

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GRAFT PLATELET RICH FIBRIN
(PRF) TERHADAP EKSPRESI VEGF DAN PEDF PADA
KERATITIS *Pseudomonas aeruginosa*
(Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**



Oleh:

Nandang Sudrajat

NIM. 012015653103

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GRAFT PLATELET RICH FIBRIN
(PRF) TERHADAP EKSPRESI VEGF DAN PEDF PADA
KERATITIS *Pseudomonas aeruginosa*
(Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**



Oleh:

Nandang Sudrajat

NIM. 012015653103

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GRAFT PLATELET RICH FIBRIN
(PRF) TERHADAP EKSPRESI VEGF DAN PEDF PADA
KERATITIS *Pseudomonas aeruginosa*
(Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)**

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

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

Nandang Sudrajat

NIM. 012015653103

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

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan tesis yang berjudul:

PENGARUH PEMBERIAN GRAFT PLATELET RICH FIBRIN (PRF)

TERHADAP EKSPRESI VEGF DAN PEDF PADA KERATITIS

Pseudomonas aeruginosa

(Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)

Diajukan sebagai syarat memperoleh gelar Magister Kedokteran Klinik

(M. Ked. Klin)

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

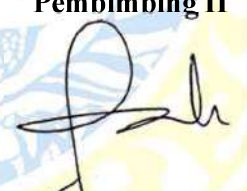
Oleh:

Nandang Sudrajat, dr.

Pembimbing I

Pembimbing II


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


Rozalina Loebis, dr., Sp.M(K)
NIP. 19751225 200801 2 015

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik

Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga


Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K)
NIP. 19680110 199703 2 003

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS

Laporan tesis ini diajukan oleh:

Nama : Nandang Sudrajat, dr.

NIM : 012015653103

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Judul : Pengaruh Pemberian Graft Platelet Rich Fibrin (PRF) terhadap
Ekspresi VEGF dan PEDF pada Keratitis *Pseudomonas
aeruginosa* (Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus
cuniculus*)

Laporan tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Universitas Airlangga
RSUD Dr. Soetomo pada tanggal 08 September 2022.

Panitia Penguji:

1. Ketua penguji : Dr. Luki Indriaswati, dr., Sp.M(K)
2. Penguji : Dr. Ismi Zuhria, dr., Sp.M(K)
3. Penguji : Rozalina Loebis, dr., Sp.M(K)
4. Penguji : Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)
5. Penguji : Dr. Ir. Mahmudah, M.Kes

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nandang Sudrajat, dr.
NIM : 012015653103
Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata
Angkatan : Juli 2018
Jenjang : Program Pendidikan Dokter Spesialis-I

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

Pengaruh Pemberian Graft Platelet Rich Fibrin (PRF) terhadap Ekspresi VEGF dan PEDF pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Penelitian 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, 20 Agustus 2022

Penulis,



Nandang Sudrajat, dr.
NIM. 012015653103

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT dengan selesainya Tesis dengan judul **Pengaruh Pemberian Graft Platelet Rich Fibrin (PRF) terhadap Ekspresi VEGF dan PEDF pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Penelitian 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. Ismi Zuhria, dr., SpM(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. **Rozalina Loebis, dr., Sp.M(K)** sebagai pembimbing II yang selalu memberikan pengarahan, bimbingan, dan motivasi serta referensi dan koreksi dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. **Dr. Djoko Legowo, drh., M.Kes** sebagai konsultan Patologi Anatomi yang telah memberikan bimbingan dan konsep penelitian dalam penyusunan usulan penelitian ini.
4. **Dr. Ir. Mahmudah, M.Kes** sebagai konsultan Statistika yang telah memberikan bimbingan mengenai statistika dan konsep penelitian dalam penyusunan usulan penelitian ini.
5. **Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp.M(K)** sebagai Kepala Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan kesempatan untuk ditampilkannya laporan hasil penelitian ini.

