

TESIS

**EFEK PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE*
(EGCG) DAN *MITOMYCIN-C* TERHADAP EKSPRESI
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF – β) DAN
PROLIFERASI SEL PADA *HUMAN PTERYGIUM*
FIBROBLAST
(Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)**



Oleh :

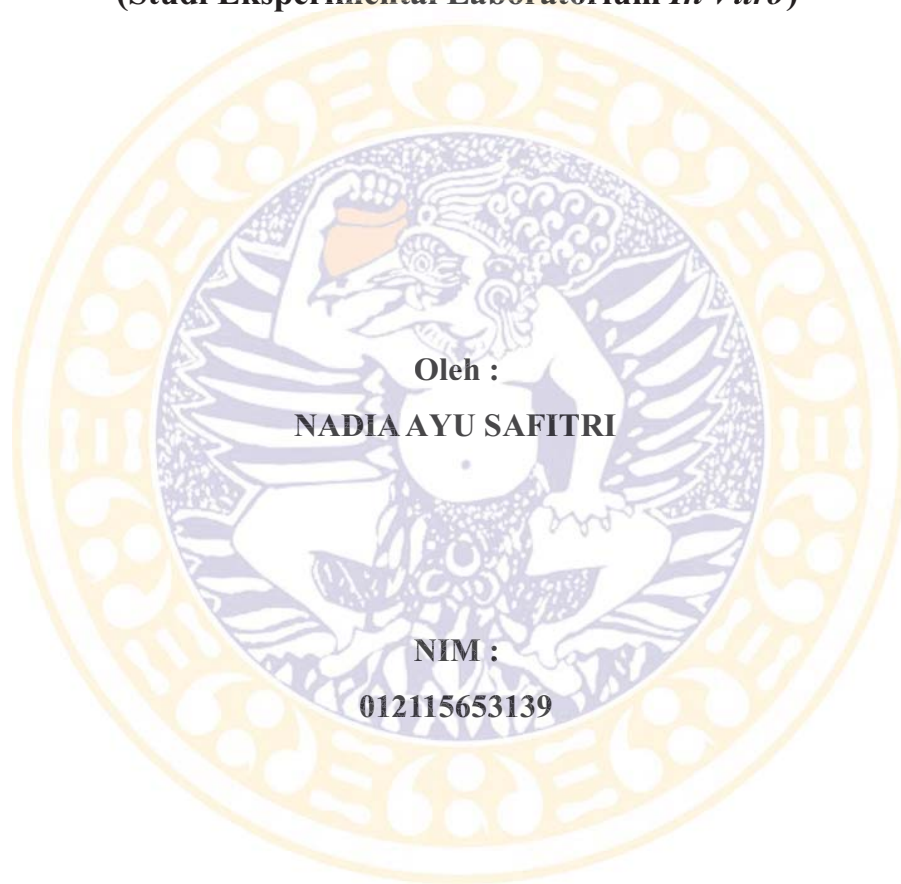
**Nadia Ayu Safitri
NIM. 012115653139**

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

TESIS

**EFEK PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE*
(EGCG) DAN *MITOMYCIN-C* TERHADAP EKSPRESI
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF – β) DAN
PROLIFERASI SEL PADA *HUMAN PTERYGIUM*
*FIBROBLAST***

(Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)



Oleh :

NADIA AYU SAFITRI

NIM :

012115653139

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

TESIS

**EFEK PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE*
(EGCG) DAN *MITOMYCIN-C* TERHADAP EKSPRESI
TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF – β) DAN
PROLIFERASI SEL PADA *HUMAN PTERYGIUM*
*FIBROBLAST***

(Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)

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

Program Studi Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

Nadia Ayu Safitri, dr.

