



**EFEK ANTI INFLAMASI-ANTI FIBROTISASI
EPIGALLOCATECHIN-GALLATE (EGCG) TOPIKAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGIS SUBSTANSIA PROPIA
KONJUNGTIVA KELINCI PASCA OPERASI FILTRASI**

LAPORAN PENELITIAN
Diajukan guna melengkapi persyaratan dalam mengikuti
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Ilmu Kesehatan Mata

oleh:

Afrisal Hari Kurniawan

UPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft. 6995/11/FK/01
Tgl. 26/02/09.

**BAGIAN ILMU KESEHATAN MATA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO/
RS Dr. KARIADI SEMARANG**

2008

**LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN**

**EFEK ANTI INFLAMASI-ANTI FIBROTISASI EPIGALLOCATECHIN-
GALLATE (EGCG) TOPIKAL TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS
SUBSTANSIA PROPIA KONJUNGTIVA KELINCI PASCA OPERASI FILTRASI**

Oleh:

Dr. Afrisal Hari Kurniawan

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,



Dr Fifi L. Rahmi, MS, SpM

NIP. 131.844.804



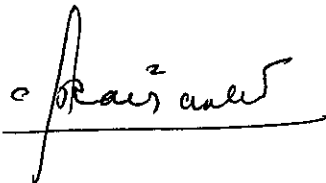
Dr Sri Inakawati SpM

NIP. 140.159.495

Mengetahui,

**Ketua Program Studi
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro**

**Ketua Bagian / SMF Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/
RSUP Dr. Kariadi**



Dr. Pramanawati, SpM

NIP. 130.675.420



Dr. Suwido Magnadi SpM

NIP 140.105.992

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penelitian dengan judul “Efek Anti Inflamasi dan Anti Fibrotisasi *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) Topikal Terhadap Gambaran Histopatologis Substansia Propria Konjungtiva Kelinci Pasca Operasi Filtrasi” dapat diselesaikan. Penelitian ini dilakukan guna memenuhi salah satu syarat dalam mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Mata.

Dalam pelaksanaan penelitian ini, penulis merasa banyak pihak telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga dalam kesempatan ini penulis menghaturkan rasa hormat, penghargaan dan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Para Guru dan senior penulis, staf pengajar PPDS I Ilmu Kesehatan Mat FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang, Prof. Dr. Wilardjo, SpM(K), Dr. Norma Djoko Handojo, SpM (K); Dr. Pramanawati, SpM; Dr. Siti Sundari Sutedja SpM; Dr. P.A. Dewi Sarjadi, SpM; Dr. Sukri Kardani, SpM; DR. Dr. Winarto, SpMK, SpM(K); Dr Suwido Magnadi SpM, Dr Sri Inakawati SpM, Dr Fifin Luthfia Rahmi SpM, Dr. Arief Wildan, SpM; Dr. A. Kentar Arimadyo, SpM; Dr. Maharani, SpM; Dr. Paramastri Arintawati, SpM; Dr. Fatimah Dyah, SpM; Dr. Tri laksana, SpM; Dr. Liana Ekowati, SpM
2. Dr Suwido Magnadi SpM selaku Ketua Bagian / SMF Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP / RSUP Dr.Kariadi, Dr.Pramanawati, SpM Selaku Ketua Program studi Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP, dan Dr Dewi Sarjadi, SpM Selaku orang tua asuh yang senantiasa memberikan arahan, nasehat, bimbingan, dan dukungan moril selama penulis menjalani pendidikan PPDS I Ilmu Kesehatan Mata.

3. Para pembimbing penelitian Dr. Fifin Luthfia Rahmi, MS, SpM selaku pembimbing I dan Dr. Sri Inakawati, SpM selaku pembimbing II yang dengan tulus dan sabar telah banyak memberikan bimbingan, inspirasi; dan arahan selama penulis menyelesaikan penelitian.
4. Dr. Hardian, staf pengajar bagian Faal FK UNDIP yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan statistik;
5. Pimpinan PT. Cendo beserta staf dan jajarannya, terima kasih atas segala bantuannya;
6. Pimpinan Lembaga Pengembangan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) beserta seluruh stafnya; Bpk. Wasino selaku staf bagian pemeliharaan hewan coba di LPPT UGM;
7. Dr. Hariadi, SpPA(K) dan Ibu Agustin yang telah membantu pelaksanaan penelitian di Bagian Patologi Anatomi RS Dr. Sardjito Yogyakarta / Universitas Gajah Mada.
8. Kedua orang tua saya, Bapak Winarso Ssos dan ibu Sri Kusumaningtyas, mertua saya Bapak Nursyahman (Alm) dan ibu Rohanah; atas segala dukungan, perhatian, pengertian dan doa restunya;
9. Istriku tercinta Dina Adriana S.ked, yang dengan penuh pengertian dan kasih sayang selalu mendoakan, memberikan motivasi dan dukungan, menjaga dan menerimaku dengan segala keterbatasanku selama menempuh pendidikan.
10. Sahabat-sahabatku Dr.Heru Wibowo Putro; Dr. Desti Hendrastuti; Dr. Trilaksana Nugroho SpM; Dr. M. Rifqy Setyanto, SpM; Dr. Liana Ekowati SpM; Dr. Cosmas Hascaryanto SpM; Dr. Cut Zamania, SpM yang selalu menginspirasi,

menyemangati, dan membantuku selama melaksanakan penelitian dan menempuh pendidikan.

11. Seluruh residen Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu tugas dan memberikan kesempatan penulis untuk melaksanakan penelitian..
12. Segenap pihak yang telah berjasa dan berperan serta hingga terselesaikannya penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa sebagai manusia biasa, penulis tidak lepas dari segala kekurangan dan keterbatasan yang mungkin menjadikan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan, dan besar harapan penulis penelitian ini dapat dikembangkan ke tingkat yang lebih lanjut sehingga hasilnya dapat memberikan manfaat bagi kemaslahatan umat manusia. Penulis menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak apabila selama proses penelitian, penulis bersikap atau bertutur kata yang kurang berkenan di hati. Semoga kita semua senantiasa dilimpahi rahmat dan ampunan dari Allah SWT. Amin.

Semarang, Desember 2008

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Lembar pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar isi.....	vi
Daftar gambar	ix
Daftar tabel.....	x
Abstrak.....	xi
BAB 1. Pendahuluan	1
1.1. Latar belakang masalah	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	5
BAB 2. Tinjauan kepustakaan	6
2.1. Anatomi dan histologi	7
2.1.1. Anatomi Konjungtiva.....	9
2.1.2. Anatomi Daerah Bedah Glaukoma	10
2.2. Tehnik Operasi Filtrasi	13
2.3 Keberhasilan Operasi Filtrasi	13
2.3.1 Mekanisme Normal Wound Healing	15
2.3.2 Proses penyembuhan pasca operasi Filtrasi.....	17
2.4. Bahan Anti Fibrotik	20
2.4.1 Steroid	20

2.4.2 .Anti Metabolit.....	24
2.5.Epigallocatechin-3 Gallate (EGCG)	25
2.6. Efek EGCG terhadap Pembentukan Jaringan Fibrotik.....	26
2.7. Farmakokinetik Obat Tetes Mata.....	28
2.8. Kerangka Teori.....	30
2.9. Kerangka Konsep	31
BAB3 Hipotesis	32
BAB 4. Metode penelitian	33
4.1. Ruang lingkup penelitian	33
4.2. Tempat dan waktu penelitian	33
4.3. Jenis dan rancangan penelitian	33
4.4. Sampel penelitian	34
4.4.1. Kriteria sampel	34
4.4.2. Besar sampel	34
4.4.3. Metode alokasi kelompok	35
4.5. Variabel penelitian	35
4.5.1. Variabel bebas	35
4.5.2. Variabel terikat	36
4.6. Definisi operasional	36
4.7. Alat, bahan dan cara kerja	37
4.7.1. Alat dan bahan penelitian	37
4.7.2. Cara kerja	38
4.8. Alur penelitian	40

4.9. Analisis statistik	41
4.10. Etika penelitian	41
BAB 5. Hasil Penelitian	42
5.1. Karakteristik Sampel	42
5.2. Derajat Sebaran Sel Radang	45
5.3. Derajat Fibrosis	46
BAB 6. Pembahasan dan diskusi	48
BAB 7. Kesimpulan dan saran	53
Daftar pustaka	54
Lampiran	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Aliran Humor aquoeus setelah trabekulektomi	7
Gambar 2. Skema anatomi mata Manusia	8
Gambar 3. Skema anatomi mata Kelinci	8
Gambar 4. lapisan Konjungtiva Manusia	9
Gambar 5. Anatomi daerah operasi glaukoma	10
Gambar 6. Potongan melintang daerah limbus mata kelinci	12
Gambar 7. Sudut filtrasi mata kelinci.....	12
Gambar 8. Skema proses penyembuhan luka (<i>wound healing</i>) normal	16
Gambar 9. Diagram kronologis proses seluler penyembuhan luka	17
Gambar 10. Cara kerja obat anti inflamasi steroid dan non steroid	22
Gambar 11. Struktur kimia EGCG.....	26
Gambar 12. Skema Pelaksanaan Penelitian	43
Gambar 13. Timbunan Sel Radang Pada Substansi Propria Konjungtiva	46
Gambar 14. Densitas kolagen (fibrotisasi) pada Substansi Propria Konjungtiva	47

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan potensi anti inflamasi dan risiko peningkatan TIO steroid topikal pada mata	21
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi	44
Tabel 3. Analisa Statistik Derajat Sebaran sel Radang	45
Tabel 4. Analisa Statistik Derajat Fibrotisasi	46

EFEK ANTI INFLAMASI-ANTI FIBROTISASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE* (EGCG) TOPIKAL TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS SUBSTANSIA PROPIA KONJUNGTIVA KELINCI PASCA OPERASI FILTRASI

Afrisal H K¹, Fifin L R², Sri Inakawati³

ABSTRAK

Latar Belakang : Fibrotisasi konjungtiva merupakan penyebab terbesar dari kegagalan trabekulektomi. Steroid digunakan sebagai baku emas pasca trabekulektomi untuk mencegah timbulnya fibrotisasi konjungtiva, tetapi obat ini memiliki resiko untuk meningkatkan tekanan intra okular. *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) terbukti memiliki efek anti inflamasi dan antifibrotisasi, namun sejauh ini belum pernah diteliti efeknya pada jaringan konjungtiva pasca operasi filtrasi.

Tujuan : Mengetahui efek anti inflamasi dan anti fibrotisasi pemberian *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) topikal dibanding pemberian deksametason topikal terhadap gambaran histopatologis substansia propria konjungtiva, pasca operasi filtrasi

Metode Penelitian : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *parallel group post test only 2 groups design*. 28 ekor kelinci putih *New Zealand* jantan dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok kontrol mendapat terapi Deksametason + antibiotik topikal (Polymixin, Neomycin) pasca operasi filtrasi, kelompok perlakuan mendapat EGCG 0,05 mg/mL topikal + antibiotik topikal (Polymixin, Neomycin) pasca operasi filtrasi. Setelah 3 minggu dilakukan pengangkatan bola mata dan jaringan konjungtiva untuk diperiksa derajat sebulan sel radang dan derajat fibrotisasi pada substansia propria konjungtiva.

Hasil Penelitian : Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada derajat sebulan sel radang dan derajat fibrotisasi substansia propria konjungtiva pada kelompok yang mendapat deksametason topikal dibanding kelompok yang mendapat EGCG 0,05 mg/mL topikal.

Kesimpulan : Pemberian EGCG 0,05 mg/mL topikal mampu memberikan efek anti inflamasi dan anti fibrotisasi yang setara dengan deksametason topikal, pada substansia propria konjungtiva pasca operasi filtrasi.

¹Residen PPDS I Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

² Staf Pengajar pada Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

³ Staf Pengajar pada Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

**ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-FIBROTIC EFFECT OF TOPICAL
EPIGALLOCATECHIN-GALLATE (EGCG) AFTER FILTERING SURGERY ON
RABBIT'S CONJUNCTIVAL SUBSTANTIA PROPRIA HISTOPATOLOGY**
Afrisal H K¹, Fifin L R², Sri Inakawati³

ABSTRACT

Background : Conjunctival scarring is the most common cause of glaucoma filtering surgery failure. Steroid was the golden standard to prevent scar formation after filtering surgery, but it has effect on increasing intra ocular pressure. *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) was proved to have anti inflammatory and anti fibrotic effect, but it's effect on conjunctival tissue after filtering surgery has not been studied.

Objectives : To investigate the anti inflammatory and anti fibrotic effect of EGCG on conjunctival substantia propria, after filtering surgery.

Methods : This study was a laboratory experimental with parallel group post test only 2 groups design. 28 male New Zealand White rabbits divided into two groups. The control group received topically applied steroid (dexamethason) and anti biotic, the treatment group received topically applied of 0,05 mg/mL of EGCG after filtering surgery. After 3 weeks of treatment, the eye was enucleated and the conjunctival was examined for inflamatory and fibrotic grading on conjunctival substantia propria.

Results : There were no statistically different of inflammatory and fibrotic grading on conjunctival subatantia propria between EGCG and control groups.

Conclusion : Application of topical EGCG gave an equal effect as topical dexametasopn on conjunctival substantia propria inflammatory and fibrotic grading.

¹Residen PPDS I Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

² Staf Pengajar pada Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

³ Staf Pengajar pada Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

BAB 1

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Masalah

Glaukoma merupakan salah satu penyakit yang mengancam penglihatan dan bersifat ireversibel. Penyakit ini ditemukan hampir diseluruh bagian dunia, dengan bagian terbesar merupakan penderita glaukoma sudut terbuka (*POAG / Primary Open Angle Glaucoma*). Di Indonesia glaukoma menempati posisi ke dua setelah katarak sebagai penyebab kebutaan, dengan jumlah penderita sekitar 0,20 % dari jumlah penduduk.¹ Penyakit ini memiliki berbagai faktor risiko, dimana tekanan intra okular merupakan satu-satunya faktor risiko yang dapat dikendalikan. Usaha untuk mengendalikan tekanan intra okular pada batas yang aman (*target pressure*) untuk setiap penderita merupakan kunci utama untuk mencegah timbulnya kerusakan permanen nervus optikus.^{2,3,4}

Tindakan operasi filtrasi umumnya dilakukan setelah usaha dengan medikamentosa gagal mengendalikan *target pressure*. Trabekulektomi merupakan salah satu tindakan operasi filtrasi yang sering dilakukan. Angka keberhasilan trabekulektomi sekitar 65-70%. Kegagalan mencapai *target pressure* yang disebabkan oleh pembentukan jaringan sikatrik yang berlebihan pada konjungtiva terjadi pada sekitar 10-15% kasus, dan merupakan penyebab terbesar kegagalan trabekulektomi. Kegagalan oleh perdarahan dan infeksi ditemukan pada 1% kasus trabekulektomi.^{2,5-8}

Terdapat beberapa hal yang mempengaruhi keberhasilan tindakan operasi trabekulektomi, salah satunya adalah sedikitnya jaringan sikatrik yang terbentuk pada

proses penyembuhan.^{2,4,6} Respon penyembuhan akibat trauma pada jaringan melibatkan serangkaian proses kompleks yang antara lain melalui sekresi mediator-mediator inflamasi, migrasi seluler (netrofil, limfosit, monosit, dan makrofag), pelepasan beberapa *growth factor* dan molekul lainnya, serta diakhiri dengan proses remodeling.^{9,10,11}

Berbagai bahan telah diteliti untuk mencegah timbulnya sikatrisasi yang berlebihan, antara lain dengan menggunakan (1) bahan antimetabolit seperti 5-Fluorourasil dan Mytomicin-C, (2) kortikosteroid. Bahan antimetabolit memiliki risiko untuk menimbulkan komplikasi yang dapat menyebabkan kebutaan seperti kebocoran bleb, blebitis, hipotoni-makulopati dan endoftalmitis sehingga penggunaannya hanya terbatas pada kasus-kasus dengan risiko tinggi terjadinya sikatrisasi.^{2-4, 10-13} Pada penelitian klinis lanjutan, ditemukan bahwa penggunaan kortikosteroid tidak selalu dapat mengendalikan inflamasi dan menekan pembentukan jaringan fibrosis secara adekuat, juga didapatkan resiko peningkatan tekanan intraokular yang lebih nyata pada penderita yang peka terhadap kortikosteroid, sehingga juga didapatkan kegagalan trabekulektomi.^{2,3,14} Kenyataan tersebut melatar belakangi terus dilakukannya penelitian dan pengembangan teknik untuk mencari bahan yang dapat mencegah pembentukan jaringan fibrotik yang berlebihan .

Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) merupakan suatu *compound polyphenol* yang banyak terkandung dalam teh hijau (*Green tea*), bahan ini dilaporkan memiliki aktifitas anti inflamasi, anti oksidan, pengikat (*scavenger*) radikal bebas dan anti fibrotik.¹⁵⁻²⁰ *Mohit et al* membuktikan bahwa aplikasi Epicatechin-gallate dengan model insisi kulit *full thickness* pada tikus secara signifikan terbukti dapat

memperbaiki kualitas penyembuhan luka dan pembentukan jaringan fibrotik yang tidak berlebihan.¹⁵

Adanya angka kegagalan trabekulektomi sebesar 10-15% yang disebabkan oleh pembentukan jaringan fibrotik yang berlebihan pada konjungtiva menimbulkan pertanyaan apakah pemberian *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) dapat memberikan efek anti inflamasi dan menekan pembentukan jaringan fibrotik yang berlebihan pasca operasi filtrasi pada pasien glaukoma ?

Penelitian yang akan dilakukan untuk meneliti efek anti inflamasi dan anti fibrotisasi *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) secara histopatologis pada substansia propria konjungtiva kelinci yang diberikan secara topikal pasca operasi filtrasi dibandingkan terapi standar dengan menggunakan kortikosteroid (deksametason) guna membuktikan potensi bahan tersebut dalam memperbaiki kualitas penyembuhan jaringan pasca operasi filtrasi. Penelitian dilakukan pada mata kelinci normal tanpa dilakukan pengukuran tekanan intra okular, karena walaupun dapat dibuat model mata glaukoma dengan memberikan steroid jangka waktu lama namun terdapat kesulitan dalam melakukan pengukuran tekanan intra okular.

2. Rumusan masalah

Masalah utama dalam penelitian ini adalah apakah *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) memiliki efek anti inflamasi dan anti fibrotisasi pada substansia propria konjungtiva mata kelinci yang setara dengan deksametason, pasca operasi filtrasi ?

Rumusan masalah tersebut dijabarkan menjadi :

- Apakah terdapat derajat radang substansia propria konjungtiva kelinci yang setara pada pemberian *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) topikal dibanding kelompok yang diberi deksametason topikal, pasca operasi filtrasi ?
- Apakah terdapat derajat fibrosis substansia propria konjungtiva kelinci yang setara pada pemberian *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) topikal dibanding kelompok yang diberi deksametason topikal, pasca operasi filtrasi ?

3. Tujuan Penelitian

Umum : Mengetahui efek anti inflamasi dan anti fibrotisasi pemberian *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) topikal dibanding pemberian deksametason topikal terhadap gambaran histopatologis substansia propria konjungtiva, pasca operasi filtrasi

Khusus : Mengetahui manfaat pemberian *Epigallocatechin-Gallate* (EGCG) topikal dibanding pemberian deksametason topikal dalam :

1. Menurunkan derajat peradangan substansia propria konjungtiva pasca operasi filtrasi
2. Menurunkan derajat fibrotisasi substansia propria konjungtiva pasca operasi filtrasi.

4. Manfaat

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi para klinisi dalam pengelolaan glaukoma khususnya dalam menurunkan risiko kegagalan operasi filtrasi akibat fibrosis substansia propria konjungtiva yang dicetuskan oleh trauma operasi
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan dalam pemberian terapi alternatif pasca operasi filtrasi
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi mengenai manfaat pemberian EGCG di bidang kesehatan mata.
- d. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan landasan bagi penelitian selanjutnya dalam mencari bahan-bahan aktif yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka dan pembentukan jaringan fibrotik.

BAB 2

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

Glaukoma merupakan salah satu penyakit yang mengancam penglihatan dan bersifat ireversibel. Penyakit ini didefinisikan sebagai suatu sindroma yang ditandai adanya kerusakan papil nervus II dan gangguan lapangan pandang yang khas, dimana peningkatan tekan intra okular (TIO) merupakan faktor risiko utama.^{2,3}

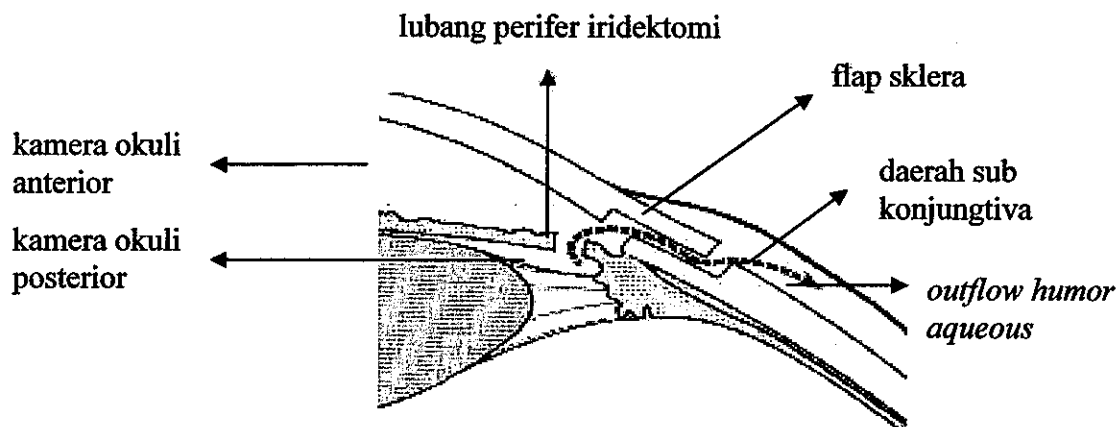
Berdasarkan bentuk sudutnya, glaukoma dibagi menjadi glaukoma sudut terbuka dan sudut tertutup. Kerusakan papil nervus II pada glaukoma sudut terbuka primer disebabkan oleh adanya hambatan *outflow humor aqueous* pada *trabeculum meshwork* yang menyebabkan peningkatan TIO.^{2,3} Glaukoma sudut terbuka primer (*POAG / Primary Open Angle Glaucoma*) memiliki angka insidensi tertinggi dibandingkan jenis glaukoma yang lain, yaitu 3 -5 % pada populasi berusia lebih dari 30 tahun.^{1,2,3}

Di Indonesia glaukoma merupakan penyebab kebutaan terbanyak kedua setelah katarak, dengan jumlah penderita sekitar 0,20 % dari jumlah penduduk.¹ Penyakit ini memiliki berbagai faktor risiko, dimana tekanan intra okular merupakan satu-satunya faktor risiko yang dapat dikendalikan. Usaha untuk mengendalikan tekanan intra okular pada batas yang aman (*target pressure*) untuk setiap penderita merupakan kunci utama untuk menyelamatkan fungsi visual penderita dengan menghentikan kerusakan papil N. II.^{2,3,4}

Baku emas penatalaksanaan glaukoma sudut terbuka primer di negara berkembang termasuk Indonesia adalah terapi medikamentosa dengan menggunakan beta bloker topikal.² Terapi operatif pada pasien glaukoma sudut terbuka dilakukan apabila tekanan

intra okular tidak dapat dipertahankan dengan menggunakan terapi medikamentosa pada batas yang aman terhadap terjadinya kerusakan pada nervus optikus (*optic nerve*) dan lapangan pandang (*visual field*) penderita.^{2,3,4}

Tujuan operasi filtrasi ini adalah untuk menurunkan tekanan intra okular dengan menciptakan jalur baru (*fistula*) bagi aliran *humor aqueous* dari bilik mata depan melalui lubang sklera yang dibuat, menuju ke daerah sub konjungtiva maupun sub-Tenon.^{2,3,4}



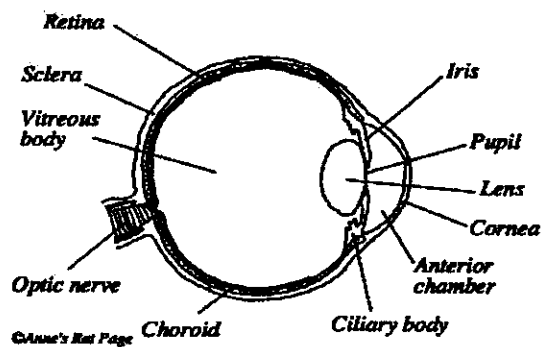
Gambar 1. Aliran *humor aqueous* setelah trabekulektomi⁴

Setelah operasi filtrasi, *outflow humor aqueous* akan terfasilitasi melalui jalur yang baru yaitu dari kamera okuli posterior menuju kamera okuli anterior melalui lubang iridektomi perifer, kemudian akan mengalir menuju ruangan di bawah flap sklera hingga sampai di daerah subkonjungtiva dan sub-Tenon yang kemudian *humor aqueous* akan diserap oleh vena-vena episklera disekitarnya.^{2,3,4}

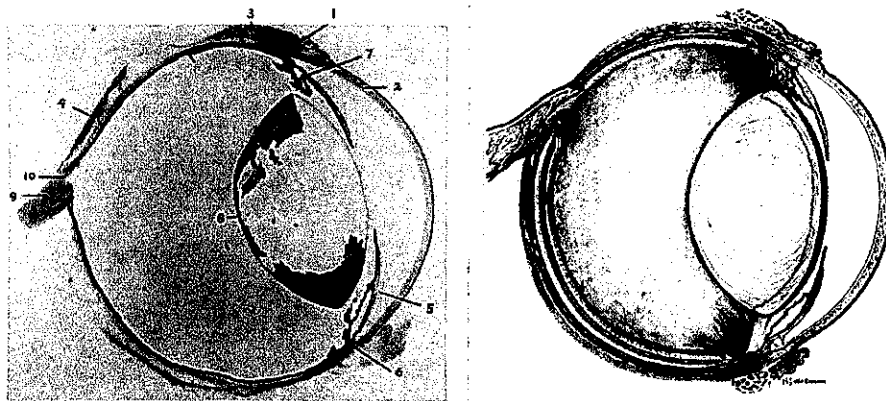
2.1. Anatomi dan histologi

Pengetahuan mengenai struktur anatomi bola mata sangat penting dalam menentukan keberhasilan tindakan bedah insisi filtrasi ini. Mata kelinci memiliki struktur dan fungsi

yang hampir serupa dengan mata manusia. Berikut ini gambar anatomi mata manusia dan mata kelinci : ²¹



Gambar 2. Skema anatomi mata manusia ²

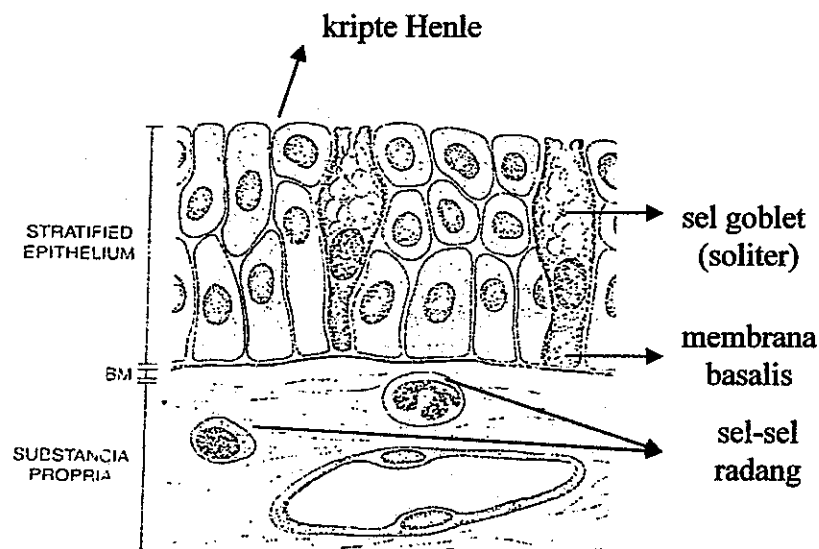


Gambar 3. Skema anatomi mata kelinci 1. Konjungtiva, 2.Kornea, 3.Insersi Otot Rektus, 4.Insersi otot retraktor bulbi, 5.Iris, 6. Corpus Siliaris, 7.Prosesus Siliaris, 8. Lensa, 9. Nervus optikus, 10. Papil Nervus Optikus. ²¹

Secara dimensi mata kelinci berbeda dengan mata manusia, dimana mata kelinci memiliki proporsi diameter antero-posterior yang lebih pendek terhadap diameter horizontalnya dibandingkan pada mata manusia. Menurut Krause, mata kelinci memiliki aksis visual sepanjang 16 mm, diameter vertikal 18 mm, dan diameter horizontal sebesar 17 mm. Kornea kelinci memiliki bentuk elips dengan diameter horizontal 15.6 mm dan diameter vertikal 13.8 mm. ²¹

2.1.1 Konjungtiva

Konjungtiva merupakan lapisan mukosa tipis yang melapisi tarsus palpebra, forniks dan bulbus okuli. Secara garis besar konjungtiva dibagi menjadi tiga lapisan yaitu epitel, membrana basalis dan substansia propria. Epitel konjungtiva berupa epitel kolumnar bertingkat non keratinisasi pada konjungtiva tarsus dan epitel kuboid bertingkat non keratinisasi pada konjungtiva forniks dan bulbi. Pada epitel konjungtiva terdapat sel-sel goblet yang tersusun soliter dan berfungsi sebagai penghasil musin. Jumlah sel goblet terbanyak terletak di konjungtiva tarsal dan konjungtiva bulbi daerah inferonasal. Pada permukaan epitel konjungtiva terdapat pula membran mukosa yang mengalami invaginasi sehingga membentuk kantung interseluler yang disebut kript Henle dimana sel-sel inflamasi dan antibodi dapat terkumpul pada kript tersebut.^{2,23}