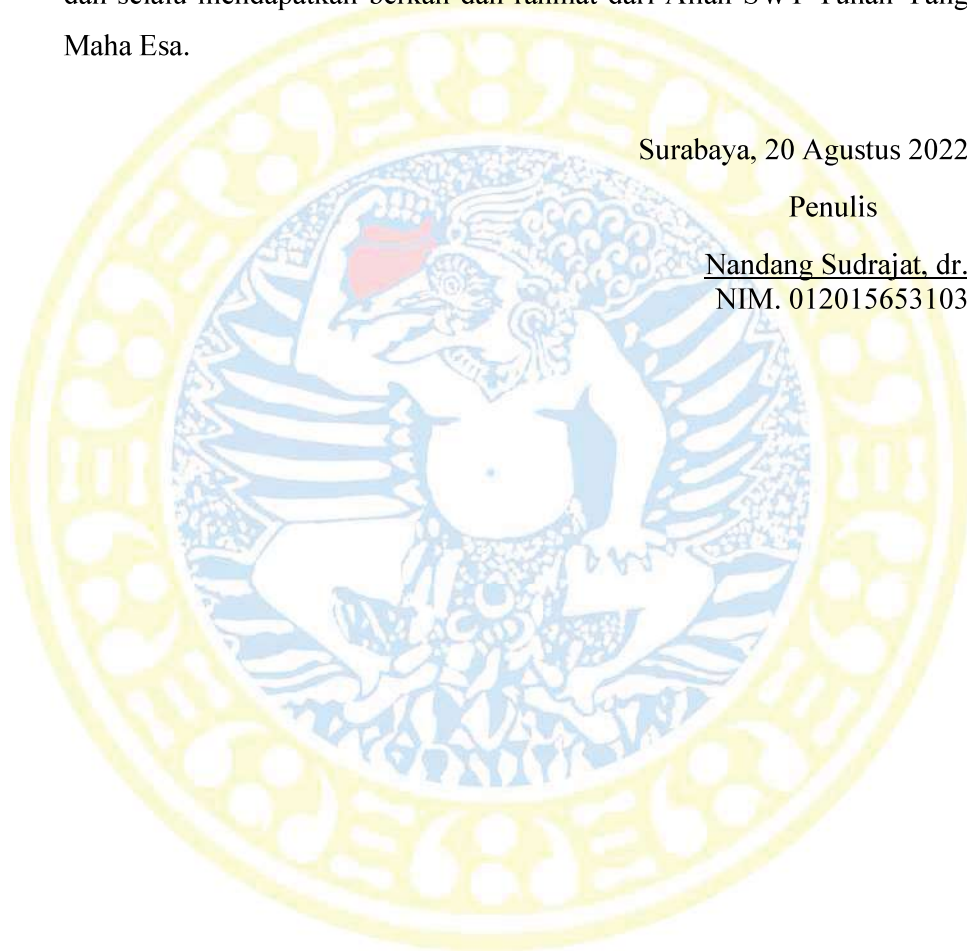
6. **Dr. Yulia Primitasari, dr., SpM(K)** sebagai Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan semangat dan kesempatan untuk ditampilkannya laporan hasil penelitian ini.
7. **Dr. Luki Indriaswati, dr., SpM(K)** selaku koordinator penelitian yang telah memberikan motivasi dan arahan dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini.
8. **Indri Wahyuni, dr., Sp.M(K)** sebagai pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi dalam penyusunan penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
9. **Dr. Luki Indriaswati, dr., SpM(K), Dr. Reni Prastyani, dr., SpM, M.Kes dan Sauli Ari Widjaja, SpM(K), PhD** selaku koordinator penelitian yang telah memberikan motivasi dan 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 memberikan saran dan motivasi selama penyusunan laporan hasil penelitian ini.
11. **Bimanda Rizki Nurhidayat, dr. dan Oggy Satriya Putra, dr.,** sebagai tim penelitian yang telah berjuang bersama, memberikan dorongan dan semangat hingga terselesaikannya penelitian ini.
12. **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.
13. **Bapak/Ibu moderator dan sekretaris sidang,** yang telah memimpin jalannya presentasi hasil penelitian ini.
14. **Tim Audiovisual** yang telah memberikan bantuan dalam presentasi hasil penelitian ini.
15. **Tim sekretariat PPDS I** Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

- 16. Orang tua dan mertua saya, istri saya tercinta dr. Resti Akmalina, serta anak-anak saya M. Dhafin Aldric El Zafran dan M. Athazaki El Zafran.**
- 17. Semua pihak** yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu atas semua bantuannya sehingga terselesaikannya Tesis 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, 20 Agustus 2022

Penulis

Nandang Sudrajat, dr.
NIM. 012015653103



RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Graft Platelet Rich Fibrin (PRF) terhadap Ekspresi VEGF dan PEDF pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)

Nandang Sudrajat, Ismi Zuhria, Rozalina Loebis, Djoko Legowo, Mahmudah, Bimanda Rizki Nurhidayat, Oggy Satriya

Keratitis infeksi merupakan kasus darurat pada mata dan merupakan salah satu penyebab kebutaan di dunia. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab keratitis paling sering. Proses kerusakan kornea akan tetap berjalan walaupun kuman penyebab telah tereradikasi. Hal ini diakibatkan proses imunologi baik secara intrinsik maupun ekstrinsik dari toxin kuman yang masih ada pada permukaan bola mata. Apabila tidak ditatalaksana dengan terapi yang cepat dan tepat keratitis dapat berkomplikasi antara lain menjadi neovaskularisasi kornea. Pada laporan WHO 2019, setiap tahunnya terdapat 1,5-2 juta kasus baru kebutaan akibat kekeruhan dan neovaskularisasi kornea yang berhubungan dengan infeksi. Di Indonesia, melalui survey RAAB (*Rapid Assesment of Avoidable Blindness*) tahun 2014-2016 didapatkan kekeruhan kornea non-trakomatous sebanyak 4,3% dari total kasus kebutaan.

