

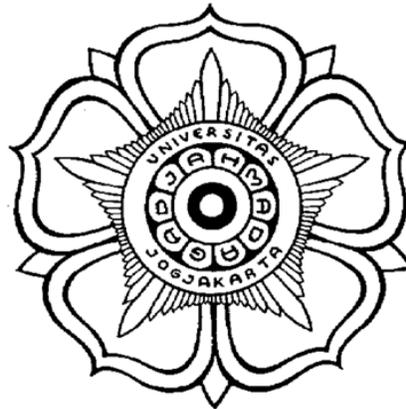
**PERBANDINGAN EKSPRESI P 53 PADA  
PTERIGIUM PRIMER PROGRESIF  
SETELAH PEMBERIAN INJEKSI SUBKONJUNGTIVA  
MITOMICIN C DAN 5 FLUOROURASIL**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat sarjana S-2

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinis

Minat Utama ilmu Penyakit Mata



Diajukan Oleh :

Santi Anugrahsari

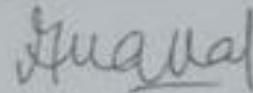
16006/IKK/PS/04

**Kepada**  
**PROGRAM PASCA SARJANA UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
**YOGYAKARTA**  
**2009**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis ini tidak terdapat karya yang telah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam kepustakaan

Yogyakarta, Desember 2009



Santi Anugrahsari



FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA  
KOMISI ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN DAN KESEHATAN  
**KETERANGAN KELAIKAN ETIK**

*(Ethical Clearance)*

Nomor: KE/FK/571/EC

Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, setelah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan bahwa penelitian dengan:

- Judul : Perbandingan Ekspresi P 53 Terhadap Pterigium Primer Progresif Setelah Pemberian Injeksi 5 Fluorourasil dan Metomicin C Subkonjungtiva
- Peneliti Utama : dr. Santi Anugrahsari
- Dosen Pembimbing : 1. Prof. dr. Wasidi Gunawan, Sp.M(K)  
2. Prof. dr. Suhardjo, SU, Sp.M(K)
- Lembaga/tempat penelitian : Puskesmas Cawas dan RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta

dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan, dengan catatan sewaktu-waktu Komisi dapat melakukan pemantauan.

Yogyakarta, 14 DEC 2009

Prof. dr. Mohammad Hakimi, Sp. OG(K), Ph.D  
Ketua

dr. Tri Wibawa, Ph.D  
Sekretaris

# Tesis

## PERBANDINGAN EKSPRESI P 53 PADA PTERIGIUM PRIMER PROGRESIF SETELAH PEMBERIAN INJEKSI SUBKONJUNGTIVA MITOMICIN C DAN 5 FLUOROURACIL

dipersiapkan dan disusun oleh

**SANTI ANUGRAHSARI**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 23 Desember 2009

### Susunan Dewan Penguji

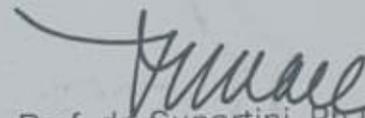
Pembimbing Utama

Anggota Dewan Penguji Lain

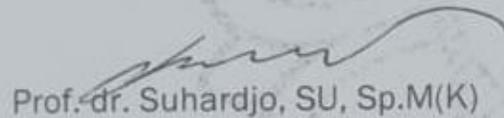


Prof. dr. Wasidi Gunawan, Sp.M(K)

Pembimbing Pendamping I

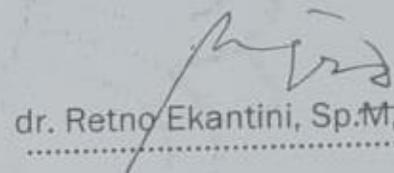


Prof. dr. Sunartini, Ph.D, Sp.A(K)



Prof. dr. Suhardjo, SU, Sp.M(K)

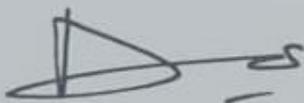
Pembimbing Pendamping II



dr. Retno Ekantini, Sp.M, M.Kes

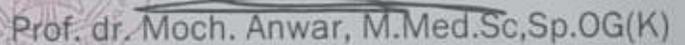
Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan  
Untuk memperoleh gelar Master of Science, Spesialis Mata

Tanggal .....



dr. Agus Supartoto, Sp.M(K)

Kepala Bagian Ilmu Penyakit Mata



Prof. dr. Moch. Anwar, M.Med.Sc, Sp. OG(K)  
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik

## DAFTAR ISI

Lembar Judul	i
Lembar pengesahan	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Tabel	iv
Daftar Gambar	v

### BAB I Pendahuluan

A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Keaslian Penelitian	4

### BAB II Tinjauan Pustaka

A. Definisi Pterigium	6
B. Anatomi dan Patogenesis Pterigium	6
C. Epidemiologi	8
D. Berbagai Faktor Risiko	9
a. Radiasi Ultraviolet	9
b. Faktor Genetik	9
c. Faktor Risiko lainnya	9
E. Klasifikasi	10
F. p53	12
G. Mitomicin C	15
H. 5 Fluorouracil	16
I. Berbagai Penanganan Pterigium	17
J. Hipotesis	19
K. Kerangka Konsep	20

### BAB III Metode Penelitian

A. Rancangan Penelitian	21
B. Subyek Penelitian	21
C. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	21
D. Bahan dan Cara	21
E. Besar Sampel	22
F. Variabel Penelitian	22
G. Definisi Operasional	23
H. Sarana Penelitian	23
a. Alat	23
b. Bahan	24
I. Kerangka Alur Penelitian	24
J. Analisis Statistik	28
K. Organisasi Penelitian	28

### BAB IV. Hasil dan Pembahasan

A. Karakteristik Subyek Penelitian	29
B. Hasil Pemeriksaan Ekspresi p53	31

BAB V Ringkasan	40
-----------------	----

DAFTAR PUSTAKA	43
----------------	----

LAMPIRAN	47
----------	----

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian	29
Tabel 2. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan	31
Tabel 3. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap usia	34
Tabel 4. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap Jenis Kelamin	35
Tabel 5. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap Derajat Pterigium	35
Tabel 6. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap Paparan Sinar Matahari	36
Tabel 7. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap Pemakaian Pelindung	37
Tabel 8. Perbedaan Rerata Ekspresi P53 kedua kelompok perlakuan Terhadap Jenis Pekerjaan	38
Tabel 9. Hubungan antar Variabel terhadap Ekspresi p53	39

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perbedaan Ekspresi p53 pada kelompok MMC dan 5 FU_____	32
Gambar 2. Ekspresi p53 pada kelompok MMC_____	53
Gambar 3. Ekspresi p53 pada kelompok 5 FU_____	53

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar Belakang**

Pterigium adalah salah satu kondisi tersering yang ditemui di daerah dekat ekuator, terutama di daerah subtropis. Pada Pengamatan lanjut menunjukkan ekspresi vimentin sel limbal pada tepi pterigium, over ekspresi p53 supressor gen memberi kesan bahwa Ultraviolet B menginduksi mutasi pada awal pertumbuhannya dengan jalan merusak apoptosis dari sel limbal serta produksi yang berlebihan dari bermacam-macam faktor pertumbuhan (Assia, 2002).

Meskipun patogenesis pterigium masih belum jelas namun hubungan dengan radiasi sinar ultraviolet banyak dilaporkan. Sinar ultraviolet juga bertanggung jawab terhadap beberapa kondisi dermatologis mulai dari elatosis solaris yang jinak hingga karsinoma sel skuamosa. Diantara dua jenis sinar ultraviolet yaitu UVB (290-320 nm) dan UVA (320-400nm) memberikan kontribusi sebagai pemicu karsinogenesis dan pada penelitian terbaru menunjukkan paparan UV pada kulit menimbulkan spesifik mutasi pada tumor suppressor gene, p 53, pada kodon 245 dan 247/248. Pada beberapa laporan penelitian, menunjukkan hubungan erat ultraviolet sebagai pemicu terjadinya mutasi p 53. Ekspresi p53 abnormal ditunjukkan pada pterigium dengan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal yang dapat mendeteksi protein p53 mutan (Shimmura,et al., 2000).

Mutasi dan over ekspresi p 53 ditemukan pada 50 % dari keganasan pada manusia seperti keloid pada kulit, pterigium dan pinguekula (Pokroy,et al., 2002). P 53 (juga dikenal dengan nama TP53) adalah tumor suppressor gen yang berlokasi pada lengan pendek kromosom 17p13, mempunyai peran penting pada kontrol sel pertumbuhan.

Terdapat 2 jenis protein p53. Yang pertama yaitu tipe normal atau *wild type* serta *mutant type*. P53 *wild type* dipercaya berperan pada regulasi proliferasi sel dan berperan sebagai tumor suppressor (Nasiri, et al., 2007). P53 tidak ditemukan pada konjungtiva normal. P53 ditemukan pada 50 % pterigium primer dan rekuren. Empat dari lima jaringan pterigium rekuren didapatkan p53 positif, dengan aktivasi proliferasi sebesar  $4.56 \pm 0.94$  dibanding dengan grup kontrol (Chowers, et al., 2001).

Tingkat kekambuhan pterigium sangat tinggi, mencapai 80 %. Oleh karena itu pembedahan pterigium biasanya hanya untuk kasus simptomatik seperti pterigium yang menutupi aksis visual sehingga menimbulkan astigmatisme karena tarikan kornea serta iritasi yang berat, kongesti, nyeri dan berair. Untuk meningkatkan hasil pembedahan pterigium ada dua strategi yaitu pendekatan destruksi dengan penambahan radiasi dan kemoterapi serta pendekatan rekonstruksi dengan transplantasi dari bermacam-macam jaringan graft (Assia, 2002).

5 Fluorouracil (5FU) adalah obat dari kelompok antagonis pirimidin, dapat menghambat proliferasi fibroblas. Obat ini bekerja menghambat enzim sintetase thymidin dan mempengaruhi replikasi sel fase S, bekerja pada RNA. Sedangkan Mitomicin C (MMC) berasal dari *streptomyces caespitosus*, bekerja menghambat proliferasi fibroblast dengan cara memblokir replikasi DNA (pada proliferasi sel fase G dan S), mitosis dan sintesis protein. Obat ini 100 kali lebih poten dibandingkan 5 FU dan mempunyai efek toksik pada konsentrasi tinggi (Sumantri, 2003). Keduanya dapat dipakai sebagai terapi tambahan pada operasi pterigium.

Donnenfeld et al., 2003 melaporkan pemberian mitomicin C subkonjungtiva sebelum operasi pterigium efektif dalam menurunkan angka kekambuhan dengan

komplikasi minimal. Pemberian mitomicin C subkonjungtiva memungkinkan obat langsung bekerja pada fibroblas aktif, pada sel-sel yang bertanggungjawab terhadap kekambuhan pterigium tanpa merusak stem sel epitel permukaan. Dilaporkan angka kekambuhan pterigium setelah pemberian mitomicin C subkonjungtiva sebelum operasi bare sklera sebesar 6 % dalam periode follow-up rata-rata 24,4 bulan. Penelitian yang dilakukan oleh Prabhasawat et al., 2006, menunjukkan pemberian 5 Fluorouracil subkonjungtiva pada pterigium rekuren lebih efektif dalam mencegah angka kekambuhan dibanding dengan kontrol pada rata-rata follow up 6-26 bulan, dengan komplikasi minimal berupa epitelopati punggata superfisialis.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian diatas, timbul pertanyaan penelitian berupa:

Apakah ekspresi p53 lebih rendah pada pemberian Mitomicin C subkonjungtiva dibandingkan dengan 5 Fluorouracil subkonjungtiva pada pterigium primer progresif?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian mitomicin C subkonjungtiva terhadap ekspresi P53 dibandingkan 5 fluorouracil subkonjungtiva pada pterigium primer progresif.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

Apabila Mitomicin C subkonjungtiva terbukti menurunkan ekspresi p53 *mutant type* daripada 5 FU , maka penelitian ini dapat memperkuat bukti mengenai potensi Mitomicin C subkonjungtiva sebagai terapi tambahan pada pterigium primer progresif.