Gambar 4. Lapisan konjungtiva manusia²

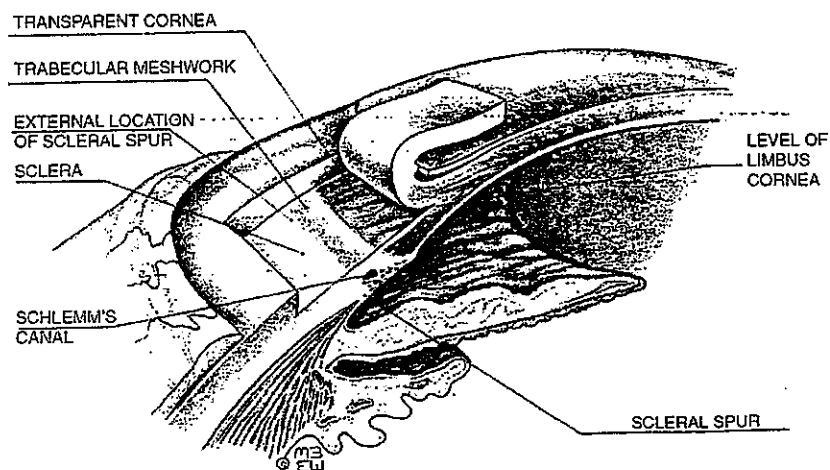
Membrana basalis terletak di bawah lapisan epitel konjungtiva yang tersusun dari jaringan kolagen tipe IV. Di bawah membrana basalis terdapat substantia propria berupa suatu jaringan ikat fibrovaskuler yang mengandung sel-sel inflamasi pada bagian

superfisial, pembuluh darah dan jaringan saraf pada bagian profunda. Dengan demikian konjungtiva dapat melindungi permukaan bola mata baik sebagai *physical barrier*, penghasil musin, dan sel-sel inflamasi.²³

Secara anatomi konjungtiva kelinci serupa dengan manusia. Secara mikroskopis, konjungtiva kelinci dilapisi oleh sel epitel skuamus bertingkat pada permukaannya yang disertai dengan sel-sel goblet yang berkelompok.²¹

2.1.2 Anatomi Daerah Bedah Glaukoma

Operasi filtrasi dilakukan pada daerah limbus yang merupakan pertemuan antara kornea dan sklera. Perbatasan antara kornea dan sklera ini membentuk garis oblik antara batas anterior dan batas posteriornya. Lapisan dalam limbus tidak berbatas tegas dan memiliki lebar sekitar 1 mm, daerah ini berwarna putih-kebiruan (*blue zone*) dan merupakan penanda daerah operasi pada limbus kornea. Daerah berwarna putih-kebiruan pada limbus ini disebabkan oleh perluasan lamela kornea bagian dalam (*deeper corneal layer*) yang melebihi batas eksternal kornea perifer.⁴



Gambar 5. Anatomi daerah operasi filtrasi⁴

Pada gambar 3 tampak potongan flap sklera setebal 1/3 ketebalan sklera manusia, tampak letak lapisan dalam dari *skleral bed* pada daerah limbus. Pada bagian atas dari *skleral bed* terdapat lamela kornea yang berwarna transparan sehingga warna dari iris akan membayang. Lebih posterior terhadap kornea pada *skleral bed* ini tampak garis berwarna abu-abu (*grey line*) yang merupakan *trabekular meshwork*, dan pada batas posterior garis ini tampak jaringan sklera yang tebal. Apabila dilihat dari luar, pertemuan antara batas posterior *grey line* dan sklera merupakan penanda daerah *skleral spur* dan *canalis schelm*. *Skleral spur* meluas sedikit lebih ke posterior terhadap daerah pertemuan tersebut. *Corpus siliaris* melekat pada *skleral spur* yang merupakan perbatasan antara *trabekulum meshwork* dan sklera. Irisan sklera yang lebih posterior dari daerah perbatasan ini akan mengenai *corpus siliaris* dan *pars plicata* yang dapat menyebabkan perdarahan hebat.^{2,4}

Daerah limbus pada mata kelinci sedikit berbeda dengan mata manusia. Pada mata kelinci perbatasan korneo-skleral bagian anterior sulit untuk diamati, hal ini disebabkan karena pada kelinci tidak didapatkan *membrana Bowman* pada kornea. Lekukan pada perbatasan korneo-skleral (*scleral furrow*) juga tidak ditemui pada mata kelinci, karena lapisan-lapisan kornea menjadi ireguler dan menyatu dengan sklera pada daerah limbus. *Trabekulum Meshwork* pada mata kelinci juga lebih berkembang dibandingkan mata manusia, pada mata kelinci terbentuk prosesus iris khusus yaitu pilar iris (*Iris Pillars*) yang berinsersi pada perbatasan sklero-kornea melalui membran Descement. Meshwork ini dibagi menjadi dua bagian yaitu *skleral meshwork* dan *uveal meshwork*. *Uveal meshwork* ini pada mata kelinci sangat berkembang dibandingkan pada mata manusia.²¹



Gambar 6. Potongan melintang daerah limbus mata kelinci : 1.Kornea, 2.Cincin pigmen, 3.Perbatasan Limbus, 4.Sudut Filtrasi, 5.Iris, 6.Corporus siliaris, 7.Prosesus siliaris²¹



Gambar 7. Sudut filtrasi mata kelinci : 1.Kornea, 2.Sklera, 3. Membrana Descement, 4. Endotel Descement, 5.Canalis Schelm, 6.Korneo-skleral Trabekulum, 7. Uveal Meshwork, 8. Iris Prosesus (*Iris Pillars*), 9.Membrana Descement yang memisah, 10.Iris, 11.Vena.²¹

2.2. Teknik Operasi Filtrasi

Terdapat beberapa jenis operasi filtrasi, dan secara garis besar dibagi menjadi :^{2,4}

1. *Full-Thickness Filtering Surgery*

Pada tindakan operasi filtrasi *full thickness* ini dilakukan pembuangan jaringan limbal dengan menggunakan trephine, laser, maupun cauter. Beberapa jenis tindakan ini antara lain : *Scheie Procedure*, *Subscleral Trephine*, *Sclerotomy*. Tindakan operasi filtrasi *full thicknes* ini sudah mulai ditinggalkan oleh para ahli oleh karena tingginya kejadian komplikasi pasca operasi, terutama setelah mulai diperkenalkannya bahan-bahan anti fibrosis.²

2. *Partial-Thickness Filtering surgery*

Jenis operasi filtrasi yang paling sering digunakan saat ini dan telah digunakan sebagai baku emas untuk tindakan pada glaukoma sudut terbuka adalah tindakan *guarded sclerostomy* atau sering dikenal dengan trabekulektomi. Trabekulektomi merupakan suatu tindakan operasi filtrasi *partial thickness*, dimana dilakukan pengangkatan/pembuangan sebagian jaringan limbus yang berada dibawah flap sklera.^{2,4}

2.3. Keberhasilan Tindakan Operasi Filtrasi

Pasca trabekulektomi didapatkan keberhasilan sekitar 65-75 %, dimana target tekanan intra okular yang aman tercapai. Sekitar 20 % kasus termasuk *qualified success*, dimana target tekanan intra okular tercapai dengan tambahan obat anti glaukoma pasca operasi. Kegagalan trabekulektomi dalam mengendalikan mencapai tekanan intra okular dalam beberapa bulan pasca operasi yang disebabkan oleh pembentukan jaringan sikatrik

di konjungtiva yang berlebihan didapatkan pada 10-15 % kasus. Komplikasi lain yang lebih serius seperti perdarahan ditemukan pada sekitar 1% kasus pasca trabekulektomi.^{2-5,6,8}

Faktor utama yang menentukan tekanan intra okular terkendali dalam jangka waktu yang lama pasca tindakan filtrasi adalah respon penyembuhan jaringan. Secara teoritis dengan mengendalikan pembentukan jaringan sikatrik (*scarring process*), maka tekanan intra okular juga akan terkendali dalam jangka waktu yang lama.^{2,4,6}

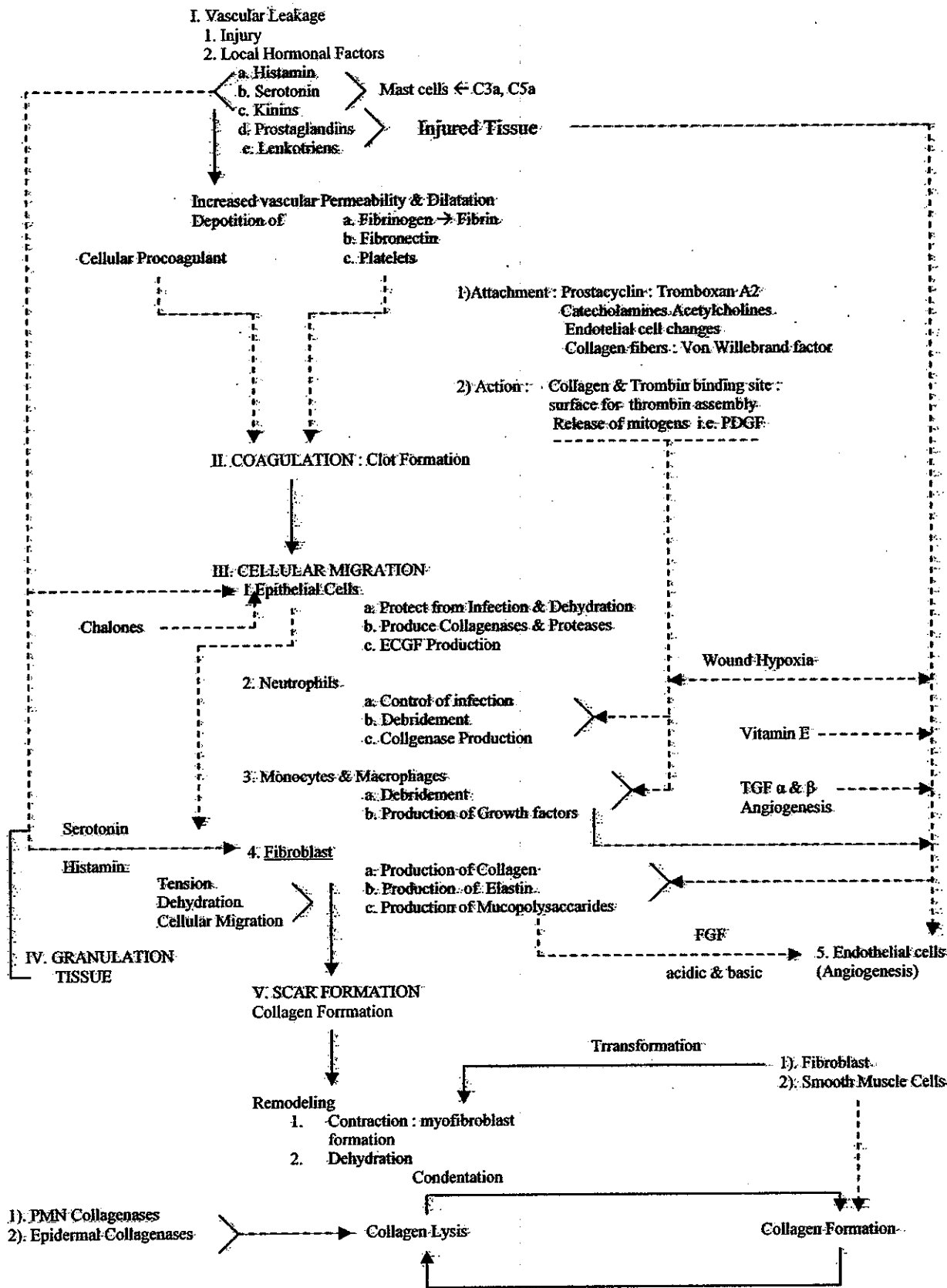
Beberapa penelitian pada hewan coba telah dilakukan untuk mempelajari fenomena pembentukan jaringan ikat ini. Pada penelitian yang dilakukan Esson et al dengan membuat model operasi filtrasi pada hewan coba kelinci, ditemukan kegagalan pembentukan bleb pada seluruh hewan coba pada hari ke-21. Kegagalan pembentukan bleb ini disebabkan oleh pembentukan jaringan sikatrik/fibrotik yang dipengaruhi oleh ekspresi *growth factor* seperti *connective tissue growth factor* (CTGF) dan *transforming growth factor-β* (TGF-β) pada daerah operasi.¹²

Tina et al dengan menggunakan model operasi filtrasi pada kelinci menemukan bahwa dengan penghambatan *Matrix Metalloproteinase*, maka pembentukan jaringan sikatrik di subkonjungtiva dapat ditekan.²²

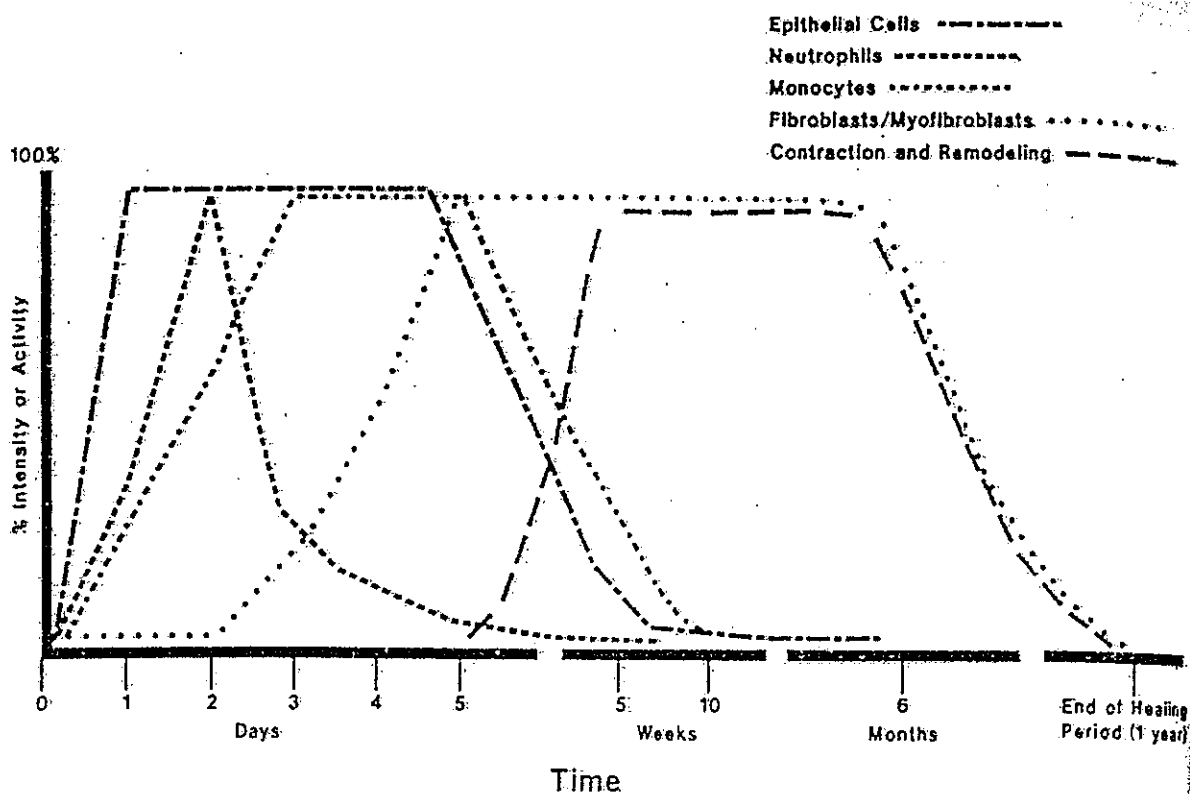
2.3.1. Mekanisme Normal *Wound Healing*

Respon penyembuhan akibat trauma pada jaringan termasuk luka operasi, melibatkan serangkaian proses yang kompleks, namun secara sederhana dapat dirangkum menjadi tiga fase sesuai proses yang terjadi, yaitu fase inflamatori, fase proliferaif, dan fase remodeling. Fase inflamatori ditandai dengan terjadinya migrasi netrofil dan monosit menuju daerah yang mengalami trauma, diikuti oleh migrasi makrofag dan limfosit serta pelepasan beberapa *growth factor* seperti *transforming growth factor (TGF)*, *platelet derived growth factor (PDGF)*, *vascular endothelial growth factor (VEGF)* dan molekul-molekul lainnya.^{10,11}

