

TESIS

**PENGARUH *CRYOTHERAPY* TERHADAP EKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR- α DAN *INTERLEUKIN-6*
PADA KERATITIS JAMUR *ASPERGILLUS FLAVUS***

(Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)



Oleh:

**Vandaristya Pantristi Ardani
NIM. 012015653002**

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

TESIS

**PENGARUH *CRYOTHERAPY* TERHADAP EKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR- α DAN *INTERLEUKIN-6*
PADA KERATITIS JAMUR *ASPERGILLUS FLAVUS***

(Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)



Oleh:

Vandaristya Pantristi Ardani

NIM. 012015653002

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

TESIS

**PENGARUH *CRYOTHERAPY* TERHADAP EKSPRESI
TUMOR NECROSIS FACTOR- α DAN *INTERLEUKIN-6*
PADA KERATITIS JAMUR *ASPERGILLUS FLAVUS***

(Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)

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

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

Vandaristya Pantristi Ardani
NIM. 012015653002

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

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 2 DESEMBER 2022

Pembimbing I



Dr. Ismi Zuhria, dr., SpM(K)
NIP. 19640616 198908 2 001

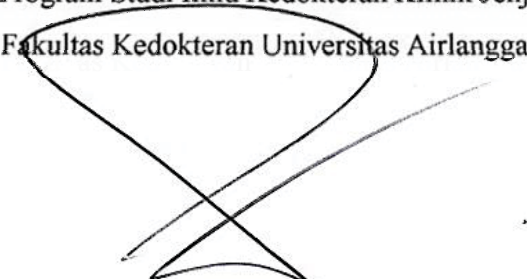
Pembimbing II



Dr. Reni Prastyani, dr., SpM, MKes
NIP. 19740830 200604 2 001

Mengetahui,

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



Prof. Dr. Irwanto, dr., SpA(K)
NIP. 19650227 199003 1 010

HALAMAN PENETAPAN PERSETUJUAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Vandaristya Pantristi Ardani, dr.
NIM : 012015653002
Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Judul : Pengaruh *Cryotherapy* terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* dan *Interleukin-6* pada Keratitis Jamur *Aspergillus flavus* (Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Universitas Airlangga
Pada tanggal 14 Desember 2022

Panitia Penguji:

Ketua : Dr. Luki Indriaswati, dr., SpM(K)
Anggota : Dr. Ismi Zuhria, dr., SpM(K)
Dr. Reni Prastyani, dr., SpM, MKes
Dr. Wimbo Sasono, dr., SpM(K)
Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., MKes

PERNYATAAN ANTI-PLAGIARISME

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Vandaristya Pantristi Ardani, dr.

NIM : 012015653002

Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik

Angkatan : Januari 2015

Jenjang : Magister

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

**Pengaruh *Cryotherapy* terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* dan *Interleukin-6* pada Keratitis Jamur *Aspergillus flavus*
(Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)**

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 2 Desember 2022

Penulis,



Vandaristya Pantristi Ardani, dr.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT dengan selesainya penyusunan tesis ini atas bimbingan, masukan, serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat:

1. **Dr. Ismi Zuhria, dr. Sp.M(K)** sebagai pembimbing pertama yang selalu memberikan pengarahan, bimbingan, motivasi dan referensi serta koreksi dalam penyusunan tesis ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. **Dr. Reni Prastyani, dr., Sp.M, M.Kes** sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan motivasi dan koreksi penyusunan tesis ini.
3. **Dyah Fauziah, dr., Sp.PA(K)** sebagai konsultan patologi anatomi yang telah memberikan masukan dan referensi dalam bidang patologi anatomi sehingga tesis dapat terselesaikan.
4. **Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes** sebagai konsultan statistika yang telah membantu dalam penyelesaian penyusunan tesis ini dan membantu dalam bidang statistika.
5. **Prof. Dr. Irwanto, dr., SpA(K)** sebagai Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
6. **Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)** sebagai Ketua Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan kesempatan untuk penyajian tesis ini.
7. **Dr. Yulia Primitasari, dr., Sp.M(K)** sebagai Koordinator Program Studi PPDS

I Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan dorongan dan kesempatan untuk penyajian tesis ini.