Tujuan tatalaksana keratitis adalah untuk mengeradikasi kuman infeksi, memperbaiki integritas permukaan bola mata dan kejernihan kornea. Sayangnya penanganan untuk regenerasi jaringan yang diakibatkan keratitis infeksi masih minimal. Pengobatan yang rutin dilakukan saat ini memiliki batasan klinis tertentu. *Platelet-rich fibrin* (PRF) sebagai sumber *growth factor* yang telah digunakan secara luas di berbagai bidang terapi sehingga berpotensi mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu studi mengenai penggunaan PRF pada kasus kekeruhan kornea akibat keratitis infeksi menunjukkan bahwa pengaplikasian PRF dapat mengurangi reaksi inflamasi dan pembentukan neovaskularisasi, sehingga PRF diharapkan dapat digunakan untuk rekonstruksi permukaan okuli.

Sebanyak 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 graft *Platelet Rich Fibrin* (PRF). Luas neovaskularisasi kornea secara klinis diukur sebelum dan sesudah perlakuan. Ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan ekspresi *pigment epithelial derived factor* (PEDF) pada lapisan epitel, stroma dan endotel kornea dievaluasi dengan pemeriksaan imunohistokimia pada hari ke-10 setelah induksi keratitis.

Hasil evaluasi luas neovaskularisasi secara klinis tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara sebelum dan sesudah perlakuan, baik pada kelompok dengan antibiotik saja ($p=0,980$) maupun pada kelompok

antibiotik+graft PRF ($p=0,980$). Pada hari ke-10 pasca induksi didapatkan rerata luas neovaskularisasi pada kelompok antibiotik adalah $5,68 \pm 4,60 \text{ mm}^2$ dan pada kelompok antibiotik+graft PRF adalah $3,88 \pm 4,06 \text{ mm}^2$. Evaluasi antar kedua kelompok tersebut tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p=0,526$).

Hasil evaluasi ekspresi VEGF pada kornea di hari ke-10 pasca induksi keratitis didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan epitel, namun tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada lapisan stroma dan endotel. Pada lapisan epitel kornea didapatkan mean $4,10 \pm 1,73$ pada kelompok dengan antibiotik saja dan $1,30 \pm 0,75$ pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,008$). Pada lapisan stroma didapatkan median 0,50 IQD 0,35 pada kelompok dengan antibiotik saja dan median 0,60 IQD 0,70 pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,934$). Pada lapisan endotel didapatkan mean $0,47 \pm 0,41$ pada kelompok dengan antibiotik saja dan median 0,30 IQD 1,40 pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,935$).

Hasil evaluasi ekspresi PEDF pada kornea di hari ke-10 pasca induksi keratitis didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan epitel dan stroma namun tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada lapisan endotel. Pada lapisan epitel kornea didapatkan mean $1,80 \pm 0,58$ pada kelompok dengan antibiotik saja dan mean $3,53 \pm 0,85$ pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,004$). Pada lapisan stroma didapatkan mean $1,33 \pm 1,09$ pada kelompok dengan antibiotik saja dan $2,97 \pm 0,93$ pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,029$). Pada lapisan endotel didapatkan mean $0,60 \pm 0,52$ pada kelompok dengan antibiotik saja dan $1,93 \pm 1,88$ pada kelompok antibiotik+graft PRF ($p=0,157$).

Kesimpulan dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa PRF dapat menghambat ekspresi VEGF dan menstimulasi ekspresi PEDF pada kornea hewan model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* di hari ke-10. Namun, tidak didapatkan perbedaan neovaskularisasi secara klinis.

SUMMARY

Role of Platelet Rich Fibrin (PRF) Graft on VEGF and PEDF Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis (Experimental Study in *Oryctolagus cuniculus*)

Nandang Sudrajat, Ismi Zuhria, Rozalina Loebis, Djoko Legowo, Mahmudah,
Bimanda Rizki Nurhidayat, Oggy Satriya

Infective keratitis is an ophthalmology emergency condition and one of the leading causes of blindness in the world. *Pseudomonas aeruginosa* is the most common cause of infective keratitis. The process of corneal damage will continue even though the causative bacteria have been eradicated. This is due to the immunological process either intrinsically or from germ toxins that are still present on the ocular surface. If the patient with keratitis does not receive prompt and appropriate therapy, complications can occur, including corneal neovascularization. In 2019 WHO report, there are 1.5-2 million new cases of blindness annually due to corneal opacification and neovascularization associated with infection. In Indonesia, through the 2014-2016 RAAB (Rapid Assessment of Avoidable Blindness) survey, non-trachomatous corneal opacities were found to be 4.3% of the total blindness cases.

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.

A total of 12 New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were subjected to keratitis induction by inoculation of *Pseudomonas aeruginosa*. Two days after the induction of keratitis, the rabbits were divided into two groups with 6 rabbits in each group. The first group was rabbits treated with an only antibiotic, while the second group was rabbits treated with antibiotic and Platelet Rich Fibrin (PRF) grafts. The corneal neovascularization area was clinically measured before and after treatment. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and the expression of pigment epithelial-derived factor (PEDF) in the corneal epithelium, stroma and endothelium were evaluated by immunohistochemical examination on the 10th day after keratitis induction.