Pada fase proliferaif terjadi reepitelisasi, peningkatan jumlah dan aktifitas fibroblast, serta proses angiogenesis dan pembentukan jaringan granulasi. Fase remodeling terdiri dari kontraksi jaringan yang dimediasi oleh fibroblast, penimbunan matriks ekstra seluler, degradasi dan modifikasi (proses ini dapat bertahan selama beberapa bulan), serta produksi *growth factor regulator*.^{10,11} Secara skematis proses penyembuhan luka (*wound healing*) dapat dilihat pada gambar 8 dan proses selular yang terjadi berdasarkan waktunya dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 8. Skema proses penyembuhan luka (*wound healing*)¹¹



Gambar 9. Diagram kronologis proses seluler yang terlibat dalam penyembuhan luka¹¹

2.3.2. Beberapa hal yang mempengaruhi proses penyembuhan pasca Operasi Filtrasi^{4,7}

- "Tissue Priming" (Keadaan Jaringan Sebelum Tindakan)

Pemberian terapi topikal dalam jangka waktu lama dapat mengkondisikan jaringan konjungtiva untuk segera bereaksi secara berlebihan setelah tindakan pembedahan. Timbulnya respon sub-seluler terhadap pemberian terapi topikal jangka panjang juga dapat menyebabkan tekanan intra okular yang lebih tinggi pasca operasi. Beberapa mekanisme yang muncul dapat merubah fenotipe dari fibroblast dan menyebabkan aktivasi respon pembentukan jaringan fibrotik. Beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan pemberian bahan anti metabolit seperti 5-Fluorourasil

(SFU) dan Mitomycin-C (MMC) dapat menekan aktivasi respon selular yang terjadi. Walaupun bahan anti metabolit dapat menekan pertumbuhan seluler, sel-sel tersebut masih dapat memicu/merangsang pembentukan jaringan parut/fibrotik pada sel-sel disekitarnya melalui pelepasan faktor pertumbuhan (*Growth Factors*). Temuan tersebut membantu menjelaskan sebagian proses pembentukan jaringan fibrotik pada kasus operasi filtrasi yang diberi bahan anti metabolit, terutama pada bleb fokal yang avaskuler. Pada bleb tersebut daerah sentral yang aselular dapat dikelilingi oleh cincin sel-sel yang terhambat pertumbuhannya (*ring of steel*) namun masih dapat memicu timbulnya fibrosis.^{4,7}

- Beratnya Kerusakan Jaringan

Hingga saat ini belum ada satupun tindakan pembedahan yang dapat terbebas dari pembentukan jaringan fibrotik. Menekan jumlah kerusakan jaringan yang terjadi merupakan suatu hal yang sangat penting, karena pada kerusakan jaringan akan terjadi pelepasan berbagai macam *cytokine*. Menekan jumlah perdarahan yang terjadi juga akan mempengaruhi proses pemulihan jaringan yang terjadi. Komponen lain yang juga sangat penting pada kerusakan jaringan mata adalah terganggunya sawar darah-humour aqueous (*blood-aqueous barrier*), hal ini mungkin sulit diamati namun sangat berperan dalam pembentukan jaringan fibrotik yang akan menyebabkan kegagalan tindakan pembedahan.^{4,7}

- Respon Inflamasi Jaringan

Inflamasi pada konjungtiva yang terjadi terus menerus akan menyebabkan pembentukan jaringan fibrotik. Epitel konjungtiva akan terus mengekspresikan antigen permukaan (*surface antigen*) sampai beberapa bulan setelah tindakan operasi,

keadaan ini meningkatkan potensi sel-sel tersebut untuk menginduksi inflamasi imunologis dan membentuk jaringan fibrotik. Inflamasi sub klinis pada bilik mata depan seperti yang muncul pada kombinasi antara tindakan operasi katarak dan operasi glaukoma, memberikan prognosis yang lebih buruk dibandingkan apabila hanya dilakukan operasi glaukoma saja. Pasca operasi katarak ditemukan *flare* yang lebih nyata dibandingkan pasca operasi glaukoma, bahkan pada mata yang secara klinis tampak tenang. Keadaan-keadaan tersebut menjelaskan pengaruh operasi katarak terhadap proses penyembuhan jaringan, sehingga pada operasi katarak dapat menyebabkan kenaikan tekanan intra okular. Fenomena ini menjelaskan manfaat pemberian anti inflamasi (kortikosteroid) topikal terhadap penurunan tekanan intra okular pasca operasi filtrasi.^{4,7}

- Jendalan Darah (*Blood Clotting*)

Perdarahan yang terjadi akibat tindakan operasi akan diikuti dengan pembentukan jendalan darah dan pembentukan fibrin, kedua hal tersebut dapat menyebabkan kegagalan tindakan operasi filtrasi karena terjadi sumbatan terhadap aliran humor aqueous, pelepasan *growth factors*, dan pembentukan jaringan fibrotik. Untuk mengatasi pembentukan jendalan darah ini telah digunakan bahan-bahan seperti *tissue plasminogen activator* dan *urokinase*. Lebih jauh lagi, produk-produk degradasi akibat lisisnya jendalan darah juga dapat memberikan efek stimulasi penyembuhan jaringan dalam jangka panjang yang dapat menyebabkan kegagalan operasi.^{4,7}

- Faktor-faktor Stimulator

Pada bleb dapat ditemukan berbagai macam molekul protein yang menyebabkan stimulasi terhadap sel-sel radang yang mengalir dalam humor aqueous. Molekul-molekul ini dikenal dengan faktor pertumbuhan (*growth factors*) atau *cytokine*. TGF-beta (*Transforming Growth Factor-beta*) merupakan salah satu *cytokine* di dalam humor aqueous yang paling berperan dan dapat menyebabkan aktifitas stimulasi yang lebih kuat dibanding *growth factor* lainnya. *Cytokine* ini juga dapat menstimulasi pembentukannya sendiri melalui aktifitas auto-induksi, dan pada penelitian secara *in vivo* *cytokine* ini dapat menetralkan efek dari Mitomycin C.^{4,7}

- Migrasi seluler, Kontraksi Jaringan, dan Sintesis Matriks Ekstra Seluler

Migrasi sel-sel fibroblast merupakan komponen penting yang mendasari terjadinya kontraksi jaringan yang nantinya dapat menyebabkan kegagalan tindakan operasi filtrasi. *Matrix metalloproteinases* (MMPs) merupakan suatu enzim yang menyebabkan degradasi matrik-matriks ekstra seluler. MMPs yang beredar akan menghambat *cell-mediated collagen contraction* seperti yang disebabkan oleh fibroblast pada lapisan Tenon dan turut berperan dalam pembentukan jaringan fibrotik.^{4,7}

2.4. Beberapa Bahan Untuk Mencegah Fibrotisasi

2.4.1. Steroid²

Obat anti inflamasi steroid atau lebih dikenal dengan glukokortikoid dibedakan menjadi 3 macam golongan menurut potensi dan durasi kerjanya. Golongan pertama adalah glukokortikoid potensi ringan dengan durasi kerja jangka pendek berkisar antara

8-12 jam yaitu *hydrocortisone* dan *cortisone*. Golongan kedua adalah glukokortikoid potensi sedang dengan durasi kerja jangka menengah berkisar antara 18-36 jam yaitu *prednisone*, *prednisolone*, *metilprednisolone*, *triamcinolone* dan *fluorometholone*. Golongan ketiga merupakan glukokortikoid potensi kuat dengan durasi kerja jangka panjang berkisar antara 1-3 hari yaitu *dexamethasone*, *betamethasone* dan *paramethasone*. Jenis glukokortikoid yang digunakan secara topikal pada mata adalah *dexamethasone*, *fluorometholone*, *prednisolone*, *medrysone*, *tetrahydrotriamcinolone* dan *hydrocortisone*. Berikut adalah tabel perbandingan potensi anti inflamasi dan risiko peningkatan TIO antar steroid tersebut :²³

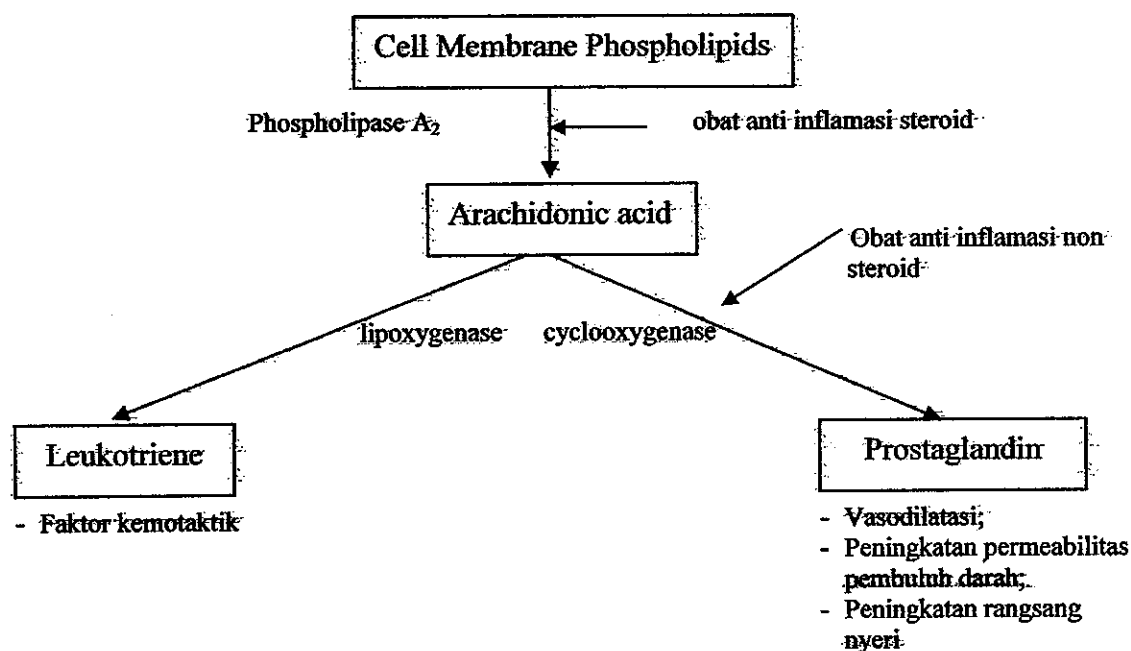
Tabel 1. Perbandingan potensi anti inflamasi dan risiko peningkatan TIO steroid topikal pada mata²³

Golongan Steroid	Potensi obat	Potensi kenaikan TIO
<i>Dexamethasone</i> 0,1%	24	22
<i>Fluorometholone</i> 0,1%	21	6
<i>Prednisolone</i> 1%	2,3	10
<i>Medrysone</i> 1%	1,7	1
<i>Tetrahydrotriamcinolone</i> 0,25%	1,4	2
<i>Hydrocortisone</i> 0,5%	1,0	3

Steroid memiliki banyak efek pada berbagai jenis inflamasi baik akut maupun kronis. Secara garis besar efek steroid tersebut dapat dibagi menjadi 2 yaitu molekuler dan seluler. Pada inflamasi akut, setelah steroid menembus membran sel akan berikatan dengan *specific steroid-binding protein receptor* di sitoplasma dan akan membentuk

steroid-receptor complex. *Steroid-receptor complex* yang terbentuk akan mengkode *messenger ribo nucleic acid* (mRNA) yang akan menentukan respon anti inflamasi pada sel tersebut berupa penghambatan produksi enzim *phospholipase A₂* sehingga menyebabkan penurunan kemotaksis leukosit, produksi mediator-mediator inflamasi (prostaglandin dan leukotriene) serta fungsi dari sel-sel imunologik. Sedangkan pada inflamasi kronik, steroid dapat mengurangi proliferasi fibroblas dan densitas kolagen yang terdeposisi sehingga mencegah terjadinya fibrotisasi lebih lanjut.^{11,12}

Berikut bagan mengenai titik tangkap dan cara kerja penghambatan inflamasi oleh steroid :



Gambar 10. Cara kerja obat anti inflamasi steroid dan non steroid²

Berikut adalah uraian efek anti inflamasi steroid secara detail :²³

1. Menyebabkan terjadinya vasokonstriksi sehingga mengakibatkan penurunan permeabilitas pembuluh darah tersebut.
2. Menstabilkan membran *lysosom* intraseluler sehingga menyebabkan hambatan dalam degranulasi sel-sel polimorfonuklear.
3. Menstabilkan membran sel mast dan basofil sehingga dapat menghambat pelepasan histamin, bradikinin dan *platelet activating factor* lebih lanjut.
4. Menghambat kerja enzim *phospholipase A₂* sehingga mengakibatkan penurunan produksi *arachidonic acid* serta penghambatan produksi prostaglandin dan leukotriene.
5. Mencegah terjadinya agregasi leukosit pada endotel pembuluh darah sehingga leukosit menjadi lebih *mobile* di dalam pembuluh darah dan mengurangi kemungkinan terjadinya pergerakan leukosit menuju *site of injury*.
6. Mengurangi jumlah eosinofil, limfosit dan monosit yang beredar dan mengurangi kemampuan bakterisidal dari monosit dan makrofag.
7. Mengurangi jumlah fibroblas sehingga terjadi penurunan densitas kolagen yang terakumulasi dan pencegahan terjadinya fibrotisasi lebih lanjut dalam proses pemulihan inflamasi.