### **1.5. Keaslian Penelitian**

Chowers, Jacob, Zamir, Livni, Ilsar, Pery, 2001, meneliti aktivitas proliferasi dan ekspresi p53 pada pterigium primer dan rekuren. Parra, Liopis Maldonado, Vilam, Menezo, Spanyol, 1995, meneliti secara prospektif terhadap mitomicin C pada pterigium primer. Prabhasawat, Tesavibul, Leelapatranura, Phonjan, 2006 meneliti Efikasi 5 Fluorouracil subkonjungtiva dan injeksi triamsinolone pada pterigium rekuren. Sonnenfeld et al., 2002, melakukan penelitian mengenai pemakaian mitomicin C subkonjungtiva sebagai terapi adjuvan sebelum eksisi pterigium. Nugraheni, 2004 meneliti perbandingan ekspresi Transforming Growth Factor (TGF)  $\beta$  setelah pemberian Mitomicin C subkonjungtiva dan Triamsinolone Asetonide subkonjungtiva pada pterigium primer progresif. Budi Handoko, meneliti perbandingan ekspresi P53 pada pterigium primer dan pterigium pasca injeksi triamcinolone acetone. Telah banyak dilakukan penelitian mengenai ekspresi p53 pada konjungtiva normal, pterigium primer dan rekuren serta angka kekambuhan dan angka kesuksesan bedah pterigium dengan menggunakan bahan Mitomicin C dan 5 Fluorouracil. Namun sayangnya, belum ada yang meneliti mengenai ekspresi p53 mutant type dengan menggunakan teknik imunohistokimia pada pterigium progresif setelah penggunaan Mitomicin C dan 5 Fluorouracil subkonjungtiva.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Definisi Pterigium**

Pterigium di definisikan sebagai pertumbuhan epitelial bulbus konjungtiva berbentuk segitiga dan jaringan penunjang subkonjungtiva yang mengalami hipertrofi, terjadi di daerah medial dan lateral fisura palpebra dan mengarah ke kornea. Berasal dari bahasa Yunani “Pterygos” yang artinya “sayap” yang disebabkan oleh proses kronik pada apex kornea. Pterigium dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu primer dan rekuren. Pterigium rekuren merupakan pterigium yang tumbuh agresif dalam jangka waktu minggu hingga bulan setelah pembedahan pterigium primer. Pterigium primer di yakini merupakan proses kronik, di dapat dengan distribusi geografis berdasarkan paparan sinar matahari (Tan, Holland, Mannis, 2002).

#### **2.2. Anatomi dan Patogenesis Pterigium**

Secara anatomis, pterigium terdiri atas cap yang terlihat sebagai lengkungan berwarna putih keabu-abuan dengan daerah yang avaskuler merupakan lesi kornea akibat invansi jaringan konjungtiva. Kepala atau apeks berbentuk segitiga yang merupakan puncak dari pterigium, melekat pada kornea. Badan pterigium yang terdiri dari jaringan konjungtiva yang padat berbentuk segitiga disertai vaskularisasi berpangkal di kantung (Tan, Holland, Mannis, 2002).

Secara histopatologi, pterigium menunjukkan degenerasi elastotik dari kolagen dengan subepitelial jaringan fibrovaskular yang tumbuh dan merusak membrana Bowman. Mikroskop elektron menggambarkan adanya aktivitas fibroblas pada area jaringan yang rusak. Jaringan di atas epitelium mungkin dapat normal atau menebal dan

menunjukkan perubahan displastik seperti hiperkeratosis, akantosis, dan diskeratosis ( Saini, et al., 2003 ).

Radiasi sinar ultraviolet tipe B ditemukan merupakan faktor lingkungan yang sangat berpengaruh pada patogenesis pterigium. Penelitian terkini menyebutkan bahwa p53 dan Human Papilloma Virus (HPV) juga berperan dalam patogenesis pterigium. Radiasi ultraviolet menyebabkan mutasi gen seperti p53 tumor supressor gene, menghasilkan ekspresi abnormal pada epitelial pterigium. Temuan ini membuktikan bahwa pterigium bukan saja merupakan lesi degeneratif melainkan akibat dari proliferasi sel yang tidak terkontrol. Matrix Metalloproteinase (MMPs) dan MMPs tissue inhibitors pada tepi pterigum bertanggung jawab terhadap proses inflamasi, remodeling jaringan dan angiogenesis sebagai karakteristik pterigium, seperti halnya kerusakan pada lapisan Bowman dan invasi ke kornea. Peneliti lain menyebutkan adanya kemungkinan pterigium tumbuh pada lokasi dimana kekurangan sel stem limbal. Dewasa ini patogenesis pterigium banyak pada teori seluler dan molekuler (Ang, Chua, Tan, 2007). Jaringan pterigium memiliki komponen proliferaatif dan tidak didapatkan pada konjungtiva yang menua meliputi hiperplasi epitel, adanya jaringan konektif baru, pembuluh darah baru dan elemen fibrous. Pterigium primer tumbuh lokal secara invansif, menuju apeks kornea dan epitelnya menunjukkan variasi abnormal yang berbeda beda mulai dari displasia ringan hingga karsinoma *in situ*. Hubungan diantara ultraviolet dan kanker telah lama diketahui, ultraviolet dapat menginduksi mutasi pada solar keratosis, penyakit Bowen dan karsinoma kulit. Lapisan epitel basal pada pterigium primer maupun rekuren menyebabkan overekspresi p53 tumor supresor gen, salah satu faktor transkripsi dalam

mengendalikan pertumbuhan gen, dalam hal ini menjelaskan adanya temuan histologis klasik dari hiperplasia epitel (Tan, Holland, Manis, 2002).

### **2.3. Epidemiologi**

Prevalensi pterigium bervariasi 0,7 % hingga 31 % pada beberapa populasi berbeda dan dipengaruhi oleh usia, ras dan paparan radiasi sinar matahari (Varsanno, Cohen, Loewenstein, 2002). Di Amerika Serikat prevalensi pterigium sebesar 2 – 7 % (Donnenfeld, et al., 2003). Di Singapura dilaporkan prevalensi pterigium 7 % pada usia di atas 40 thn (Wong, et al., 2001). Distribusi pterigium di negara dekat ekuator lebih tinggi. Hal ini telah diyakini lebih dari setengah abad yang lalu. Faktor geografis dan hubungan antara pterigium dan sinar matahari dilaporkan pertama kali oleh Talbot pada tahun 1948, serta peranan radiasi ultraviolet pada pterigium dilaporkan tahun 1961. Cameron, 1965 mengadakan survei terhadap distribusi pterigium dimana negara dengan kondisi udara panas, kering dan berdebu memiliki prevalensi lebih tinggi (Tan, Holland, Mannis, 2002). “Pterygium belt” berada pada 35° lintang utara dan 35 ° lintang selatan. Pada populasi yang terpapar sinar matahari, pterigium lebih banyak pada dewasa muda, dan dua kali lebih banyak pada pria dibanding wanita (Sharm, Wali, Pandita, 2004 ). Di Australia, prevalensi populasi aborigin 3,4 % dan non aborigin 1, 1 %. Penelitian berbasis populasi di Kepulauan Lautan Pasifik menyebutkan prevalensi 0,3 % di Pulau Solomon, dan 29 % di Pulau Samoan. Beberapa penelitian menunjukkan hubungan epidemiologi, geografis dan prevalensi pterigium dengan berbagai faktor risiko yang bervariasi. (Tan, Holland, Mannis, 2002 ). Di Yogyakarta, prevalensi pterigium sebesar 11,8 %. Prevalensi pterigium pada populasi diatas usia 40 tahun 17,2 % ( Paramita, et al., 2008 )

## **2.4. Beberapa Faktor Risiko**

### **2.4.1. Radiasi Ultraviolet**

Faktor risiko mayor terjadinya pterigium adalah paparan ultraviolet. Pada tikus, radiasi ultraviolet menyebabkan hiperplasia epitel dan degenerasi membrana Bowman. Cahaya matahari dari sisi temporal akan terfokus pada limbus nasal dan merupakan letak dari pterigium nasal. Taylor dan kawan-kawan pernah melakukan penelitian mengenai paparan ultraviolet di Chesapeake Bay dengan menggunakan pelindung mata. Diketahui rasio Odds pada populasi yang tinggal di daerah di bawah 30° lintang sebesar 44,3 dan populasi yang menghabiskan waktu mereka lebih dari 50 % di luar ruangan pada 5 tahun awal kehidupan mereka sebesar 14,1 (Tan, Holland, Mannis, 2002 ).

### **2.4.2. Faktor Genetik**

Beberapa bukti menunjukkan adanya hubungan faktor herediter pada perkembangan pterigium. Beberapa kasus melaporkan beberapa keluarga dengan riwayat pterigium , penelitian *case control* berbasis rumah sakit menunjukkan adanya hubungan yang signifikan dan kemungkinan adanya pola dominan autosom (Tan, Holland, Mannis, 2002 ).

### **2.4.3. Faktor Risiko Lainnya**

Iritasi kronik atau radang yang terjadi pada daerah limbus atau di kornea perifer mendukung teori keratitis kronik. Keratokonjungtivitis aktinik diyakini sebagai lesi iritatif yang menyebabkan inflamasi kronik, scar dan vaskularisasi hingga menyebabkan progresi pterigium. Penelitian lain menyebutkan adanya peranan sel-sel radang dan peran HLA-DR juga pernah dilaporkan. Yang menarik dari hal ini adalah inflamasi kronik merupakan salah satu penyebab defisiensi limbal. Kelembababan , mikrotrauma,

dicurigai pula sebagai faktor perancu pada hubungan paparan ultraviolet dan pterigium, sedangkan *dry eye* sebagai faktor penyebab masih dalam penelitian. Infeksi HPV juga masih diteliti sebagai faktor penyebab pterigium (Tan, Holland, Mannis, 2002 ).

## **2.5. Klasifikasi**

Subkonjungtiva atau komponen fibrovaskular pterigium bervariasi mulai dari yang tipis hingga yang tebal. Secara kronologis pterigium memberikan tanda sebagai lesi yang kecil, keabuan, kekeruhan kornea dekat di limbus nasal, kemudian konjungtiva tumbuh pada kornea dengan bentuk triangular, deposit besi (stocker line) dapat timbul pada epitel kornea anterior menjadi kepala dari pterigium (Kanski, et al., 2003). Kekambuhan setelah eksisi pada pterigium menunjukkan gambaran yang lebih agresif dan biasanya terjadi pada pasien muda, lebih tebal dibanding dengan lesi atropik pada pasien yang lebih tua. Dengan menggunakan slit lamp , grading pterigium dapat dibagi menjadi :

T1 (atrofik) : pterigium dimana pembuluh darah episklera berada di bawah badan pterigium tidak tertutup jaringan dan tidak dapat dibedakan dengan jelas.

T2 (*intermediate*) : pembuluh darah episklera terlihat kabur atau sebagian tertutup.