The results of the clinical evaluation of neovascularization showed no significant difference between before and after treatment, neither in the antibiotic-only group ($p=0.980$) nor the antibiotic+PRF graft group ($p=0.980$). On the 10th post-induction day, the mean area of neovascularization in the antibiotic group was $5.68 \pm 4.60 \text{ mm}^2$ and in the antibiotic+PRF graft group was $3.88 \pm 4.06 \text{ mm}^2$. There was no significant difference between the two groups ($p=0.526$).

The results of the evaluation of corneal VEGF expression on day 10 of post-induced keratitis showed a significant difference between groups in the epithelial layer, but no significant difference was found in the stromal and endothelial layers. In the corneal epithelial layer, the mean was 4.10 ± 1.73 in the antibiotic-only group and 1.30 ± 0.75 in the antibiotic+PRF graft group ($p=0.008$). In the stromal layer, a median of 0.50 IQD 0.35 in the antibiotic-only group and a median of 0.60 IQD 0.70 in the antibiotic+PRF graft group ($p=0.934$). In the endothelial layer, the mean was 0.47 ± 0.41 in the antibiotic-only group and a median of 0.30 IQD 1.40 in the antibiotic+PRF graft group ($p=0.935$).

The results of the evaluation of corneal PEDF expression on day 10 of post-induced keratitis showed significant differences between groups in the epithelial and stromal layers, but no significant differences were found in the endothelial layer. In the corneal epithelial layer, the mean was 1.80 ± 0.58 in the antibiotic-only group and the mean was 3.53 ± 0.85 in the antibiotic+PRF graft PRF group ($p=0.004$). In the stromal layer, the mean was 1.33 ± 1.09 in the antibiotic-only group and 2.97 ± 0.93 in the antibiotic+PRF graft group ($p=0.029$). In the endothelial layer, the mean was 0.60 ± 0.52 in the antibiotic-only group and 1.93 ± 1.88 in the antibiotic+PRF graft group ($p = 0.157$).

The conclusion from the results of this study was that PRF could inhibit VEGF expression and stimulate PEDF expression in the cornea of the *Pseudomonas aeruginosa* keratitis animal model on the 10th day. However, there was no difference on clinical neovascularization.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Graft Platelet Rich Fibrin (PRF) terhadap Ekspresi VEGF dan PEDF pada Keratitis *Pseudomonas aeruginosa* (Penelitian Eksperimental pada *Oryctolagus cuniculus*)

Nandang Sudrajat, Ismi Zuhria, Rozalina Loebis, Djoko Legowo, Mahmudah, Bimanda Rizki Nurhidayat, Oggy Satriya

Latar Belakang: Untuk meneliti kemampuan platelet rich fibrin (PRF) dalam menghambat neovaskularisasi, menghambat ekspresi VEGF dan menstimulasi ekspresi PEDF pada hewan coba keratitis infeksi.

Metode: Sebanyak 12 kelinci putih New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) dilakukan induksi keratitis dengan inokulasi *Pseudomonas aeruginosa*. Kelinci dibagi menjadi dua kelompok, pertama adalah kelinci yang diberi terapi antibiotik saja, kedua adalah kelinci yang diberi terapi antibiotik dan graft PRF. Luas neovaskularisasi kornea secara klinis diukur sebelum dan sesudah perlakuan. Ekspresi vascular endothelial growth factor (VEGF) dan ekspresi pigment epithelial derived factor (PEDF) pada lapisan epitel, stroma dan endotel kornea dievaluasi dengan pemeriksaan imunohistokimia pada hari ke-10 setelah induksi keratitis.

Hasil: Evaluasi dilakukan pada hari ke-10 pasca induksi keratitis. Luas neovaskularisasi secara klinis tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antar kedua kelompok ($p=0,526$). Ekspresi VEGF pada kornea didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan epitel ($p=0,008$), namun tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada lapisan stroma ($p=0,934$) dan endotel ($p=0,935$). Ekspresi PEDF pada kornea didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok pada lapisan epitel ($p=0,004$) dan stroma ($p=0,029$) namun tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada lapisan endotel ($p=0,157$).

Kesimpulan: PRF dapat menghambat ekspresi VEGF dan menstimulus ekspresi PEDF pada kornea hewan model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* di hari ke-10. Namun, tidak didapatkan perbedaan neovaskularisasi secara klinis.

Kata kunci: platelet rich fibrin, neovaskularisasi kornea, VEGF, PEDF, keratitis infeksi

ABSTRACT

Role of Platelet Rich Fibrin (PRF) Graft on VEGF and PEDF Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis (Experimental Study in *Oryctolagus cuniculus*)

Nandang Sudrajat, Ismi Zuhria, Rozalina Loebis, Djoko Legowo, Mahmudah,
Bimanda Rizki Nurhidayat, Oggy Satriya

Background: To investigate the effect of platelet-rich fibrin (PRF) in inhibiting neovascularization, inhibiting VEGF expression and stimulating PEDF expression in the infective keratitis animal model.