8. **Dicky Hermawan, dr., Sp.M(K)** sebagai dosen wali yang selalu memberikan motivasi dalam penyusunan tesis ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
9. **Dr. Luki Indriaswati, dr., SpM(K), Dr. Reni Prastyani, dr., SpM, M.Kes., Rozalina Loebis, dr., SpM(K) dan Sauli Ari Widjaja, dr., SpM (K)** selaku Komite Penelitian, Publikasi dan Pengabdian Masyarakat (KPPM) yang telah memberikan arahan dalam penyusunan tesis ini.
10. **Para Guru Besar dan seluruh Staf Pengajar** Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah banyak membimbing dan memberikan saran selama penyusunan tesis ini.
11. **Cinintha Nandini, dr., SpM, M.KedKlin, Dwita Permatasari, dr., SpM, M.KedKlin, Awina Rayungsista, dr., SpM, M.KedKlin** atas kerjasama dan bantuannya hingga terselesaikannya tesis ini.
12. **Angkatan Januari 2015** yang selalu mendukung penulis sejak awal menjalani pendidikan PPDS Ilmu Kesehatan Mata hingga saat ini.
13. Suami tercinta (**Angga Danang Santoso, A.Md**) yang sudah sangat sabar dan selalu mendukung serta memotivasi selama penulis menjalani pendidikan PPDS Ilmu Kesehatan Mata.
14. Kedua orang tua tersayang (**Bapak Setyo Utomo, dr., SPJP, FIHA dan Ibu dra. Hardwi Ardanari**), mertua (**Bapak Santoso, S.Pd (Alm) dan Ibu Dwi Astuti, A.Md**), serta adik penulis (**Winda Rosita Septantri, dr.**) yang tidak

pernah lelah mendoakan, memberikan dukungan dan motivasi untuk penulis hingga saat ini.

15. **Ibu moderator dan sekretaris sidang**, yang telah memimpin jalannya penyajian tesis ini.
16. **Teman-teman sejawat PPDS I Ilmu Kesehatan Mata**, yang selalu memberikan dorongan, semangat, dan bantuan kepustakaan dalam penyusunan tesis ini.
17. **Tim Audiovisual** yang telah memberikan bantuan dalam penyajian tesis ini.
18. **Semua pihak** yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu atas semua bantuannya hingga terselesaikannya tesis ini, tidak lupa kami haturkan banyak terima kasih.

Surabaya, Desember 2022

Penulis

RINGKASAN

Pengaruh *Cryotherapy* terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* dan *Interleukin-6* pada Keratitis Jamur *Aspergillus flavus* (Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)

Vandaristya Pantristi Ardani, Ismi Zuhria, Reni Prastyani, Dyah Fauziah, Hari Basuki Notobroto

Keratitis jamur masih menjadi tantangan di bidang kesehatan mata mengingat angka kejadian yang semakin tinggi dan kemungkinan komplikasi yang dapat menyebabkan kebutaan. Dalam 20 tahun terakhir, terjadi peningkatan insidensi keratitis jamur dari 17% ke 36% di seluruh dunia. Keratitis jamur paling banyak disebabkan oleh jamur berfilamen (*filamentous fungi*), yaitu jenis *Aspergillus* dan *Fusarium*. Keratitis jamur disebutkan lebih mungkin menyebabkan perforasi kornea dibandingkan dengan keratitis bakteri. Penegakan diagnosis dan pemberian terapi secara dini pada keratitis jamur sangat penting untuk mencegah terjadinya komplikasi yang mengancam penglihatan.

Pada keratitis jamur, didapatkan peningkatan yang signifikan dari sitokin proinflamasi, diantaranya TNF- α dan IL-6 yang berperan dalam perekrutan leukosit di area inflamasi. Peningkatan TNF- α dan IL-6 juga diketahui meningkatkan ekspresi VEGF dan *matrix metalloproteinase* (MMP)-9 yang dapat memicu terjadinya neovaskularisasi pada kornea.