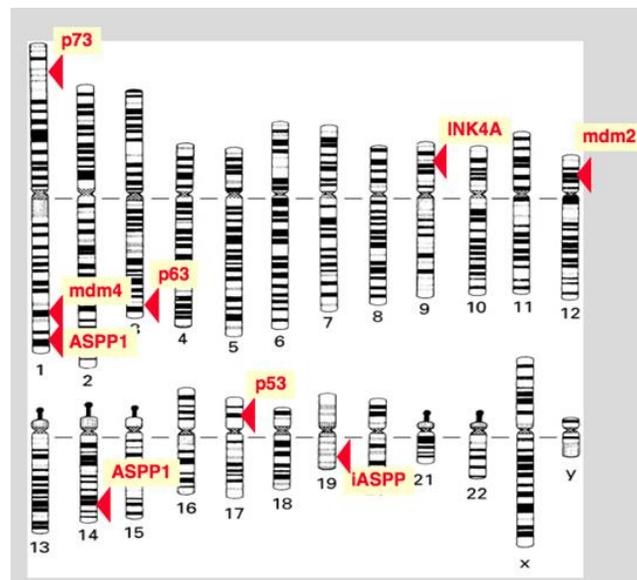
T3 (*fleshy*) : pterigium tebal , pembuluh darah episklera dibawah badan pterigium, tertutup oleh jaringan fibrovaskular

(Tan, Holland, Mannis, 2002 )

## **2.6. P53**

P53 merupakan fosfoprotein nuklear yang dapat mengikat DNA, dimana aksinya adalah sebagai faktor transkripsional (Reszec & Sulkowski, 2005). P53 dapat sebagai gen yang paling penting pada kanker. Tumor suppressor gen ini bermutasi pada hampir

setengah dari kasus kanker. Kehilangan aktivitas p53 dapat menyebabkan kanker, diantaranya sel yang mutan akan berada pada siklus sel, yang kedua adalah menyebabkan apoptosis dan menyebabkan sel kanker menjaga instabilitas genetiknya (Albert, et al., 2002). *Wild type* p53 menghambat proliferasi sel, sedangkan kehilangan aktivitasnya merupakan hal penting pada transformasi tumor. P53 berperan penting pada pemeliharaan integritas gen dengan menghentikan siklus sel pada fase G1 atau menginduksi apoptosis ketika perbaikan DNA tidak tercukupi (Reszec & Sulkowski, 2005), kontrol pada siklus G1/S dan kemungkinan pada transisi siklus G2/M (Constable, et al., 1998). Gen P53 merupakan gen supresor tumor yang berlokasi pada kromosom 17p13.1, yang berperan pada kontrol pertumbuhan sel.



Gambar 1. Lokasi p53 pada kromosom manusia

Normalnya p 53 tidak terdeteksi dengan imunohistokimia pada proses natural atau pembentukan “*wild type*”, meskipun peningkatan level p53 mutan ditemukan pada berbagai tumor, dimana berhubungan dengan mekanisme kontrol siklus sel abnormal. Ekspresi P53 *wild type* ditemukan meningkat pada berbagai tipe sel yang mengikuti

kerusakan DNA yang disebabkan oleh berbagai agen, dalam hal ini berfungsi untuk mencegah replikasi kerusakan DNA. Yang menarik, mutasi gen p53 seperti pada sindrom Li-Fraumeni berhubungan dengan meningkatnya risiko berkembangnya tumor. Efeknya pada siklus sel makin membuktikan adanya peningkatan level p53 dapat juga merupakan pencetus apoptosis pada siklus sel. Analisa laboratorium dari p 53 dapat melalui 3 pendekatan , yaitu merangkai p53 setelah sampel DNA diamplifikasi , diperoleh dari spesimen dengan menggunakan teknik PRC. Yang kedua dengan observasi langsung intraseluler protein p53 yang di cat dengan teknik imunohistokimia. Metode ini berdasar bahwa protein mutan p53 mempunyai *half life* yang panjang dan dapat diakumulasi dan menjadi over ekspresi pada nuclei. Yang terakhir yaitu dengan deteksi serum antibodi p53 pada sampel darah tepi (Constable, et al., 1998; Nasiri, et al., 2007). P53 *mutant type* muncul pada saat *partial loss* saat aktivitas pengikatan DNA, yang menyebabkan *mutant type* mengikat hanya pada sebuah subset p53 (Lacroix, et al., 2006).

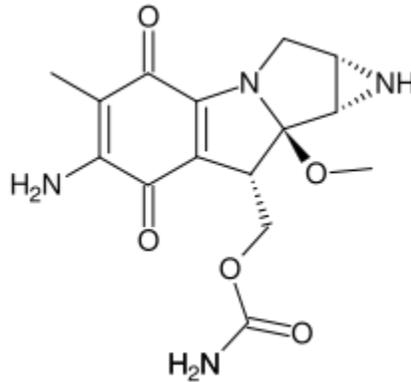
Protein p 53 merupakan stressor regulator sel mayor yang mengintegrasikan sinyal dari tingkatan yang luas dari stres seluler. Deteksi kerusakan DNA atau kesalahan replikasi dapat menyebabkan terhentinya siklus sel dan apoptosis jika kerusakan tidak dapat diperbaiki. Mekanisme ini untuk mencegah akumulasi kemungkinan adanya mutasi DNA onkogenik. Radiasi UV dapat menyebabkan mutasi pada gen seperti p53 tumor suppressor gen tersebut, ketika inaktivasi melalui mutasi dan kehilangan heterozigositas serta dapat menyebabkan proliferasi sel dan instabilitas genomik. Beberapa peneliti melaporkan adanya peningkatan ekspresi p53 pada pterigium, meskipun juga pernah dilaporkan adanya level yang rendah dengan pemeriksaan ELISA dan teknik imunohistokimia yang lain. P53 *wild type* bertugas sebagai monitor integritas genetik sel

dan tersedia untuk menginduksi ekspresi gen yang bertanggung jawab menghambat sintesis DNA atau menyebabkan apoptosis pada respon kerusakan DNA. Pada sel normal, protein p 53 memiliki waktu hidup pendek dan dengan kadar rendah , kerap kali tidak terdeteksi. Pada pterigium populasi Ekuador, 11 spesimen (35,48 %) positif ekspresi p53. Insiden imunoreaktivitas p 53 berbeda pada ras populasi yang berbeda begitu pula dengan faktor lingkungan . Mutasi p 53 diyakini menyebabkan peningkatan stabilitas protein. Tsai et al, dapat mendeteksi mutasi gen p 53 pada populasi China dengan 6 substitusi dan dua delesi ( Perra, et al., 2006). Tujuan strategi farmakologis adalah untuk reaktivasi p53 mutan melalui *small molecules* atau peptida yang dapat melindungi fungsi pengikatan DNA ( Ricci & Zong, 2006 ).

Dushku, et al, 1999 melaporkan p53 dengan imunostaining negatif pada 5 sampel yang berasal dari superior dan lateral limbal epitelial dan pada medial interpalpebral limbal kornea epitelial serta 9 spesimen pterigium menunjukkan ekspresi nuklear p53 pada sel limbal epitelial dan bukan pada fibroblas.

## **2.7. Mitomicin C**

Mitomicin C (MMC) adalah agen antibiotik anti neoplastik , selektif menghambat sintesis DNA, seluler RNA dan protein, memiliki efek jangka panjang pada proliferasi seluler. Merupakan derivat *Streptomyces caespitosus*. Efek farmakologik kemungkinan berasal dari 3 grup, quinone, carbamate, dan aziridine.



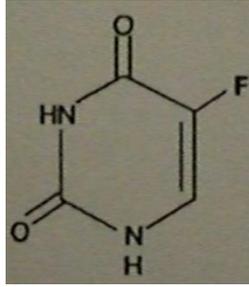
Gambar 2. Struktur Mitomicin C

Aktivasi metabolik melalui reduksi menjadi agen ankilating *crosslink* DNA, suatu proses yang dihubungkan oleh sitokrom p450 reductase dan terjadi lebih efektif pada lingkungan yang hipoksia. Karena hal tersebut dapat mengganggu beberapa fase pada siklus sel, maka Mitomicin C diklasifikasikan sebagai agen ankilating nonspesifik pada siklus sel. Bukan hanya menghambat replikasi DNA, namun juga menghambat mitosis dan sintesis protein. Mitomicin C tidak mengganggu dengan metabolit pada DNA, RNA maupun sintesis protein. Oleh karenanya disebut agen antifibroblastik atau antiproliferasi (Lama & Fechtner, 2003). Mitomicin C sebagai DNA *alkylating agent* menstabilkan p53 dengan fosforilasi pada terminal N. Stabilisasi dengan jalan penurunan MDM2 mRNA dan protein dan penurunan ubiquitinasi p53. Down regulasi MDM2 dengan penurunan p53 ubiquitinasi dan p53 MDM2 kompleks. Mitomicin C menstabilkan kedua tipe p53 baik p53 *normal type* dan *mutant type*, merusak potensi fosforilasi pada terminal N. Overekspresi MDM2 menghambat stabilisasi p53 dan penurunan ubiquitinasi. P53 yang dapat berikatan dengan MDM2 hanya p53 *normal type*. Agen ankilating DNA membuat formasi cincin nitrogen atau pada siklik oksigen ekstra pada nukleotida, sehingga terjadi kehilangan kromosom atau mutasi basa tunggal ( Inoue, et al., 2001 ; Ricci & Zong,2006 ).

### 2.8. 5 Fluorouracil

5 Fluorouracil (5 FU) adalah agen antifibrotik yang menghambat sintesis DNA dan menurunkan aktivitas fibroblastik (Prabasawat, et al., 2005). 5 FU tergolong agen kemoterapeutik sebagai media spesifik, memiliki efek antiproliferatif berperan sebagai antagonis metabolisme pirimidin, oleh karenanya di klasifikasikan sebagai anti metabolit (Lama & Fechtner, 2003). Sebagai anti metabolit, 5 FU banyak digunakan pada pengobatan karsinoma kolorektal, karsinoma payudara, dan kanker areodigestif. Hal ini diyakini dengan mekanisme sebagai berikut, 5 FU berubah menjadi 5-fluoro-dUMP (FdUMP) dan 5-Fluoro-dUTP (FdUTP) di dalam sel. FdUTP mengikat *nukleotida thymidylate synthase*, sebagai enzim yang mengkatalisasi reaksi dari dUMO ke dTMP dan menghambat aktivitas enzim tersebut. Pada akhirnya 5 FU mensupresi sintesis DNA dan memperbaiki kerusakan DNA. 5 FU juga berubah menjadi 5-Fluoro-UTP (FUTP) yang bergabung menjadi molekul RNA, yaitu rRNA dan mengakibatkan inhibisi proses rRNA, dengan demikian 5 FU akan menginduksi berhentinya siklus sel dan atau apoptosis. Efek 5 FU pada berhentinya pertumbuhan sel dan apoptosis disebabkan oleh karena obat ini dapat menginduksi aktivitas dan level p53. Respon adanya sinyal kerusakan DNA, fosforilasi dari MDM2 dan p53, mencegah interaksi MDM2-p53 dan mengurangi p53 dari inhibisi MDM2 ( Sun, Dai, Lu, 2007).

Pada beberapa percobaan, 5 FU menunjukkan efek yang lebih efektif sebagai inhibitor pada pertumbuhan fibroblas. Pada percobaan yang dilakukan Khaw dan kawan-kawan menyebutkan bahwa *invivo* dan *in vitro* , paparan 5 FU selama 5 menit menghasilkan penghentian pertumbuhan dan memiliki efek jangka panjang pada kultur fibroblas jaringan tenon manusia (Lama & Fechtner, 2003).



