

TESIS

**PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC
PROTEIN 2 (BMP-2)* DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL
FORM DEPRIVATION MYOPIA
(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)**



Oleh:

DENISA ROSATI
NIM: 011718016301

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC
PROTEIN 2* (BMP-2) DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL
FORM DEPRIVATION MYOPIA
(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Oleh:

DENISA ROSATI
NIM: 011718016301

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC
PROTEIN 2 (BMP-2)* DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL
FORM DEPRIVATION MYOPIA
(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)**

TESIS

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

Oleh:

DENISA ROSATI
NIM: 011718016301

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

Menyetujui hasil laporan penelitian yang berjudul:

**PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS TERHADAP EKSPRESI BONE MORPHOGENETIC
PROTEIN 2 (BMP-2) DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL
FORM DEPRIVATION MYOPIA
(Studi Eksperimental *In Vivo* 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 :

Denisa Rosati, dr.

Pembimbing I



Prof. Dr. Gatut Suhendro, dr., Sp.M(K)
NIP. 19460212 197203 1 001

Pembimbing II



Ria Sandy Deneska, dr., Sp.M(K)
NIP. 19750929 201410 2 001

Mengetahui,

**Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik
Jenjang Megister 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 : Denisa Rosati, dr.

NIM : 011718016301

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Judul : Pengaruh Injeksi Intrasklera Sel Punca Mesenkimal Limbus Terhadap Ekspresi Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) dan CD 90 Pada Hewan Model *Form Deprivation Myopia* (Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)

ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo.

Pada tanggal 30 September 2021

Panitia Penguji,

1. Ketua Penguji : Dr. Evelyn Komaratih, dr., Sp. M (K)
2. Penguji : Dr. Nurwasis, dr., Sp. M (K)
3. Penguji : Dr. Luki Indriaswati, dr., Sp. M (K)
4. Penguji : Dr. Reni Prastyani, dr., Sp. M, M.Kes
5. Penguji : Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini

Nama : Denisa Rosati, dr.

NIM : 011718016301

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Angkatan : Januari 2018

Jenjang : PPDS-1

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam usulan penelitian saya berjudul:

PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL LIMBUS TERHADAP EKSPRESI BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL *FORM DEPRIVATION MYOPIA* (Studi Eksperimental *In Vivo* 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, 10 September 2021

Penulis



Denisa Rosati, dr.
NIM. 011718016301

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT dengan selesainya penyusunan hasil penelitian ini. Oleh karena itu, penulis menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat:

1. **Prof. Dr. Gatut Suhendro, dr. Sp.M(K)** sebagai pembimbing pertama yang selalu memberikan pengarahan, bimbingan, dan motivasi serta referensi dan koreksi dalam penyusunan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. **Ria Sandy Deneska, dr. Sp.M(K)** sebagai pembimbing kedua selalu memberikan pengarahan, bimbingan, dan motivasi serta referensi dan koreksi dalam penyusunan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. **Dyah Fauziah, dr. Sp.PA(K)** sebagai pembimbing patologi anatomi yang telah memberikan masukan dan referensi dalam bidang patologi anatomi sehingga hasil penelitian dapat terselesaikan.
4. **Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes** sebagai konsultan statistik yang telah membantu dalam penyelesaian penyusunan hasil penelitian ini dan membantu dalam bidang statistika.
5. **Dr. Evelyn Komaratih, dr., SpM(K)** sebagai Ketua Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya
6. **Dr. Yulia Primitasari, dr., SpM(K)** sebagai Koordinator Program Studi PPDS I Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran

Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya, yang telah menjadwalkan pementasan tinjauan kepustakaan ini.