Pada penelitian klinis lanjutan, ditemukan bahwa penggunaan kortikosteroid tidak selalu dapat mengendalikan inflamasi dan menekan pembentukan jaringan fibrosis secara adekuat. Hal ini lebih nyata pada penderita yang peka terhadap steroid (*steroid responder*), sehingga juga didapatkan kegagalan trabekulektomi oleh karena pembentukan jaringan fibrotik yang berlebihan.^{2,3,14}

2.4.2. Anti Metabolik

Aplikasi bahan anti fibrosis seperti 5-Fluorourasil dan Mitomycin C telah meningkatkan angka keberhasilan trabekulektomi dalam mengendalikan tekanan intra okular.^{2,4,7}

5-Fluorourasil merupakan suatu analog pyrimidine, bahan ini mampu menghambat proliferasi fibroblast dan telah terbukti bermanfaat dalam menekan pembentukan jaringan fibrotik setelah operasi filtrasi. Bahan ini mengalami perubahan intra-seluler menjadi bentuk aktif deoxynucleotide 5-fluoro-2-deoxyuridine 5-monophosphate (FdUMP) yang akan mempengaruhi proses sintesa DNA melalui aksinya pada sintesa thymidylate. 5-Fluorourasil dapat diberikan durante operatif dengan cara yang sama dengan pemberian Mitomycin C, bahan ini dapat pula diberikan sebagai injeksi pasca operatif. Pada penggunaan bahan ini harus diamati tanda-tanda timbulnya toksisitas terhadap kornea.^{2,3,4,7}

Mitomycin C merupakan suatu campuran antibiotik-antineoplastik alami yang diperoleh dari *Streptomyces caespitosus*. Bahan ini bekerja sebagai anti oksidan dan *ankylating agent* yang menyebabkan *cross-linking* DNA. Mitomycin C adalah bahan anti fibrotik yang sangat kuat, umumnya diberikan dengan meletakkan spon yang telah dituang ke dalam Mytomycin C pada daerah subkonjungtiva yang akan dilakukan tindakan. Mytomycin C adalah bahan yang bersifat toksik, sehingga kontaminasi ke dalam bilik mata harus dihindari.^{2,4,6,7}

Bahan anti metabolik ini memiliki risiko untuk menimbulkan komplikasi yang dapat menyebabkan kebutaan seperti kebocoran bleb, blebitis, hipotoni-makulopati dan

endofthalmitis sehingga penggunaannya hanya terbatas pada kasus-kasus dengan risiko tinggi terjadinya sikatrisasi^{2,4,7}

2.5. Epigallocatechin-3 Gallate (EGCG) Teh Hijau

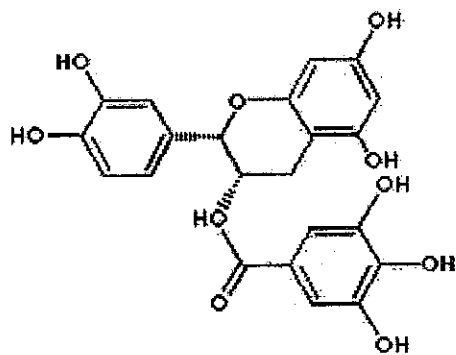
Teh (*Camellia sinensis*) telah dipakai sebagai minuman sehari-hari sejak ribuan tahun yang lalu di China, dan sekarang teh merupakan minuman kedua yang paling banyak dikonsumsi manusia setelah air. Secara tradisional teh diketahui memiliki banyak efek yang menguntungkan bagi kesehatan, meskipun efek tersebut belum banyak dibuktikan di laboratorium sebelum tahun 1970-an. Efek yang menguntungkan tersebut antara lain : antioksidan kuat, anti kanker, antimikroba, anti alergi, anti inflamasi, pengikat (*scavenger*) radikal bebas, dan anti fibrotik. Beberapa manfaat teh yang lain antar lain membantu mempertahankan kolesterol plasma pada level yang menyehatkan sehingga dapat menurunkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskuler dan menurunkan resiko hipertensi, kombinasi EGCG dengan vitamin C dapat menurunkan kadar kolesterol darah.^{16-20,24,25}

Komponen aktif teh yang bertanggung jawab terhadap efek biologi teh dikenal sebagai *catechin* (juga dikenal sebagai polifenol). Senyawa polifenol tersebut merupakan kandungan aktif teh hijau yang memiliki efek terhadap sistem imun. Daun teh hijau kering memiliki kandungan 15–30% senyawa polifenol yang terdiri dari *Epigallocatechin gallate* (EGCG) (59,04%), *Epigallocatechin* (EGC) (19,28%), *Epicatechingallate* (ECG) (13,69%), *Epicatechin* (EC) (6,39%) dan *Gallocatechin* (GC) (1,60%).^{16,24,25,26}

EGCG merupakan *catechin* utama yang terdapat di ekstrak teh dan merupakan bentuk yang paling aktif diantara semua jenis *cathecin* serta memiliki efek biologi yang

paling besar dibanding *catechin* yang lain. EGCG memiliki efek antikanker, antimikroba, antioksidan, anti inflamasi, , pengikat (*scavenger*) radikal bebas dan anti fibrotik.^{24,25,26}

EGCG juga sering disebut sebagai tea catechin; (2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol 3-(3,4,5-trihydroxybenzoate); atau 3,4-Dihydro-5,7-dihydroxy-2R-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-2H-1-benzopyran-3R-yl-3,4,5-trihydroxy-benzoate. Secara fisik, EGCG merupakan suatu ekstrak yang berbentuk serbuk berwarna putih sampai merah muda dengan titik leleh 218°C yang larut dalam air dan pelarut organik seperti ethanol dan dimethyl formamide. EGCG stabil di dalam suhu kamar biasa namun bersifat higroskopik dan sensitif terhadap cahaya.^{25,26}



Gambar 11. Struktur kimia EGCG²⁶

2.6. Efek EGCG terhadap Pembentukan Jaringan Fibrotik

Beberapa laporan menyebutkan bahwa potensi penghambatan proses inflamasi EGCG bersifat *dose-dependent* secara *in vitro*, namun secara *in vivo* belum pernah dilaporkan. Kisaran dosis *in vitro* yang pernah dilaporkan dapat menimbulkan

penghambatan proses inflamasi adalah 10^{-3} mg/ml sampai dengan 10^{-1} mg/ml atau 10^{-1} μ M sampai dengan 2×10^2 μ M.¹⁶⁻²⁰

EGCG terbukti mampu menekan pembentukan fibrosis pada parenkim paru pada penelitian yang dilakukan oleh Dona et al. Pada penelitian ini dilakukan pemberian 0,5 mg/ml EGCG pada tikus. Pembentukan fibrosis dapat ditekan dengan menekan proses inflamasi yang diperantarai oleh netrofil.¹⁶

Mohit et al membuktikan bahwa aplikasi 50 μ L Epicatechin-gallate 0.8 mg/ml dengan model insisi kulit *full thickness* pada tikus secara signifikan terbukti dapat memperbaiki kualitas penyembuhan luka dan pembentukan jaringan fibrotik yang tidak berlebihan.¹⁵

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sartippour et al, didapatkan bahwa pemberian 50 μ g/ml EGCG mampu menekan ekspresi *fibroblast growth factor* (FGF) yang merupakan suatu faktor angiogenik dan menekan kadar *vascular endotelial growth factor* (VEGF). Kedua *growth factor* ini juga merupakan faktor yang berperan dalam pembentukan jaringan fibrotik.²⁰

Sejauh ini, penggunaan EGCG sebagai anti inflamasi masih sebatas ajuvan/penunjang terapi utama. Selain sebagai antioksidan, pemakaiannya EGCG sebagai terapi pada tingkat klinis masih terus diteliti baik sebagai anti inflamasi, anti alergi, antiviral/antibakteri, dan antiproliferatif/antikanker.^{15-20,25,26} Sampai saat ini belum ada hasil penelitian yang menjelaskan efek EGCG pada fisiologi atau patologi mata. Meskipun demikian, hasil penelitian efek EGCG yang menyangkut anti inflamasi dan anti fibrosis secara umum juga dapat menggambarkan patofisiologi inflamasi dan respon penyembuhan pada mata.

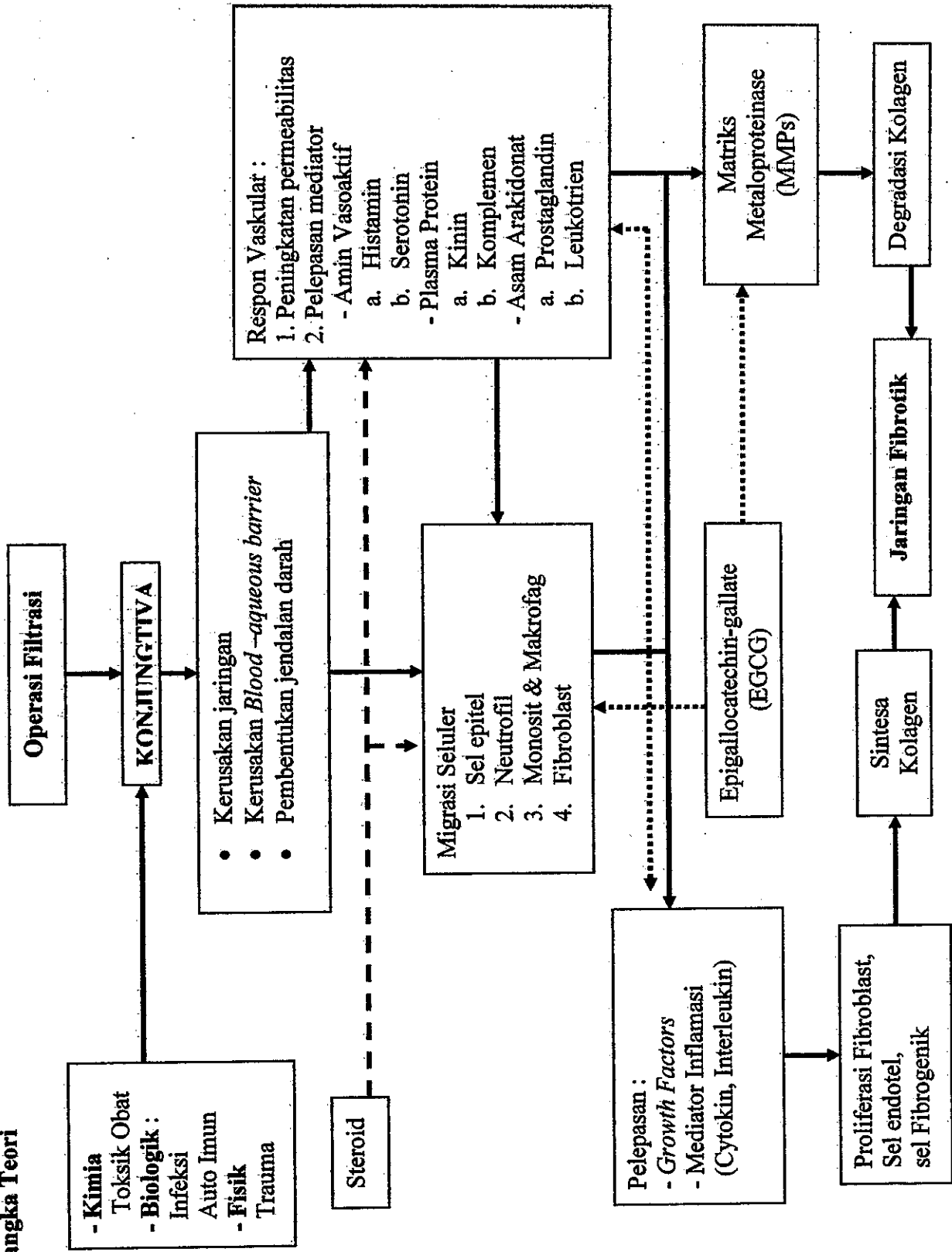
Beberapa laporan mengemukakan efek toksik EGCG baik secara lokal maupun sistemik. Stratton SP et al, 2000, tidak menemukan efek toksik lokal pada kulit mencit strain *BALB/c* dan *SKH1* yang diolesi salep EGCG dengan berbagai tingkat dosis. Sedangkan menurut Pisters KM et al, 2001, terdapat efek samping sistemik EGCG oral yang mirip efek *caffeine* pada dosis tertentu. Schmidt M et al, 2005, melaporkan bahwa EGCG dosis tinggi (>3 mg/ml) bersifat sitotoksik terhadap sel hepatosit tikus.²⁵

2.7. Farmakokinetik Obat Tetes Mata

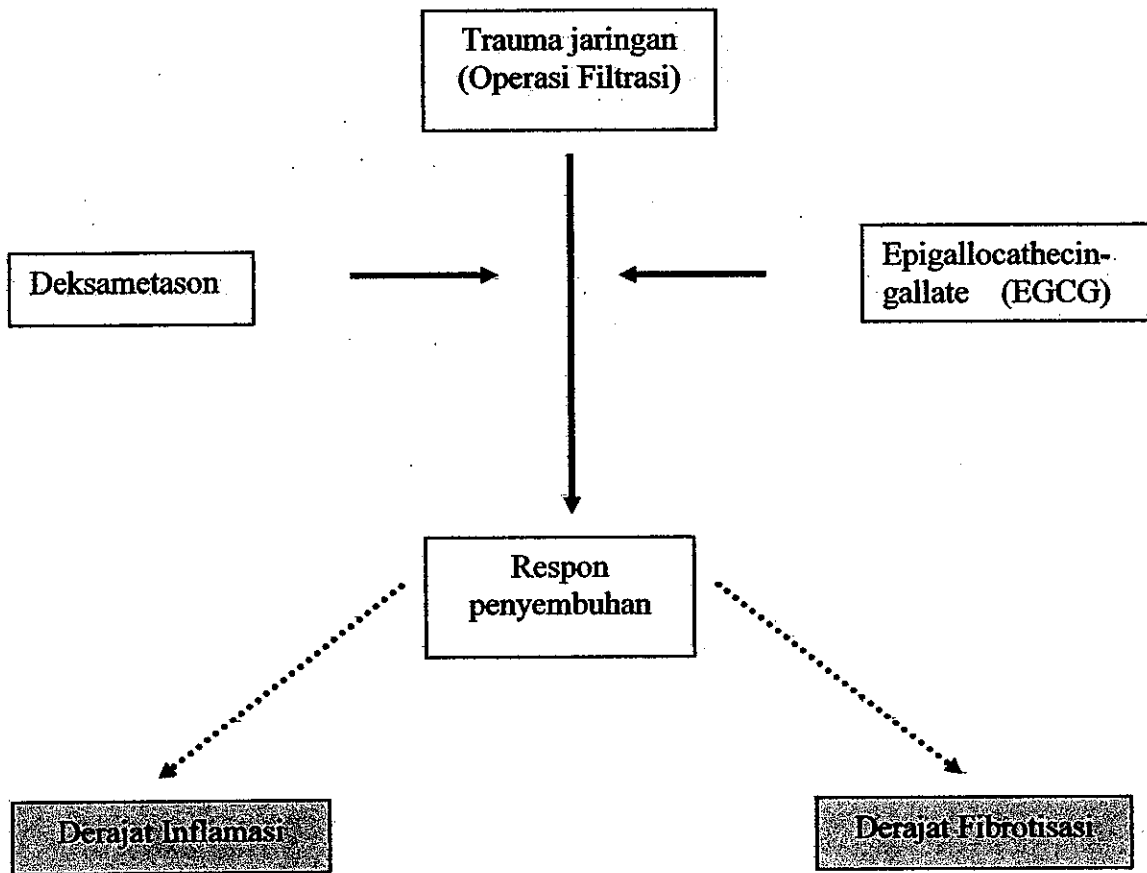
Sebagian besar bentuk sediaan obat mata adalah tetes mata. Kelebihan bentuk sediaan dengan rute topikal ini adalah tercapainya konsentrasi obat yang adekuat di segmen depan mata tanpa terjadi efek yang tidak diinginkan di bagian/sistem tubuh lainnya. Namun sifat bentuk sediaan tetes mata ini mempunyai keterbatasan yang mempengaruhi efektifitasnya yaitu dalam hal waktu dan volume kontak obat dengan permukaan bola mata. Hanya sekitar 20% obat saja dari sejumlah obat yang diteteskan dapat tertahan oleh kelopak mata dan *cul-de-sac* setelah mata berkedip. Jadi bila sejumlah 50 µl (volume 1 tetes obat tetes mata pada umumnya) diteteskan, hanya sekitar $50 \times 20\% = 10 \mu\text{l}$ saja yang tertahan di permukaan bola mata. Selanjutnya terjadi penurunan volume obat di dalam air mata secara cepat kurang lebih 16% per menit pada permukaan mata yang sehat. Penurunan volume obat lebih banyak terjadi pada obat tetes yang merangsang refleks air mata. Pada jenis obat yang absorpsinya lambat, 50% obat dapat tertahan di air mata setelah 4 menit penetesan, namun hanya 17% saja yang tertahan setelah 10 menit penetesan. Obat-obat yang mempunyai sifat isotonis, bebas iritan, dan mempunyai pH fisiologis ($\pm 7,4$) tidak mengiritasi permukaan bola mata.