Gambar 3. Struktur 5 Fluorouracil

## 2.9. Berbagai Penanganan Pterigium

Indikasi eksisi pterigium meliputi ketidaknyamanan penderita, distorsi tajam penglihatan, pterigium tumbuh lebih dari 3-4 mm dan progresif menutupi aksis visual serta menghambat pergerakan bola mata. Pilihan untuk penutupan luka ada beberapa jenis yaitu metode bare sklera, *simple closure*, *sliding flap*, flap rotasi, dan graf konjungtiva (AAO, 2008). Angka kekambuhan pterigium masih pada rentang yang sangat lebar yaitu 0 hingga 89 % (Tan, Holland, Mannis, 2002). Angka kekambuhan pada metode bare sklera adalah 37 – 91 %, sedangkan konjungtiva autograft 5,3 %. Prosedur yang telah dikenal, berupa insisi, removal, split, transplantasi, eksisi, kauterisasi, graft, inversi, galvanisasi, pemanasan, diseksi, rotasi, koagulasi, reposisi dan iritasi bertujuan pada satu hal yang sama yaitu pengambilan jaringan pterigium dan menghindari adanya kekambuhan (Burrato et al., 2000). Ivenkovic et al., 2001 melakukan penelitian terhadap 3 grup perlakuan yaitu metode bare sclera dan mitomicin C 0,25 mg/ml intraoperatif menggunakan sponge selama 2 menit, transplantasi limbal stem sel dan transplantasi membrana amnion. Pada grup pertama angka kekambuhan dalam kurun waktu  $5,4 \pm 4,12$  bulan, dan kelompok kedua dalam waktu  $10,5 \pm 3,5$  bulan. Sedangkan penelitian oleh Jap et al, 1999 mengenai rotasi konjungtiva autograf membuktikan angka kekambuhan 4 % dalam jangka waktu 4 bulan dan 7 bulan. Autotransplantasi pada pterigium memiliki

angka kekambuhan 2-39 %, dan autotransplantasi di tambah Mitomicin C 0,2 mg/ml selama 1 menit sebesar 2-9 % (Pery, et al., 2006). Angka kekambuhan pterigium dengan transplantasi membrana amnion sebesar 12,5 % dengan rentang waktu  $2,25 \pm 0,5$  bulan dibanding dengan metode bare sclera dan aplikasi mitomicin 0,02 % selama 3 menit yaitu sebesar 37,5 % rentang waktu  $1,875 \pm 0,8$  bulan (Seskoati, et al., 2002). Sedangkan Asfani et al., 2002 meneliti angka kekambuhan pterigium pasca pemberian triamsinolon acetonid dan MMC, dimana menunjukkan angka 17,2 % dan 13,8 % dengan follow up selama 6 bulan. Berbagai macam terapi adjuvan seperti thio tepe, membran amnion, anti metabolit, agen ankilating, agen kemoterapik dapat digunakan pada manajemen pterigium dikombinasikan dengan berbagai teknik operasi (Ogus, et al., 1999; Lam, et al., 1998; Burrato, et al., 2000). Dewasa ini Mitomicin C menjadi terapi tambahan dalam mencegah kekambuhan pterigium. Pertama digunakan oleh Kunitomi dan Mori pada tahun 1963. Pada awalnya, digunakan mitomicin tetes mata 0,4 hingga 1 mg/ml 4 x sehari pada operasi bare sklera. Meskipun banyak penelitian menyebutkan adanya angka kekambuhan nya sekitar 5-12 % dengan menggunakan mitomicin C topikal, namun ada beberapa laporan mengenai efek toksik pada konjungtiva dan kornea. (Tan, Holland, Mannis, 2002; Donnenfeld, et al., 2003).

Penyulit penggunaan mitomicin tetes mata pada pterigium yang pernah dilaporkan adalah limbal avaskular, dekompensasi kornea, korneosklera melting, perforasi kornea dan sklera, pembentukan katarak , iritis, fotofobia. Sedangkan penyulit pada penggunaan aplikasi mitomicin intraoperatif adalah keratitis pungtata, kemosis, dan granuloma konjungtiva (Al Fayez, 2002; Lam, et al., 1998; Tan, et al., 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Donnenfeld et al., 2003 menunjukkan mitomicin C subkonjungtiva

0,1 ml (0,15 mg/ml) yang di injeksikan sebelum operasi bare sklera sebagai terapi yang efektif.

### **2.10. Hipotesis**

*P53 mutant type* dengan menggunakan teknik imunohistokimia pasca penyuntikan Mitomicin C pada pterigium primer progresif lebih rendah daripada *p53 mutant type* pasca penyuntikan 5 Fluorouracil subkonjungtiva.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### A. Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini adalah Cross Sectional atau potong lintang.

#### B. Subyek Penelitian

Penderita pterigium di Poliklinik Mata RS Dr Sardjito Yogyakarta dan RS jejaring.

#### C. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

##### a. Kriteria Inklusi

1. Penderita pterigium primer progresif
2. Umur kurang dari 50 tahun
3. Bebas terapi kortikosteroid minimal 2 minggu terakhir
4. Tidak ada kontraindikasi dilakukan eksisi dengan *merest sclera*
5. Pterigium tumbuh pada sisi nasal konjungtiva
6. Tidak sedang menderita peradangan aktif pada mata
7. Tidak ada riwayat alergi terhadap obat sebelumnya
8. Bersedia mengikuti penelitian

##### b. Kriteria Eksklusi

Sampel yang tidak dapat dinilai oleh ahli Patologi Anatomi

#### D. Bahan dan Cara

Membandingkan dua kelompok. Kelompok pertama yaitu pterigium yang disuntik 5 FU ( 5mg dalam 0,1 ml ) dan Kelompok kedua pterigium yang disuntik dengan MMC 0,1 ml larutan mitomicin C ( 0,15 mg / ml ) yang disuntikkan langsung pada

jaringan pterigium (corpus di daerah limbus) 1 minggu preoperasi metode *merest sclera* pada pterigium progresif .

Jaringan pterigium yang telah dieksisi diambil dan disimpan dalam tabung yang berisi buffered formalin, kemudian dibawa ke laboratorium Patologi Anatomi (PA), dipotong, di cat dengan monoklonal antibodi DO-7 untuk dihitung ekspresi p53 nya yang positif per 100 sel dalam 5 lapang pandang, dengan menggunakan perbesaran 400 kali dan dihitung rata-ratanya.

#### E. Besar sampel

Perkiraan rerata besar sampel minimal untuk penelitian sampel tunggal dengan uji hipotesis diukur dengan rumus:

$$n_1=n_2= 2 \left\{ \frac{(Z\alpha+ Z\beta)s}{(X_1-X_2)} \right\}^2$$

Keterangan:

- n1 = jumlah sampel kelompok 1
- n2 = jumlah sampel kelompok 2
- X1-X2 = 3,5 ( Sun & Shimizu, 1995)
- S = 4,27
- Z $\alpha$  = untuk  $\alpha$  0,05 = 1,96
- Z $\beta$  = untuk  $\beta$  0,20 = 0,84

Dari hasil perhitungan diatas diperoleh jumlah sampel dalam tiap kelompok minimal 24.

#### F. Variabel Penelitian

Variabel bebas : Injeksi *Mitomycin C* dan *5 Fluorouracil* subkonjungtiva.

Variabel tergantung : Ekspresi p 53 pada epitel pterigium.

Variabel perancu : Usia, paparan terhadap UV, pemakaian pelindung.

## G. Definisi Operasional

1. Pterigium primer progresif : pterigium primer dengan gambaran klinik korpus yang sangat tebal, disertai jaringan fibrovaskuler yang banyak.
2. Pterigium pasca injeksi : Pterigium progresif yang telah diinjeksi subkonjunktiva dengan Mitomicin C 0,1 ml (0,15 mg/ml) dan 5 Fluorouracil 5mg (0,1 ml) 1 minggu sebelum operasi.
3. Ekspresi p 53 *mutant type* : sel coklat pada nuclei epitel pterigium yang terlihat melalui teknik imunohistokimia dengan pengecatan antibodimonoklonal DO-7
4. Paparan ultraviolet: Waktu naracoba terpapar sinar matahari dalam kehidupan sehari-harinya.

## H. Sarana Penelitian

### a. Alat

1. Spuit insulin 1 cc
2. Loupe
3. Instrumen untuk operasi pterigium ( pembuka mata, pinset, gunting, spatel iris, nail holder )
4. Tabung kecil berisi buffered formalin untuk menyimpan jaringan.
5. Formulir protokol dan persetujuan ikut serta dalam penelitian
6. Formulir data subyek penelitian
7. Obyek glass, deck glass
8. Mikroskop cahaya MDR-09

### b. Bahan

1. Mitomicin C (MMC) 0,1 ml (0,15 mg/ml)

2. 5 FU ( 5mg dalam 0,1 ml )
3. Benang Dermalon 6.0
4. Monoclonal antibodi (mouse NCL-p53-DO-7)
5. Pantocain tetes mata 0,5%
6. Lidocain 0,1 cc

### I.Kerangka Alur Penelitian

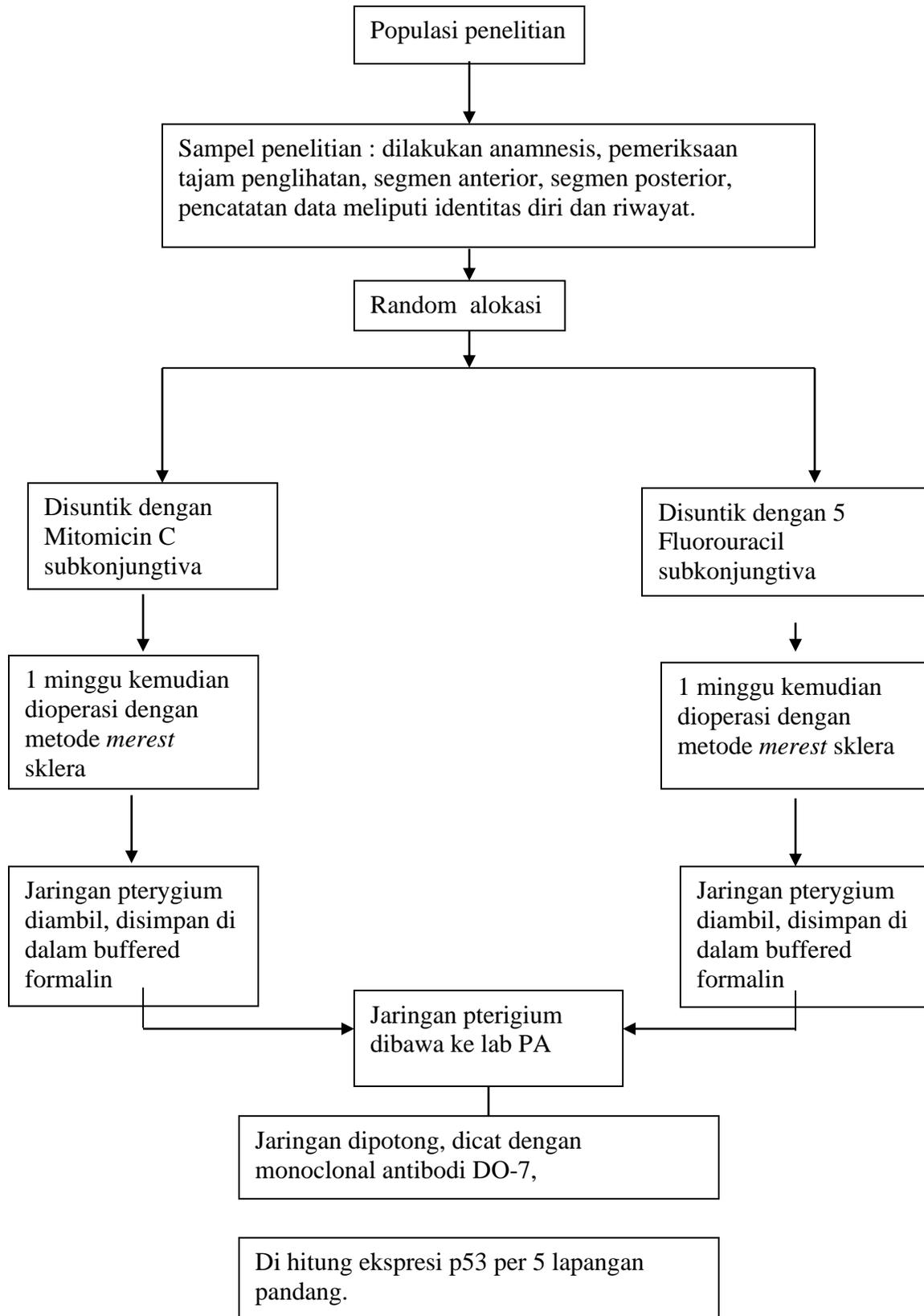
Penelitian dilakukan di Poliklinik Mata RS Dr Sardjito dengan prosedur pelaksanaan sebagai berikut:

1. Naracoba yang memenuhi kriteria terpakai dilakukan pemeriksaan awal meliputi anamnesis, pemeriksaan tajam penglihatan, pemeriksaan segmen anterior dengan slit lamp dan pemeriksaan segmen posterior dengan oftalmoskop.
2. Dilakukan pencatatan data naracoba, mengenai usia, paparan sinar ultraviolet, riwayat pemakaian obat-obatan sebelumnya, riwayat alergi obat yang pernah diderita, dan stadium dan ukuran pterigium (alas x tinggi)
3. Naracoba mengisi kesediaannya untuk mengikuti penelitian dengan menandatangani informed consent, yang sebelumnya memahami dan mengerti mengenai manfaat penelitian serta efek samping yang mungkin terjadi.
4. Naracoba dibagi 2 kelompok secara random alokasi. Kelompok pertama diberi injeksi *Mitomycin C* dan kelompok kedua diberi injeksi *5 FU*. Prosedur pemberian injeksi subkonjungtiva dikerjakan dengan spuit

tuberkulin 1 ml, dihisap sebanyak 0,1 ml mitomicin C atau 0,1 ml 5 FU. Sebelumnya Mata yang akan diinjeksi ditetesi dengan Pantokain 2% tetes mata, kemudian ditunggu selama 1 menit. Dilakukan anestesi filtrasi pada pterigium di daerah limbus dengan lidokain 1% sebanyak 0,2 ml. Ditunggu 5 menit, kemudian dilakukan injeksi subkonjungtiva pada pterigium di daerah limbus dengan larutan mitomicin C atau 5 FU.

5. Naracoba diminta untuk kembali 1 minggu kemudian dihitung dari tanggal penyuntikan, untuk dioperasi dan diambil jaringan pterigiumnya. Teknik operasi *merest sclera* diawali dengan menyuntikkan lidokain 2% sehingga konjungtiva menggebung pada batas puncak pterigium di daerah limbus. Dibuat insisi pada titik pertengahan antara limbus dan lipatan semilunaris berbentuk segitiga. Hanya bagian badan dan puncak saja yang dieksisi dengan *Beaver blade*. Perdarahan sekitar limbus dirawat dengan kauter, dihindari terkenanya sklera. Konjungtiva pada tempat irisan diperluas (*undermind*) ke arah atas dan bawah. Flap konjungtiva dijahit dengan benang dermalon 6.0 dimulai dari puncak luka ke arah limbus.
6. Jaringan pterigium dari kedua kelompok dimasukkan kedalam tabung yang berisi buffered formalin, dibawa ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dipotong, dilakukan deparafinasi dan rehidrasi, letakkan pada 0,5 % hidrogen peroksida / methanol 10 menit, cuci, panaskan 1500 ml (0,01 M buffer sitrat, didihkan pada cooker), cuci pada buffer 1 x 5 menit, letakkan pada dilusi serum normal 10 menit, inkubasi dengan antibodi primer (DO-7),cuci pada buffer 2 x 5 menit, inkubasi slide pada steptavidin /

peroksidase, cuci 2 x 5 menit, inkubasi slide dengan DAB atau peroksidase, cuci, cat dengan Haematoxylin, dihitung jumlah sel yang positif dalam 5 lapang pandang per 100 sel dengan perbesaran 400 kali.



## J. Analisis Statistika

Data nominal karakteristik subyek dianalisa dengan kai kuadrat . Untuk menetapkan beda rerata ekspresi p53 antar kedua kelompok dianalisa dengan non parametrik yaitu uji Man Whitney , dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$ . Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan ekspresi P53 dengan jenis kelamin, umur, derajat pterigium, lama paparan, pemakaian pelindung dan pekerjaan. Data yang diperoleh diolah dengan analisis statistik menggunakan komputer.

## K. Organisasi Penelitian

1. Prof. dr. Wasisdi Gunawan, Sp M (K) : Supervisor
2. Prof.dr. Suhardjo, SU, SpM (K) : Supervisor
3. dr Santi Anugrahsari : Koordinator Pelaksana

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Karakteristik subyek penelitian

Dalam kurun waktu penelitian dan terpenuhinya kriteria inklusi dan eksklusi, didapatkan sampel sebanyak 53 subyek yang dapat di hitung ekspresi p53 nya, terdiri dari kelompok injeksi mitomicin C ( n=27 ) dan kelompok injeksi 5 FU ( n=26 ). Naracoba perempuan sebanyak 26 (49 %) dan laki-laki 27 orang ( 51%) . Rentang usia dalam penelitian ini adalah 25 hingga 50 tahun dengan rerata  $44,57 \pm 5,88$  tahun.

Karakteristik data dasar yang menggambarkan distribusi subyek penelitian berdasar usia, jenis kelamin , gradasi pterigium, pajanan sinar matahari, pemakaian pelindung dan pekerjaan disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Pterigium injeksi MMC (n= 27)	Pterigium injeksi 5FU (n=26)	P
<b>Usia (tahun)</b>			0,066
25-39	8 (15,09)	9 (16,98)	
40-50	19 ( 35,85)	17 (32,07)	
Rata-rata	$44,04 \pm 6,70$	$45,73 \pm 4,87$	
<b>Jenis Kelamin</b>			0,056
Laki-laki (%)	10 (18,87)	17 (32,07)	
Perempuan (%)	17 (32,07)	9 ( 16,98)	
<b>Gradasi</b>			0,024
Derajat 2 (%)	12 (22,64)	20 (37,73)	
Derajat 3 (%)	11 (20,75)	6 (11,32)	
Derajat 4 (%)	4 ( 7,54)	0	
<b>Pajanan Sinar Matahari</b>			0,587
> 5 jam per hari (%)	12 (22,64)	14 ( 26,41)	
< 5 jam per hari (%)	15 (28,30)	12 (22,64)	
<b>Pemakaian pelindung</b>			0,283
Topi	12 ( 22, 64)	15 ( 28,30)	
Kacamata	0	2 (3,77)	
Helm	1 (1,89)	0	
Caping	1 (1,89)	0	
Tanpa pelindung	13 (24,53)	9 ( 16,98)	
<b>Pekerjaan</b>			0,155
Tidak bekerja	7 (13,20)	2 (3,77)	
Petani	11 (20,75)	11 (20,75)	
Pedagang	5 (9,43)	4 ( 7,54)	
Buruh	2 (3,77)	3 ( 5,66)	
Pegawai	1(1,89)	6 (11,32)	

Rata – rata usia subyek penelitian pada kelompok MMC adalah  $44,04 \pm 6,70$  tahun dan pada kelompok 5 FU adalah  $45,73 \pm 4,87$  ( $p= 0,066$ ). Jumlah subyek laki-laki pada kelompok MMC 10 ( 18,87 %) dan perempuan 17 ( 32,07 %), sedangkan jumlah laki-laki pada kelompok 5FU 17 (32,07%) dan perempuan 9 (16,98%) (  $p=0,056$ ). Pada kelompok MMC, pterigium derajat 2 sebanyak 12 ( 22,64%), derajat 3 sebanyak 3(20,75%), dan derajat 4 sebesar 4 (7,54%), sedangkan pada kelompok 5FU, derajat 2 sebanyak 20 (37,73%), derajat 3 sebanyak 6 (11,32%) ( $p= 0,024$ ). Pada kelompok MMC yang terkena pajanan sinar matahari lebih dari 5 jam sebanyak 12 ( 22,64%), dan kurang dari 5 jam sebanyak 15 (28,50%), sedangkan pada kelompok 5 FU, jumlah subyek yang terpapar sinar matahari lebih dari 5 jam sebanyak 14 (26,4) dan kurang dari 5 jam sebanyak 12 (22,64%)  $p = 0,587$ . Pada penggunaan pelindung kelompok MMC, sebanyak 12 (22,64%) menggunakan topi, 1 ( 1,89%) menggunakan helm dan caping dan 13 (24,53%) tanpa pelindung. Sedangkan pada kelompok 5FU yang menggunakan topi sebanyak 14 (26,41%), kacamata 2 (3,77%) dan 9 (16,98%) tanpa pelindung.  $P = 0,283$ . Pada kelompok MMC, 7 (13,20%) tidak bekerja, 11(20,75%) sebagai petani, 5 (9,43%) sebagai pedagang, 2(3,77%) sebagai buruh dan 1 orang (1,89%) sebagai pegawai. Sedangkan pada kelompok 5FU, 2 (3,77%) tidak bekerja, 11 (20,75%) sebagai petani, 4 (7,54%) sebagai pedagang, 3 orang (5,66%) sebagai buruh dan 6 (11,32) sebagai pegawai.  $P= 0,155$ . Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna pada karakteristik subyek penelitian. Dari hasil diatas, dapat dikatakan bahwa kedua kelompok perlakuan pada saat awal seragam (homogen).

Penelitian oleh Paramita , *et al.*, 2008, di propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta terdapat proporsi lebih banyak pada perempuan 77,8 % dibanding laki-laki 22% dengan nilai kemaknaan 0,004. Paling banyak berusia 40-50 tahun dengan kecenderungan persentasinya makin menurun terhadap bertambahnya usia ( $p=0,001$ ). Sebanyak 55,6 % subyek terpapar sinar matahari lebih dari 6 jam per hari menderita pterigium ( $p= 0,03$ ). Hasil analisis hubungan antara pemakaian pelindung saat di luar gedung, diperoleh sebanyak 83,7% subyek dengan pemakaian pelindung menderita pterigium.