Methods: A total of 12 New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were subjected to keratitis induction by inoculation of *Pseudomonas aeruginosa*. The rabbits were divided into two groups, the first group was treated antibiotic-only, and the second was treated with antibiotic and PRF graft. The corneal neovascularization area was clinically measured before and after treatment. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and expression of pigment epithelial-derived factor (PEDF) in the corneal epithelium, stroma, and endothelium were evaluated by immunohistochemical examination on day 10 after keratitis induction.

Results: Evaluation was carried out on the 10th day after keratitis induction. There was no clinically significant difference in the area of neovascularization between the two groups ($p=0.526$). There were significant differences in VEGF expression in the cornea between groups in the epithelial layer ($p=0.008$), but there was no significant difference between the stromal ($p=0.934$) and endothelial ($p=0.935$) layers. PEDF expression on the cornea showed a significant difference between groups in the epithelial ($p = 0.004$) and stroma layers ($p = 0.029$) but there was no significant difference in the endothelial layer ($p = 0.157$).

Conclusions: PRF could inhibit VEGF expression and stimulate PEDF expression in the cornea of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis animal model on the 10th day. However, there was no difference on neovascularization clinically.

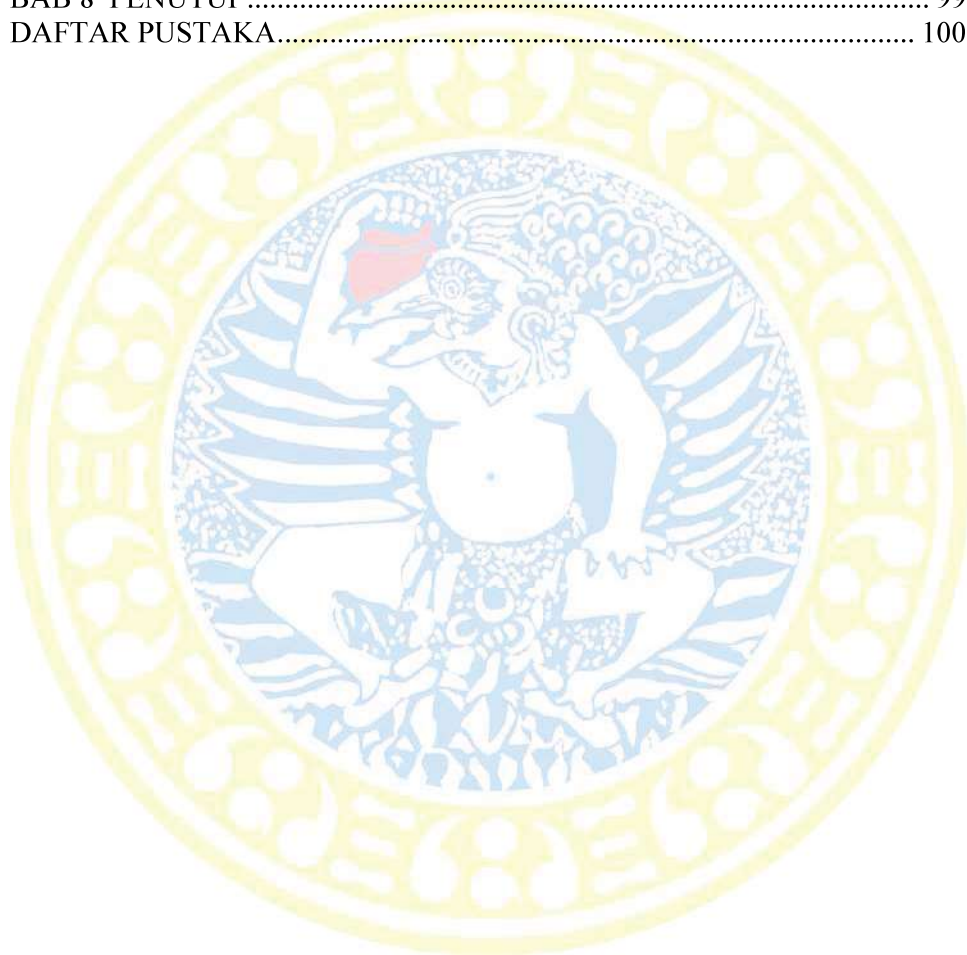
Keywords: platelet-rich fibrin, corneal neovascularization, VEGF, PEDF, infective keratitis