7. **Almarhum Prof. Dr. Hendrian Dwi Koloso, dr., SpM(K)** sebagai dosen wali yang selalu memberikan motivasi dalam penyusunan hasil penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
8. **Para Guru Besar dan seluruh staf pengajar** Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya, yang telah banyak membimbing dan memberikan saran selama penyusunan hasil penelitian ini.
9. Kedua orang tua penulis, Bapak **Bambang Prihadi** dan Ibu **Sudar Itafarida** serta suami penulis, **Suryo Ardi Hutomo** yang telah memberikan bantuan materi dan doa, dorongan, serta semangat.
10. **dr. Atina Yustisia, Sp. M, dr. Muhammad Rizqy, Sp. M, dan tim Stem Cell Research Universitas Airlangga** yang telah membantu banyak dalam penyelesaian penelitian ini.
11. **Teman-teman sejawat PPDS I** Ilmu Kesehatan Mata, yang selalu memberikan dorongan, semangat, dan bantuan kepustakaan dalam penyusunan.

Surabaya, 10 September 2021

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL LIMBUS TERHADAP EKSPRESI BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL *FORM DEPRIVATION MYOPIA* (Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)

Denisa Rosati, Gatut Suhendro, Ria Sandy Deneska, Dyah Fauziah, Hari Basuki
Notobroto, Atina Yustisia Lestari, Muhammad Rizqy Abdullah

Miopia merupakan gangguan pada mata yang umum terjadi dan secara global semakin meningkat dalam dekade terakhir. (Li *et al*, 2014; Morgan *et al*, 2012). Berdasarkan studi sebelumnya diketahui adanya properti biomekanik dan biokimia sklera yang menentukan bentuk dan ukuran dari bola mata pada miopia. Fibroblas memegang peranan penting pada struktur sklera sebagai sel penghasil matrik ekstraseluler. Berdasarkan penelitian terdahulu, *remodeling* dari ekstraseluler pada miopia disebabkan oleh berbagai macam faktor pertumbuhan seperti peningkatan ekspresi TGF- β , penurunan ekspresi bFGF serta penurunan dari ekspresi *bone morphogenetic protein 2* (BMP-2) (McBrien, 2013; Li *et al*, 2013; Wu *et al*, 2014). Implantasi sel punca mesenkimal menjadi salah satu strategi baru dalam terapi miopia. Diketahui bahwa sklera memiliki sel progenitor yang disebut *scleral stem/progenitor cells* (SSPCs). SSPC ini diketahui memiliki kemampuan multipoten termasuk menjadi fibroblas baru dengan marker CD 90 (Tsai *et al*, 2011; Janowski *et al.*, 2015).

Studi ini difokuskan pada pengaruh pemberian sel punca mesenkimal limbus terhadap ekspresi BMP-2 yang merupakan salah satu *growth factor* yang berpengaruh pada remodelling sklera dan juga ekspresi CD 90 sebagai marker sel punca maupun sel progenitor sklera pada hewan model *form deprivation myopia* (FDM). Hewan model New Zealand *rabbits* berusia 2-3 bulan dibagi menjadi tiga grup dengan jumlah delapan sampel tiap grup, yaitu grup kontrol, grup model FDM, dan grup model FDM dengan injeksi sel punca mesenkimal (FDM+SPML). Dilakukan oklusi monokular pada mata hewan model untuk menginduksi terjadinya miopia. Oklusi ini dilakukan selama enam minggu, dengan diberikan injeksi sel punca mesenkimal limbus pada grup perlakuan pada minggu keempat. Sel punca disiapkan dengan metode isolasi dan kultur sesuai modifikasi pada studi yang dilakukan oleh Komaratih dkk. (2019). Pemeriksaan mikroskop imunoflorescen dilakukan untuk mengevaluasi migrasi SPML berlabel PKH26 ke sklera posterior. Sel punca mesenkimal diinjeksi pada lapisan intrasklera di arah jam 10, dengan jarak 2,5 mm dari posterior limbus. Parameter status refraksi dilakukan dengan streak retinoskopi dan pengukuran axial length pada minggu nol, empat, dan enam. Pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi poliklonal untuk BMP-2 dan CD 90 digunakan untuk memeriksa ekspresi BMP-2 dan CD 90 di sklera posterior.