Cryotherapy telah banyak digunakan dalam tatalaksana penyakit mata sebagai terapi ajuvan. Pada kasus keratitis jamur, pemberian *cryotherapy* mampu mengeliminasi jaringan kornea yang nekrosis, menyebabkan denaturasi dan degradasi protein pada sel jamur sehingga menurunkan jumlah hifa dan mengurangi infeksi serta reaksi inflamasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh *cryotherapy* terhadap ekspresi TNF- α dan IL-6 pada keratitis jamur *Aspergillus flavus*.

Penelitian ini adalah suatu penelitian eksperimental pada hewan coba tikus jenis *Rattus norvegicus*. Hewan coba sebanyak 35 ekor dilakukan penyuntikan *Aspergillus flavus* secara intrastromal pada kornea mata kanan sehingga terbentuk keratitis jamur, kemudian dibagi menjadi lima kelompok: kelompok *baseline*, kelompok kontrol negatif, kelompok Natamycin, kelompok *cryotherapy* dan kelompok terapi kombinasi. Terapi diberikan pada hari kelima setelah injeksi jamur. *Cryotherapy* dilakukan selama 7-8 detik hingga terbentuk bunga es berukuran 1 mm lebih besar dari penampang *probe cryo*. Empat hari setelah terapi, dilakukan pengangkatan bola mata (enukleasi) kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk mengukur ekspresi TNF- α dan IL-6.

Hasil penelitian menunjukkan ekspresi TNF- α dan IL-6 dengan skor IRS tertinggi didapatkan pada kelompok *baseline*. Tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada intensitas ekspresi TNF- α antara kelima kelompok ($p= 0,166$). Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada intensitas ekspresi IL-6 antara kelima kelompok ($p= 0,027$). Kemudian dilakukan uji Mann-Whitney dan didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok *baseline* dengan kelompok kontrol negatif ($p= 0,025$); kelompok *baseline* dengan kelompok natamycin ($p= 0,021$); dan kelompok *baseline* dengan kelompok terapi kombinasi ($p= 0,016$).



SUMMARY

The Effect of Cryotherapy on Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-6 Expression in *Aspergillus flavus* Fungal Keratitis (Experimental Study on *Rattus Norvegicus*)

Vandaristya Pantristi Ardani, Ismi Zuhria, Reni Prastyani, Dyah Fauziah, Hari Basuki Notobroto

Fungal keratitis remains challenging due to its high incidence and potential complications that can lead to blindness. In the last 20 years, the incidence of fungal keratitis has increased from 17% to 36% worldwide. The most common causes of fungal keratitis are filamentous fungi such as *Aspergillus* and *Fusarium*. Fungal keratitis is considered to be more probable than bacterial keratitis to induce corneal perforation. Early detection and early treatment of fungal keratitis are critical for avoiding vision-threatening complications.

In fungal keratitis, there was a significant increase in proinflammatory cytokines, including TNF α and IL-6, which play a role in the recruitment of leukocytes in the area of inflammation. Increased TNF- α and IL-6 levels are also known to increase the expression of VEGF and matrix metalloproteinase (MMP)-9, which can lead to corneal neovascularization.

Cryotherapy has been widely used as adjuvant therapy in the treatment of eye diseases. In cases of fungal keratitis, cryotherapy is able to eliminate necrotic corneal tissue by causing denaturation and degradation of proteins in fungal cells, thereby reducing the number of hyphae and reducing infection and inflammatory reactions. The purpose of this study is to analyze the effect of cryotherapy on the expression of TNF- α and IL-6 in *Aspergillus flavus* keratitis.