### B. Hasil Pemeriksaan Ekspresi P53

Dilakukan pemeriksaan imunohistokimia pada pterigium dengan injeksi subkonjungtiva MMC dan 5FU 1 minggu sebelum ekstirpasi untuk mengetahui ekspresi p53 dan dinilai rerata ekspresinya, dengan hasil sebagai berikut:

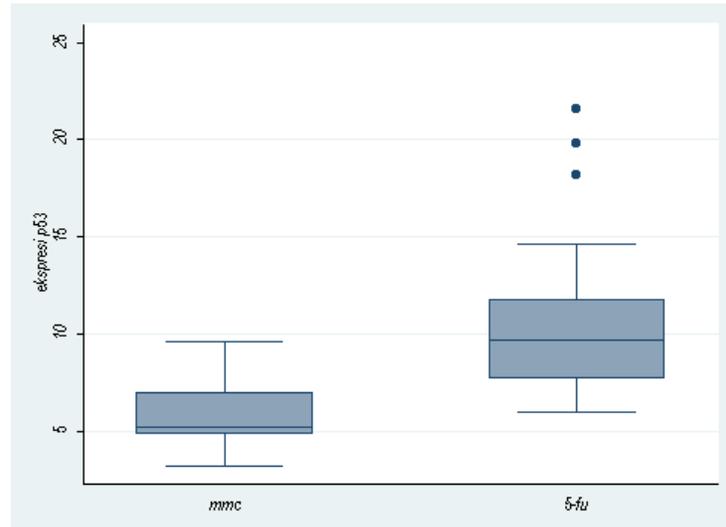
Tabel 2. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan

Ekspresi p53	Kelompok Injeksi MMC	Kelompok injeksi 5FU	Nilai p
Rerata $\pm$ SD	5,71 $\pm$ 1,83	10,29 $\pm$ 4,54	0,000
Median	5,2	9,7	
Min - Max	0 – 9,6	0 – 21,6	

Pada penelitian ini diketahui rerata ekspresi p53 pada kelompok MMC adalah 5,71 $\pm$ 1,83 dengan nilai minimal 0 hingga nilai maksimal 9,6 per 100 sel, sedangkan pada kelompok 5FU rerata ekspresi p53 adalah 10,29  $\pm$  4,54 dengan nilai minimal 0 dan nilai maksimal 21,6 per 100 sel ( $p=0,000$ ).

Penelitian Tsai *et al.*, 2005 , menggunakan teknik imunohistokimia menganalisis level protein p53 dan analisis *sequence* DNA , menunjukkan 31 ( 60.8 %) sampel pterigium memiliki skor 0 ( negatif ), skor +1 ( 1 - 10 % sel dalam lapangan pandang) pada 9 sampel ( 17.6 % ) , +2 (11-50%) pada 5 sampel (9.8 %), +3 ( > 50% sel positif)

pada 6 sampel (11.8 %). Rata-rata p53 positif 21.6 %. Mutasi deleksi terjadi pada sampel pterigium dengan p53 negatif pada pemeriksaan imunohistokimia dan mutasi substitusi ditemukan pada pterigium dengan p53 positif.



Gambar 1. Perbedaan Ekspresi p53 pada kelompok injeksi MMC dan 5 FU

Secara epidemiologi, radiasi UV-B berhubungan dengan agen etiologi bagi pterigium dan tumor - tumor limbal dan radiasi UV B sebagai agen mutagenik bagi tumor supresor gen p53. Peningkatan ekspresi nuklear p53 tanpa apoptosis ditemukan pada epitel limbal pterigium, tumor -tumor limbal dan pinguekula. Karena kerusakan p53 bergantung pada mekanisme *program cells death*., mutasi pada gen yang lain secara progresif mengikuti perkembangan banyak tahap pterigium dan sel tumor limbal dari ekspresi p53.

Pada pterigium, mutasi p53 pada sel stem limbal menghasilkan kerusakan p53 bergantung pada mekanisme *program cells death* dan overproduksi TGF  $\beta$  pada sel pterigium oleh jalur p53-Rb-TGF  $\beta$ . Beberapa perubahan jaringan terlihat pada pterigium dapat diterangkan pada mekanisme berikut : Pertama, migrasi limbus dari sel

pterigium, menimbulkan produksi TGF  $\beta$ , menyebabkan penurunan jumlah lapisan sel. Yang kedua, diantara ekspresi TGF  $\beta$  merendam stroma subepitelial, meningkatkan kapiler dan pembuluh darah, menimbulkan angiogenesis. Ketiga, lapisan sel epitel dan stroma dibawah sel pterigium, monosit berakumulasi. Keempat, kelompok fibroblast pada kelompok normal, pengumpulan di bawah ekspresi TGF  $\beta$  menghasilkan kolagen dengan kesan normal. Kelima, beberapa fibroblast dapat meregulasi kolagenase. Keenam, kelompok lain dari kolagenase memproduksi fibroblast berpindah ke depan menghasilkan tepi pterigium diantara membrana Bowman dan membrane basalis membentuk pulau pulau kecil fibroblast melarutkan membrana Bowman . Terakhir, sel pterigium mudah berubah ubah seperti pada atas membrana basement. Sel stem basalis meninggalkan lokasi permanen menuju sel basal konjungtiva dan berpindah ke lapisan dasar corneal mengikuti sel konjungtival. Berlebihnya produksi TGF B oleh sel stem parental membuat sel lebih mobil dengan mekanisme yang dapat menginduksi meningkatkan produksi kolagenase menghancurkan penempelan hemidesmosom ( Dushku, *et al.*, 1999).

Mitomycin C (MMC ) sebagai agen ankilating DNA, menstabilkan p53 dengan fosforilasi p53 pada N *terminus* dengan menurunkan level MDM2 mRNA dan protein serta penurunan ubiquitinasi p53. Agen ankilating DNA membuat formasi cincin nitrogen atau siklik oksigen ekstra pada nukleotida, sehingga terjadi kehilangan kromosom atau mutasi basa tunggal. MMC dapat menstabilkan p53 tipe wild maupun mutant ( Inoue, *et al.*, 2001 ).

5 Fluorouracil (5 FU) merupakan agen kemoterapik dan digunakan pada berbagai tumor solid . Aktivitas sebagai anti tumor dikarenakan aktivitasnya yang dapat menginduksi penghentian p53-*dependent cell* dan apoptosis. 5 FU dapat menstabilkan

p53 dengan menginhibisi MDM2-mediated ubiquitylation dan degradasi p53, penelitian sebelumnya yang juga dilakukan oleh Sun *et al.*, 2007 menunjukkan adanya peran 3 protein ribosom yaitu L5, L11 dan L23 yang langsung berikatan pada MDM2 sehingga mengakibatkan inhibisi MDM2 mediated p53 ubiquitylation dan degradasinya, sehingga terjadi stabilisasi dan aktivasi p53 serta terhentinya siklus G1/S ( Sun, *et al.*, 2007 ).

Dengan ditemukannya overekspresi dan mutasi p53 pada pterigium, dan karakteristik seperti tumor yaitu displasia ringan, invansi lokal, instabilitas mikrosatelit dan *loss of heterozygosity*, mendukung teori pterigium sebagai suatu lesi tumor jinak, maka modalitas terapi pterigium dapat menggunakan agen antikanker seperti mitomicin C dan 5 Fluorourasil ( Chowers, *et al.*, 2001 ; Tan, Holland, Mannis, 2002).

Berikut ini adalah perbedaan rerata ekspresi P53 pada tiap kelompok perlakuan terhadap usia, jenis kelamin, gradasi pterigium, paparan sinar matahari, pemakaian pelindung dan jenis pekerjaan.

Tabel 3. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan Terhadap usia

	MMC	5-FU	P
	Rerata $\pm$ SD	Rerata $\pm$ SD	
25-39 tahun	4,83 $\pm$ 0,72	10,33 $\pm$ 3,94	0,000
40-50 tahun	6,08 $\pm$ 2,04	10,26 $\pm$ 4,94	0,007

Berdasar kelompok usia, pada usia 25-39 tahun ekspresi p53 pada kelompok MMC adalah 4,83  $\pm$  0,72 dan pada kelompok 5 FU sebesar 10,33  $\pm$  3, 94 (p=0,000), sedangkan pada kelompok usia 40-50 tahun, ekspresi p53 pada kelompok MMC adalah 6,08  $\pm$  2,04 dan kelompok 5FU sebanyak 10,26  $\pm$  4,94 (p=0,007).

Tabel 4. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan Terhadap Jenis Kelamin

	MMC Rerata±SD	5-FU Rerata ±SD	P
Laki-laki	5,60 ± 1,96	10,91 ± 4,14	0,000
Perempuan	MMC Rerata±SD 5,78 ± 1,81	5-FU Rerata ±SD 9,11 ± 5,27	0,056

Pada penelitian ini, ekspresi p53 pada kelompok MMC laki-laki sebesar 5,60±1,96 dan pada kelompok 5FU sebanyak 10,91±4,14 , sedangkan pada subyek perempuan pada kelompok MMC sebesar 5,78 ± 1,81 dan pada kelompok 5FU sebesar 5,78 ± 1,81. Ditemukan perbedaan bermakna pada rerata ekspresi p53 antar 2 kelompok perlakuan pada subyek laki-laki (p= 0,000).

Ueda mengevaluasi pengaruh umur dan jenis kelamin pada ekspresi p53. Tidak didapatkan hubungan diantara usia dan ekspresi P53, dimana prevalensi p53 positif lebih tinggi pada pria daripada wanita. Tsai *et al* tidak menemukan perbedaan yang signifikan diantara ekspresi p53 dengan usia dan jenis kelamin ( Perra & Maxia, 2006 )

Tabel 5. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan Terhadap Derajat Pterigium

	MMC Rerata±SD	5-FU Rerata ±SD	P
Derajat 2	5,40 ± 1,38	10,20 ± 4,88	0,001
Derajat 3	MMC Rerata±SD 5,95 ± 2,15	5-FU Rerata ±SD 10,57 ± 3,51	0,010
Derajat 4	MMC Rerata±SD 6,00 ± 2,44	5-FU Rerata ±SD -	-

Eksresi p53 kelompok MMC pada pterigium derajat 2 adalah  $5,40 \pm 1,38$ , derajat 3 sebesar  $5,95 \pm 2,15$ , derajat 4 sebesar  $6,00 \pm 2,44$ , sedangkan pada kelompok 5FU, pada pterigium derajat 2 sebesar  $10,20 \pm 4,88$ , dan derajat 3 sebesar  $10,57 \pm 3,51$ . Perbedaan bermakna pada rerata ekspresi p53 antar 2 kelompok pada pterigium derajat 2 ( $p=0,001$ ).

Tabel 6. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan terhadap Paparan Sinar Matahari

	MMC Rerata $\pm$ SD	5-FU Rerata $\pm$ SD	P
<5 jam	5,90 $\pm$ 2,18	9,29 $\pm$ 4,21	0,039
>5 jam	5,56 $\pm$ 1,57	11,45 $\pm$ 4,81	0,000

Faktor lingkungan yang besar bagi perkembangan pterigium adalah paparan sinar Ultraviolet. Menipisnya lapisan ozon pada beberapa dekade dapat berakibat meningkatnya radiasi ultraviolet dan menambah kontribusi penyakit yang berhubungan dengan sinar matahari, diantaranya adalah pterigium ( Saw & Tan, 1999; Holand & Mannis, 2002).

Penelitian oleh Pelit, *et al.*, 2009 menunjukkan positif p53 mutan pada 60.4 % spesimen pada populasi di kota Adana ( beriklim panas ), dan 74.5 % positif pada 74, 5 % pada populasi di kota Ankara yang beriklim sejuk dengan  $p = 0,060$ . Dan hanya 13,3 % pada spesimen kontrol. Pterigium dilaporkan berhubungan dengan dosis radiasi ultraviolet. Radiasi ultraviolet menyebabkan lesi DNA diantara pirimidin, transisi C ke T pada area pirimidin atau mutasi tandem CC ke TT pada gen p53 yang menjadikan penanda molekular hubungan

ultraviolet dan kanker kulit. Disamping mutasi gen p53, dimungkinkan adanya mekanisme lain yang menyebabkan hilangnya fungsi p53 (Threlfall & English, 1999 ; Tsai *et al.*, 2005).

Berbeda dari penelitian tersebut, pada penelitian ini di temukan rerata p53 yang hampir sama pada kelompok perlakuan MMC diantara subyek yang terpapar sinar matahari kurang dari 5 jam dan lebih dari 5 jam. Namun rerata p53 pada kelompok 5 FU lebih tinggi pada subyek yang terpapar sinar matahari lebih dari 5 jam. Terdapat perbedaan bermakna antara 2 kelompok perlakuan pada subyek yang terpapar sinar matahari lebih dari 5 jam ( $p=0,000$ ).