DAFTAR ISI

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	xxii
DAFTAR SINGKATAN.....	xxiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Anatomi Kornea	8
Susunan kornea terluar adalah lapisan	8
2.1.1 Lapisan Epitel.....	10
2.1.2 Membran Bowman	11
2.1.3 Lapisan Stroma.....	12
2.1.4 Lapisan Dua.....	12
2.1.5 Membran Descemet.....	13
2.1.6 Lapisan Endotel.....	13
2.2 Fase Penyembuhan Luka Kornea	13
2.2.1 Penyembuhan Epitel.....	15
2.2.2 Penyembuhan Stroma.....	20
2.2.3 Penyembuhan Endotel	22
2.3. Neovaskularisasi Pada Kornea	23
2.3.1. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).....	25
2.3.2. Pigment Epithelial-Derived Factor (PEDF)	27
2.4 Keratitis Bakterial.....	31
Keratitis bakterial adalah defek pada	31
2.4.1 Keratitis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
2.4.2 Penatalaksanaan Keratitis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
2.5 Platelet	33

2.5.1 Biologi Platelet	33
2.5.2 Aktivitas Platelet	35
2.5.3 Faktor Pertumbuhan Platelet	37
2.5.4 Konsentrat Kaya Platelet	38
2.6 Fibrin	39
2.7 Membran Platelet-Rich Fibrin (PRF)	40
2.7.1 Pembuatan PRF	45
2.7.2 Aplikasi Klinis Membran PRF	48
2.8 Kelinci Putih New Zealand (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	49
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	52
3.1 Kerangka Konseptual	52
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	53
3.3 Hipotesis Penelitian	55
BAB 4 METODE PENELITIAN	57
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	57
4.1.1 Jenis Penelitian	57
4.1.2 Rancangan penelitian	57
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	59
4.3 Sampel Penelitian dan Replikasi	60
4.3.1 Sampel Penelitian	60
4.3.2 Replikasi.....	60
4.4 Kriteria Unit Eksperimen	61
4.4.1 Kriteria Inklusi	61
4.4.2 Kriteria Eksklusi.....	61
4.4.3 Kriteria Putus Uji.....	61
4.5 Variabel Penelitian	62
4.5.1 Variabel Bebas	62
4.5.2 Variabel Tergantung.....	62
4.6 Definisi Operasional Penelitian.....	62
4.7 Instrumen Penelitian.....	65
4.8 Protokol Penelitian	66
4.9 Cara Kerja Penelitian.....	66
4.9.1 Induksi Hewan Coba Keratitis Bakterial.....	66
4.9.2 Persiapan Membran PRF	67
4.9.3 Penjahitan Membran PRF	68
4.9.4 Pemeriksaan VEGF dan PEDF.....	68
4.9.5 Evaluasi klinis	69
4.10 Analisis Data	70
4.10.1 Analisis Deskriptif.....	70
4.10.2 Analisis Inferensial.....	70
4.11 Etika Penelitian.....	71
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	72
5.1 Karakteristik Sampel Penelitian	72
5.2 Ekspresi VEGF	75
5.3 Ekspresi PEDF	78
5.4 Neovaskularisasi kornea secara klinis	81

BAB 6 PEMBAHASAN	84
6.1 Karakteristik Sampel Penelitian	85
6.2 Pengaruh PRF terhadap ekspresi VEGF	87
6.3 Pengaruh PRF terhadap ekspresi PEDF	90
6.4 Pengaruh PRF terhadap neovaskularisasi secara klinis.....	93
6.5 Keterbatasan Penelitian	96
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	97
7.1 Kesimpulan.....	97
7.2 Saran.....	97
BAB 8 PENUTUP.....	99
DAFTAR PUSTAKA.....	100



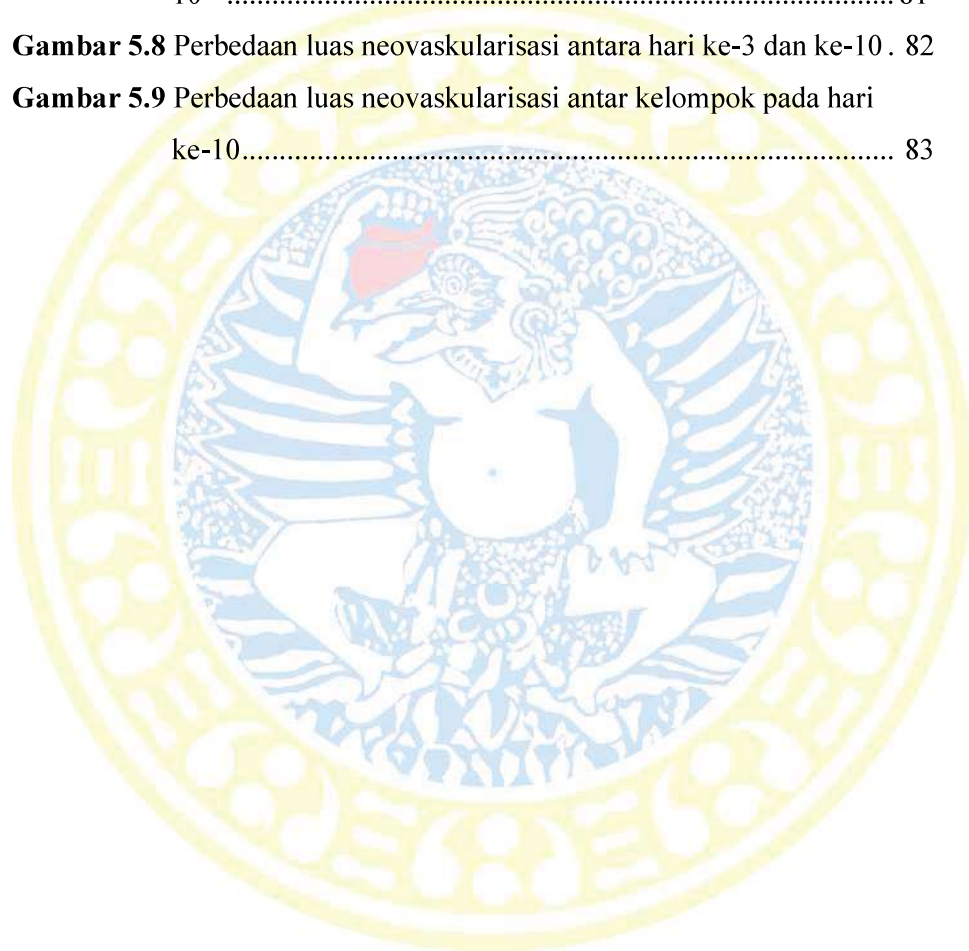
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Aksi biologi dari PRF	41
Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel	62
Tabel 4.2 Skala semikuantitatif IRS untuk penilaian ekspresi VEGF dan PEDF	69
Tabel 5.1 Distribusi kadar trombosit dan fibrinogen kelinci	73
Tabel 5.2 Rerata ekspresi VEGF	76
Tabel 5.3 Rerata ekspresi PEDF	79
Tabel 5.4 Luas neovaskularisasi secara klinis pre dan post perlakuan	82