NIM :

012115653139

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

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan tesis yang berjudul:

**EFEK PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE* (EGCG) DAN
MITOMYCIN-C TERHADAP EKSPRESI *TRANSFORMING GROWTH*
FACTOR BETA (TGF – β) DAN PROLIFERASI SEL PADA *HUMAN*
PTERYGIUM FIBROBLAST
(Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)**

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

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:
Nadia Ayu Safitri, dr

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dr. Yulia Primitasari, dr., Sp.M(K)
NIP. 19730701 200501 2 001


Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)
NIP. 19680110 199703 2 003

Mengetahui,


Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

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

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS

Laporan tesis ini diajukan oleh:

Nama : Nadia Ayu Safitri, dr

NIM : 012115653139

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Judul : Efek Pemberian *Epigallocatechin-3-Gallate* (Egcg) Dan *Mitomycin-C* Terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (Tgf – B) Dan Proliferasi Sel Pada *Human Pterygium Fibroblast* (Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)

telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo

Panitia Penguji:

1. Ketua Penguji : Dr. Luki Indriaswati, dr., Sp.M(K)
2. Penguji : Dr. Yulia Primitasari, dr., Sp.M(K)
3. Penguji : Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)
4. Penguji : Dr. Ismi Zuhria, dr., Sp.M(K)
5. Penguji : Prof. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Sc

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : dr. Nadia Ayu Safitri

NIM : 012115653139

Program Studi : Magister Kedokteran Klinik Program Pascasarjana Minat
Studi Ilmu Kesehatan Mata

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiatisme dalam penulisan Usulan Penelitian saya yang berjudul :

“EFEK PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG)* DAN *MITOMYCIN-C* TERHADAP EKSPRESI *TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF – β)* DAN PROLIFERASI SEL PADA *HUMAN PTERYGIUM FIBROBLAST* (Studi Ekperimental *In Vitro*)”

Apabila saat nanti saya terbukti melakukan tindakan plagiatisme, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan. Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, November 2022

Penulis



dr. Nadia Ayu Safitri
NIM. 012115653139

LEMBAR PERNYATAAN TANPA KETERTARIKAN FINANSIAL

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nadia Ayu Safitri

NIM : 012115653139

Program Studi : Magister Kedokteran Klinik Program Pascasarjana
Minat Studi Ilmu Kesehatan Mata

Judul Penelitian: Efek Pemberian *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) dan *Mitomycin-C* terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) dan Proliferasi Sel Pada *Human Pterygium Fibroblast* (Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*)

Menyatakan bahwa dengan sebenarnya bahwa tidak ada ketertarikan finansial dalam bentuk apapun dalam penulisan Usulan Penelitian Akhir Profesi saya ini.

Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, November 2022

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT dengan selesainya usulan penelitian ini dengan judul **Efek Pemberian *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) dan *Mitomycin-C* Terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) dan Proliferasi Sel Pada *Human Pterygium Fibroblast* (Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*).**

Saya haturkan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Dr. Yulia Primitasari, dr., SpM(K) sebagai pembimbing I dan Kepala Program Studi PPDS 1 Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan bimbingan, arahan, penelitian sebelumnya, dan membuka pola pikir penulis sebagai sumber dan ide dalam penyusunan usulan penelitian ini
2. Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K) sebagai pembimbing 2 dan Kepala Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan bimbingan, semangat, dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini
3. Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si. sebagai pembimbing dalam bidang farmasi yang memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
4. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes. sebagai pembimbing statistik yang memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
5. Sutjipto, dr., Sp.M(K), sebagai dosen wali yang memberikan bimbingan, motivasi, dan semangat untuk penyusunan usulan penelitian ini.
6. Para Guru Besar dan staf pengajar Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang memberikan bantuan, kritik, dan saran dalam penyusunan usulan penelitian ini.
7. Bapak/ Ibu moderator dan sekretaris sidang yang memimpin dan membantu penyajian usulan penelitian ini.

