengan hasil = 0,003.

Kesimpulan: Membran PRF menurunkan ekspresi α -SMA pada endotel kornea dan TGF- β pada epitel kornea model hewan keratitis *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: Keratitis Bakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, PRF, α -SMA dan TGF- β

ABSTRACT

The Effect Of Rich Fibrin Platelet Membrane On Expression Of Alpha Smooth Muscle Actin and Transforming Growth Factor Beta In *Pseudomonas Aeruginosa* Keratitis (Experimental Study In *Oryctolagus Cuniculus*)

Bimanda Rizki Nurhidayat, Nurwasis, Evelyn Komaratih, Djoko Legowo, Diah Indriani, Nandang Sudrajat, Oggy Satriya Putra

Background: One of the most common types of microbial keratitis is bacterial keratitis. The most common cause is *Pseudomonas aeruginosa*, which is more severe and causes local tissue damage. Fibrosis can form and cause vision loss, and perforation and spread to surrounding tissues in severe cases.

Methods: *Pseudomonas aeruginosa* was injected into the corneas of 10 rabbits intrastromal and divided into 2 groups, with each group consisting of 5 rabbits, rabbits with bacterial keratitis given levofloxacin as a group 1 and rabbits with bacterial keratitis given levofloxacin and Rich Fibrin Platelet (PRF) membrane as a group 2. Levofloxacin was given two days after the induction and the formation of keratitis. On day 10, the eyes were enucleation, to determine the effect of PRF on TGF- β and α -SMA expression in the cornea with an immunohistochemistry (IHC) staining examination. The TGF- β and α -SMA expression data were analyzed using an independent t-test and Mann Whitney to compare groups due to the analysis results being significant.

Results: There was a significant difference in the expression of α -SMA between group 1 and group 2 in the endothelium layer, with $p=0.028$. There was a significant difference in the expression of TGF- β between group 1 and group 2 in the epithelial layer, with a result of $= 0.003$.

Conclusion: PRF membrane decreased α -SMA expression in the corneal endothelium and TGF- β in the corneal epithelium of animal models of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis.

Keywords: Bacterial Keratitis, *Pseudomonas aeruginosa*, PRF, α -SMA and TGF- β

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS	v
PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
DAFTAR SINGKATAN	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4. Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Teoritis	7
1.4.2 Manfaat Praktis	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Anatomi dan Fisiologi Kornea	8
2.2 Keratitis Bakteri	12
2.3 Patogenesis Keratitis Bakterialis	14
2.4 Peranan Sitokin dan Faktor Pertumbuhan pada Keratitis Bakterialis	17
2.5 Alpha Smooth Muscle Actin (α -SMA)	22
2.6 Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β)	25
2.7 Penatalaksanaan Keratitis Bakterialis	30
2.7.1 Sianoakrilat	30
2.7.2 Transplantasi Membran Amnion	31
2.7.3 Inhibitor Matrix Metalloproteinase	33
2.7.4 Krioterapi	34
2.7.5 Conjunctival Flap	35
2.8 Potensi Membran Platelet-Rich Fibrin pada Keratitis Bakterialis	36
2.9 Kelinci Putih New Zealand (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	48

