

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Keratitis yang disebabkan oleh bakteri merupakan kasus yang banyak terjadi. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk mikroorganisme tersering yang menjadi penyebab terjadinya keratitis. Proses infeksi akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berkembang sangat cepat, dimulai dari keratokonjungtivitis hingga dapat berkembang menjadi infeksi intra-okular (endofthalmitis) dan perforasi kornea sehingga mengakibatkan hilangnya penglihatan permanen selain itu, exotoksin S, T dan U yang dihasilkan *P.aeruginosa* dengan *type III secretion system* juga dapat menyebabkan nekrosis jaringan (Eby M and Hazlett D, 2015). Meskipun pemberian terapi antibiotik dengan cepat dapat membunuh bakteri, namun kerusakan pada kornea tetap akan berlanjut karena exotoksin yang dihasilkan bakteri tersebut memicu respon inflamasi yang terus berjalan. Terbentuknya jaringan parut dan neovaskularisasi pada kornea adalah komplikasi kronis yang dapat terjadi, dimana hal tersebut akan menyebabkan gangguan penglihatan berat bagi penderitanya (O'Callaghan *et al.*, 2019).

Neovaskularisasi kornea merupakan suatu kondisi klinis mengancam penglihatan yang umumnya berhubungan dengan penyakit inflamasi atau infeksi pada permukaan mata. Dalam berbagai penelitian mengenai patofisiologi pada kornea dijelaskan bahwa terdapat keseimbangan antara faktor angiogenik

(seperti *fibroblast growth factor*-FGF dan *vascular endothelial growth factor*-VEGF) serta molekul anti-angiogenik (seperti angiostatin, endostatin atau *pigment epithelial derived factor*-PEDF) pada kornea. Pada gangguan penyakit inflamasi, infeksi, degeneratif atau trauma yang mengakibatkan neovaskularisasi kornea, ditemukan terdapat ketidak-seimbangan faktor angiogenesis. Kondisi ini menyebabkan pembuluh darah yang menginvasi kornea dari kapiler dan vena perikornea menutupi visual axis, sehingga menghambat cahaya masuk pupil dan akhirnya menurunkan tajam penglihatan. Neovaskularisasi dan penyakit infeksi kornea menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat. Diperkirakan 1,4 juta pasien gangguan penglihatan di US memiliki resiko berkembang menjadi neovaskularisasi kornea; 4% dari populasi US sudah mengalami neovaskularisasi kornea dan 20% spesimen kornea yang didapat selama transplantasi kornea menunjukkan bukti histopatologi adanya neovaskularisasi (Chang *et al.*, 2001). Pada laporan WHO 2019, setiap tahunnya terdapat 1,5-2 juta kasus baru kebutaan akibat kekeruhan dan neovaskularisasi kornea yang berhubungan dengan infeksi (World Health Organization, 2019). Di Indonesia, melalui survey RAAB (*Rapid Assesment of Avoidable Blindness*) tahun 2014-2016 didapatkan kekeruhan kornea non-trakomatous sebanyak 4,3% dari total kasus kebutaan (Rif'Ati *et al.*, 2021). Sedangkan mengenai patogen terbanyak penyebab keratitis infeksius di berbagai negara memiliki kemiripan yaitu oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana pada laporan di US sebanyak 21% dan di Indonesia 24,7% dari seluruh kasus keratitis infeksius yang dapat terisolasi

pada pemeriksaan kultur mikrobiologi (Asroruddin *et al.*, 2015; Hsu *et al.*, 2019).

VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) merupakan sekresi peptide *growth factor* yang berperan penting sebagai regulator proses angiogenesis. Pada kornea VEGF menopang beberapa tahap dari angiogenesis diantaranya aktivitas proteolitik, proliferasi sel vascular endotel, migrasi dan pembentukan lumen kapiler. VEGF juga meningkatkan kebocoran vascular dan mendorong kemotaksis monosit dan produksi sel B yang menandakan peran penting VEGF pada inflamasi. Secara fenotip, aktivitas angiogenesis pada kornea dapat terlihat sebagai neovaskularisasi, dimana kondisi tersebut dapat menurunkan fungsi visual karena kekeruhan media refraksi pada kornea. Sedangkan *Pigment epithelium-derived factor* (PEDF) adalah turunan dari supergen serine protease inhibitor, suatu protein multifungsi sebagai antiangiogenik, antioxidative, neuroprotective dan neurotrophic. PEDF merupakan agen yang menjanjikan sebagai terapi penyakit neovascular pada mata. Ekspresi protein PEDF pada mata ditemukan pada sel epitel kornea, sel endotel kornea, sel epitel lensa, sel epitel siliar, lapisan sel ganglion dan sel epitel pigmen retina. PEDF dapat menekan kerja VEGF sehingga harapannya secara klinis peningkatan zat ini mampu mencegah neovaskularisasi kornea (Xi, 2020).