Hasil penelitian memperlihatkan adanya perubahan status refraksi dan *axial length* menjadi lebih miopia pada grup perlakuan model miopia (FDM). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan signifikan pada hasil streak retinoskopi (NEITZ, Tokyo, Japan) pada semua grup di minggu keempat ($p=0,013$) dan minggu keenam ($p=0,001$). Nilai status refraksi pada grup FDM memiliki perbedaan signifikan pada evaluasi berkala ($p=0,001$) dan begitu juga dengan grup FDM+SPML ($p=0,001$). Pemeriksaan minggu keenam menunjukkan perbedaan signifikan pada hasil *axial length* ($p=0,049$). Pemberian sel punca mesenkimal limbus memberikan intensitas ekspresi BMP-2 yang lebih tinggi dibanding intensitas ekspresi grup FDM dengan menggunakan *immunoreactive score* (IRS). Didapatkan nilai pada ketiga kelompok yaitu kontrol, *form deprivation* (FDM) dan FDM+SPML berturut-turut adalah $8,50 \pm 2,00$, $7,00 \pm 4,00$, dan $9,00 \pm 4,00$. Meskipun dengan uji statistik dengan Kruskal-Wallis didapatkan perbedaan yang tidak signifikan antar ketiga grup ($p=0,323$, $p>0,05$). Sedangkan pada pemeriksaan ekspresi CD 90 menunjukkan adanya perbedaan ekspresi CD 90 diantara ketiga kelompok ($p = 0,00$, $p<0,05$). Pada uji Mann Whitney didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok FDM+SPML ($0,12 \pm 0,35$ dengan $9,87 \pm 4,82$; $p=0,000$, $p<0,05$) serta antara kelompok FDM dan FDM+SPML ($0,37 \pm 0,52$ dengan $9,87 \pm 4,82$; $p = 0,000$, $p<0,05$).

Berdasarkan penelitian ini, didapatkan bukti bahwa terdapat pengaruh pemberian sel punca mesenkimal limbus terhadap ekspresi CD 90. Selain itu juga didapatkan ekspresi BMP-2 yang lebih tinggi antara kelompok FDM+SPML dengan kelompok FDM. Peningkatan ekspresi CD 90 ini membuktikan bahwa sel punca di sklera mengalami kenaikan, baik sel punca dari injeksi maupun aktivasi dari SSPC sklera itu sendiri. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian oleh Kumar *et al* (2010) yang menemukan bahwa tikus yang ditransplantasikan sel punca mesenkimal menunjukkan peningkatan proliferasi sel punca dibandingkan kontrol. Sedangkan adanya intensitas BMP-2 yang lebih tinggi pada kelompok FDM+SPML juga menunjukkan bahwa pemberian sel punca meningkatkan *growth factor* pada matriks ekstraseluler yang berpengaruh pada diferensiasi fibroblas. Oleh karena itu, diharapkan sel punca mesenkimal limbus dapat menjadi sebuah alternatif yang potensial dalam terapi miopia.

SUMMARY

EFFECT OF LIMBAL MESENCHYMAL STEM CELL INTRASCLERA INJECTION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP-2) AND CD 90 EXPRESSION IN FORM DEPRIVATION MYOPIA ANIMAL MODEL (In Vivo Experimental Study in *Oryctolagus cuniculus*)

Denisa Rosati, Gatut Suhendro, Ria Sandy Deneska, Dyah Fauziah, Hari Basuki
Notobroto, Atina Yustisia Lestari, Muhammad Rizqy Abdullah

Myopia is one of leading cause of visual impairment which increasing in recent decades globally (Li *et al*, 2014; Morgan *et al*, 2012). Previous study explained the pivotal role of biomechanical and biochemistry property of the sclera in the control of eye size and development of myopia. Fibroblast has a main role of scleral structure as the producer of extracellular matrix. Based on previous studies, extracellular remodelling in myopia is caused by various growth factors such as increase expression of TGF- β , decreased expression of bFGF and decreased expression of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) (McBrien, 2013; Li *et al*, 2013; Wu *et al*, 2014). Mesenchymal stem cell implantation is a new strategy in the treatment of myopia. It is known that the sclera contains progenitor cells called scleral stem/progenitor cells (SSPCs). These SSPCs are known to have multipotent abilities including becoming new fibroblasts with CD 90 marker (Tsai *et al*, 2011; Janowski *et al.*, 2015).