DAFTAR GAMBAR

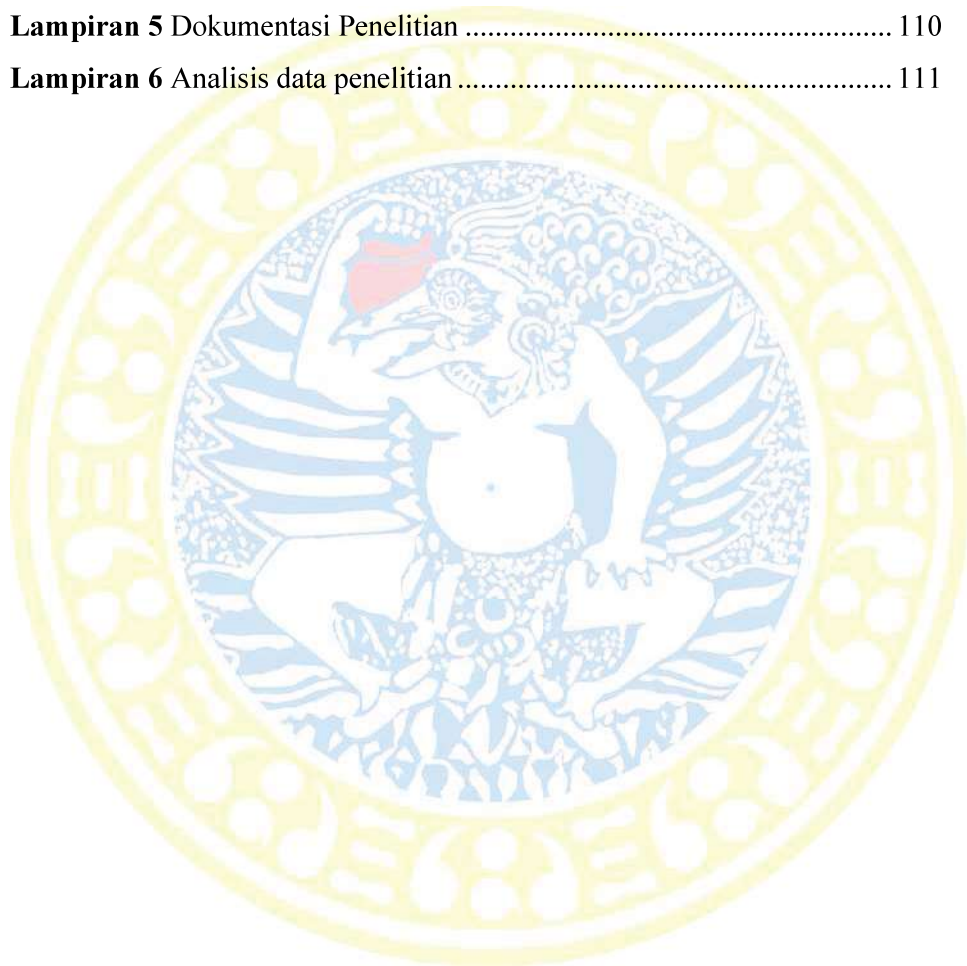
Gambar 2.1 Struktur anatomi kornea	9
Gambar 2.2 Fase penyembuhan luka berdasarkan waktu dan proses yang terjadi.....	14
Gambar 2.3 Pergerakan stem cell dalam pola X, Y, Z	19
Gambar 2.4. Proses penyembuhan luka kornea	21
Gambar 2.5 Diagram skematik proses penyembuhan trauma kornea	23
Gambar 2.6 Ekspresi VEGF dengan pemeriksaan histologi imuno-histokimia pada kornea kelinci.....	26
Gambar 2.7 Reseptor VEGF, ligand utama dan fungsi utamanya	27
Gambar 2.8 Ekspresi PEDF dengan analisis imunofluoresensi pada kornea kelinci (Yeh et al., 2021).....	28
Gambar 2.9 Mekanisme molekular dari aktivitas anti-angiogenik PEDF .	29
Gambar 2.10 Degranulasi platelet dan pelepasan sitokin pada proses koagulasi dan penyembuhan	38
Gambar 2.11 Morfologi jaringan fibrin	40
Gambar 2.12 Sel darah dilihat dengan <i>Scanning Electron Microscopy</i>	44
Gambar 2.13 Membran PRF pada tabung reaksi.....	45
Gambar 2.14 Proses pembuatan PRF	47
Gambar 2.15 Aplikasi PRF pada pasien post eksisi pterygium.....	48
Gambar 2.16 Aplikasi membran PRF pada kasus descemetocoele kornea .	49
Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian	52
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian.....	58
Gambar 4.2 Protokol Penelitian.....	66
Gambar 5.1 Gambaran klinis keratitis hewan coba	74
Gambar 5.2 Pemeriksaan defek kornea pada hari ke-10	74
Gambar 5.3 Perbedaan rerata ekspresi VEGF antara kelompok antibiotik (K1) dan antibiotik+graft PRF (K2).....	76