This research is an experimental study on *Rattus norvegicus* rats. *Aspergillus flavus* was injected intrastromally in the right eye cornea of 35 experimental animals to establish an animal model of fungal keratitis and then divided into five groups: baseline group, control group, natamycin group, cryotherapy group, and combination therapy group. Therapy was given five days after the fungal injection. Cryotherapy was applied for 7-8 seconds until the diameter of the frozen tissue was 1 mm bigger than the cross-section of the cryoprobe. Four days after therapy, the animals were euthanized and the eyeball was enucleated for immunohistochemistry examination to determine TNF- α and IL-6 expression.

The result showed that the highest IRS score of TNF- α and IL-6 expression was obtained in the baseline group. There was no significant difference in the intensity of TNF- α expression between the five groups (p-value 0.166). Meanwhile, statistical analysis of IL-6 expression revealed a significant difference in the

intensity of IL-6 expression between the five groups (p-value 0.027). Mann-Whitney test was performed, which showed significant differences between the baseline group and the negative control group (p-value 0.025); the baseline group and the Natamycin group (p-value 0.021); and the baseline group and the combination group (p-value 0.016).



ABSTRAK

Pengaruh *Cryotherapy* terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* dan *Interleukin-6* pada Keratitis Jamur *Aspergillus flavus* (Studi Eksperimental pada *Rattus norvegicus*)

Vandaristya Pantristi Ardani, Ismi Zuhria, Reni Prastyani, Dyah Fauziah, Hari Basuki Notobroto

Latar belakang: Keratitis jamur masih menjadi tantangan di bidang kesehatan mata mengingat angka kejadian yang semakin tinggi dan kemungkinan komplikasi yang dapat menyebabkan kebutaan. Penegakan diagnosis dan pemberian terapi secara dini pada keratitis jamur sangat penting untuk mencegah terjadinya komplikasi yang mengancam penglihatan. *Cryotherapy* dapat menjadi modalitas terapi alternatif yang aman dan tidak invasif untuk keratitis jamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek *cryotherapy* terhadap proses penyembuhan luka kornea pada tikus model keratitis *Aspergillus flavus* melalui pemeriksaan ekspresi TNF- α dan IL-6 secara imunohistokimia.

Metode: Dilakukan penyuntikan *Aspergillus flavus* secara intrastromal pada kornea mata kanan tikus sebanyak 35 ekor sehingga terbentuk keratitis jamur, kemudian dibagi menjadi lima kelompok: kelompok *baseline*, kelompok kontrol negatif, kelompok Natamycin, kelompok *cryotherapy* dan kelompok terapi kombinasi. Terapi diberikan pada hari kelima setelah injeksi jamur. Empat hari setelah terapi, dilakukan pengangkatan bola mata (enukleasi) kemudian dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk mengukur ekspresi TNF- α dan IL-6.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan ekspresi TNF- α dan IL-6 dengan skor IRS tertinggi didapatkan pada kelompok *baseline*. Tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada intensitas ekspresi TNF- α antara kelima kelompok ($p=0,166$). Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada intensitas ekspresi IL-6 antara kelima kelompok ($p=0,027$). Kemudian dilakukan uji Mann-Whitney dan didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok *baseline* dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,025$); kelompok *baseline* dengan kelompok natamycin ($p=0,021$); dan kelompok *baseline* dengan kelompok terapi kombinasi ($p=0,016$).

Kesimpulan: Didapatkan penurunan ekspresi IL-6, namun tidak didapatkan penurunan ekspresi TNF- α pada keratitis jamur *Aspergillus flavus* setelah dilakukan *cryotherapy*.

Keywords: *cryotherapy*, keratitis jamur, *Aspergillus flavus*, TNF- α , IL-6

ABSTRACT

Expression of Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-6 in *Aspergillus flavus* Keratitis after Cryotherapy

Vandaristya Pantristi Ardani, Ismi Zuhria, Reni Prastyani, Dyah Fauziah, Hari Basuki Notobroto

Background: Fungal keratitis remains challenging due to its high incidence and potential complications that can lead to blindness. Early detection and early treatment of fungal keratitis are critical for avoiding vision-threatening complications. Cryotherapy can be a non-invasive and safe alternative therapy modality for fungal keratitis. This study aims to determine the effect of cryotherapy on corneal wound healing in a rat model of *Aspergillus flavus* keratitis using immunohistochemistry examination of TNF- α and IL-6 expression.

