

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Vaginal laxity merupakan salah satu gejala dari disfungsi dasar panggul pada perempuan, terutama terjadi pasca persalinan dan meningkat seiring bertambahnya usia. Dampak yang sering terjadi adalah berkurangnya rasa percaya diri, rasa ketidakmampuan menyenangkan pasangan mereka, sensasi yang hilang dan kepuasan seksual menurun (Dietz *et al.*, 2018, Campbell *et al.*, 2018). Salah satu terapi pada *vaginal laxity* adalah menggunakan laser fraksional *Erbium: Yttrium Aluminium Garnet* (Er:YAG) dengan panjang gelombang 2.940 nm, dimana hasil terapi yang didapat beragam, sebagian besar puas, tetapi ada yang kepuasan ringan atau bahkan ada yang tidak puas (Gaviria, 2012, Lee, 2014, Listiawan and Setyaningrum, 2017), sehingga dengan penambahan topikal produk metabolit *amniotic membrane stem cell* (PM-AMSC) pada terapi laser fraksional Er:YAG pada *vaginal laxity* diharapkan hasilnya menjadi lebih baik.

Sebuah penelitian dari perhimpunan dokter uroginekologi internasional (*International Urogynecological Association/IUGA*) dengan distribusi geografis dari responden adalah Eropa (39%), Amerika Utara (23%), Asia (15%), Amerika Selatan (14%), Australia (6%), dan Afrika (3%), didapatkan 83% dari 563 responden melaporkan terjadi keluhan *vaginal laxity* dari pasiennya dan sebagian besar (95%) mengatakan bahwa hal tersebut sebagai kondisi yang mengganggu yang mempengaruhi fungsi dan hubungan seksual (Pauls *et al.*, 2012). *Vaginal laxity* dilaporkan oleh 38% wanita terkait pasca persalinan, gejala prolaps,

inkontinensia urin stres, kandung kemih yang *over* aktif, berkurangnya sensasi vagina dan kehidupan seksual yang lebih memburuk (Campbell *et al.*, 2018).

Ada berbagai macam terapi untuk *vaginal laxity*, termasuk prosedur bedah invasif, terapi perilaku/kebiasaan, terapi hormon, dan farmakoterapi dengan krim atau semprotan pengencangan (Karcher and Sadick, 2016). Meskipun terapi perilaku dan farmakoterapi aman dan tidak invasif, efeknya biasanya minimal. Prosedur bedah dapat berisiko, tetapi tingkat kepuasan hasilnya lebih tinggi. Terapi bedah memerlukan pemotongan vagina dan jaringan di sekitarnya untuk mengurangi ukuran saluran vagina, proses ini sangat berisiko dan dapat menyebabkan jaringan parut vagina, kerusakan saraf, dan penurunan fungsi sensorik. Prosedur pembedahan tidak bebas risiko, rasa nyeri yang lebih tinggi dan periode pemulihan yang lebih lama (Dobbeleir *et al.*, 2011). Hal ini mendorong banyak penelitian untuk mencari prosedur invasif minimal yang aman, efektif, dan memiliki periode pemulihan singkat untuk terapi *vaginal laxity* (Lee, 2014, Gold *et al.*, 2018).

Perangkat berbasis energi untuk peremajaan vagina dapat menggunakan laser karbon dioksida (CO₂) 10.600 nm atau laser Er:YAG dan perangkat radiofrekuensi (RF). Kedua perangkat ini (laser dan RF) bertujuan untuk menginduksi neokolagenesis dan vaskularisasi sehingga dapat mengembalikan elastisitas dan kelembaban mukosa vagina. Terapi menggunakan laser fraksional ablatif didasarkan pada cara kerjanya yaitu fototermolisis dimana terdapat area nekrosis mikroskopis dalam jaringan, yang akan meninduksi penyembuhan luka dengan pembentukan kolagen baru dan serat elastin (Gold *et al.*, 2018).