This study focused on the effect of giving limbal mesenchymal stem cells to the expression of BMP-2 which is a growth factor that affects scleral remodelling and also the expression of CD 90 as a marker of stem cells and scleral progenitor cells in animal models of form deprivation myopia (FDM). New Zealand rabbits 2-3 months old were divided into three groups with eight samples in each group, namely the control group, the FDM model group, and the FDM model group with mesenchymal stem cell injection (FDM+SPML). Monocular occlusion was performed on the eye of the animal model to induce myopia. This occlusion was carried out for six weeks, with the injection of limbus mesenchymal stem cells in the treatment group in the fourth week. Stem cells were prepared by isolation and culture methods according to the modification of the study conducted by Komaratih *et al.* (2019). Immunofluorescence microscopy was performed to evaluate the migration of SPML labeled with PKH26 to the posterior sclera. Mesenchymal stem cells were injected into the intrascleral layer at 10 o'clock, at a distance of 2.5 mm from the posterior limbus. Parameters of refraction status were performed by streak retinoscopy and measurement of axial length at weeks zero, four, and six. Immunohistochemical examination with polyclonal antibodies for BMP-2 and CD 90 was used to examine the expression of BMP-2 and CD 90 in the posterior sclera.

The results showed that there was a change in refractive status and axial length to be more myopic in the myopia model (FDM) treatment group. The results showed a significant difference in the results of streak retinoscopy (NEITZ, Tokyo, Japan) in all groups at the fourth week ($p=0.013$) and the sixth week ($p=0.001$). The refractive status value in the FDM group had a significant difference in the periodic evaluation ($p=0.001$) and so did the FDM+SPML group ($p=0.001$). The sixth week examination showed a significant difference in the results of axial length ($p=0.049$). The administration of limbal mesenchymal stem cells gave a higher intensity of BMP-2 expression than the intensity of expression in the FDM group using the immunoreactive score (IRS). The scores for the three groups, namely control, form deprivation (FDM) and FDM+SPML, were 8.50 ± 2.00 , 7.00 ± 4.00 , and 9.00 ± 4.00 . Although the statistical test with Kruskal-Wallis showed that there was no significant difference between the three groups ($p=0.323$, $p>0.05$). While the examination of CD 90 expression showed differences in CD 90 expression between the three groups ($p = 0.00$, $p < 0.05$). In the Mann Whitney test, there was a significant difference between the control group and the FDM+SPML group (0.12 ± 0.35 with 9.87 ± 4.82 ; $p=0.000$, $p<0.05$) and between the FDM and FDM+SPML group (0.37 ± 0.52 with 9.87 ± 4.82 ; $p = 0.000$, $p<0.05$).

Based on this study, there was evidence that there was an effect of giving limbus mesenchymal stem cells on CD 90 expression. In addition, a higher BMP-2 expression was found between the FDM+SPML group and the FDM group. This increase in CD 90 expression proves that stem cells in the sclera have increased, both stem cells from injection and activation of the scleral SSPC itself. The results of this study are consistent with a study by Kumar et al (2010) who found that mice transplanted with mesenchymal stem cells showed an increase in stem cell proliferation compared to controls. Meanwhile, the higher intensity of BMP-2 in the FDM+SPML group also indicated that the administration of stem cells increased growth factors in the extracellular matrix which affected fibroblast differentiation. Therefore, it is hoped that limbus mesenchymal stem cells can be a potential alternative in the treatment of myopia.

ABSTRAK

**PENGARUH INJEKSI INTRASKLERA SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS TERHADAP EKSPRESI BONE MORPHOGENETIC PROTEIN
2 (BMP-2) DAN CD 90 PADA HEWAN MODEL
FORM DEPRIVATION MYOPIA
(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada *Oryctolagus cuniculus*)**

Denisa Rosati, Gatut Suhendro, Ria Sandy Deneska, Dyah Fauziah, Hari Basuki
Notobroto, Atina Yustisia Lestari, Muhammad Rizqy Abdullah

Latar Belakang: Untuk meneliti kemampuan sel punca mesenkimal limbus (SPML) dalam menghambat progresivitas miopia hewan coba *form deprivation myopia*