Methods: *Aspergillus flavus* has injected intrastromal into the cornea of 35 *Rattus norvegicus* rats to establish fungal keratitis and then divided into five groups: baseline group, control group, natamycin group, cryotherapy group, and combination therapy group. Therapy was given five days after the fungal injection. Four days after therapy, the animals were euthanized and the eyeball was enucleated for immunohistochemistry examination to determine TNF- α and IL-6 expression. The differences in TNF- α and IL-6 expression were statistically analyzed with a significant level of $p < 0.05$.

Result: The result showed that the highest IRS score of TNF- α and IL-6 expression was obtained in the baseline group. There was no significant difference in the intensity of TNF- α expression between the five groups (p -value 0.166). Meanwhile, statistical analysis of IL-6 expression revealed a significant difference in the intensity of IL-6 expression between the five groups (p -value 0.027). Mann-Whitney test was performed, which showed significant differences between the baseline group and the negative control group (p -value 0.025); the baseline group and the Natamycin group (p -value 0.021); and the baseline group and the combination group (p -value 0.016).

Conclusion: There was a decrease in IL-6 expression but no decrease in TNF- α expression in *Aspergillus flavus* keratitis after cryotherapy.

Keywords: cryotherapy, fungal keratitis, *Aspergillus flavus*, TNF- α , IL-6

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PRASYARAT GELAR	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERSETUJUAN PANITIA PENGUJI	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	xxii
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum.....	5
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat teoritis.....	6
1.4.2 Manfaat praktis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Anatomi Kornea.....	7
2.2 Keratitis yang Disebabkan oleh Jamur.....	8
2.3 <i>Aspergillus flavus</i>	12
2.4 Ekspresi Sitokin Proinflamasi dan Kemotaksis pada Patogen Jamur	14

2.5 <i>Natamycin</i>	16
2.6 <i>Cryotherapy</i>	18
2.7 <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>	23
2.8 <i>Interleukin-6</i>	24
2.9 <i>Sprague Dawley rat (Rattus norvegicus)</i>	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konseptual	27
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	28
3.3 Hipotesis Penelitian	30
BAB 4 METODE PENELITIAN	31
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	31
4.1.1 Jenis penelitian	31
4.1.2 Rancangan penelitian.....	31
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	32
4.3 Unit Eksperimen, Replikasi dan Randomisasi.....	32
4.3.1 Unit eksperimen penelitian.....	32
4.3.2 Replikasi	33
4.3.3 Randomisasi.....	34
4.4 Kriteria Unit Eksperimen.....	34
4.4.1 Kriteria inklusi.....	34
4.4.2 Kriteria eksklusi.....	34
4.4.3 Kriteria putus uji.....	34
4.5 Variabel Penelitian.....	34
4.5.1 Variabel bebas	34
4.5.2 Variabel tergantung	35
4.6 Definisi Operasional	35
4.7 Sarana Penelitian.....	37
4.7.1 Alat penelitian.....	37
4.7.2 Bahan penelitian	37
4.8 Kerangka Operasional.....	38
4.9 Cara Kerja	39
4.9.1 Cara kerja penelitian.....	39