Laser Er:YAG memiliki koefisien penyerapan air lebih tinggi dibanding laser CO₂, dan kedalaman penetrasi laser Er:YAG tidak sedalam laser CO₂, sehingga laser Er:YAG mengablasi lebih presisi dengan kerusakan termal yang minimal pada jaringan sekitarnya (Alexiades-Armenakas *et al.*, 2012). Penggunaan laser fraksional Er:YAG ini sesuai untuk mukosa vagina, karena kedalaman penetrasinya sesuai, tidak terlalu dalam, dengan demikian waktu penyembuhan akan lebih cepat dan hampir tidak ada efek samping yang terjadi.

Penelitian pada 103 pasien dengan keluhan *vaginal laxity*, usia 20-74 tahun (rata-rata 39 tahun), jumlah anak 0-5 (rata-rata 1,5), yang diterapi dengan laser Er:YAG 1-4 sesi, interval 15-30 hari, dilakukan evaluasi hasil terapi menggunakan kuesioner, didapatkan 58% pasien mengatakan sangat puas dengan hasil terapi, 31% kepuasan sedang, 11% kepuasan rendah dan 1 orang mengatakan tidak puas (Gaviria *et al.*, 2016). Suatu penelitian eksperimental menunjukkan bahwa *heat shock proteins* (HSP)-70 diekspresikan berlebih setelah iradiasi laser, juga ekspresi *transforming growth factor*/TGF- β , yang merupakan elemen penting dalam respon inflamasi dalam proses fibrogenik. Dalam proses tersebut fibroblas akan menghasilkan kolagen dan matriks ekstraseluler (Capon and Mordon, 2003).

Perubahan histologis yang diamati setelah resurfasi kulit ablatif dengan laser CO₂ atau laser Er:YAG meliputi neokolagenesis 4-6 minggu pasca perawatan. Reaksi rantai *reverse-transcriptase polymerase* dan evaluasi imunohistokimia dari kulit wajah 28 pasien setelah resurfasi ulang yang ditimbulkan laser CO₂ menunjukkan peningkatan regulasi prokolagen I dan III, *interleukin* (IL)1- β , *tumor nekrosis factor* (TNF)- α , TGF- β 1, *matrix metalloproteinase* (MMP) (Alexiades-Armenakas *et al.*, 2008, Tadir *et al.*, 2017). *Matrix metalloproteinase* termasuk

kolagenase (MMP-1 dan MMP-3) dan *gelatinase* (MMP-9) akan meningkat setelah terapi resurfasi laser CO₂ (Freedman *et al.*, 2014).

Terapi berbasis *stem cell* (sel punca) telah banyak digunakan di berbagai bidang medis. Baru-baru ini terdapat kemajuan ilmiah yang luar biasa dengan berfokus pada penelitian (dasar, praklinis dan klinis) dan telah banyak bukti mendukung peran terapi sel punca amnion dalam rekayasa jaringan kulit dan penyembuhan luka kulit (Farhadhosseinabadi *et al.*, 2018). *Amniotic membrane stem cell* (AMSC) diperoleh dari plasenta yang dibuang setelah proses persalinan. Membran amniotik memiliki kemampuan diferensiasi dan imunitas yang rendah (hipoalergenik) (Skardal *et al.*, 2012).

Eksosom adalah salah satu produk sekretori utama *mesenchymal stem cell* (MSC), menyerupai efek MSC, dapat memindahkan berbagai protein efektor, DNA, *small interfering RNA* (siRNA), *messenger RNA* (mRNA) dan *microRNA* (miRNA) untuk memodulasi aktivitas *recipient cells*, memainkan peran penting dalam penyembuhan luka. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa MSC-*derived conditioned medium* dapat meningkatkan regenerasi kulit. Eksosom MSC memiliki keuntungan: 1) memberikan efek biologis yang kuat karena dapat langsung menyatu dengan sel target, 2) dapat disimpan dan dipindahkan pada derajat yang rendah dan waktu yang lama, 3) konsentrasi, dosis, rute dan penggunaannya mudah, 4) tidak ada resiko penolakan imun dan tumorigenesis yang ditimbulkan. Eksosom MSC dapat mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan termasuk *signal transducer* dan *activator of transcription 3* (STAT3), AKT (*protein kinase B*), Wnt/ β -*catenin*, and *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) pada target sel yang memegang peranan penting pada proses penyembuhan luka.