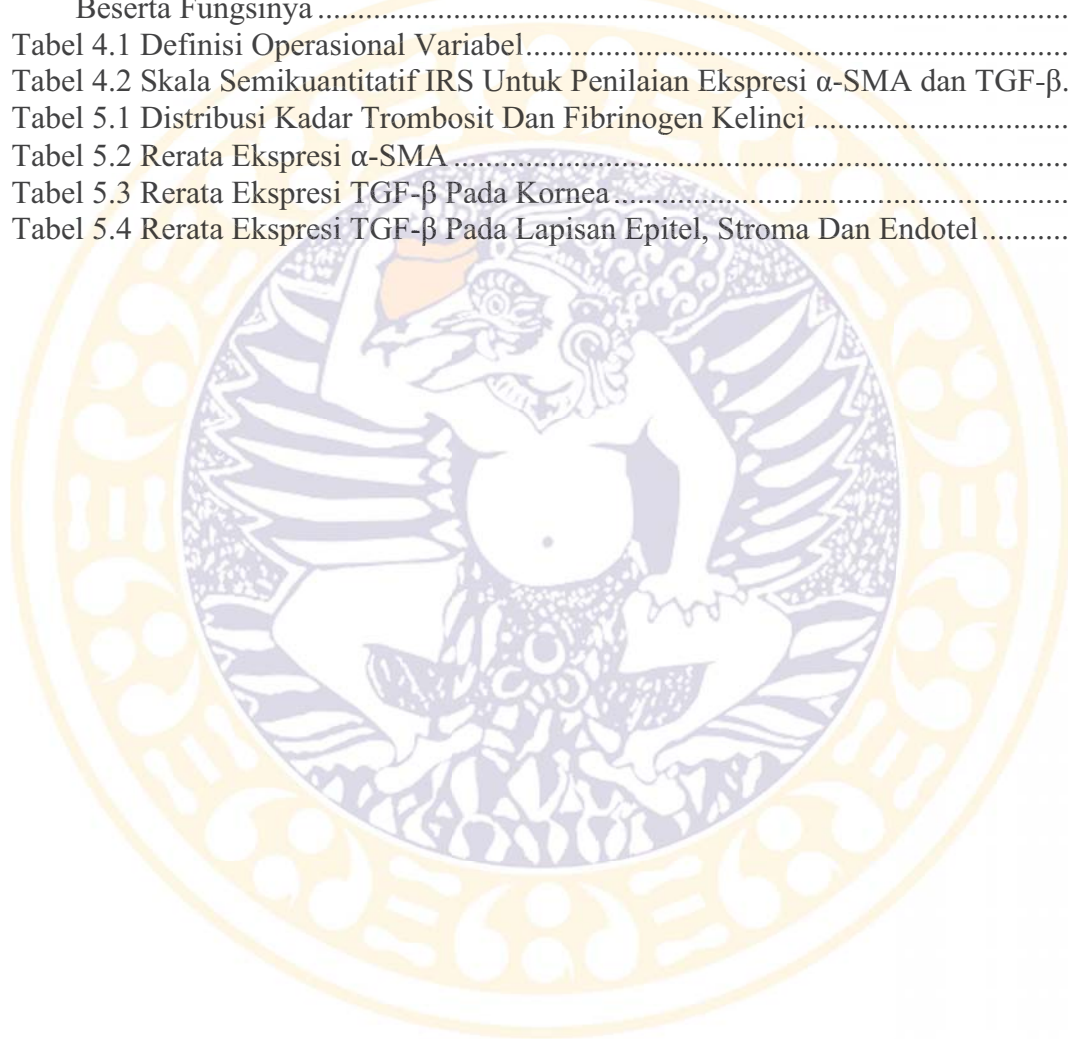
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	51
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	52
3.3 Hipotesis Penelitian	54
BAB 4 METODE PENELITIAN	55
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	55
4.1.1. Jenis Penelitian	55
4.1.2. Rancangan Penelitian	55
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian	58
4.3. Sampel Penelitian dan Replikasi	58
4.3.1. Sampel Penelitian	58
4.3.2. Replikasi	58
4.4 Kriteria Unit Eksperimen	59
4.4.1 Kriteria Inklusi	59
4.4.2 Kriteria Eksklusi	59
4.4.3 Kriteria Putus Uji	60
4.5 Variabel Penelitian	60
4.5.1 Variabel Bebas	60
4.5.2 Variabel Tergantung	60
4.6 Definisi Operasional	60
4.7 Instrumen Penelitian	61
4.7.1 Sarana Penelitian	61
4.7.2 Alat dan Bahan Penelitian	62
4.8 Protokol Penelitian	63
4.9 Cara Kerja Penelitian	64
4.9.1 Persiapan dan Produksi Membran Platelet-Rich Fibrin	65
4.9.2 Penjahitan Membran PRF	66
4.9.3 Pemeriksaan Imunohistokimia α -SMA dan TGF- β	66
4.10 Manajemen dan Analisis Data	69
4.10.1 Analisis Deskriptif	69
4.10.2 Analisis Inferensial	69
4.11 Etika Penelitian	69
BAB 5 HASIL PENELITIAN	70
5.1 Karakteristik Sampel Penelitian	70
5.2 Ekspresi α -SMA	73
5.3 Ekspresi TGF- β	76
BAB 6 PEMBAHASAN	81
6.1 Karakteristik Sampel Penelitian	83
6.2 Pengaruh PRF terhadap ekspresi α -SMA	87
6.3 Pengaruh PRF terhadap ekspresi TGF- β	93
6.4 Keterbatasan Penelitian	98
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	99
7.1 Kesimpulan	99

7.2 Saran	99
BAB 8 Penutup	101
DAFTAR PUSTAKA	102



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Fase-Fase Infeksi Kornea Oleh Bakteri	18
Tabel 2.2 Kelebihan Dan Kekurangan PRF	40
Tabel 2.3 Beberapa Faktor Pertumbuhan Dan Sitokin Yang Terdapat Di Dalam PRF Beserta Fungsinya	43
Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel	60
Tabel 4.2 Skala Semikuantitatif IRS Untuk Penilaian Ekspresi α -SMA dan TGF- β . ..	68
Tabel 5.1 Distribusi Kadar Trombosit Dan Fibrinogen Kelinci	71
Tabel 5.2 Rerata Ekspresi α -SMA	74
Tabel 5.3 Rerata Ekspresi TGF- β Pada Kornea	77
Tabel 5.4 Rerata Ekspresi TGF- β Pada Lapisan Epitel, Stroma Dan Endotel.....	78