Pengobatan yang ada saat ini diutamakan hanya untuk menangani penyebab keratitis *Pseudomonas* sedangkan penanganan untuk regenerasi jaringan yang diakibatkan keratitis bakterial masih minimal. Pilihan terapi meliputi pemberian obat anti inflamasi, transplantasi kornea dan transplantasi

sel punca tetapi pengobatan tersebut memiliki batasan klinis tertentu. Obat anti inflamasi tidak cukup untuk menekan angiogenesis, konjungtivalisasi dan jaringan parut pada kornea. Transplantasi kornea tetap merupakan metode terbaik dan efektif untuk rehabilitasi visual saat penyakit berimbas pada kejernihan kornea. Meskipun transplantasi kornea adalah transplantasi organ yang paling sukses, tetapi rejeksi imunitas masih menjadi penyebab utama kegagalan *graft*. Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan adanya pengaruh anti-VEGF dalam mengurangi neovaskularisasi kornea. Sebagai contoh penggunaan bevacizumab 1% secara topikal atau 2,5 mg (0,1 ml) secara subkonjungtiva menunjukkan signifikan mereduksi neovaskularisasi kornea. Namun terapi anti-VEGF ini memiliki resiko efek samping yaitu defek epitel secara spontan pada periode penyembuhan lanjut (Chang *et al.*, 2012). Platelet merupakan sumber *growth factor* yang berperan dalam regenerasi jaringan. Turunan *platelet-rich blood* digambarkan sebagai suatu *autologous growth factor* alami yang menawarkan suatu alternatif untuk *recombinant protein-based approach* yang telah digunakan secara luas di berbagai bidang terapi dan teknik khusus berbasis sel punca. Salah satunya adalah *platelet-rich fibrin* (PRF) dimana polimerisasinya terjadi dengan perlahan, alami dan menghadirkan thrombin secara fisiologis secara progresif sehingga dapat mengendalikan pelepasan *growth factor* dan menjatuhnya dalam jaringan fibrin selama beberapa waktu tertentu sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Sehingga pada beberapa tahun terakhir banyak dilakukan penelitian dengan tujuan penggunaan aplikasi klinis PRF. Proses pembuatan yang tidak

membutuhkan *bovine thrombin* dan antikoagulan membuat PRF memiliki keunggulan di bidang regeneratif (Geerling, MacLennan and Hartwig, 2004; Ahmad, Figueiredo dan Lako 2006; Khiste and Tari, 2013; Eslani *et al.*, 2014; Steinhoff, 2016).

Peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh membran PRF sebagai terapi adjuvant pada keratitis akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap proses neovaskularisasi dengan menganalisis ekspresi VEGF dan PEDF sebagai bagian dari proses *wound healing* untuk mempertahankan fungsi anatomis dari bola mata. Penelitian ini dirancang untuk menganalisis efek terapi membran PRF pada mata kelinci yang diinduksi menjadi keratitis *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan mengetahui efek graft PRF sebagai terapi adjuvant, maka diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu prosedur tatalaksana keratitis oleh karena *Pseudomonas aeruginosa* untuk mengurangi terjadinya komplikasi neovaskularisasi kornea maupun jaringan parut yang menyebabkan morbiditas pengelihan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat penurunan ekspresi VEGF pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF?
2. Apakah terdapat peningkatan ekspresi PEDF pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF?

3. Apakah terdapat penurunan neovaskularisasi pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian membran PRF terhadap ekspresi VEGF, ekspresi PEDF dan neovaskularisasi pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Mengkaji penurunan ekspresi VEGF pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF.
2. Mengkaji peningkatan ekspresi PEDF pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF.
3. Mengkaji penurunan neovaskularisasi pada kornea kelinci model keratitis *Pseudomonas aeruginosa* pasca pemberian membran PRF.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi serta data ilmiah mengenai pengaruh membran PRF terhadap ekspresi VEGF, ekspresi PEDF dan neovaskularisasi pada keratitis *Pseudomonas aeruginosa* di hewan coba kelinci.

1.4.2 Manfaat Praktis

Menjadi penelitian dasar yang menjelaskan pengaruh graft membran PRF terhadap ekspresi VEGF dan PEDF pada kornea, agar dapat digunakan sebagai alternatif terapi adjuvant pada kasus keratitis bakterial terutama oleh *Pseudomonas aeruginosa* untuk mempercepat proses penyembuhan dan mengurangi kejadian neovaskularisasi atau jaringan parut kornea.