Aktivasi jalur pensinyalan ini dapat meningkatkan ekspresi beberapa *growth factor* yang dapat mendorong angiogenesis, migrasi sel, proliferasi dan reepitelisasi (Zhu *et al.*, 2020, Ha *et al.*, 2020).

Pada proses kultur, AMSC akan memproduksi PM-AMSC yang mengandung sitokin dan *growth factor*. Sitosin yang disekresi AMSC yaitu sitosin anti inflamasi seperti *prostaglandin E2* (PGE2), *indoleamine 2,3 dioxygenase* (IDO), HGF dan TGF- β . AMSC juga mendorong angiogenesis melalui sekresi beberapa faktor angiogenik seperti *angiogenin*, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *platelet-derived growth factor* (PDGF). Angiogenesis sangat penting pada perbaikan luka kulit. Fungsi *growth factor* pada penyembuhan luka, peremajaan kulit telah terbukti dan banyak diteliti (Skardal *et al.*, 2012, Farhadihosseinabadi *et al.*, 2018, Kang *et al.*, 2012). PM-AMSC mengandung hormon pertumbuhan yang berfungsi sebagai anti penuaan termasuk TGF- β , *epidermal growth factor* (EGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan *keratinocytes growth factor* (KGF). TGF- β bertindak sebagai *growth factor* multifungsi yang memiliki peran penting dalam memodulasi perilaku sel dalam jaringan (Sari *et al.*, 2020, Rashedul Islam *et al.*, 2015).

Mekanisme MSC pada penyembuhan luka dapat terkait pada 3 fase penyembuhan luka, dimana pada fase inflamasi MSC berperan pada regulasi inflamasi, supresi TNF, produksi IL-10, IL-4, menghambat proliferasi sel T, pada fase proliferasi peran MSC adalah produksi VEGF, HGF dan PDGF, pengerahan keratinosit, fibroblas dermal, dan *host* sel punca, sedangkan pada fase *remodeling* MSC berperan dalam produksi TGF- β , KGF, regulasi MMP/TIMP dan regulasi deposisi kolagen (Maxson *et al.*, 2012).

Terapi PM-AMSC setelah tindakan laser fraksional ablatif telah dilakukan untuk terapi peremajaan kulit, laser fraksional ablatif digunakan sebagai *laser-assisted drug delivery* (LADD). Penggunaan laser sebelum terapi topikal dapat meningkatkan permeabilitas dan penetrasi obat topikal dan molekul lain lebih dalam (Waibel *et al.*, 2016). Molekul hidrofilik lebih besar dari 500 Da sukar penetrasi melalui *stratum corneum*. Kebanyakan *growth factor* berat molekulnya lebih dari 20 kDa, sehingga tidak bisa penetrasi ke epidermis dalam jumlah yang dapat diukur untuk menghasilkan efek farmakologis (Lee *et al.*, 2014). Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan laser fraksional Er:YAG yang dapat membantu topikal PM-AMSC untuk dapat penetrasi ke dalam mukosa vagina.

Untuk menganalisis otot dasar panggul, model hewan yang paling sering digunakan adalah tikus, karena pengorganisasian otot dasar panggul pada tikus mirip dengan yang ada pada manusia. Ada data yang melaporkan peningkatan panjang serat otot untuk otot dasar panggul tikus selama kehamilan. Peningkatan panjang serat otot dijelaskan oleh peningkatan jumlah sarkomer secara seri (Alperin *et al.*, 2015). Peningkatan distensibilitas vagina pada periode akhir pasca persalinan yang diukur secara biomekanik dan *invivo*, merupakan perubahan perilaku biomekanik secara terus menerus yang berhubungan dengan kehamilan dan persalinan pervagina (Alperin *et al.*, 2010).