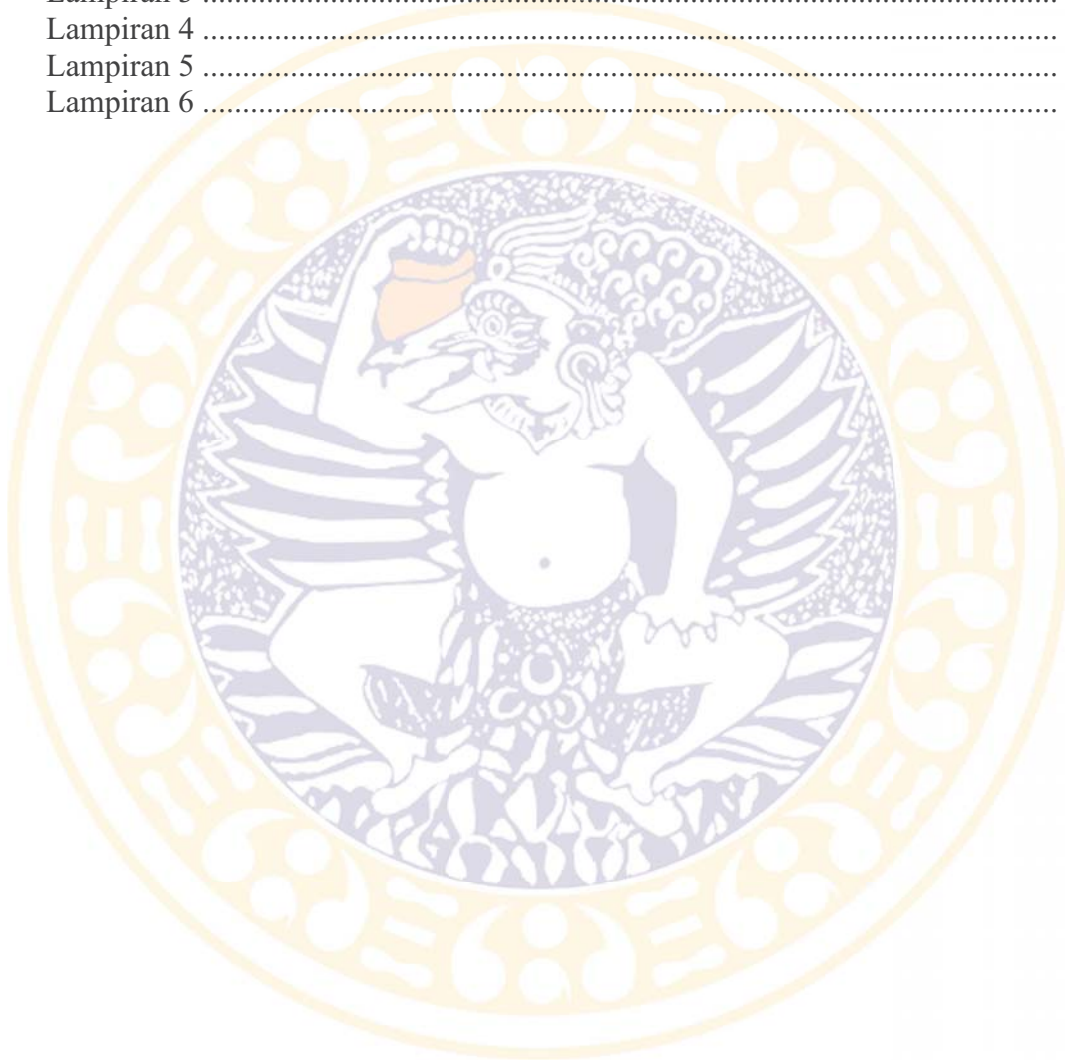


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi Kornea (Susan Stadring; Henry Gray, 2008)	9
Gambar 2.2 Jalur Degradasi Kolagen Yang Dimediasi Oleh Fibroblas Kornea (Nishida Et Al., 2021).....	21
Gambar 2.3 Diagram Skematik Dari Proses Penyembuhan Luka Kornea Yang Dimediasi Oleh TGF- β : (A) Cedera Pada Kornea Mengakibatkan Sitokin, TGF- β Dan PDGF Sel Keratosit Berdiferensiasi Menjadi Myofibroblast, (B) Proses Penyembuhan Lesi Kornea Selesai Kemudian Sel-Sel Myofibroblas Mengalami Apoptosis, (C) Sel-Sel Myofibroblas Melakukan Remodeling Matriks Ekstraseluler Dan Muncul Neovaskularisasi (Rocher Et Al., 2020).....	29
Gambar 2.4 Proses Pembuatan PRF; A. Alat Untuk Proses Sentrifugasi; B. Proses Sentrifugasi Mengakibatkan Komposisi Dari Clot Fibron Di Tengah Tabung, Antara Sel Darah Merah Di Bawah Dan Poor Platelet Serum Di Atas; C. Clot PRF, Setelah Pengambilan PRF dari Tabung; D. Membran PRF Setelah Proses Kompresi. (Dohan Et Al., 2006)	48
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	51
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	56
Gambar 4.2 Protokol Penelitian	63
Gambar 5.1 Gambaran Klinis Keratitis Hewan Coba.....	72
Gambar 5.2 Pemeriksaan Defek Kornea Pada Hari Ke-10	73
Gambar 5.3 Perbedaan Rerata Ekspresi α -SMA Antara Kelompok Antibiotik (K1) dan Antibiotik + Membran PRF (K2).....	74
Gambar 5.4 Perbandingan Ekspresi α -SMA	75
Gambar 5.5 Perbedaan Rerata Ekspresi TGF- β Antara Kelompok Antibiotik (K1) dan Antibiotik + Membran Prf (K2).	78
Gambar 5.6 Perbandingan Ekspresi TGF- β Pada Epitel Kornea (Panah) dan Sel Endotel (Kepala Panah) Serta Stroma (*) Diantara Kelompok Perlakuan	80

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	108
Lampiran 2	109
Lampiran 3	110
Lampiran 4	111
Lampiran 5	112
Lampiran 6	113



DAFTAR SINGKATAN

α -SMA	alpha-smooth muscle actin
ADP	adenosin difosfat
AP	alkaline protease
ATP	adenosin trifosfat
BMP	Bone Morphogenic Proteins
CFU	Colony-Forming Unit
Datin	Data dan informasi
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF	fibroblast growth factor
FKH	Fakultas Kedokteran Hewan
FST	follistatin
HSV	herpes simplex virus
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IGF	insulin-like growth factor
IHC	imunohistokimia
IL-1	Interleukin-1
IL-1 α	Interleukin-1 apha