Metode: Studi ini menggunakan kultur SPML dari kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang diisolasi dengan metode modifikasi semienzimatis. 24 hewan coba dibagi dalam tiga grup yang terdiri dari grup kontrol, grup *form deprivation myopia* (FDM), dan grup *form deprivation myopia* dengan injeksi SPML (FDM+SPML). Model miopia didapatkan dengan oklusi monokular selama enam minggu. Injeksi SPML secara intrasklera diberikan pada minggu keempat oklusi. Setelah enam minggu dilakukan enukleasi dan dievaluasi ekspresi bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) dan CD 90 di sklera posterior dengan pemeriksaan imunohistokimia. Hasil tiap grup dianalisis dengan Kruskal-Wallis serta Mann-Whitney dengan *confidence interval* 95% ($p < 0,05$).

Hasil: Setelah empat minggu dilakukan oklusi, semua mata menjadi lebih miopia. Injeksi SPML dilakukan 2,5 mm posterior dari limbus dan evaluasi dua minggu menunjukkan SPML telah migrasi ke sklera posterior. Ekspresi CD 90 menunjukkan perbedaan signifikan antara grup kontrol dan FDM+SPML serta grup FDM dan FDM+SPML ($p < 0,05$). Ekspresi BMP-2 menunjukkan adanya nilai yang lebih tinggi antara grup FDM dan FDM+SPML meskipun tidak signifikan secara statistik ($p > 0,05$).

Kesimpulan: SPML memiliki peran potensial sebagai kontrol miopia mata hewan coba *form deprivation* dengan meningkatkan ekspresi CD 90.

Kata kunci: *Form deprivation myopia*, sel punca mesenkimal limbus, BMP-2, CD 90, imunohistokimia

ABSTRACT

EFFECT OF LIMBAL MESENCHYMAL STEM CELL INTRASCLERA INJECTION ON BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP 2) AND CD 90 EXPRESSION IN FORM DEPRIVATION MYOPIA ANIMAL MODEL

(In Vivo Experimental Study in *Oryctolagus cuniculus*)

Denisa Rosati, Gatut Suhendro, Ria Sandy Deneska, Dyah Fauziah, Hari Basuki
Notobroto, Atina Yustisia Lestari, Muhammad Rizqy Abdullah

Purpose: To investigate the capability of limbal mesenchymal stem cell (LMSC) in reducing myopia progression in form deprivation myopia animal model

Material and methods: This study using cultured LMSC from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and isolated using modification of semienzymatic methods. 24 animal model divided into three groups, consists of control group, form deprivation myopia group (FDM), and form deprivation myopia group with LMSC injection (FDM+LMSC). Myopia model was achieved by monocular occlusion for six weeks. LMSC injection was done intrasclera during fourth week of occlusion. After six weeks, we performed enucleation. Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) and CD 90 expression of posterior sclera were evaluated using immunohistochemistry. The results between groups were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney with 95% confidence ($p < 0,05$).

Result: After four weeks of deprivation, all eyes became more myopic. LMSC injection was done 2,5 mm posterior from limbus and two week-evaluation showed LMSCs had migrated on posterior region of the sclera. CD 90 expression showed significant differences between control and FDM+SPML group also FDM and FDM+SPML group ($p < 0,05$). BMP-2 expression showed an increase value between FDM and FDM+SPML despite of no significant difference ($p > 0,05$).

Conclusion: LMSC has potential role in myopia control in form deprivation eye animal model by increasing CD 90 expression.

Keyword: Form deprivation myopia, limbal mesenchymal stem cell, BMP-2, CD 90, immunohistochemistry

DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI TESIS	v
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xiii
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT.....	xvii
DAFTAR ISI.....	xviii
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR GAMBAR	xxiii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
DAFTAR SINGKATAN	xxv
 BAB 1 PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 Miopia.....	5
2.1.1 <i>Form Deprivation Myopia (FDM)</i>	6
2.2 Sklera	6
2.2.1 Kolagen	7
2.2.2 Proteoglikan	7
2.2.3 Matrix metaloproteinase	8
2.2.4 Fibroblas	9
2.2.5 <i>Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2)</i>	9
2.3 Perkembangan Sklera	12
2.3.1 Perubahan Sklera Prenatal	12
2.3.2 Perubahan Sklera Postnatal	13
2.4 Perubahan Sklera pada Miopia	14
2.4.1 Perubahan Struktural Sklera	14