Ringkasan latar belakang penelitian ini adalah penelitian penggunaan laser untuk terapi *vaginal laxity* sebenarnya telah banyak dilaporkan, tetapi kebanyakan penelitian yang ada secara subyektif dengan menggunakan data kuesioner. Penelitian yang lebih obyektif dengan pemeriksaan biopsi vagina dan pemeriksaan imunohistokimia masih jarang dilakukan. *Vaginal laxity* banyak dikeluhkan oleh

perempuan pasca persalinan pervagina. Akhir-akhir ini mulai banyak penggunaan laser pengencangan vagina, sedangkan bukti ilmiah yang lebih dalam dari penggunaan laser pengencangan vagina ini masih kurang. Terapi PM-AMSC untuk peremajaan di kulit telah banyak dilakukan dan hasilnya baik. Penggunaan kombinasi laser fraksional Er:YAG dan PM-AMSC di sini oleh karena laser fraksional Er:YAG juga dapat sebagai LADD yang dapat membantu penetrasi PM-AMSC masuk dalam mukosa vagina. Terapi tunggal laser fraksional Er:YAG pada *vaginal laxity* dari data masih didapatkan hasil yang kurang memuaskan, sehingga dengan menambah PM-AMSC pada terapi laser fraksional Er:YAG pada *vaginal laxity* diharapkan akan memperoleh hasil yang lebih baik. Terapi kombinasi laser fraksional Er:YAG dan PM-AMSC pada *vaginal laxity* belum pernah dilakukan. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus model *vaginal laxity* karena pengorganisasian otot dasar panggul tikus mirip pada manusia, selain itu pada penelitian ini diperlukan biopsi vagina untuk pemeriksaan imunohistokimia, jika dilakukan pada manusia akan terkendala dalam masalah etik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekspresi HSP-70 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
2. Apakah ekspresi IL-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?

3. Apakah ekspresi TGF- β pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
4. Apakah ekspresi VEGF pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
5. Apakah ekspresi kolagen I pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
6. Apakah ekspresi elastin pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
7. Apakah ekspresi TIMP-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
8. Apakah aktivitas MMP-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih rendah dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
9. Apakah ketebalan mukosa pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tebal dibanding laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC?
10. Apakah ada hubungan antara peningkatan ekspresi HSP-70, IL-1, TGF- β , VEGF, kolagen I, elastin, TIMP-1 dan penurunan aktivitas MMP-1

dengan ketebalan mukosa vagina pada *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan adanya perbaikan *vaginal laxity* melalui ekspresi HSP-70, IL-1, TGF- β , VEGF, kolagen I, elastin, TIMP-1, aktivitas MMP-1, dan ketebalan mukosa vagina pada terapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC pada tikus model *vaginal laxity*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan ekspresi HSP-70 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
2. Membuktikan ekspresi IL-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
3. Membuktikan ekspresi TGF- β pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
4. Membuktikan ekspresi VEGF pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC

5. Membuktikan ekspresi Kolagen I pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
6. Membuktikan ekspresi elastin pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
7. Membuktikan ekspresi TIMP-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tinggi dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
8. Membuktikan aktivitas MMP-1 pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih rendah dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
9. Membuktikan ketebalan mukosa vagina pada tikus model *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC lebih tebal dibandingkan laser fraksional Er:YAG tanpa PM-AMSC
10. Menganalisis hubungan antara peningkatan ekspresi HSP-70, IL-1, TGF- β , VEGF, kolagen I, elastin, TIMP-1 dan penurunan aktivitas MMP-1 dengan ketebalan mukosa vagina pada *vaginal laxity* yang diterapi laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan kontribusi ilmiah mengenai mekanisme perbaikan *vaginal laxity* dengan terapi laser fraksional Er:YAG dengan kombinasi PM-AMSC
2. Sebagai dasar pengembangan ilmu terhadap penggunaan laser fraksional Er:YAG kombinasi PM-AMSC pada terapi *vaginal laxity*

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Menjadi dasar penggunaan terapi sel punca PM-AMSC dan laser fraksional Er:YAG pada *vaginal laxity*
2. Menjadi alternatif perbaikan pengelolaan *vaginal laxity*