8. Teman-teman seangkatan penulis, Fitriani Hanis, dr., Anindita Juwita Prastianti, dr., Andityo Sidohutomo, dr., Muhammad Fariz, dr., Ferdian Ramadhan, dr., Daya Banyu Bening, dr., dan Astry Ayunda, dr. sebagai saudara dan rekan seperjuangan yang selalu memberikan semangat dalam penyelesaian studi penulis.
9. Bapak/Ibu moderator dan sekretaris sidang yang telah memimpin jalannya pementasan tinjauan kepustakaan ini.
10. Teman-teman sejawat PPDS I Ilmu Kesehatan Mata, yang selalu memberikan dorongan, semangat, dan bantuan kepustakaan dalam penyusunan tinjauan kepustakaan ini.
11. Kedua orang tua dan suami saya, atas segala doa, semangat dan dukungan yang tidak pernah putus kepada saya selama menjalani masa pendidikan.
12. Tim audiovisual yang telah memberikan bantuan dalam pementasan usulan penelitian ini.

Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu atas semua bantuannya sehingga terselesaikannya usulan penelitian ini, tidak lupa kami haturkan banyak terima kasih. Semoga amal baiknya diberikan balasan yang seetimpal dan selalu mendapatkan berkah dan rahmat dari Allah SWT.

RINGKASAN

Efek Pemberian *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) dan *Mitomycin-C* Terhadap Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) dan Proliferasi Sel Pada *Human Pterygium Fibroblast* (Studi Eksperimental Laboratorium *In Vitro*).

Nadia Ayu Safitri, Yulia Primitasari, Evelyn Komaratih

Pterygium adalah perkembangan abnormal jaringan epitel dan fibrovaskular yang dapat membahayakan penglihatan atau menyebabkan peradangan berulang. Perkembangan pterygium dihipotesiskan disebabkan oleh vaskularisasi abnormal dan proliferasi sel epitel. Namun patofisiologi yang tepat dari penyakit ini masih belum diketahui. Bukti epidemiologi menunjukkan bahwa paparan UV kronis merupakan faktor yang signifikan dalam etiologi pterygium. Pterygium memiliki tingkat kekambuhan paska operasi yang tinggi mencapai 89%. Untuk mengurangi angka kekambuhan paska operasi dikembangkan beberapa teknik operasi dan pemberian terapi adjuvan setelah eksisi. Patofisiologi perkembangan pterygium beragam, salah satu faktor utama adalah proses proliferasi yang dimediasi oleh TGF- β .

Salah satu terapi yang dikembangkan untuk mencegah rekurensi pterygium adalah dengan menargetkan terapi pada jalur proliferasi dengan menambahkan terapi adjuvan berupa MMC paska operasi. MMC berperan dalam menghambat sintesis DNA sehingga menurunkan ekspresi TGF- β dan berujung menghambat proliferasi dari sel. Meskipun dapat menurunkan angka rekurensi yang cukup baik, tetapi MMC memiliki resiko komplikasi yang cukup serius dan tinggi. Oleh karena itu diperlukan agen untuk menekan proliferasi pterygium yang relatif lebih aman. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) merupakan komponen utama pada senyawa *catechin* dan bentuk paling aktif diantara semua jenis *catechin* serta memiliki efek biologis yang paling besar, seperti anti kanker, anti mikroba, anti oksidan, anti inflamasi, dan anti fibrotik. Studi menunjukkan EGCG memiliki efek anti-inflamasi, antioksidan, dan antiangiogenik pada model penyakit mata. Selain itu, EGCG telah juga terbukti menginduksi kematian sel dan menghambat pertumbuhan sel dan metastasis pada berbagai jenis sel kanker. Dengan memodulasi ekspresi TGF- β , EGCG dapat memodulasi proliferasi dan mencegah jaringan fibroblas yang berlebih. Keduanya akan dinilai dengan dibandingkan terhadap kontrol tanpa perlakuan untuk diuji pengaruhnya terhadap ekspresi TGF- β dan proliferasi dalam penelitian ini.

Sel fibroblas pterygium yang didapatkan dari pasien dengan pterygium grade 3 yang telah memenuhi kriteria inklusi kemudian dilakukan karakterisasi sel fibroblas pterygium dengan antibodi Vimentin. Dilakukan uji untuk mengetahui dosis IC₅₀ dan viabilitas sel fibroblas dengan EGCG 5 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, dan 150 μ M menggunakan CCK-8 assay. Didapatkan hasil IC₅₀ EGCG pada dosis 104

μM sehingga konsentrasi EGCG 100 μM dan 150 μM dipilih untuk penilaian ekspresi TGF- β dan proliferasi sel.