2.4.2	Perubahan Biokimia Sklera	15
2.4.3	Perubahan Seluler Sklera	16
2.5	Sinyal Pertumbuhan pada Miopia.....	17
2.6	Sel Punca Mesenkimal	20
2.6.1	Sel Punca Mesenkimal Limbus.....	21
2.6.2	Aplikasi Klinis Sel Punca di Bidang Mata	23
2.6.3	Sel Progenitor Sklera	24
2.6.4	Potensi Sel Punca Mesenkimal pada Miopia	25
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.	28
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian.....	28
3.2	Hipotesis Penelitian	30
BAB 4	METODE PENELITIAN	31
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	31
4.2	Unit Eksperimen, Replikasi dan Randomisasi.....	32
4.2.1	Unit Eksperimen	32
4.2.2	Replikasi	32
4.2.3	Randomisasi	33
4.3	Variabel Penelitian.....	34
4.3.1	Variabel Bebas	34
4.3.2	Variabel Tergantung	34
4.3.3	Variabel Kendali	34
4.4	Instrumen Penelitian	34
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian	35
4.5.1	Lokasi Penelitian.....	35
4.5.2	Waktu Penelitian.....	35
4.6	Definisi Operasional Variabel	36
4.7	Analisa Data.....	37
BAB 5	HASIL PENELITIAN	39
5.1	Isolasi, Kultur, dan Karakterisasi Sel Punca Mesenkimal Limbus	39
5.2	Migrasi dan <i>Engravement</i> Sel Punca Mesenkimal Limbus	41
5.3	Induksi Hewan Model <i>Form Deprivation Myopia</i>	42
5.4	Pengaruh Injeksi Sel Punca Mesenkimal Limbus Terhadap Ekspresi BMP-2	45
5.5	Pengaruh Injeksi Sel Punca Mesenkimal Limbus Terhadap Ekspresi CD 90	47
BAB 6	PEMBAHASAN	49
6.1	<i>Form Deprivation Myopia</i> pada Hewan Model.....	51
6.2	Pengaruh Injeksi SPML Intrasklera terhadap Ekspresi BMP-2 pada Sklera Posterior Hewan Model Miopia dengan <i>Form Deprivation</i>	54
6.3	Pengaruh Injeksi SPML Intrasklera terhadap Ekspresi CD 90 pada Sklera Posterior Hewan Model Miopia dengan <i>Form Deprivation</i>	60