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IRS	<i>Immuno Reactive Score</i>
LLC	large latent complex
LPS	lipopolisakarida
MMC	mitomycin C
MMP	matrix metalloproteinase
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
PAMP	pathogen-associated molecular patterns
PASP	P. aeruginosa small protease
PDGF	platelet-derived growth factor
PIV	protease IV
PMN	Polimorfonuklear
PPP	<i>Platelet-Poor Plasma</i>
PRF	platelet-rich fibrin
PRK	photorefractive keratectomy
PRP	platelet-rich plasma
RCT	randomized controlled trial
rpm	<i>revolutions per minute</i>
ROS	reactive oxygen species
SLC	small latent complex

TBCL	<i>therapeutic bandage contact lens</i>
TGF- β	transforming growth factor-beta
TLR	Toll-like receptor
TNF- α	tumor necrosis factor-alpha
TSP	thrombospondin
uPA	urokinase
VEGF	vascular endothelial growth factor

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Keratitis merupakan peradangan kornea dari berbagai penyebab dan manifestasi klinis, karena gangguan mekanisme pertahanan yang disebabkan oleh cedera atau defek epitel kecil, berbagai jenis patogen atau pengaruh lingkungan dapat menyebabkan peradangan kornea. Keratitis dibagi menjadi dua, yaitu keratitis infeksi dan non infeksi (Salmon, 2020). Keratitis infeksi disebabkan karena infeksi bakteri, virus, jamur, atau protozoa (Srinivasan, 2012). Keratitis bakteri biasanya berkembang jika mekanisme pertahanan mata mengalami gangguan. Mikroba penyebab tersering antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptokokus Pyogenes*. (Salmon, 2020; Lap-Ki Ng et al, 2015). Interaksi yang kompleks antara bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan inang, bakteri ini memiliki kemampuan khas yaitu memicu respon imun yang hebat dan menyebabkan kerusakan jaringan lokal. Fibrosis dapat terbentuk dan menyebabkan kehilangan penglihatan, serta pada kasus yang berat dapat menyebabkan perforasi kornea atau menyebar ke jaringan sekitarnya (Alicia Eby M. dan Linda Hazlett D., 2016). *Pseudomonas aeruginosa* dapat meningkatkan ekspresi caspase-1, TNF, caspase-3 ketika menurunkan ekspresi reseptor *interacting protein kinase 3*, yang merupakan biomarker kunci dalam mekanisme kematian sel epitel kornea (Ismi Zuhria, Nurwasis, Eddy Bagus Wasito, Winarto, I Ketut Sudiana, Reny I'tishom, 2021).