Tabel 7. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan Terhadap Pemakaian Pelindung

	MMC Rerata±SD	5-FU Rerata±SD	P
Topi	5,15 ± 1,64	9,79 ± 4,66	0,001
Kacamata	MMC Rerata±SD -	5-FU Rerata±SD 7,60 ± 3,96	-
Helm	MMC Rerata±SD 5,00 ± 0,00	5-FU Rerata±SD -	-
Caping	MMC Rerata±SD 8,60 ± 0,00	5-FU Rerata±SD -	-
Tanpa pelindung	MMC Rerata±SD 6,06 ± 1,90	5-FU Rerata±SD 11,84 ± 4,67	0,001

Perbedaan bermakna ditemukan pada rerata ekspresi p53 antar 2 kelompok pada pemakaian pelindung topi dan tanpa pelindung ( $p= 0,001$ ). Subyek tanpa pelindung pada kesua kelompok memiliki rerata ekspresi p53 yang lebih tinggi dibanding subyek pengguna topi.

Jumlah sinar Ultraviolet yang mencapai permukaan kornea dipengaruhi oleh faktor lokal dan eksternal. Faktor eksternal diantaranya adalah garis lintang, permukaan tanah banyaknya waktu di luar gedung, pemakaian kacamata dan kelengkapan perlindungan seperti topi ( Saw & Tan, 1999 ; Holland & Mannis, 2002).

Tabel 8. Perbedaan Rerata Ekspresi p53 Kedua Kelompok Perlakuan Terhadap Jenis Pekerjaan

	MMC Rerata±SD	5-FU Rerata±SD	P
Tidak bekerja	5,63 ± 1,74	14,10 ± 10,61	0,152
Petani	MMC Rerata±SD 5,62 ± 1,85	5-FU Rerata±SD 10,45 ± 2,40	0,000
Pedagang	MMC Rerata±SD 6,08 ± 2,78	5-FU Rerata±SD 9,85 ± 2,33	0,146
Buruh	MMC Rerata±SD 5,30 ± 0,71	5-FU Rerata±SD 16,53 ± 4,35	0,058
Pegawai	MMC Rerata±SD 7,00 ± 0,00	5-FU Rerata±SD 5,87 ± 2,28	0,354

Perbedaan bermakna ditemukan pada rerata ekspresi p53 pada subyek petani (p=0,000), Subyek yang memiliki pekerjaan pegawai pada kelompok 5FU memiliki rerata ekspresi p53 lebih rendah dibanding pekerjaan lain. Berbeda pada kelompok MMC, rerata ekspresi p53 pada subyek pegawai menunjukkan angka yang paling tinggi.

Khoo *et al.*, 1998, menemukan perbedaan bermakna diantara pekerja di luar ruangan dan terjadinya pterigium, dengan odds rasio 4,2 ( 95 % CI 1,7-10,1) yang di duga berhubungan dengan paparan sinar matahari dan debu yang lebih banyak. Pada sebuah penelitian oleh Jensen, pterigium kerap terjadi pada mata

yang dibiarkan terbuka ketika menghadap matahari. Pekerjaan tertentu dengan paparan ultraviolet yang lebih tinggi memiliki angka pterigium yang lebih tinggi (Buratto, *et al.*, 2000 ; Holland & Mannis, 2002).

Tabel 9. Hubungan antar variabel terhadap ekspresi p53

Variabel	$\beta$	p	CI 95 %
KONSTAN 4,327			
Umur	0,293	0,047	0,003-0,411
Jenis Kelamin	-0,291	0,061	-4,925-0,114
Paparan sinar matahari	0,064	0,685	-2,095-3,158
Pelindung	0,142	0,330	-0,315-0,917
Derajat Pterigium	-0,157	0,276	-3,025-0,885
Jenis Pekerjaan	-0,126	0,482	-1,570-0,753

Oleh karena tingkat kemaknaan pada tiap variabel diatas 0,005, maka koefisien regresi tidak signifikan, hal ini menunjukkan tiap variabel berpengaruh tidak signifikan terhadap ekspresi p53.

## **BAB V**

### **RINGKASAN**

Pterigium adalah salah satu kondisi tersering yang ditemui di daerah dekat ekuator, terutama di daerah subtropis. Pada Pengamatan lanjut menunjukkan ekspresi vimentin sel limbal pada tepi pterigium, over ekspresi p53 supressor gen memberi kesan bahwa Ultraviolet B menginduksi mutasi pada awal pertumbuhannya dengan jalan merusak apoptosis dari sel limbal serta produksi yang berlebihan dari bermacam-macam faktor pertumbuhan. Mutasi dan over ekspresi p 53 ditemukan pada 50 % dari keganasan pada manusia seperti keloid pada kulit, pterigium dan pinguekula. Ekspresi p53 abnormal ditunjukkan pada pterigium dengan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal yang dapat mendeteksi protein p53 mutan. Tingkat kekambuhan pterigium sangat tinggi, mencapai 80 %. Untuk meningkatkan hasil pembedahan pterigium ada dua strategi yaitu pendekatan destruksi dengan penambahan radiasi dan kemoterapi serta pendekatan rekonstruksi dengan transplantasi dari bermacam-macam jaringan graft.

5 Fluorouracil (5FU) adalah obat dari kelompok antagonis pirimidin, dapat menghambat proliferasi fibroblas. Obat ini bekerja menghambat enzim sintetase thymidin dan mempengaruhi replikasi sel fase S, bekerja pada RNA. Sedangkan Mitomicin C (MMC) berasal dari *streptomices caespitosus*, bekerja menghambat proliferasi fibroblast dengan cara memblok replikasi DNA (pada proliferasi sel fase G dan S), mitosis dan sintesis protein. Obat ini 100 kali lebih poten dibandingkan 5 FU dan mempunyai efek toksik pada konsentrasi tinggi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan ekspresi p53 pada pterigium primer progresif setelah pemberian injeksi subkonjungtiva Mitomicin C dan 5 fluorouracil.

Penelitian dilakukan di Poliklinik RS DR Sardjito dan rumah sakit jejaring, didapatkan 53 subyek, di kelompokkan menjadi 2 kelompok dengan perlakuan injeksi subkonjungtiva mitomicin C atau 5 FU 1 minggu sebelum ekstirpasi. Kelompok injeksi mitomicin C berjumlah 27 sampel dan kelompok injeksi 5 FU berjumlah 26 sampel. Naracoba perempuan sebanyak 26 (49 %) dan laki-laki 27 orang (51%). Rentang usia dalam penelitian ini adalah 25 hingga 50 tahun dengan rerata  $44,57 \pm 5,88$  tahun. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada karakteristik subyek penelitian.

Pada penelitian ini diketahui rerata ekspresi p53 pada kelompok MMC adalah  $5,71 \pm 1,83$  dengan nilai minimal 0 hingga nilai maksimal 9,6 per 100 sel, sedangkan pada kelompok 5FU rerata ekspresi p53 adalah  $10,29 \pm 4,54$  dengan nilai minimal 0 dan nilai maksimal 21,6 per 100 sel, hasil ini berbeda secara bermakna ( $p=0,000$ ).

Dari hasil uji korelasi, koefisien regresi tidak signifikan pada tiap variabel usia, jenis kelamin, gradasi pterigium, lama pajanan sinar matahari, pemakaian pelindung dan jenis pekerjaan, hal ini menunjukkan tiap variabel berpengaruh tidak signifikan terhadap ekspresi p53.

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa rerata ekspresi p53 berbeda bermakna antara kelompok injeksi Mitomicin C dan 5 Fluorourasil subkonjungtiva. Agen anti kanker tersebut dapat berpengaruh terhadap ekspresi

p53. Dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan ekspresi p53 dengan tingkat kekambuhan pada pterigium.

## DAFTAR PUSTAKA

- AAO ,2008, Introduction to surgery of the ocular surface, *Basic And Clinical Science Course, External Eye Disease and Cornea*, sec 8, San Fransisco.
- Albert, B., Johnson,A., Lewis,J., Raff,M., Roberts,K., Walter,P., 2002, Molecular biology of the cell, fourth edition, Garland Science, New York.
- Al Fayez,M.,F.: Limbal vesus conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium, *Ophthalmology* 2002; 109:1752-1755
- Ang,L.P.,K, Chua,J.,L.,L, Tan,D.,T.,H. : Current concept and teqniques in pterygium treatment, *Curr Opin Ophthalmol* 2007,18:308-313
- Asfani, S., Agni, A.,N., Supartoto, A., Suhardjo. : Daya guna Triamsinolon Asetonid subkonjungtiva dibanding Mitomisin C terhadap kekambuhan pterigium primer, *Berkala Kesehatan Klinik* vol VII, No2, Juni 2002
- Assia,E. : Surgical management of pterygium. *IMAJ* 2002,4:1138-1139.
- Burrato, L., Phillips,R.,L., Carito, G.,et al, 2000, Pterygium surgery, Slack Incorporated.
- Constable, P.,H., Crowston, J.,G., Occleston, N.,L., Cordeiro, M.,F., Khaw,P.,T. : Long term growth arrest of human Tenon's fibroblasts following single applications of  $\beta$  radiation, *Br J Ophthalmol* 1998;82:448-452
- Chowers, I., Pe'er,J., Zamir,E., Livni,N., Ilsar,M., Pery, J.,F. : Proliferative activity and p53 Expression in primary and recurrent pterygia, *Ophthalmology* 2001;108:985-988.
- Donnenfeld, E.,D., Perry, H.,D, Fromer, S., Doshi, S., Solomon, R., Biser, S. : Subconjunctival Mitomycin C as adjunctive therapy before pterygium excision, *Ophthalmology* 2003;110:1012-1026.
- Dusku, N., Hatcher, S.,L.,S, Albert, D.,M, Reid,T.,W. : p 53 Expression and relation to Human Papillomavirus Infection in pingueculae, pterygia and limbal Tumors, *Arch Ophthalmol*,1999;117:1593-1599
- Inoue, T., Geyer, R.K., Zhong, K.Y., Maki, C.G. : Downregulation of MDM2 stabilizes p53 by inhibiting p53 ubiquitination in response to specific alkylating agents, *FEBS Letters* 490 (2001) 196-201.

- Ivekovic, R., Mandic, Z., Saric, D., Sonichi, Z. : Comparative study of pterygium surgery, *Ophthalmologica* 2001;215:394-397
- Jap, A., Chan, C., Lim, L., Tan, T.H. : Conjunctival rotation autograft for pterygium, *Ophthalmology* 1999;106:67-71
- Kanski, J.,J., 2003, Clinical ophthalmology a systematic approach, Elsevier Science, Philadelphia.
- Khoo, J., Saw, S., S., Banerjee, K., Chia, S., E., Tan, D., Outdorr Work and The Risk of Pterygia : a Case Control Study, *Int Ophthalmol* 22:293-298,1998.
- Lacroix, M., Toillon, R.A., Leclercq, G. : P53 and breast cancer, an update, *Endocrine-Related Cancer* (2006)13 293-325.
- Lam D., S., C., Wong, A.,K.,K, Fan, D.,S., P., Chew, S., Kwok, P.,S.,K., Tso, M.,O.,M. : Intraoperative Mitomycin C to prevent recurrence of pterygium after excision, a 30 month follow up study , *Ophthalmology* 1999;105:901-905
- Lama, P.,J., Fechtner, R., D. : Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery , *Surv Ophthalmol* 48:314-346,2003.
- Nasiri, M., R.,G, Rezaei, E, Ghafarzadegan, K, Toosi, M.,S, Malekifard. : Expression of p53 in colorectal carcinoma : correlation with clinicopathologic features, *Arch Iran Med*,Volume 10, Number 1, January 2007.
- Oguz, H., Basar, E., Gurler, B. : Intraoperative application versus post operative mitomycin C eye drops in pterygium surgery, *Acta Ophthalmol Scand* ;1999;77:147-150
- Panda, A., Das, G.,K., Tuli, S.,W., Kumar, A. : Randomized trial of intraoperative Mitomycin C in surgery for pterygium, *Am J Ophthalmol* 1998;125:59-63
- Paramita, R., Suhardjo, Gunawan,W. : Prevalensi dan faktor risiko pterigium di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta, Karya Akhir PPDS I Bagian Ilmu Penyakit Mata, 2008.