Penilaian ekspresi TGF- β dan proliferasi sel dengan membandingkan kelompok MMC 0,4 mg/ml, EGCG 100 μM dan EGCG 150 μM dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Dilakukan uji ekspresi TGF- β pada 48 jam setelah sel ditanam pada *well plate* dengan menggunakan *immunoflourescence* dengan dibandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok intervensi lalu selanjutnya dilakukan uji proliferasi dengan pada sel sudah konfluen kemudian ditanam pada *well plate* dan dievaluasi dengan CCK-8 *assay*, dinilai pertambahan sel selama 0, 24, 48, dan 72 jam. Hasil penelitian ekspresi TGF- β pada MMC 0,4 mg/mL dan EGCG 100 μM dan 150 μM lebih rendah dibandingkan pada kelompok kontrol tanpa perlakuan dengan perbedaan signifikan secara statistik pada masing-masing kelompok ($p < 0,001$). Uji proliferasi juga menunjukkan proliferasi sel pada MMC 0,4 mg/mL dan EGCG 100 μM , 150 μM lebih rendah bila dibandingkan kelompok kontrol, dan menunjukkan perbedaan signifikan secara statistic ($p < 0,001$).



SUMMARY

Effect of Administration of Epigallocatechin-3-Gallate and Mitomycin C of TGF- β Expression and Proliferation in Human Pterygium Fibroblast

Nadia Ayu Safitri, Yulia Primitasari, Evelyn Komaratih

Pterygium is an abnormal development of epithelial and fibrovascular tissue that can compromise vision or cause recurrent inflammation. The development of the pterygium is hypothesized to be caused by abnormal vascularization and proliferation of epithelial cells. However, the exact pathophysiology of this disease is still unknown. Epidemiological evidence suggests that chronic UV exposure is a significant factor in the etiology of pterygium. Pterygium has a high postoperative recurrence rate of 89%. To reduce the postoperative recurrence rate, several surgical techniques have been developed and adjuvant therapy after excision has been developed. The pathophysiology of pterygium development varies, one of the main factors is the proliferative process mediated by TGF- β .

One of the therapies developed to prevent pterygium recurrence is to target therapy on the proliferation pathway by adding adjuvant therapy in the form of postoperative MMC. MMC plays a role in inhibiting DNA synthesis thereby reducing TGF- β expression and ending up inhibiting cell proliferation. Although it can reduce the recurrence rate quite well, MMC has a serious and high risk of complications. Therefore, agents are needed to suppress pterygium proliferation which are relatively safer. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is the main component of catechin compounds and is the most active form among all types of catechins and has the greatest biological effects, such as anti-cancer, anti-microbial, anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-fibrotic. Studies show EGCG has anti-inflammatory, antioxidant, and antiangiogenic effects in eye disease models. In addition, EGCG has also been shown to induce cell death and inhibit cell growth and metastasis in various types of cancer cells. By modulating TGF- β expression, EGCG can modulate proliferation and prevent excess fibroblast tissue. Both will be assessed by comparison with untreated controls to test their effect on TGF- β expression and proliferation in this study.

Pterygium fibroblast cells obtained from patients with pterygium grade 3 who met the inclusion criteria were then characterized by Vimentin antibody for pterygium fibroblast cells. Tests were performed to determine IC50 dose and viability of fibroblast cells with EGCG 5 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, and 150 μ M using the CCK-8 assay. The results of IC50 EGCG were obtained at a dose of 104 μ M so that the EGCG concentrations of 100 μ M and 150 μ M were chosen for the assessment of TGF- β expression and cell proliferation.