4.9.2 Cara pengukuran ekspresi TNF- α	40
4.9.3 Cara pengukuran ekspresi IL-6	41
4.10 Manajemen dan Analisis Data	41
4.10.1 Analisis deskriptif	41
4.10.2 Analisis inferensial	41
4.11 Kelayakan Etik	42
BAB 5 HASIL PENELITIAN	43
5.1 Distribusi dan Karakteristik Sampel Penelitian	43
5.2 Inokulasi <i>Aspergillus flavus</i>	44
5.3 Induksi Hewan Model Keratitis Jamur <i>Aspergillus flavus</i>	44
5.4 Keratitis yang Terbentuk pada Kornea Tikus	45
5.5 Pemberian <i>Cryotherapy</i>	46
5.6 Identifikasi Sel Epitel Kornea dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin	47
5.7 Pengaruh Perlakuan Penyuntikan Jamur dan Pemberian Terapi pada Ekspresi TNF- α Jaringan Kornea Tikus	48
5.8 Pengaruh Perlakuan Penyuntikan Jamur dan Pemberian Terapi pada Ekspresi IL-6 Jaringan Kornea Tikus	50
BAB 6 PEMBAHASAN	53
6.1 Keratitis Jamur pada Mata Tikus	53
6.2 <i>Cryotherapy</i> pada Keratitis Jamur	54
6.3 Pengaruh <i>Cryotherapy</i> terhadap Ekspresi TNF- α pada Keratitis Jamur <i>Aspergillus flavus</i>	57
6.4 Pengaruh <i>Cryotherapy</i> terhadap Ekspresi IL-6 pada Keratitis Jamur <i>Aspergillus flavus</i>	60
6.5 Keterbatasan Penelitian.....	63
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	64
7.1 Kesimpulan	64
7.2 Saran.....	64
BAB 8 PENUTUP.....	66
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi operasional	35
Tabel 5.1 Skor imunoreaktif (IRS) ekspresi TNF- α	49
Tabel 5.2 Skor imunoreaktif (IRS) ekspresi IL-6	50
Tabel 5.3 Skor imunoreaktif (IRS) ekspresi IL-6	50