6.4	Potensi Penggunaan SPML sebagai Pencegahan Progresivitas Miopia.....	64
6.5	Keterbatasan Penelitian	68
BAB 7	SIMPULAN DAN SARAN	69
7.1	Simpulan.....	69
7.2	Saran	69
BAB 8	PENUTUP	71
	DAFTAR PUSTAKA	72
	LAMPIRAN.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Perubahan status refraksi (pemeriksaan dengan streak retinoskopi) pada sampel penelitian	42
Tabel 5.2	Perubahan <i>axial length</i> pada sampel penelitian	44
Tabel 5.3	Nilai mean ekspresi BMP-2 dengan IRS Score	49
Tabel 5.4	Nilai mean ekspresi CD 90	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	<i>Form deprivation myopia</i> dan <i>lens induced myopia</i> pada marmut	6
Gambar 2.2	Gambaran lamella pada sklera manusia	7
Gambar 2.3	Struktur biomekanikal matrik ekstraseluler pada sklera mamalia	8
Gambar 2.4	Ekspresi BMP-2 pada sklera manusia dengan immunofluorescence indirek	10
Gambar 2.5	Ekspresi BMP-2 pada marmut dengan <i>lens induced myopia</i> ...	11
Gambar 2.6	Efek BMP-2 pada sintesis GAG pada fibroblast sklera	12
Gambar 2.7	Perkembangan sklera post natal	14
Gambar 2.8	Penipisan sklera posterior mamalia dengan myopia tinggi progresif	15
Gambar 2.9	Sintesis DNA sklera pada myopia	17
Gambar 2.10	Ekspresi m-RNA FGFR-1 pada mata dengan induksi myopia..	18
Gambar 2.11	Sinyal pertumbuhan pada myopia	19
Gambar 2.12	Sel punca mesenkimal dengan <i>inverted microscope</i>	22
Gambar 2.13	Morfologi sel dan karakterisasi LMCs dengan adanya ekspresi vimentin, N-cadherin, CD105 dan CD34	23
Gambar 2.14	Diferensiasi kondrogenik SSPC dan BMMSC	25
Gambar 2.15	Potensi injeksi sel punca pada perkembangan myopia	27
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	31
Gambar 4.2	Kerangka operasional	38
Gambar 5.1	Kultur primer sel punca mencapai konfluensi 90% pada hari ke-4	40
Gambar 5.2	Sel punca mesenkimal limbus pasase (P) 3 menunjukkan hasil positif untuk CD 105, CD 90 , CD 73 dan negatif untuk CD 45. A:DAPI, B :FITC berlabel antibodi, C: gabungan keduanya	40
Gambar 5.3	(A) Gambaran engravement sel punca mesenkimal limbus pada jaringan posterior sklera kelompok FDM + SPML area temporal nervus optikus; (B) Kelompok Kontrol; (C) Sebaran sel berwarna kuning yang berpendar pada jaringan sklera FDM+SPML	41
Gambar 5.4	Perubahan status refraksi (pemeriksaan dengan streak retinoskopi) pada sampel penelitian	43
Gambar 5.5	Grafik perubahan panjang <i>axial length</i> sampel penelitian	44
Gambar 5.6	Perbedaan ekspresi BMP-2 pada kelompok sampel penelitian Pewarnaan imunohistokimia ekspresi BMP-2 pada sklera	45
Gambar 5.7	Pewarnaan imunohistokimia ekspresi BMP-2 pada sklera A) Jaringan kontrol paru; B) grup kontrol dengan intensitas lemah; C) grup model miopia <i>form deprivation</i> dengan intensitas sedang; D) grup model miopia dengan injeksi sel punca dengan intensitas kuat	46
Gambar 5.8	Perbedaan ekspresi CD 90 pada kelompok sampel penelitian ...	48

Gambar 5.9	Pewarnaan imunohistokimia ekspresi CD 90 pada sel fibroblast sklera A) Jaringan kontrol tonsil; B) grup kontrol; C) grup model miopia <i>form deprivation</i> ; D) grup model miopia dengan injeksi sel punca	48
-------------------	---	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Organisasi Penelitian	77
Lampiran 2 Anggaran Penelitian	78
Lampiran 3 Sertifikat Laik Etik	79
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	80
Lampiran 5 Data Penelitian dan Analisis Statistik	81
Lampiran 6 Tabel <i>Immunoreactive Score</i> (IRS)	89

DAFTAR SINGKATAN

AMD	<i>Age-related Macular Edema</i>
BMMSC	<i>Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell</i>
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
FDM	<i>Form Deprivation Myopia</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
GAG	<i>Glicosaminoglycan</i>
GF	<i>Growth Factor</i>
hFbs	<i>human Fibroblast</i>
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
IHC	<i>Immunohistochemistry</i>
IL	<i>Interleukin</i>
IRS	<i>Immunoreactive Score</i>
IQD	<i>Inter Quartil Distance</i>
LIM	<i>Lens Induced Myopia</i>
LMSC	<i>Limbal Mesenchymal Stem Cell</i>
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
MSC	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
PSR	<i>Posterior scleral reinforcement</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RPE	<i>Retinal Pigment Epithelial</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase – Plymerase Chain Reaction</i>
SLRP	<i>Small Leucine-rich Proteoglycan</i>
SSPC	<i>Scleral Stem Progenitor Cell</i>
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TIMP	<i>Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase</i>
TNF	<i>Tumor Necrosing Factor</i>

VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
α -SMA	<i>α-Smooth Muscle Actin</i>