Assessment of TGF- β expression and cell proliferation was done by comparing the MMC 0.4 mg/ml, EGCG 100 μ M and EGCG 150 μ M groups with the control group without treatment. A TGF- β expression test was carried out 48 hours after the cells were planted on the well plate using immunofluorescence

compared between the control group and the intervention group. cell accretion for 0. 24, 48, and 72 hours. The results of the study showed that TGF- β expression in MMC 0.4 mg/mL and EGCG 100 μ M and 150 μ M was lower than in the control group without treatment with statistically significant differences in each group ($p < 0.001$). Proliferation test also showed cell proliferation at 0.4 mg/mL MMC and 100 μ M EGCG, 150 μ M lower than the control group, and showed a statistically significant difference ($p < 0.001$).



ABSTRACT

Effect of Administration of Epigallocatechin-3-Gallate and Mitomycin C of TGF- β Expression and Proliferation in Human Pterygium Fibroblast

Nadia Ayu Safitri, Yulia Primitasari, Evelyn Komaratih

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga/ Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya, East Java, Indonesia

Introduction: Pterygium is a degenerative illness defined by the formation of fibrovascular tissue on the ocular surface. The recurrence of this condition, which is accompanied by inflammation and increasing fibrovascular growth, is regarded as its key therapeutic challenge. Epigallocatechin gallate (EGCG) has demonstrated anti-inflammatory, antioxidative, and antiangiogenic benefits in many models of ocular illness. Our study aimed to determine and compare the efficacy of EGCG with MMC on pterygium fibroblast proliferation and expression of TGF- β .

Methods: Pterygium fibroblast from tissue explants during pterygium surgery was cultured and treated with EGCG 100 μ M, 150 μ M and MMC 0.4 mg/mL. Proliferation was assessed using the CCK-8 assay. The expression of TGF- β was determined with immunofluorescence staining and the intensity measurement was done using ImageJ software. The results between groups were analyzed using ANOVA test and post hoc test.

Results: EGCG showed a concentration-dependent inhibition of TGF- β expression and fibroblast proliferation. EGCG and MMC significantly inhibited pterygium fibroblast proliferation and expression of TGF- β ($p < 0.05$)

Conclusion: EGCG and MMC inhibits pterygium fibroblast proliferation and expression of TGF- β . These findings showed that EGCG represents a potential therapeutic agent to prevent the recurrence of pterygium after surgery.

Keywords: EGCG, MMC, Pterygium, TGF- β , Proliferation

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Lembar Pengesahan	iv
Lembar Pengesahan Penguji Tesis	v
Lembar Orisinalitas	vi
Lembar Pernyataan Tanpa Ketertarikan Finansial	vii
Ucapan Terima Kasih	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRACT	xiv
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR SINGKATAN	xxi
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat teoritis	4
1.4.2 Manfaat praktis	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 Pterigium	5
2.2 Patogenesis Pterigium	5
2.2.1 Sinar UV	5
2.2.2 Stres oksidatif dan reseptor <i>growth factor</i>	6
2.2.3 <i>Pro inflammatory cytokines</i> dan mekanisme imunologi	7
2.2.4 Fibroangiogenic growth factor	8
2.2.5 Infeksi virus dan hereditas	8
2.3 <i>Transforming Growth Factor-Beta</i> (TGF- β)	9
2.3.1 Pensinyalan TGF- β	11
2.3.2 Efek TGF- β pada pembentukan fibroblas	13
2.4 Tatalaksana Pterigium	14
2.4.1 Teknik <i>bare sclera</i>	15