Gambar 5.4 Gambaran ekspresi VEGF pada kelompok antibiotik (K1) dan antibiotik + graft PRF (K2)	77
Gambar 5.5 Perbedaan rerata ekspresi PEDF antara kelompok antibiotik (K1) dan antibiotik+graft PRF (K2).....	79
Gambar 5.6 Perbandingan ekspresi PEDF	80
Gambar 5.7 Luas neovaskularisasi secara klinis pada hari ke-3 dan ke- 10	81
Gambar 5.8 Perbedaan luas neovaskularisasi antara hari ke-3 dan ke-10 .	82
Gambar 5.9 Perbedaan luas neovaskularisasi antar kelompok pada hari ke-10.....	83



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Organisasi Penelitian.....	106
Lampiran 2 Anggaran Penelitian	107
Lampiran 3 Jadwal Penelitian.....	108
Lampiran 4 Kelaikan Etik.....	109
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian	110
Lampiran 6 Analisis data penelitian	111



DAFTAR SINGKATAN

ADP	<i>Adenosin Diphosphate</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BMP	<i>Bone Morphogenic Proteins</i>
Ca ²⁺	<i>Calcium ions</i>
CFU	<i>Colony-Forming Unit</i>
EC	<i>Endothelial Cells</i>
ECM	<i>Extra Cellular Matrix</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF-b	<i>Basic-Fibroblast Growth Factor</i>
Flt-1	<i>Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 1</i>
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF-1	<i>Hypoxia-Inducible Factor 1</i>
HPAPs	<i>Human Platelet Antimicrobial Peptides</i>
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-1 α	<i>Interleukin-1 lpha</i>
IL-1 β	<i>Interleukin-1 beta</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-8	<i>Interleukin-8</i>
IRS	<i>Immuno Reactive Score</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
KDR	<i>Kinase insert Domain containing Receptor</i>
LPR6	<i>Lipoprotein Receptor-Related Protein 6</i>
L-PRF	<i>Leukocyte and Platelet Rich Fibrin</i>
L-PRP	<i>Leukocyte and Platelet Rich Plasma</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMP	<i>Matriks Metalloproteinase</i>
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
NFAT	<i>Nuclear Factor of Activated T-cells</i>
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PEDF	<i>Pigment Epithelium-Derived Factor</i>
PIGF	<i>Placental Growth Factor</i>
PMC	<i>Post Mitotic Cells</i>
PMN	<i>Polymorphonuclear Neutrophilic</i>
	<i>Peroxisome Proliferator-Activated</i>
PPAR	<i>receptors</i>
PPP	<i>Platelet-Poor Plasma</i>
P-PRF	<i>Pure Platelet Rich Fibrin</i>

P-PRP	<i>Pure-Platelet Rich Plasma</i>
PRF	<i>Platelet-Rich Fibrin</i>
PRP	<i>Platelet-Rich Plasma</i>
RAAB	<i>Rapid Assessment of Avoidable Blindness</i>
rpm	<i>Revolutions per minute</i>
SD	<i>Standard Deviation</i>
TAC	<i>Transit Amplifying Cells</i>
TDC	<i>Terminally Differentiated Cells</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosing Factor-alpha</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
α -SMA	<i>Alpha Smooth Muscle Actin</i>