Sebaliknya obat-obat yang hiper/hipotonis, mengandung iritan (seperti bahan pengawet), mempunyai pH yang sangat tidak fisiologis, dapat mengiritasi dan merangsang refleks air mata.

2.8. Kerangka Teori



2. 9. Kerangka Konsep



BAR.3

HIPOTESIS.

1. Efek anti inflamasi epigallocatechin-gallate (EGCG) topikal pada substansia propria konjungtiva kelinci pasca operasi filtrasi tidak berbeda dibanding dengan deksametason topikal.
2. Efek anti fibrotisasi Epigallocatechin-gallate (EGCG) topikal pada substansia propria konjungtiva kelinci pasca operasi filtrasi tidak berbeda dibanding dengan deksametason topikal.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian adalah Ilmu Kesehatan Mata khususnya mengenai glaukoma.

4.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Lembaga Pengembangan Penelitian Terpadu (LPPT) Universitas Gajah Mada (UGM). Penelitian dilaksanakan dari bulan April 2008 sampai dengan Mei 2008. Pelaksanaan penelitian ini mundur dari jadwal semula yaitu bulan Januari-Maret 2008 dikarenakan menunggu ketersediaan hewan coba dan menyesuaikan dengan ketersediaan tempat di LPPT UGM oleh karena adanya penelitian lain yang dilakukan di LPPT UGM.

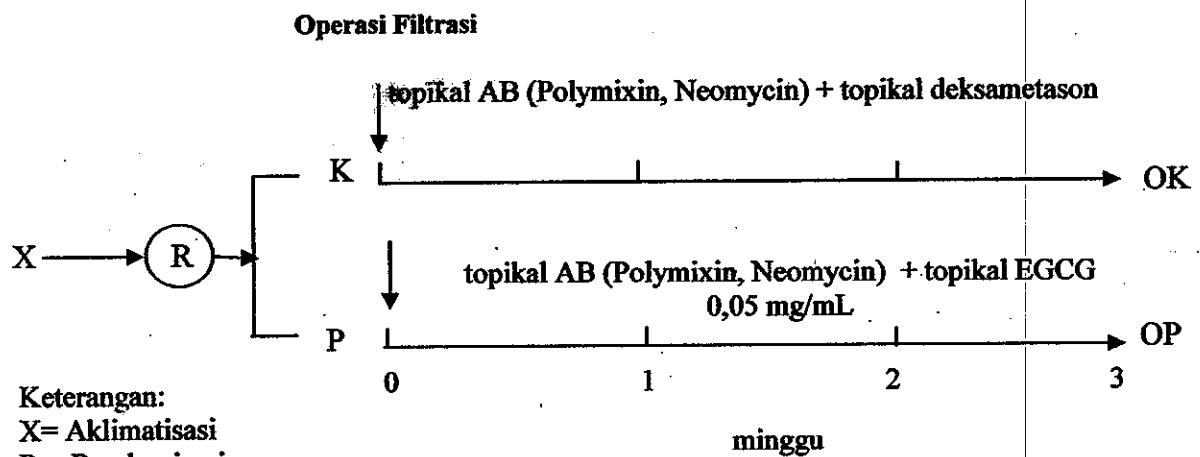
4.3. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *paralel group post test only 2 groups design*.

Hewan coba akan dibagi secara acak menjadi 2 kelompok yaitu:

Kelompok 1(kontrol) : Operasi Filtrasi dan topikal antibiotik (Polymixin, Neomycin) +
topikal Deksametason selama 3 minggu

Kelompok 2 (Perlakuan) : Operasi Filtrasi dan topikal antibiotik (Polymixin, Neomycin)
+ topikal EGCG 0,05 mg/mL selama 3 minggu



Keterangan:
 X = Aklimatisasi
 R = Randomisasi
 K = Kelompok kontrol
 P = Kelompok Perlakuan
 OK = Observasi kontrol
 OP = Observasi perlakuan

4.4. Sampel penelitian

4.4.1. Sampel

Sampel penelitian adalah kelinci putih *New Zealand*

4.4.1.1. Kriteria sampel

- a. Kelinci jantan
- b. Umur 3-4 bulan
- c. Berat badan 2 – 4 kg
- d. Kelinci tampak aktif
- e. Pada pemeriksaan luar tidak tampak adanya kelainan anatomik khususnya kelainan bola mata
- f. Pada pemeriksaan luar tidak tampak adanya proses infeksi aktif pada segmen anterior bola mata

4.1.2. Besar sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan kriteria WHO yaitu minimal adalah 5 kelinci perkelompok.

Bila diperhitungkan kemungkinan *drop out* akibat kematian kelinci selama penelitian adalah 10% maka besar sampel untuk setiap kelompok adalah:

$$n_{do} = \frac{n}{(1 - do)^2} = \frac{5}{(1 - 0,1)^2} = 6,2 \approx 7$$

Namun berdasar masukan dari pihak LPPT UGM bahwa pada penelitian yang pernah dilakukan dengan lama penelitian lebih dari 1 bulan didapatkan angka kematian kelinci percobaan sekitar 50%, maka peneliti memutuskan menggunakan 28 ekor kelinci sebagai sampel penelitian untuk kedua kelompok.

4.1.3. Metoda alokasi kelompok

Metode alokasi kelompok dilakukan secara acak dengan metode acak sederhana berdasarkan tabel angka random

4.1.4. Kriteria Ekslusi

1. Terdapat komplikasi durante operasi atau terjadi perdarahan yang berlangsung lebih dari 30 detik
2. Terdapat tanda-tanda infeksi aktif pada mata pasca operasi
3. Kelinci mati selama percobaan

4.5. Variabel Penelitian

4.5.1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah jenis perlakuan yang diberikan.

1. Kelompok Kontrol : Operasi filtrasi dan pemberian antibiotik topikal (Polymixin, Neomycin) + deksametason topikal selama 3 minggu.
2. Kelompok Perlakuan : Operasi filtrasi dan antibiotik topikal (Polymixin, Neomycin) + EGCG 0,05 mg/mL topikal selama 3 minggu

4.5.2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah:

1. Derajat sebum sel radang. Skala ordinal

- a. Tidak ada
- b. Ringan
- c. Sedang
- d. Berat

2. Adanya fibrosisasi. Skala ordinal.

- a. Tidak ada
- b. Ringan
- c. Sedang
- d. Berat

4.6 Definisi Operasional

No	Variabel	Skala
1.	Jenis Perlakuan a. Perlakuan 1 Operasi filtrasi dan pemberian topikal Deksametason + topikal AB (Polymixin, Neomycin) 6x tets/hari selama 3 minggu b. Perlakuan 2 Operasi filtrasi dan pemberian topikal EGCG 0,05 mg/mL + topikal anti biotik (Polymixin, Neomycin) 6x1 tets/hari selama 3 minggu	-
2.	Derajat sebum sel radang pada substansia propria konjungtiva Derajat sebum sel radang adalah sebaran sel radang polimorfonuklear dan atau mononuklear di substansia propria konjungtiva kelinci yang diperiksa secara histopatologis dengan pengecatan Hematoksilin Eosin, diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 X dan disimpulkan oleh seorang spesialis patologi	Ordinal

No	Variabel	Skala
	anatomi. <ul style="list-style-type: none"> • Tidak ada : 0 • Ringan (sampai dengan 25% dalam 10 lapangan pandang): 1 • Sedang (25-75% dalam 10 lapangan pandang): 2 • Berat (lebih dari 75% dalam 10 lapangan pandang): .3 	
3.	Derajat fibrotisasi Derajat fibrotisasi ditentukan berdasarkan densitas kolagen pada substansia propria konjungtiva. Dikatakan fibrotisasi apabila densitas kolagen > 1,5 X jaringan sehat sekitarnya. Diperiksa secara histopatologis dan disimpulkan oleh seorang spesialis patologi anatomi dengan pengecatan <i>Trichrome</i> , dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 X. <ul style="list-style-type: none"> • Tidak ada : 0 • Ringan (sampai dengan 25% dalam 10 lapangan pandang): 1 • Sedang (25-75% dalam 10 lapangan pandang): 2 • Berat (lebih dari 75% dalam 10 lapangan pandang): .3 	Ordinal

4.7. Alat, Bahan dan Cara Kerja

4.7.1. Alat dan Bahan penelitian

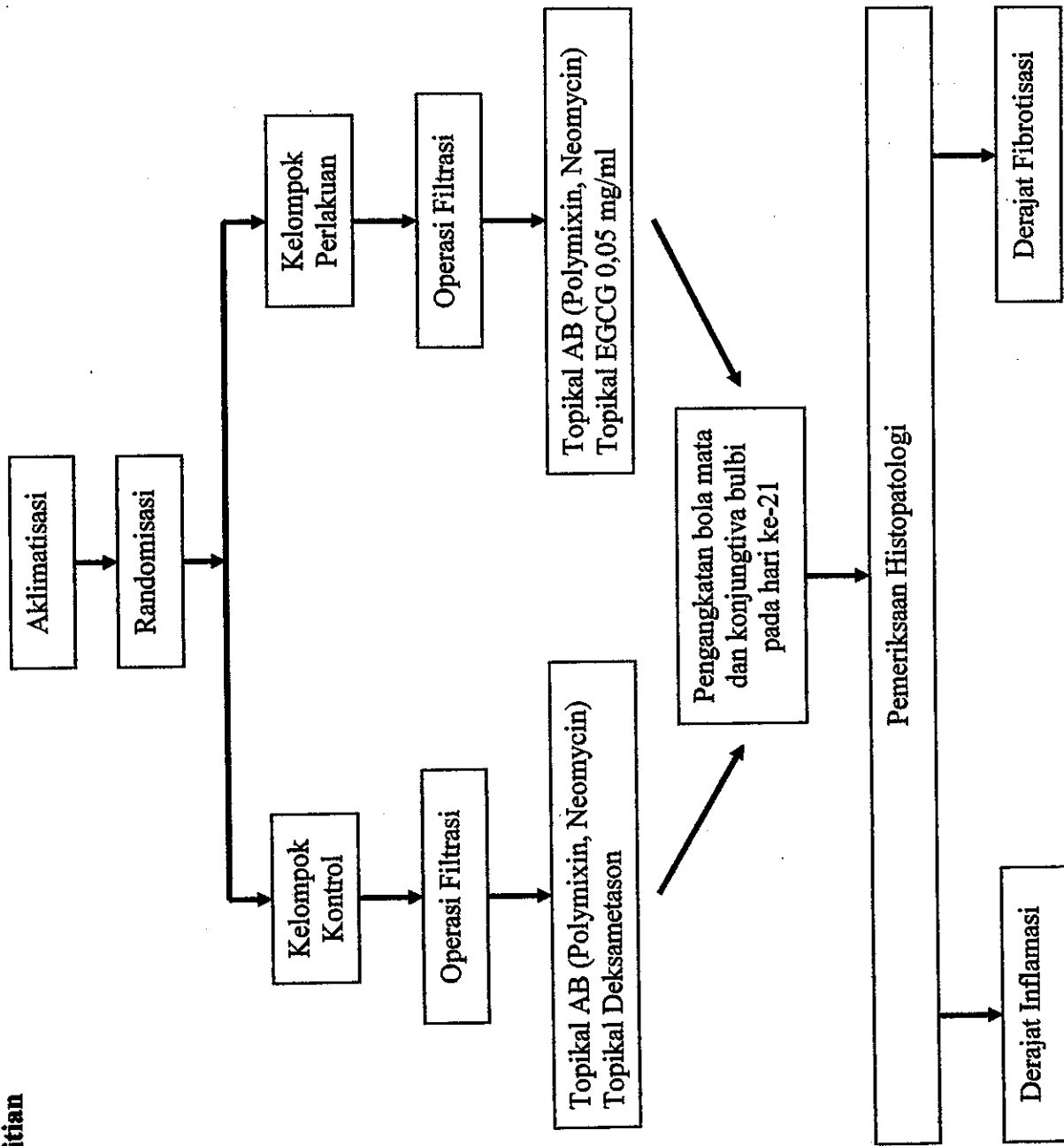
- a. Kelinci putih *New Zealand* jantan umur 3-4 bulan berat badan 2-4 kg yang diperoleh dari LPPT UGM.
- b. Tetes mata antibiotik (polymixin, neomycin), tetes mata Deksametason 0,1% , tetes EGCG 0,05 mg/mL
- c. Pinset
- d. Gunting
- e. Buffer Formalin 10%
- f. Mikroskop dengan kamera digital
- g. Pengecatan Hematoksilin Eosin dan Trichrome
- h. Kandang hewan
- i. Kaca benda