2.4.2	<i>Conjunctival autograft</i>	15
2.4.3	<i>Amniotic membrane transplant (AMT)</i>	15
2.5	Terapi Adjuvan.....	16
2.5.1	Mitomycin C.....	16
2.6	<i>Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG)</i>	17
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		21
3.1	Kerangka Konseptual.....	21
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual	22
3.3	Hipotesis Penelitian	23
BAB 4 METODE PENELITIAN		24
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	24
4.1.1	Jenis penelitian.....	24
4.1.2	Rancangan penelitian.....	24
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
4.2.1	Tempat penelitian	28
4.2.2	Waktu penelitian.....	28
4.3	Unit Eksperimental dan Replikasi	28
4.3.1	Unit eksperimental.....	28
4.3.2	Kriteria inklusi	28
4.3.3	Kriteria eksklusi.....	28
4.3.4	Replikasi	28
4.4	Kriteria Unit Eksperimen.....	29
4.4.1	Kriteria <i>drop out</i>	29
4.5	Variabel Penelitian.....	29
4.5.1	Variabel bebas	29
4.5.2	Variabel terikat	30
4.6	Definisi Operasional Variabel	30
4.7	Instrumen Penelitian	31
4.8	Protokol Penelitian.....	32
4.9	Cara Kerja Penelitian.....	33
4.9.1	Pengambilan pterigium.....	33
4.9.2	Isolasi dan kultur sel HPF.....	33
4.9.3	Karakterisasi sel HPF dan pewarnaan vimentin	34
4.9.4	Pembuatan larutan EGCG.....	34
4.9.5	Uji viabilitas dan IC ₅₀ EGCG.....	35
4.9.6	Pengukuran TGF- β	36
4.9.7	Pengukuran proliferasi sel	36
4.10	Analisis Data.....	37
4.10.1	Analisis deskriptif	37
4.10.2	Analisis statistik	37
4.11	Etika Penelitian.....	38
BAB 5 HASIL PENELITIAN		39
5.1	Pengambilan dan Karakteristik Jaringan Pterigium	39

5.1.1	Pengambilan jaringan pterigium.....	39
5.1.2	Karakteristik sel <i>human pterygium fibroblast</i>	40
5.2	Uji Viabilitas HPF dengan Intervensi EGCG dan Mitomycin C.....	41
5.3	Uji IC ₅₀ EGCG pada <i>Human Pterygium Fibroblast</i>	43
5.4	Ekspresi TGF- β pada EGCG dan Mitomycin-C.....	47
5.5	Uji Proliferasi HPF dengan Intervensi Mitomycin C dan EGCG.....	49
BAB 6	PEMBAHASAN.....	52
6.1	Karakteristik Jaringan Fibroblas pada <i>Human Pterygium Fibroblast</i>	52
6.2	Uji Viabilitas dan IC ₅₀ EGCG	53
6.3	Ekspresi TGF- β pada EGCG dan Mitomycin C	55
6.4	Proliferasi Sel <i>Human Pterygium Fibroblast</i> Pemberian MMC, EGCG	58
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	61
7.1	Kesimpulan	61
7.2	Saran	61
BAB 8	PENUTUP.....	62
	DAFTAR PUSTAKA	63
	LAMPIRAN.....	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Mekanisme aksi EGCG	19
Tabel 4. 1 Definisi operasional penelitian.....	30
Tabel 5. 1 Persentase viabilitas terhadap sel HPF.....	42
Tabel 5. 2 Hasil inhibisi sel fibroblas pada EGCG.	44
Tabel 5. 4 Kemampuan proliferasi sel HPF	51



