

**EFEKTIFITAS DEKSAMETASON, MYTOMICIN-C DAN 5-FLUOROURACIL
TERHADAP EKSPRESI α -SMOOTH MUSCLE ACTINE ANTIBODY
JARINGAN SOKET KONTRAKTUR**

THESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Mata



Oleh:

TINA

NIM : 138070600011007

**PESERTA PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN MATA**

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RUMAH SAKIT UMUM dr. SAIFUL ANWAR

MALANG

2018

Lembar Pengesahan

**Efektifitas Deksametason, Mytomycin-C Dan 5-Fluorouracil Terhadap
Ekspresi α -Smooth Muscle Actine Antibody Jaringan Soket
Kontraktur**

Oleh

TINA

NIM : 138070600011007

Dibacakan Pada Tanggal

dr. Debby Shintiya Dewi, Sp.M(K)

dr. Hidayat Sujuti, Sp.M, Ph

NIP. 19730520 200904 2 001

NIP. 446 DF/367 1/3573 306/2009

Pembimbing 1

Pembimbing 2

DR. dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp.M(K)

NIP. 19681023 200501 2 001

Ketua Program Studi

Efektifitas Deksametason, Mytomicin-C Dan 5-Fluorouracil
Terhadap Ekspresi α -Smooth Muscle Actine Antibody Jaringan Soket Kontraktur

Tina, Debby Shintiya, Hidayat Sujuti

Department Ilmu Kesehatan Mata, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorourasil terhadap ekspresi alpha smooth muscle actine (α -sma) jaringan socket kontraktur.

Metode: Kultur fibroblas dalam penelitian ini diambil dari satu pasien dengan kontraktur socket dan menjalani operasi rekonstruksi socket. Kultur fibroblas dibagi menjadi 4 kelompok. Setiap kelompok kultur fibroblas mendapat paparan dari agen antifibrotik yang berbeda. Kelompok I menerima deksametason 16 mg / ml, kelompok II menerima mytomicin-c 0,4 mg / ml, kelompok III menerima 5-fluorourasil 50 mg / ml, sedangkan kelompok IV adalah kelompok kontrol dan tidak mendapat paparan apapun. Pemeriksaan α -sma dilakukan terhadap myofibroblas socket kontraktur, dan dilakukan pencatatan hasil dari 5 kali pembacaan. Kemudian dilakukan analisa statistik dari hasil pembacaan tersebut.

Results: Ekspresi α -sma mengalami penurunan pada semua kelompok paparan dibandingkan kelompok kontrol, dengan rata-rata sel myofibroblas paling banyak pada kelompok kontrol (83,02), diikuti kelompok deksametason (63,10), kemudian kelompok 5-fluorouracil (37,00), dan paling sedikit pada kelompok mitomycin-c (30,00). Hasil analisa statistik didapatkan perbedaan efektifitas yang signifikan dari ekspresi dari α -sma kultur sel myofibroblas dari kelompok yang mendapatkan paparan deksametason, mytomicin-c dan 5-fluorouracil terhadap kelompok kontrol. Sedangkan pada perbandingan rata-rata ekspresi α -sma antara kelompok mytomicin-c terhadap kelompok 5-fluorouracil tidak didapatkan hasil yang signifikan.

Kesimpulan: Pada penelitian ini perbandingan rata-rata ekspresi α -sma kultur sel myofibroblas jaringan socket kontraktur antara kelompok mytomicin-c dengan kelompok 5-fluorouracil tidak didapatkan perbedaan hasil yang signifikan, meskipun penurunan jumlah rata-rata sel myofibroblas kelompok mytomicin-c lebih tinggi dibandingkan penurunan rata-rata sel myofibroblas kelompok 5-fluorouracil.

Key word: socket kontraktur, deksametason, mytomicin-c, 5-fluorouracil, myofibroblast, α -sma

Effectivity of Dexamethasone, Mytomicin-C and 5_Flourouracil in α -Smooth Muscle Actine Antibody Socket Cotracture Tissue

Tina, Debby Shintiya, Hidayat Sujuti

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya

Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang

Abstract

Purpose: This study aims to determine the effectiveness of dexamethasone, mitomycin-c and 5-fluorouracil on the expression of alpha smooth muscle actine (α -sma) from human socket contracture tissue.

Methods: Fibroblast culture in this study was taken from one patient who had socket contractures and underwent reconstructive socket surgery. Fibroblast culture is divided into 4 groups. Each fibroblast culture group received exposure from different antifibrotic agents. Group I received dexamethasone 16 mg / ml, group II received mytomicin-c 0.4 mg / ml, group III received 5-fluorouracil 50 mg / ml, while group IV received received no exposure (control). Examination of α -sma antibody is performed on the contracted socket tissue myofibroblasts, and the results of 5 readings are recorded. Then statistical analysis of these readings was performed.