4.7.2. Cara kerja

- a. 28 ekor kelinci putih *New Zealand* umur 3-4 bulan diaklimatisasi selama 1 minggu di LPPT UGM.
- b. 28 ekor kelinci tersebut kemudian dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing terdiri dari 14 ekor kelinci:
 - 1) Kelompok Kontrol
 - 2) Kelompok Perlakuan.
- c. Prosedur operasi filtrasi
Prosedur operasi filtrasi yang dilakukan berdasarkan standar *ARVO Statement for the Use of Animal in Ophthalmic an Vision Research*
 1. Dilakukan anestesi pada kelinci dengan pemberian injeksi ketamine 50 mg/kgBB intra muskular.
 2. Diberikan tetes mata proparacaine 0,1% (Pactocaine).
 3. Dilakukan jahitan kendali kornea bagian superior (*partial thickness*) dengan menggunakan daxon 8.0
 4. Dibuat flap konjungtiva (*limbal-based*) pada kuadran supero temporal, dan dilakukan pemisahan jaringan sub konjungtiva secara tumpul sampai mencapai daerah limbus.
 5. Dibuat insisi daerah limbus selebar 3 mm sampai humor aquous keluar
 6. Dilakukan sklerostomy dengan menggunakan *Kelly's puncher* 1,5 mm.
 7. Konjungtiva dan kapsula Tenon dijahit dengan menggunakan benang daxon 8.0 secara kontinyu.
 8. Diberikan salep mata antibiotik setelah seluruh prosedur selesai
- d. Prosedur pengambilan jaringan konjungtiva adalah sebagai berikut:
 - 1) Kelinci dibunuh dengan embolisasi udara melalui vena telinga setelah dinarkose dengan kloroform
 - 2) Dilakukan pengangkatan mata kelinci beserta jaringan konjungtiva bulbi
 - 3) Bola mata yang sudah terlepas dimasukkan kedalam cairan fiksasi yaitu bufer formalin 10%

- e. Kualitas data penelitian juga dikontrol perawatan hewan coba sebagai berikut:
- 1) Kelinci ditempatkan pada kandang khusus, dimana setiap kandang berisi 4 ekor kelinci
 - 2) Kandang hewan coba dibersihkan secara teratur dengan frekuensi serta kebersihan yang sama
 - 3) Kandang hewan coba mendapat ventilasi dan pencahayaan yang memadai dan kualitasnya sama untuk setiap kandang
 - 4) Pakan dan air minum diberikan secara ad libitum. Jenis pakan adalah pakan standar kelinci berupa pelet.
- f. Apabila dijumpai kelinci mengalami peradangan pada bola mata ataupun mati maka kelinci dikeluarkan dari penelitian dan akan diganti dengan kelinci baru. Perlakuan untuk kelinci pengganti akan dilakukan sama seperti kelompok yang sesuai.
- g. Pembacaan sediaan jaringan akan dilakukan oleh satu orang ahli Patologi Anatomi

4.8. Alur Penelitian



4.9. Analisis Statistik

Data yang terkumpul diperiksa kelengkapannya sebelum dianalisis. Selanjutnya data diberi kode, ditabulasi dan dimasukkan kedalam komputer. Data derajat sebulan sel radang dan densitas kolagen pada masing-masing kelompok dinyatakan sebagai distribusi frekuensi dan persentase.

Uji hipotesis untuk perbedaan derajat sebulan sel radang dan densitas kolagen pada minggu ke-14 antar kelompok diuji dengan uji χ^2 atau uji *Fisher Exact* apabila dijumpai ada sel pada tabel yang memiliki *expected frequency* < 5 berjumlah lebih dari 20%. Perbedaan dianggap bermakna apabila nilai $p \leq 0,05$. Uji statistik akan menggunakan program *SPSS for Windows* ver 15 (SPSS Inc, USA).

4.10. Etika Penelitian

Proposal penelitian dibuat dan dimintakan persetujuan Komisi Etik Penelitian Kedokteran FK UNDIP/RS.Dr. Kariadi Semarang sebelum penelitian dilakukan. Binatang percobaan mendapat perawatan sesuai standar perawatan hewan coba LPPT UGM Yogyakarta.

BAB 5

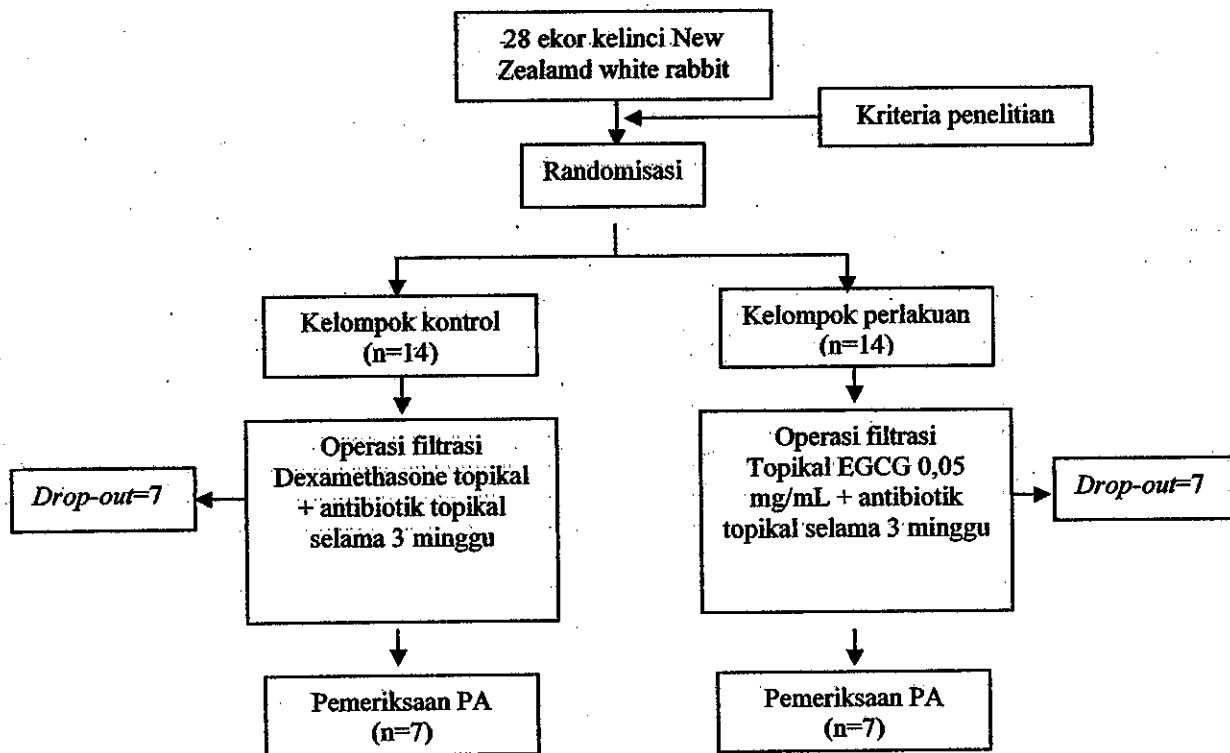
HASIL PENELITIAN

5.1. Karakteristik Sample

Perlakuan pada penelitian dilaksanakan dari bulan April 2008 sampai dengan Mei 2008 di Lembaga Pengembangan Penelitian Terpadu Universitas Gajah Mada (LPPT UGM) Yogyakarta. Pada penelitian ini digunakan 28 ekor kelinci putih *New Zealand* jantan sebagai sampel penelitian.

Kelinci secara random dialokasikan menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang mendapat terapi kombinasi antara dexamethasone dan antibiotik topikal (Polymixyn, Neomycin) selama 3 minggu pasca operasi filtrasi (n=14) dan kelompok perlakuan yang mendapat EGCG topikal 0,05 mg/mL dan antibiotik topikal (Polymixyn, Neomycin) pasca operasi filtrasi selama 3 minggu (n=14).

Selama periode penelitian baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan, masing-masing dijumpai 7 kelinci yang mati dengan penyebab yang tidak diketahui sehingga tidak dapat dipergunakan sebagai sampel. Pada akhir perlakuan (minggu ke-3) masih tersisa 7 ekor kelinci pada masing-masing kelompok, sehingga masih memenuhi jumlah sample minimal yang dibutuhkan. Bagan jumlah kelinci yang digunakan dalam penelitian ditampilkan pada gambar 12.



Gambar 12. Skema jumlah hewan coba pada kelompok penelitian dari saat awal sampai dengan akhir penelitian

Sesuai dengan alur penelitian, pada akhir minggu ke-3 perlakuan dilakukan enukleasi bulbi beserta konjungtiva pada seluruh sampel yang tersedia. Seluruh sampel kemudian diperiksa secara Histopatologis di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada / Rumah Sakit dr Sardjito Yogyakarta. Hasil Pemeriksaan histopatologis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi

Nomor Sampel	Jenis Perlakuan	Derajat Sebuman Sel Radang	Derajat Fibrotisasi (densitas kolagen)
1	Kontrol	Ringan	Ringan
2	Kontrol	Sedang	Sedang
3	Kontrol	Ringan	Sedang
4	Kontrol	Ringan	Ringan
5	Kontrol	Ringan	Ringan
6	Kontrol	Ringan	Ringan
7	Kontrol	Ringan	Ringan
8	Perlakuan	Ringan	Ringan
9	Perlakuan	Ringan	Ringan
10	Perlakuan	Ringan	Ringan
11	Perlakuan	Ringan	Ringan
12	Perlakuan	Ringan	Ringan
13	Perlakuan	Ringan	Ringan
14	Perlakuan	Ringan	Ringan

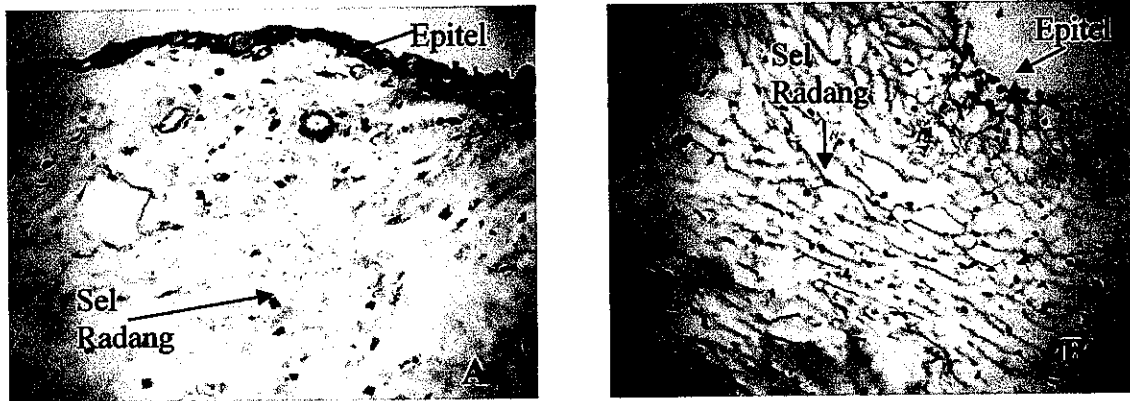
5.2. Derajat sebulan sel radang pada substansia propria konjungtiva

Derajat sebulan sel radang pada substansia propria konjungtiva kelinci pada kelompok kontrol dan perlakuan ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Derajat sebulan sel radang pada substansia propria konjungtiva kelinci pada kelompok kontrol (n=7) dan perlakuan (n=7). Persentase dihitung berdasarkan jumlah dalam kelompok

Derajat sebulan sel radang	Kelompok			
	Kontrol		Perlakuan	
	n	(%)	n	(%)
Tidak ada	0	(0,0%)	0	(0,0%)
Ringan	6	(85,7%)	7	(100%)
Sedang	1	(14,3%)	0	(0,0%)
Berat	0	(0,0%)	0	(0,0%)
	$\chi^2=1,077$			p=0,3

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, 6 kelinci (85,7%) memberikan gambaran sebulan sel radang derajat ringan dan 1 kelinci (14,3%) dengan sebulan derajat sedang. Pada kelompok perlakuan seluruh kelinci (100%) memberikan gambaran sebulan sel radang derajat ringan. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna pada distribusi derajat sebulan sel radang substansia propria konjungtiva antara kelinci pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (p=0,3). Hasil analisis tersebut telah membuktikan hipotesis ke-1. Gambar 13 menyajikan gambaran histopatologis sel radang derajat ringan dan sedang pada substansia propria konjungtiva.



Gambar 13. Timbunan sel radang pada substansia propria konjungtiva dengan pengecatan Hematoxylin Eosin pada pembesaran 400X. A. Sebukan sel radang derajat ringan. B. Sebukan sel radang derajat sedang

5.3. Derajat fibrotisasi substansia propria konjungtiva

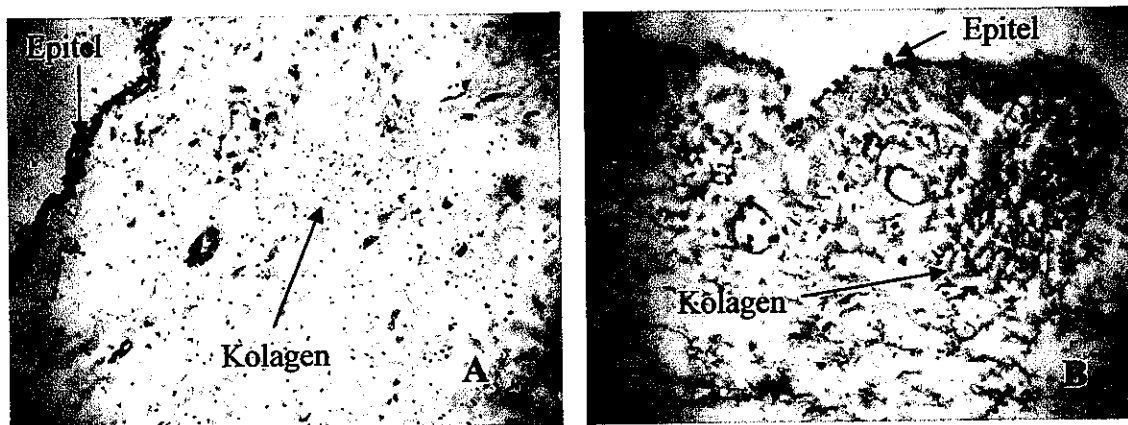
Derajat fibrotisasi pada substansia propria konjungtiva kelinci pada kelompok kontrol dan perlakuan ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Derajat fibrotisasi pada substansia propria konjungtiva kelinci pada kelompok kontrol (n=7) dan perlakuan (n=7). Persentase dihitung berdasarkan jumlah dalam kelompok

Derajat fibrotisasi	Kelompok			
	Kontrol		Perlakuan	
	n	(%)	n	(%)
Tidak ada	0	(0,0%)	0	(0,0%)
Ringan	5	(71,4%)	7	(100%)
Sedang	2	(28,6%)	0	(0,0%)
Berat	0	(0,0%)	0	(0,0%)
$\chi^2=2,333$				p=0,1

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol 5 kelinci (71,4%) memberikan gambaran fibrotisasi substansia propria konjungtiva derajat ringan dan 2 kelinci (28,6%) dengan fibrotisasi derajat sedang. Pada kelompok perlakuan seluruh kelinci (100%) memberikan gambaran fibrotisasi substansia propria konjungtiva derajat ringan. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna (p=0,1), pada

distribusi derajat sebaran sel radang substansia propria konjungtiva antara kelinci pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, sehingga hal ini membuktikan hipotesis ke-2. Gambar 14 menunjukkan timbunan sel kolagen yang merupakan penanda fibrotisasi pada substansia propria konjungtiva.