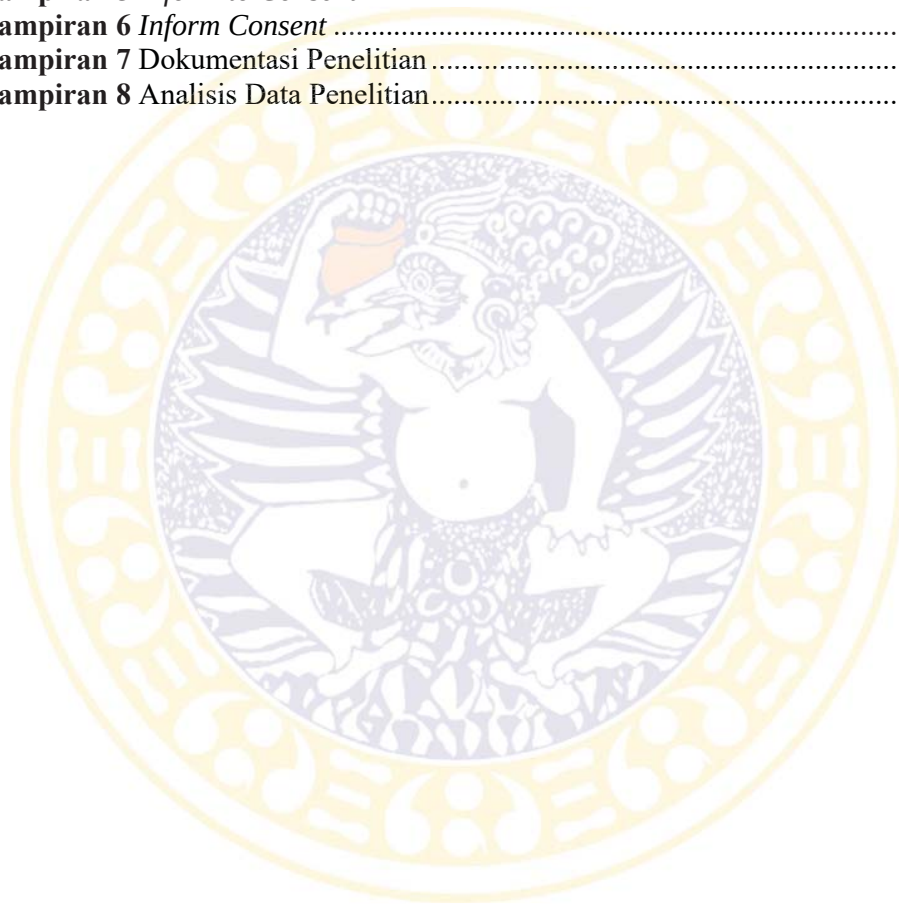
DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2. 1 Mekanisme pembedakan pterigium.....	6
Gambar 2. 2 Faktor pembentukan pterigium.....	9
Gambar 2. 3 Pensinyalan TGF- β melalui jalur smad dan nonsmad	12
Gambar 2. 4 Efek TGF- β pada diferensiasi proliferasi fibroblas	14
Gambar 2. 5 Mekanisme molekuler EGCG.....	18
Gambar 3. 1 Kerangka konseptual	21
Gambar 4. 1 Alur penelitian tahap 1	25
Gambar 4. 2 Alur penelitian tahap 2	26
Gambar 4. 3 Protokol penelitian.....	32
Gambar 5. 1 Jaringan pterigium pasien yang di eksisi	39
Gambar 5. 2 Kultur primer jaringan pterigium.....	40
Gambar 5. 3 <i>Sel human pterygium fibroblast</i> pada pewarnaan vimentin.....	40
Gambar 5. 4 Viabilitas sel pada EGCG.....	41
Gambar 5. 5 Viabilitas sel pada MMC 0,4 mg/mL	43
Gambar 5. 6 Persamaan linear uji IC ₅₀ dosis EGCG.....	44
Gambar 5. 7 Sel fibroblas pterigium pada mikroskop setelah 48 jam.....	45
Gambar 5. 8 Sel fibroblas pterigium pada mikroskop setelah 72 jam.....	46
Gambar 5. 9 Ekspresi TGF- β pada <i>immunofluorescence staining</i>	48
Gambar 5. 10 Perbandingan ekspresi TGF- β	49
Gambar 5. 11 Uji proliferasi sel fibroblas pterigium.....	50
Gambar 6. 1 Persamaan linear ekspresi TGF- β pada EGCG dan MMC.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Organisasi Penelitian	67
Lampiran 2 Jadwal Penelitian	68
Lampiran 3 Biaya Penelitian	69
Lampiran 4 Kelaikan Etik	71
Lampiran 5 <i>Inform to Consent</i>	72
Lampiran 6 <i>Inform Consent</i>	73
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian	74
Lampiran 8 Analisis Data Penelitian.....	75