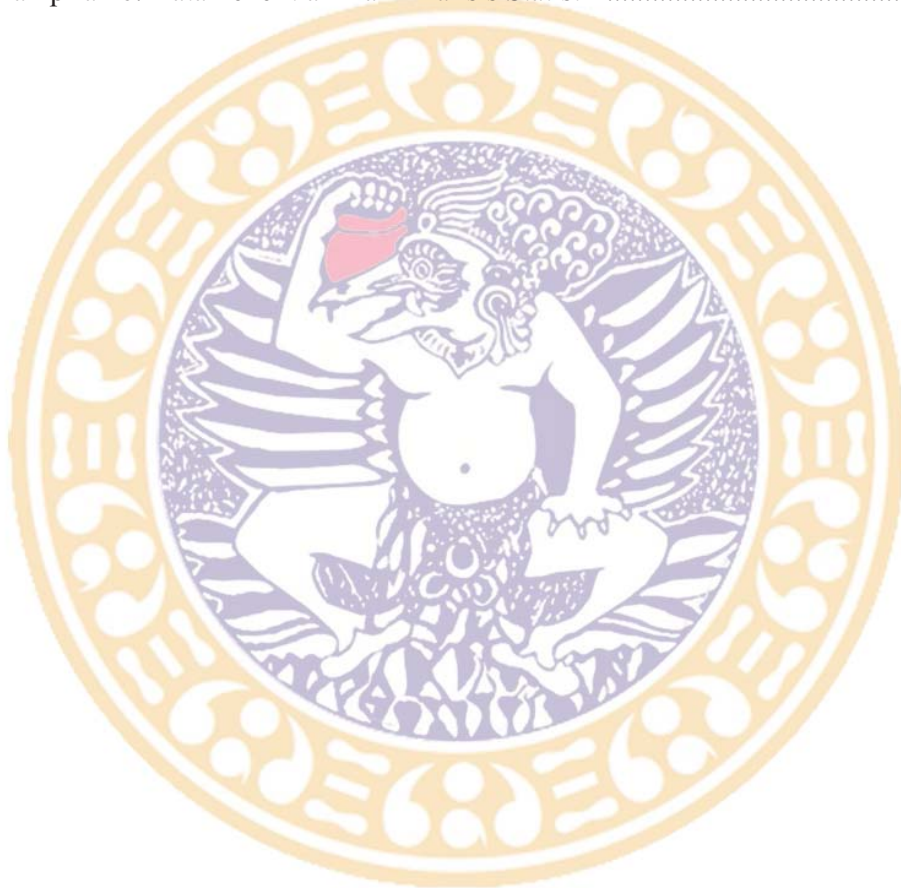


DAFTAR GAMBAR

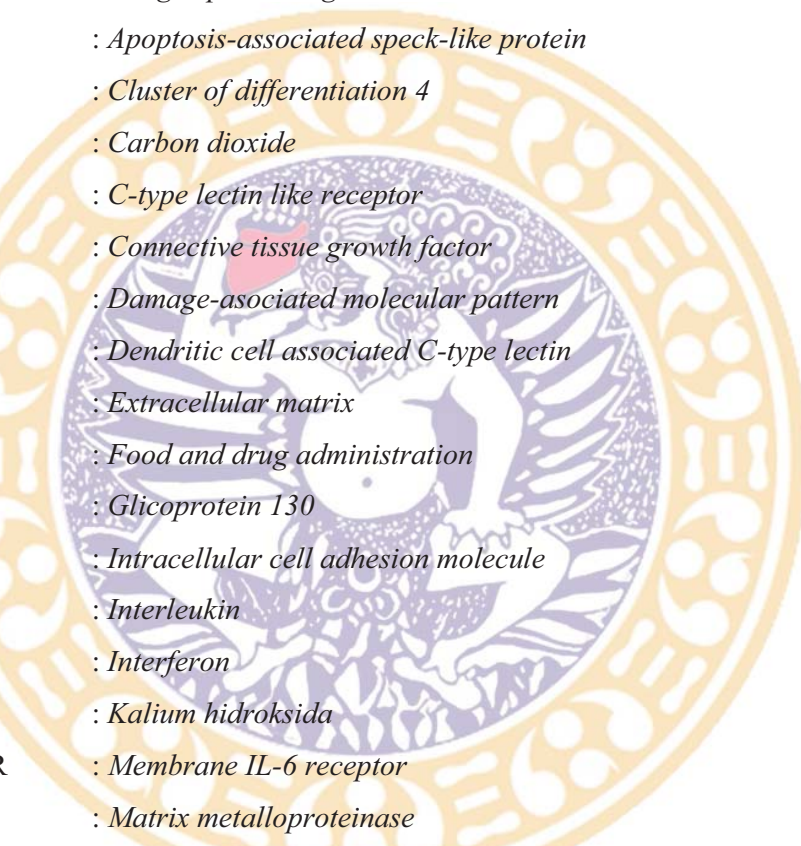
Gambar 2.1	Lapisan kornea normal.....	7
Gambar 2.2	Lesi satelit pada keratitis jamur	10
Gambar 2.3	Gambaran makroskopik <i>Aspergillus flavus</i> pada media agar Czape	12
Gambar 2.4	Gambaran <i>Aspergillus flavus</i> secara mikroskopik.....	13
Gambar 2.5	Gambaran proses yang terjadi selama keratitis jamur	16
Gambar 2.6	Struktur kimia <i>Natamycin</i>	17
Gambar 3.1	Kerangka konseptual.....	27
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	31
Gambar 4.2	Kerangka operasional	38
Gambar 5.1	Inokulasi <i>Aspergillus flavus</i> dengan aflatoksin pada SDA yang memberikan gambaran kuning kehijauan dengan permukaan halus serta warna kuning pucat pada bagian belakangnya	44
Gambar 5.2	Penyuntikan solusi <i>Aspergillus flavus</i> dengan konsentrasi 5×10^6 CFU/ml intrastromal secara tangensial dengan menggunakan jarum 30G di sentral kornea.....	45
Gambar 5.3	Perkembangan klinis hari pertama sampai kelima.....	46
Gambar 5.4	<i>Cryotherapy</i> pada kornea mata kanan tikus dengan keratitis jamur selama 7-8 detik hingga terbentuk bunga es berukuran 1 mm lebih besar daripada penampang <i>probe cryo</i>	47
Gambar 5.5	Keadaan klinis keempat kelompok pada hari ke-9 sebelum dilakukan enukleasi.	47
Gambar 5.6	Pewarnaan HE pada kornea tikus tampak gambaran lapisan sel epitel (panah hijau) dan sel stroma yang mengandung keratosit (panah hitam). Pemeriksaan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.	48
Gambar 5.7	Pewarnaan IHC dengan antibodi TNF- α (BT-AP09103, <i>Bioassay</i> <i>Technology Laboratory</i>).	48
Gambar 5.8	Grafik sebaran data ekspresi TNF- α	49
Gambar 5.9	Pewarnaan IHC dengan antibodi IL-6 (ab9324, abcam).	50
Gambar 5.10	Grafik sebaran data ekspresi IL-6	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Organisasi Penelitian	73
Lampiran 2. Anggaran Penelitian	74
Lampiran 3. Jadwal Penelitian	75
Lampiran 4. Keterangan Kelaikan Etik.....	76
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	77
Lampiran 6. Data Penelitian Dan Analisis Statistik.....	78