Gambar 14. Timbunan sel kolagen substansia propria konjungtiva dengan pengecatan Trichrome, dilihat pada pembesaran 400x. A. Derajat Ringan. B. Derajat Sedang

BAB 6

PEMBAHASAN DAN DISKUSI

Trabekulektomi merupakan suatu tindakan operatif yang bertujuan untuk menurunkan tekanan intra okular, tindakan ini pada umumnya dilakukan apabila terapi dengan medikamentosa gagal dalam mencapai *terget pressure*. Angka keberhasilan tindakan trabekulektomi dalam mengendalikan *terget pressure* sekitar 65-70%.^{2,5-8}

Salah satu hal yang menyebabkan kegagalan tindakan trabekulektomi adalah pembentukan jaringan sikatrik yang berlebihan pada jaringan konjungtiva sebagai akibat respon penyembuhan pada konjungtiva. Respon penyembuhan akibat trauma pada jaringan termasuk luka operasi, melibatkan serangkaian proses kompleks yang antara lain melalui sekresi mediator-mediator inflamasi, migrasi seluler (netrofil, limfosit, monosit, makrofag, dan fibroblas), pelepasan beberapa *growth factor* seperti *transforming growth factor (TGF)*, *platelet derived growth factor (PDGF)*, *vascular endothelial growth factor (VEGF)* dan molekul lainnya, serta diakhiri dengan proses remodeling.^{9,10,11} Secara sederhana proses ini dapat dirangkum menjadi tiga fase yaitu fase inflamatori, fase proliferasi, dan fase remodeling.^{10,11}

Upaya untuk meningkatkan keberhasilan trabekulektomi dapat dilakukan dengan menekan proses pembentukan jaringan sikatrik pada konjungtiva. Kortikosteroid telah digunakan sebagai baku emas dan digunakan secara rutin pasca operasi filtrasi. Kortikosteroid secara luas diketahui sangat berperan dalam menekan proses inflamasi yang terjadi baik pada fase akut maupun kronis. Secara garis besar efek kortikosteroid tersebut dapat dibagi menjadi 2 yaitu molekuler dan seluler. Pada inflamasi akut, setelah

steroid menembus membran sel akan berikatan dengan *specific steroid-binding protein receptor* di sitoplasma dan akan membentuk *steroid-receptor complex*. *Steroid-receptor complex* yang terbentuk akan mengkode *messenger ribo nucleic acid* (mRNA) yang akan menentukan respon anti inflamasi pada sel tersebut berupa penghambatan produksi enzim *phospholipase A₂* sehingga menyebabkan penurunan kemotaksis leukosit, produksi mediator-mediator inflamasi (prostaglandin dan leukotriene) serta fungsi dari sel-sel imunologik. Sedangkan pada inflamasi kronik, steroid dapat mengurangi proliferasi fibroblas dan densitas kolagen yang terdeposisi sehingga mencegah terjadinya fibrotisasi lebih lanjut.^{11,12}

Pada penelitian ini penggunaan kortikosteroid (deksametason) topikal pasca operasi filtrasi terbukti mampu menekan proses inflamasi dan pembentukan jaringan fibrotik, dimana pada hari ke-21 pasca operasi filtrasi, secara histopatologis pada kelompok kontrol didapatkan sebagian besar kelinci (85,7%) memberikan gambaran sebaran sel radang derajat ringan dan sisanya (14,3%) dengan sebaran sel radang derajat sedang. Fibrotisasi substansia propria konjungtiva derajat ringan ditemukan pada sebagian besar kelinci (71,4%) dan sisanya (28,6%) dengan fibrotisasi derajat sedang.

Salah satu efek samping penggunaan steroid adalah kemampuannya menginduksi peningkatan tekanan intra okular, terutama pada *steroid responder*. Pada beberapa penelitian klinis lanjutan juga ditemukan bahwa penggunaan kortikosteroid tidak selalu dapat mengendalikan inflamasi dan menekan pembentukan jaringan fibrosis secara adekuat, sehingga juga didapatkan kegagalan trabekulektomi oleh karena pembentukan jaringan fibrotik yang berlebihan.^{2,3,14}

Untuk mengatasi efek samping dari pemberian steroid tersebut, saat ini terus dicari bahan-bahan yang mampu memberikan efek terapi yang cukup adekuat namun dengan efek samping yang minimal. EGCG merupakan *catechin* utama yang terdapat di ekstrak teh dan merupakan bentuk yang paling aktif diantara semua jenis *cathecin*, serta memiliki efek biologi yang paling besar dibanding *catechin* yang lain. EGCG memiliki efek antikanker, antimikroba, antioksidan, anti inflamasi, pengikat (*scavenger*) radikal bebas dan anti fibrotik.^{24,25,26}

Penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh kelinci (n=7 / 100% sampel) pada kelompok perlakuan yang mendapat tetes mata EGCG dan antibiotik topikal, memberikan gambaran sebaran sel radang derajat ringan pada substansia propria konjungtiva. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna (p=0,3) pada distribusi derajat sebaran sel radang substansia propria konjungtiva antara kelinci pada kelompok kontrol yang mendapat terapi steroid topikal dengan kelompok perlakuan yang mendapat tetes mata EGCG.

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol sebagian besar kelinci (71,4%) mengalami fibrotisasi substansia propria konjungtiva derajat ringan dan sisanya (28,6%) mengalami fibrotisasi derajat sedang. Pada kelompok perlakuan seluruh kelinci (100%) memberikan gambaran fibrotisasi substansia propria konjungtiva derajat ringan. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna (p=0,1) pada distribusi derajat sebaran sel radang substansia propria konjungtiva antara kelinci pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian pada hewan coba yang telah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dona et al, EGCG

terbukti mampu menekan pembentukan fibrosis pada parenkim paru dengan menekan proses inflamasi yang diperantarai oleh netrofil.¹⁶ Mohit et al membuktikan bahwa aplikasi 50 μ L Epicatechin-gallate 0,8 mg/ml. dengan model insisi kulit *full thickness* pada tikus secara signifikan terbukti dapat memperbaiki kualitas penyembuhan luka dan pembentukan jaringan fibrotik yang tidak berlebihan.¹⁵ Sartippour et al, menunjukkan bahwa pemberian 50 μ g/ml EGCG mampu menekan ekspresi *fibroblast growth factor* (FGF) yang merupakan suatu faktor angiogenik dan menekan kadar *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Kedua *growth factor* ini juga merupakan faktor yang berperan dalam pembentukan jaringan fibrotik.²⁰

Walaupun secara statistik tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, namun didapatkan kecenderungan pada kelompok perlakuan yang mendapat tetes mata EGCG memberikan gambaran densitas kolagen dan derajat fibrosis yang lebih baik. Kecenderungan ini dapat dijelaskan karena EGCG memiliki efek yang lebih luas dibanding steroid. Selain berperan pada respon vaskular dan menekan migrasi selular, EGCG juga mampu menekan pelepasan *growth factors*, menekan pelepasan mediator inflamasi, mempengaruhi pembentukan matriks metalloproteinase, dan memiliki efek antioksidan.^{15-20,25,26}

Beratnya inflamasi yang terjadi juga akan mempengaruhi banyaknya jaringan sikatrik yang terbentuk. Sebagaimana tampak pada gambar 16, pada proses inflamasi akan terjadi proses kebocoran vaskular, migrasi selular (sel epitelial, neutofil, makrofag, fibroblas) serta pelepasan mediator-mediator inflamasi (histamin, serotonin, prostaglandin, leukotrien, dan *growth factors*). Semakin besar rangsangan dan inflamasi yang terjadi maka akan semakin banyak pula fibroblas yang berproliferasi, fibroblas ini

akan menentukan banyaknya kolagen, elastin, dan mukopolisakarida yang merupakan komponen utama pembentukan jaringan sikatrik.^{10,11}

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam melakukan pengamatan yang lebih komprehensif karena hanya menyajikan pemeriksaan secara histopatologis tanpa disertai pengamatan terhadap perkembangan gambaran klinis dari respon radang dan pembentukan bleb sebagai salah satu indikator keberhasilan tindakan operasi filtrasi. Hal ini dikarenakan adanya kendala geografis antara lokasi peneliti dan tempat pelaksanaan penelitian yang terletak pada kota yang berbeda, sehingga tidak memungkinkan peneliti melakukan pengamatan harian terhadap perkembangan gambaran klinis.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. KESIMPULAN

1. Efek anti inflamasi epigallocatechin-gallate (EGCG) topikal pada substansia propria konjungtiva kelinci putih *New Zealand* pasca operasi filtrasi tidak berbeda secara bermakna dibanding dengan deksametason topikal.
2. Efek anti fibrosis Epigallocatechin-gallate (EGCG) topikal pada substansia propria konjungtiva kelinci putih *New Zealand* pasca operasi filtrasi tidak berbeda secara bermakna dibanding dengan deksametason topikal.

7.2. SARAN

1. Dilakukan penelitian yang lebih komprehensif selain untuk menilai perubahan secara histopatologis namun juga penilaian gambaran klinis pada pemberian EGCG.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek pemberian EGCG dengan kisaran dosis yang berbeda untuk menilai dosis optimal dan lama pemberian yang paling efektif dalam menekan proses inflamasi dan menekan pembentukan jaringan fibrotik.
3. Dilakukan uji untuk menilai efek samping dan efek toksik EGCG terhadap bola mata.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Angka kebutaan Indonesia tertinggi di asia Tenggara.
(on line) : URL :
<http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=607&Itemid=2004>.
2. Liesegang TJ, Deutch TA, Grand MG. Glaucoma. Basic and clinical science course. Section 10. San Francisco : American Academy of Ophthalmology, 2005-2006: 3-29
3. Stamper RL, Drake MV, Lieberman MF. Becker-Shaffer's diagnosis and therapy of the glaucomas. Missouri : Mosby Inc. 1999; 5-87
4. Khaw PT, Trope GE. Advances in the modulation of wound healing. In Trope GE, eds. Glaucoma surgery. London: Taylor & Francis; 2005; 31-43
5. Kwon TH, Fingert JH, Grennlee EC. A Patient's Guide to Gaucoma. Section 8-B : Trabeculectomy : A Filtering Procedure. Meds Round Publications.
(on line) : URL :
<http://www.medrounds.org/glaucoma-guide/2006/11/section-8-b-trabeculectomy-filtering.html> 2006
6. Singh D, Verma A, Singh M. Failure in glaucoma surgery. Indian J Ophthalmol (serial on line) 1981
Avaiable from:URL:<http://www.ijo.in/text.asp?1981/29/3/161/30871>
7. Khaw PT, Jones E, Mireskandari K, Dahlmann A, Cambrey A. Modulating Wound Healing After Glaucoma Surgery. Glaucoma Today. 2004 July/august: 12-9
8. Miller MH, Grierson I, Unger WI, Hitching RA. Wound healing in an animal model of glaucoma fistulizing surgery. Ophthalmic Surg. 1989; vol 20: 350-357
9. Corderiro MF, Schultz GS, Ali RR, Bhattacharya SS, Khaw PT. Molecular therapy in ocular wound healing. British Journal of Ophthalmology. 1999; 83: 1219-24
10. Lee DA. New surgical techniques. In : Allingham R Bellows R, Richter C eds. Principles and practice of ophthalmology clinical practice. Vol 3. Philadelphia ; WB Saunders, 1994; 1678-84

11. Kumar V, Abbas AK, Fautso N. Robbins and Cotran pathologic basic of disease. 7th edition. Philadelphia : Elsevier Saunders, 2005; 47-87
12. Esson WD, Neelakantan A, Iyer SA, et al. Expression of connective tissue growth factor after glaucoma filtration surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 February; 45: 485-91
13. Grisanti S, Szurman P, Warga M, et al. Decorin Modulates Wound Healing in Experimental Glaucoma Filtration Surgery. *IOVS.* 2005 january; 46(1): 191-6
14. Fuller JR, Bevin TH, Moltano ACB, Vote BJ, Herbison P. Anti-inflammatory fibrosis suppression in threatened trabeculectomy bleb failure produces good long term control of intraocular pressure without risk of sight threatening complications. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86: 1352-5
15. Kapoor M, Howard R, Hall I, Appleton I. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. *American Journal of Pathology.* 2004;165: 299-307
16. Pajonk F, Riedisser A, Henke M, McBride WH, Fiebich B. The effects of tea extracts on proinflammatory signaling. *BMC Medicine.* 2006
Available from : URL. <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/4/28>
17. Kim IB, Kim DY, Lee SJ, et al. Inhibition of IL-8 production by green tea polyphenols in human nasal fibroblast and A549 epithelial cells. *Biology Pharmaceutical Bulletin.* 2006; 29: 1120-5
18. Suzuki Y, Hattori S, Isemura M. Epigallocatechin-3-O-gallate inhibits fibroblast contraction of floating collagen gel: Interaction between Epigallocatechin-3-O-gallate and Platelet Derived Growth factor. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004; 68(8): 1817-20
19. Dona M, Dell'aica I, Calabrese F, et al. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. *The Journal of Immunology.* 2003: 4335-41
20. Sartippour M, Heber D, Zhang L, et al. Inhibition of fibroblast growth factors by green tea. *International Journal of Oncology.* 2002; 21: 487-491
Liang Y, Chen Y, Lin Y, Shiau S, Ho C, Lin J. Suppression of extracellular signals and cell proliferation by the black tea polyphenol. *Carcinogenesis.* 1999; 20(4): 733-6
21. Davis FA. The Anatomy and Histology of The Eye and Orbit of the Rabbit. *Trans Am Ophthalmol Soc.*(on line) URL : <http://www.pubmedcentral.gov/pmc> 1929

22. Tina T, Wong L, Annal, et all. Matrix Metalloproteinase Inhibition Modulates Posoperative Scarring after Experimental Galucoma Filtration Surgery. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2003; Vol.44 No.3 : 1097-1103.
23. Abelson MB, Butrus S. Corticosteroid in ophthalmic practice. In: Albert DM, Jakobiec H eds. Principles and practice of ophthalmology. Basic Sciences. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994: 1013-20
24. Gradeon J, Gradeon T.. The People's Pharmacy Guide To Home And Herbal Remedies. St. Martin's Press. (on line) :URL :
<http://www.w3.org/TR/xhtml1/DTD/xhtml1-transitional.dtd> 1999
25. Wisman T, Mulder T, Rietveld A. Tea Flavonoids: Bioavailability *In Vivo* and Effects on Cell Signaling Pathways *In Vitro*. Antioxidant & Redox Signaling. Available from URL :
<http://www.liebertonline.com/templates/jsp/midtier/mal/favicon.ico> 2003
26. Zhou Q, et all. Investigating the Stability of EGCG in Aqueous Media. On Line. Available from URL :<http://www.currentseparation.com> 2003