DAFTAR SINGKATAN

AMPK	=	<i>adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase</i>
AMT	=	<i>amnion membrane transplantation</i>
AP	=	<i>activator protein</i>
BSA	=	<i>bovine serum albumin</i>
BSS	=	<i>balanced salt solution</i>
C	=	<i>celcius</i>
Cas	=	<i>caspase</i>
CDK	=	<i>Cyclin-dependent kinase</i>
cGMP	=	<i>cyclic guanosine monophosphate</i>
CO ₂	=	<i>carbon dioxide</i>
COX	=	<i>cyclooxygenase</i>
CTCFFoxo	=	<i>corrected total cell fluorescence</i>
CTGF	=	<i>connective tissue growth factor</i>
DAPI	=	<i>4',6-diamino-2-phenylindole</i>
dl	=	<i>deciliter</i>
DMEM	=	<i>dulbecco's modified eagle medium</i>
DNA	=	<i>deoxyribonucleic acid</i>
ECM	=	<i>extracellular matrix</i>
EGFR	=	<i>epidermal growth factor receptor</i>
EGCG	=	<i>epigallocatechin-3-gallate</i>
EGF	=	<i>epidermal growth factor</i>
Elf	=	<i>E74-like factor</i>
ERK	=	<i>extracellular signal regulated kinase</i>
FBS	=	<i>fetal bovine serum</i>
FGF	=	<i>fibroblast growth factor</i>
Foxo	=	<i>forkhead box O</i>
GFR	=	<i>growth factor receptor</i>
GTP	=	<i>guanosine triphosphate</i>
HPF	=	<i>human pterygium fibroblast</i>
HPV	=	<i>human papilloma virus</i>
IGF	=	<i>insulin-like growth factor</i>
IGFBP	=	<i>insulin-like growth factor binding protein</i>
IGFBP3	=	<i>Insulin-like growth factor binding protein 3</i>
IGFR	=	<i>insulin-like growth factor receptor</i>
IgG	=	<i>immunoglobulin G</i>
IL	=	<i>interleukin</i>
JAK	=	<i>janus kinase</i>
JNK	=	<i>c-jun n terminal kinase</i>
MAPK	=	<i>mitogen-activated protein kinases</i>
mg	=	<i>milligram</i>
ml	=	<i>mililiter</i>
mm	=	<i>milimeter</i>
mM	=	<i>millimolar</i>

MMC	=	<i>mitomycin-C</i>
MMP	=	<i>matrix-metalloproteinase</i>
NADPH	=	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF	=	<i>nuclear factor</i>
nm	=	<i>nanometer</i>
NO	=	<i>nitrit oxide</i>
NOX	=	<i>NADP(H)oxidase</i>
NSAID	=	<i>non-steroid anti-inflammatory drugs</i>
PARP	=	<i>poly(adp-ribose) polymerase</i>
PBS	=	<i>phosphate buffer saline</i>
PDGF	=	<i>platelet derived growth factor</i>
PEDF	=	<i>pigment epithelium derived factor</i>
PG	=	<i>prostaglandin</i>
PgP	=	<i>p-glycoprotein</i>
PI	=	<i>propidium iodide</i>
PI3K	=	<i>phosphoinositide-3 kinase</i>
PK	=	<i>protein kinase</i>
PP	=	<i>protein phosphatase</i>
ppm	=	<i>parts per million</i>
RBC	=	<i>red blood cell</i>
ROS	=	<i>reactive oxygen species</i>
STAT	=	<i>signal transducer and activator of transcription</i>
IGFRTGF	=	<i>transforming growth factor</i>
TIMP	=	<i>tissue inhibitor metalloproteinase</i>
TNF	=	<i>tumor necrosis factor</i>
Trail	=	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>
UV	=	<i>ultraviolet</i>
VEGF	=	<i>vascular endothelial growth factor</i>
%	=	<i>persen</i>
<	=	<i>kurang dari</i>
>	=	<i>lebih dari</i>
µg	=	<i>mikrongram</i>
µm	=	<i>mikronmeter</i>
µM	=	<i>Mikronmolar</i>