DAFTAR SINGKATAN



α -SMA	: <i>α-smooth-muscle actin</i>
<i>A. flavus</i>	: <i>Aspergillus flavus</i>
AFB1	: <i>Aflatoksin B1</i>
AP	: <i>Activation protein</i>
APC	: <i>Antigen presenting cells</i>
ASC	: <i>Apoptosis-associated speck-like protein</i>
CD4	: <i>Cluster of differentiation 4</i>
CO ₂	: <i>Carbon dioxide</i>
CLR	: <i>C-type lectin like receptor</i>
CTGF	: <i>Connective tissue growth factor</i>
DAMP	: <i>Damage-associated molecular pattern</i>
Dectin	: <i>Dendritic cell associated C-type lectin</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
FDA	: <i>Food and drug administration</i>
gp130	: <i>Glicoprotein 130</i>
ICAM	: <i>Intracellular cell adhesion molecule</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
KOH	: <i>Kalium hidroksida</i>
mIL-6R	: <i>Membrane IL-6 receptor</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
NLR	: <i>Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors</i>
NLRP	: <i>NOD like receptor pyrin domain containing</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
PRR	: <i>Pattern recognition receptors</i>
SIL-6R	: <i>Soluble IL-6 receptor</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
STAT3	: <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
TGF	: <i>Transforming growth factor</i>



TLR	: <i>Toll like receptor</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
TNFR	: <i>Tumor necrosis factor receptor</i>
VCAM	: <i>Vascular cell adhesion molecule</i>
VGEF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
<i>A. flavus</i>	: <i>Aspergillus flavus</i>
CO ₂	: <i>carbon dioxide</i>
CLR	: <i>C-type Lectin Like Receptor</i>
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
FGF	: <i>fibroblast growth factor</i>
GAG	: <i>glycosaminoglycan</i>
GPx	: <i>glutathione peroxidase</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
IL	: <i>interleukin</i>
KOH	: <i>kalium hidroksida</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
MIP-2	: <i>macrophage inflammatory protein-2</i>
MMP	: <i>matrix metalloproteinase</i>
MIC	: <i>minimum inhibitory concentration</i>
NET	: <i>neutrophile extracellular traps</i>
NLR	: <i>nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors</i>
NLRP3	: <i>NLR Family Pyrin Domain Containing 3</i>
PAMP	: <i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PDGF	: <i>platelet-derived growth factor</i>
PK	: <i>penetrating keratoplasty</i>
PMN	: <i>polymorphonuclear</i>
PRR	: <i>pattern recognition receptors</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
SR	: <i>scavenger receptor</i>

TGF	: <i>transforming growth factor</i>
Th	: <i>T helper</i>
TIMP	: <i>tissue inhibitors of metalloproteinase</i>
TLR	: <i>toll like receptor</i>
TNF	: <i>tumor necrosis factor</i>
TUNNEL	: <i>terminal deoxynucleotidyl-mediated nick end labelling</i>

