

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Keratitis merupakan peradangan kornea dari berbagai penyebab dan manifestasi klinis, karena gangguan mekanisme pertahanan yang disebabkan oleh cedera atau defek epitel kecil, berbagai jenis patogen atau pengaruh lingkungan dapat menyebabkan peradangan kornea. Keratitis dibagi menjadi dua, yaitu keratitis infeksi dan non infeksi (Salmon, 2020). Keratitis infeksi disebabkan karena infeksi bakteri, virus, jamur, atau protozoa (Srinivasan, 2012). Keratitis bakteri biasanya berkembang jika mekanisme pertahanan mata mengalami gangguan. Mikroba penyebab tersering antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptokokus Pyogenes*. (Salmon, 2020; Lap-Ki Ng et al, 2015). Interaksi yang kompleks antara bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan inang, bakteri ini memiliki kemampuan khas yaitu memicu respon imun yang hebat dan menyebabkan kerusakan jaringan lokal. Fibrosis dapat terbentuk dan menyebabkan kehilangan penglihatan, serta pada kasus yang berat dapat menyebabkan perforasi kornea atau menyebar ke jaringan sekitarnya (Alicia Eby M. dan Linda Hazlett D., 2016). *Pseudomonas aeruginosa* dapat meningkatkan ekspresi caspase-1, TNF, caspase-3 ketika menurunkan ekspresi reseptor *interacting protein kinase 3*, yang merupakan biomarker kunci dalam mekanisme kematian sel epitel kornea (Ismi Zuhria, Nurwasis, Eddy Bagus Wasito, Winarto, I Ketut Sudiana, Reny I'tishom, 2021).

Kekeruhan kornea adalah penyebab kebutaan kelima di dunia, dengan prevalensi sebesar 3,2% pada kasus yang dilaporkan. Organisasi WHO melaporkan bahwa 6 juta populasi dunia yang mengalami kebutaan disebabkan karena penyakit kornea (Flaxman et al, 2017). Diantara semua etiologi seperti infeksi, trauma, peradangan, degenerasi, dan kekurangan gizi, kasus keratitis infeksi merupakan penyebab utama kebutaan kornea di negara maju dan negara berkembang, dengan perkiraan kasus sebesar 2,5-799 per 100.000 penduduk per tahun. Pada studi di India, dilaporkan 57,52% kasus kekeruhan kornea disebabkan karena keratitis infeksi dengan lokasi kekeruhan kornea tersering di area sentral sebesar 49,35% dan sikatrik kornea berupa nebula sebesar 42,85% (Nimmy Raj, Noopur Gupta, Deepak Kumar, Praveen Vashist, 2021). Pada studi lain di India melaporkan kasus kekeruhan kornea sebesar 76,18%, diantaranya memiliki sikatrik kornea, dengan kasus sikatrik kornea yang dilaporkan adalah nebula kornea (20,1%), makula kornea (46,1%), dan leukoma (28,4%), dan leukoma adheren (5,4%) (Ritika Mukhija, Noopur Gupta, Praveen Vashist, Radhika Tandon, 2020). Menurut data info datin tahun 2014, kebutaan yang disebabkan oleh kekeruhan kornea merupakan penyebab keempat kebutaan di Indonesia (Kementrian Kesehatan, 2015). Pada studi yang dilakukan di Indonesia, yang dilaporkan di RS Cipto Mangunkusumo Jakarta periode 2008 - 2011 oleh Asroruddin *et al* ditemukan penyebab terbanyak keratitis infeksius karena bakteri pada hasil kultur mikroba adalah bakteri *Psuedomonas spp* sebesar 25% (Asroruddin et al., 2015). Pada studi lain di India dilaporkan sebesar 68,71% kasus kekeruhan kornea disebabkan oleh

keratitis *Pseudomonas aeruginosa* yang membutuhkan tindakan keratoplasti (Vazirani et al., 2015).

Tujuan perawatan medis keratitis adalah untuk mengobati infeksi dan mencegah komplikasi seperti perforasi kornea, kemudian membantu proses reepitelisasi dengan manajemen awal pengobatan menggunakan terapi medikamentosa, dan jika tidak responsif maka dilanjutkan dengan intervensi bedah. Beberapa pilihan terapi pembedahan sudah tersedia, dan untuk pemilihannya tergantung pada etiologi dan parameter keratitis, yaitu ukuran, kedalaman, dan lokasi. Salah satu pilihan terapi pembedahan yang digunakan adalah transplantasi membran amnion yang digunakan pada kasus keratitis dengan komplikasi *descemetocoele* (Mehmet et al, 2016; Stamate Alina-Cristina, Tătaru Călin Petru, 2019). Transplantasi membran amnion adalah biomaterial yang sering digunakan pada kasus keratitis. Transplantasi membran amnion pada kasus *descemetocoele* dapat memberikan efek tektonik sehingga tidak terjadi perforasi kornea, dan ketika membran amnion digunakan sebagai *graft* untuk mempromosikan epitelisasi kornea. Membran amnion memiliki kelemahan yaitu adanya resiko transmisi penyakit, warnanya yang kurang transparan, kualitasnya yang dapat bervariasi dan kekuatan mekanisnya yang lemah (Drechsler et al., 2017; Can et al., 2016).