- Pelit, A., Bal, N., Akova, Y., A., Demirhan., P53 Expression in Pterygium in Two Climatic Region in Turkey, *Indian J Ophthalmol* : 2009;57:203-206
- Perra, M.,T., Maxia, C., Corbu., A, Minerba, L., Demurtas, P., Colombari, R., Murtas, D., Bravo,S., Piras,F., Sirigu, P. : Oxidative stress in pterygium : relationship between p53 and 8-hydroxydeoxyguanosine, *Molecular Vision* 2006;12:1136-42
- Pery, J.,F., Raiskup, F., Ilsar , M., Lancau, D., Orucov, F., Solomon, A. : Conjunctival autografting combined with low-dose mitomycin C for prevention of primary pterygium recurrence, *Am J Ophthalmol* 2006;141:1044-1050
- Pokroy, R., Tendler,Y., Pollack, A.,Zinder, O.,Weisinger,G. : p 53 Expression in The normal Murine eye, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, June 2002,Vol 13 No 6.
- Prabhasawat, P., Tesavibul, N., Leelapatranura, K., Phonjan T. : Efficacy of subconjunctival 5 – Fluorouracil and Triamcinolone injection in impending recurrent pterygium, *Ophthalmology* 2006; 113:1102-1109
- Reszec,J., Sulkowski, S. : The Expression of P53 protein and infection of human papilloma virus in conjunctival and eyelid neoplasms, *International J Mol Med* 16:559-564,June,2005.
- Ricci, M.S., Zong, W.X. : Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways, *The Oncologist* 2006;11:342-357.
- Saini, J., S., Jain,A., Saxena,S., 2003, Clinical practice in ophthalmology, Jaypee , New Delhi.
- Sharma, A.,K., Wali, V., Pandita, A. : Cornea-Conjunctival auto grafting in pterygium surgery, *JK Science* vol 6 no.3 July-September 2004
- Shimmura,S, Ishioka,M, Hanada,K, Shimazaki,J, Tsubota,K. : Telomerase activity and p 53 expression in pterygia, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, May 2000,Vol 11 No 6.
- Sumantri, I. : Pemberian anti metabolit pada bedah trabekulektomi, The 10 th National Congress and 29 th Annual Meeting, June 7 th-10<sup>th</sup>,2003, Yogyakarta.

- Sun, X.,X., Dai, M.,S., Lu, H. : 5-Fluorouracil activation of p53 involves an MDM2-ribosomal protein interaction, *J Biol Chem*, Jan, 22, 2007
- Sun, X., Shimizu, H., Yamamoto, K.,I. : Identification of a novel p53 promoter element involved in genotoxic stress inducible p53 gene expression, *Molecular and celular biology*,vol15, no 8,Aug,1995.
- Tan, D.,T.,H., Holland E.,J., Mannis,M.,J., , 2002, Ocular surface disease, medical and surgical management, Springer, New York.
- Tan, D.,T.,H., Lee, S.,B., Abano, J.,M., 2005, Clinical ophthalmology , An Asian perspective, Elsevier, Singapore.
- Threlfall, T., J., English, D., R., Sun Exposure and Pterygium of The Eye : A Dose – Response Curve, *Am J Ophthalmol* 1999; 128:280-287
- Tsai, Y.Y., Cheng, Y.W., Lee, H., Tsai, F.J., Tseng, S.H., Chang, K.C., P 53 Gene Mutation Spectrum and The Relationship between Gene Mutation and Protein Levels in Pterygium, *Mol Vis* 2005;11:50-5
- Varsanno, D., Cohen, A.,M., Loewenstein, A. : Excision of pterygium and conjunctival autograft, *IMAJ* 2002;4:1097-1100
- Wong, T.,Y., Foster, P.,J., Johnson,G., J., Seah, S.,K.,L, Tan, D.,T.,H. : The prevalence and risk factor for pterygium in an adult chinese population in Singapore : The Tanjong Pagar survey, *Am J Ophthalmol* 2001;131:176-183

# LAMPIRAN

## LEMBAR PERSETUJUAN PENDERITA

Angka prevalensi pterigium pada negara tropis dan sub tropis masih tinggi. Di Yogyakarta angka prevalensi sebesar 11,8 %, dan pada populasi diatas 40 tahun angka prevalensi 17,2 %, dengan tingkat kekambuhan pterigium sangat tinggi, mencapai 80 %. Oleh karena itu pembedahan pterigium ditujukan untuk kasus seperti pterigium yang menutupi aksis visual sehingga menimbulkan astigmatisme karena tarikan kornea serta iritasi yang berat, kongesti, nyeri dan berair.

Untuk meningkatkan hasil pembedahan pterigium ada dua strategi yaitu pendekatan dengan penambahan radiasi dan kemoterapi dengan suatu bahan tertentu serta pendekatan rekonstruksi dengan transplantasi dari bermacam-macam jaringan graft.

Pada penelitian terdahulu , pemberian 5 Fluorouracil subkonjungtiva pada pterigium kambuhan lebih efektif dalam mencegah angka kekambuhan dibanding dengan kontrol pada rata-rata follow up 6-26 bulan. Pemberian mitomicin C subkonjungtiva sebelum operasi pterigium efektif juga dalam menurunkan angka kekambuhan dengan komplikasi minimal seperti nrocos, fotofobia, rasa tidak enak atau rasa sakit pada mata dan iritasi ringan.

Pada penelitian ini akan diuji ekspresi p53, suatu tumor supresor gene setelah penyuntikan Mitomicin C dan 5 Fluorouracil pada pterigium primer dengan metode merest sklera. Dalam pemeriksaan ini akan dilakukan anamnesis dan pemeriksaan penunjang lain serta evaluasi pada hari + 1, H+5, dan H+28

Apabila Bapak/Ibu/Saudara telah memahami uraian tersebut diatas serta menyetujui mengikuti penelitian ini, kami akan sangat berterima kasih atas kerjasamanya.

# SURAT PERSETUJUAN PENDERITA

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin : Laki-laki / Perempuan

Alamat/no hp :

Setelah mendapat penjelasan mengenai tujuan, manfaat dan hal-hal yang mungkin terjadi selama penelitian, maka saya menyatakan dengan sesungguhnya bersedia mengikuti pemeriksaan dan pembedahan serta pengobatan yang berhubungan dengan penyakit saya ini. Saya juga akan mematuhi peraturan yang berlaku agar penelitian ini dapat berjalan lancar.

Apabila terjadi efek samping yang tidak diinginkan akibat penggunaan suntikan yang diberikan, peneliti akan memberikan pelayanan medis yang memadai.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk diketahui.

Mengetahui,

Peneliti

Yogyakarta,

Relawan,

( )

( )

<b>I. IDENTITAS PASIEN</b>		
No :		
Nama :		
Jenis Kelamin :		
Usia :		
Alamat/ no hp :		
Dusun/desa		
Dukuh :		
Pekerjaan :		

Metode : MMC + merest sclera / 5 FU + merest sclera

## **II. ANAMNESIS**

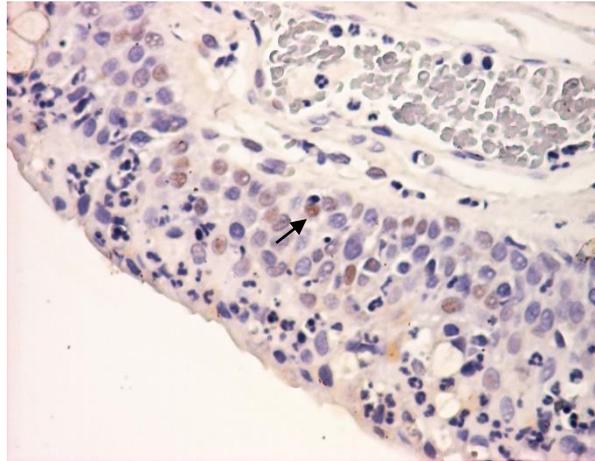
- Keluhan Utama :
- Lama Paparan sinar matahari : (pilih salah satu)  
 < 2 jam / hari 2-4 jam/hari  
 6-8 jam/hari 6-8 jam/hari 8 jam / hari
- Penggunaan pelindung :  
 Topi : ya/tidak  
 Kacamata : ya / tidak  
 Helm : ya / tidak
- Kebiasaan merokok : batang/hari
- Menggunakan obat : Jenis obat :  
 Lama pemakaian :
  - Riwayat pemakaian steroid :
  - Riwayat alergi :

### PEMERIKSAAN FISIK

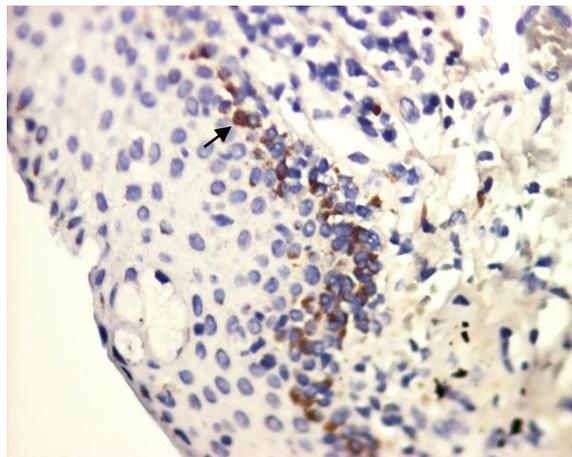
H – 7 (saat penyuntikan)	H +0 (saat operasi)	H+ (follow up selanjutnya)...
Ukuran : alas x tinggi	Ukuran	Ukuran
Grade	Grade	Grade
Visus	Visus	Visus
Palpebra	Palpebra	Palpebra
Konjungtiva	Konjungtiva	Konjungtiva
Kornea	Kornea	Kornea
COA	COA	COA
I/P	I/P	I/P
Lensa	Lensa	Lensa
Fm	Fm	Fm
Papil	Papil	Papil
Macula	Macula	Macula
Retina	Retina	Retina
TIO	TIO	TIO
MBO	MBO	MBO

**HASIL PENELITIAN EKSPRESI P 53 PADA PTERIGYUM  
SETELAH INJEKSI 5 FU DAN MITOMICIN C**

No Sampel	KELOMPOK MITOMICIN C (positif per 100 sel dalam 5 lapang pandang)	KELOMPOK 5FU
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		



Gambar 2. Ekspresi P53 pada pterigium yang disuntik Mitomicin C subkonjungtiva, perbesaran 400x. Tampak sel positif berwarna coklat pada inti sel epitel konjungtiva (tanda panah hitam).



Gambar 3. Ekspresi P53 pada pterigium yang disuntik 5 Fluorourasil subkonjungtiva, perbesaran 400x. Tampak sel positif berwarna coklat pada inti sel epitel konjungtiva (tanda panah hitam).