Platelet-rich fibrin banyak mengandung trombosit sehingga memiliki keunggulan dibandingkan *Platelet-rich plasma* (PRP), dapat membantu dalam proses hemostasis, migrasi sel, dan proliferasi untuk penyembuhan luka (Prabawati et al., 2022). Membran *Platelet-rich fibrin* (PRF) adalah generasi kedua konsentrat platelet

yang dikembangkan pertama kali oleh Choukroun *et al* dari Perancis yang digunakan di bidang oral dan maksilofasial. Membran PRF banyak mengandung matriks protein serta faktor pertumbuhan yang penting dalam membantu proses penyembuhan luka seperti *platelet-derived growth factors* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *transforming growth factor* (TGF- β) yang dilepaskan bertahap selama 7 hingga 28 hari (Dohan *et al.*, 2006; Ghanaati *et al.*, 2014; Miron *et al.*, 2017). *Platelet-rich fibrin* (PRF) dimana polimerisasinya terjadi dengan perlahan, alami dan menghadirkan thrombin secara fisiologis dan progresif sehingga dapat mengendalikan pelepasan *growth factor* dan menjatuhnya dalam jaringan fibrin selama beberapa waktu tertentu sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Khiste and Tari, 2013; Eslani *et al.*, 2014; Steinhoff, 2016). Matriks fibrin yang merupakan gabungan dari trombosit terkonsentrasi, *growth factor*, sitokin, circulating stem cell, dan sedikit leukosit akan memiliki peran kemotaktik dalam penyembuhan luka. Selain itu, membran PRF juga memberikan fungsi mekanis sebagai kerangka tempat proliferasi, diferensiasi dan migrasi sel yang penting untuk regenerasi jaringan. Kombinasi fungsi mekanis dan kemotaktik dari membran PRF membuatnya cocok sebagai biomaterial *autologous* untuk rekonstruksi, perbaikan, dan pemeliharaan permukaan okuli (Mehmet *et al*, 2016; Ghanaati *et al.*, 2014; Miron *et al.*, 2017). Alio *et al* menjelaskan penggunaan membrane PRF sebagai alternatif untuk pasien perforasi kornea belum digunakan untuk perbaikan kornea hingga sekarang, karena pencangkakan membran PRF membutuhkan proses yang kompleks dan mahal (Mehmet *et al*, 2016; Jorge L Alio, Alejandra E Rodriguez, Lorena M Martinez, 2013).

Pencangkakan membran PRF pada descemetocoele adalah teknik bedah baru, tampak aman dan efektif, yang menjaga integritas anatomi mata. Di sampingnya arsitektur fibrin 3-D autologus, pelepasan berkepanjangan faktor pertumbuhan yang penting untuk regenerasi jaringan, penggabungan dengan kornea sehat di sekitarnya, dan induksi sintesis lamela kolagen baru adalah keuntungan utama dari membran PRF. Selain itu juga dapat mengoptimalkan penyembuhan luka, membran PRF dapat mencegah pembentukan fibrosis dengan cara memodifikasi ekspresi TGF- β dan menekan ekspresi berlebihan. Hal tersebut sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Intriago di tahun 2017 yang meneliti pengaruh membran PRF pada sel gingiva manusia secara *in vitro*. Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa membran PRF mendorong fase awal penyembuhan luka. Namun, juga mencegah pembentukan fibrosis melalui supresi diferensiasi fibroblas menjadi myofibroblas (Mehmet *et al*, 2016; Can *et al.*, 2016; Intriago, 2017). Fibrosis terbentuk oleh karena deposisi berlebih dan abnormal komponen matriks ekstraseluler. TGF- β adalah kunci utama proses fibrosis dalam penyembuhan luka, berperan dalam stimulasi migrasi fibroblas yang berfungsi mensintesis matriks ekstraseluler. Matriks ekstraseluler tersusun dari kolagen (komponen terbanyak), myofibroblas yang berperan dalam penutupan luka dan protein lainnya. Myofibroblas mengandung aparatus *smooth muscle cell*, α - *smooth muscle actin* (α -SMA) dan dapat diidentifikasi melalui pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi α -SMA. Myofibroblas telah terdeteksi pada kontraktur luka di kulit, kornea dan konjungtiva. Aktivasi jangka panjang fibroblas pada organ yang terkena mengakibatkan deposisi matriks ekstraseluler berlebih dan kolagen dan myofibroblas

yang berlebih pula. Memodulasi aktivitas fibroblas, terutama pada fase proliferasi, menjadi mekanisme penting untuk mengontrol hasil akhir penyembuhan luka (Verrechia & Mauviel, 2007; Can *et al.*, 2016; Zada *et al.*, 2017).

Studi eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui efek membran PRF dalam penyembuhan luka kornea karena keratitis, terutama pada myofibroblas yang terekspresi oleh antibodi α -SMA intraseluler dan aktivitas TGF- β .

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat penurunan ekspresi α -SMA pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF?
2. Apakah terdapat penurunan ekspresi TGF- β pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian membran PRF terhadap ekspresi α -SMA dan TGF- β pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis penurunan ekspresi α -SMA pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF.
2. Menganalisis penurunan ekspresi TGF- β pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Memberikan fakta dan informasi ilmiah tentang pengaruh membran PRF terhadap ekspresi α -SMA dan TGF- β pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Memberikan informasi data ilmiah mengenai membran PRF sebagai biomaterial untuk rekonstruksi permukaan okuli.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian akan menjelaskan pengaruh pemberian membran PRF terhadap peningkatan ekspresi α -SMA dan TGF- β pada kornea dan dapat digunakan sebagai dasar untuk penggunaan membran PRF sebagai salah satu alternatif biomaterial untuk rekonstruksi permukaan okuli, terutama kornea. Selain itu, dapat meningkatkan dikembangkannya penelitian lanjutan mengenai membran PRF pada kasus keratitis bakterial untuk membantu proses penyembuhan.