Results: The expression of α -sma antibody decreased in all exposure groups compared to the control group, with the highest myofibroblast cell counts in the control group (83.02), followed by the dexamethasone group (63.10), then 5- fluorouracil group (37.00), and at least in the mitomycin-c group (30.00). From statistical analysis showed a significant decreased of the expression α -sma antibody in the exposure groups than the control group. Whereas the comparison of the expression α -sma between the mytomicin-c group to the 5-fluorouracil group were no significant.

Conclusion: The were not significant result from comparison the expression of α -sma myofibroblast cells between the mytomicin-c group and the 5-fluorouracil group, although the mean decrease of myofibroblast cells count from mytomicin-c group was higher than the 5-flourouracil group.

Key word: contracture socket, dexamethasone, mytomicin-c, 5-flourouracil myofibroblast, α -sma

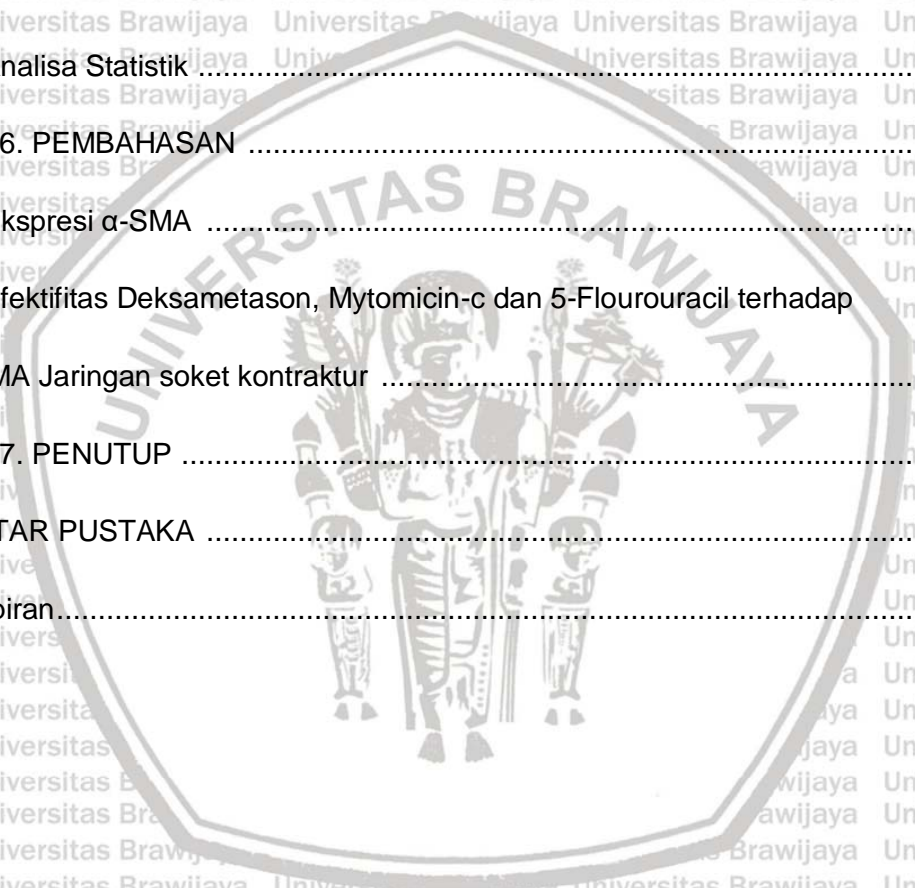


JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 SOKET KONTRAKTUR	4
2.1.1 Definisi	4
2.1.2 Epidemiologi	4
2.1.3 Etiologi	5
2.1.4 Gambaran Klinis	6
2.3 Patogenesis	6
2.4 Gambaran Klinis	7
2.5 Penatalaksanaan	8
2.2 Penyembuhan Luka	9
2.2.1 Fase Penyembuhan Luka	9
2.2.2 Peran Fibroblas Dalam Penyembuhan Luka	11
2.3 Deksametason	13

2.3.1 Mekanisme Kerja	13
2.3.2 Efek DEksametason Terhadap Fibroblas	15
2.4 Mytomicin C	17
2.4.1 Mekanisme Kerja	17
2.4.2 Efek Mytomicin-C terhadap Fibroblas	18
2.5 5-Flourouracil	19
2.5.1 Mekanisme Kerja	19
2.5.2 Efek 5-Flourouracil Terhadap Fibroblas	20
BAB 3. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PE-	
NELITIAN	23
3.1 Kerangka Teori	23
3.2 Kerang ka Konsep	24
3.3 Hipotesa Penelitian	24
BAB 4. METODE PENELITIAN	23
4.1 Rancangan Penelitian	25
4.2 Tempat Dan Waktu Penelitian	25
4.3 Sampel Penelitian	25
4.3.1 Kriteria Inklusi	26
4.3.2 Kriteria Ekslusi	26
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	26
4.5 Penentuan Besaran Sampel	27
4.6 Prosedur Kerja	27
4.7 Tata Cara Penelitian	28
4.8 Pemeriksaan Kadar α -SMA Antibody	29
4.9 Analisa Data	30
4.10 Alur Kerja Penelitian	31

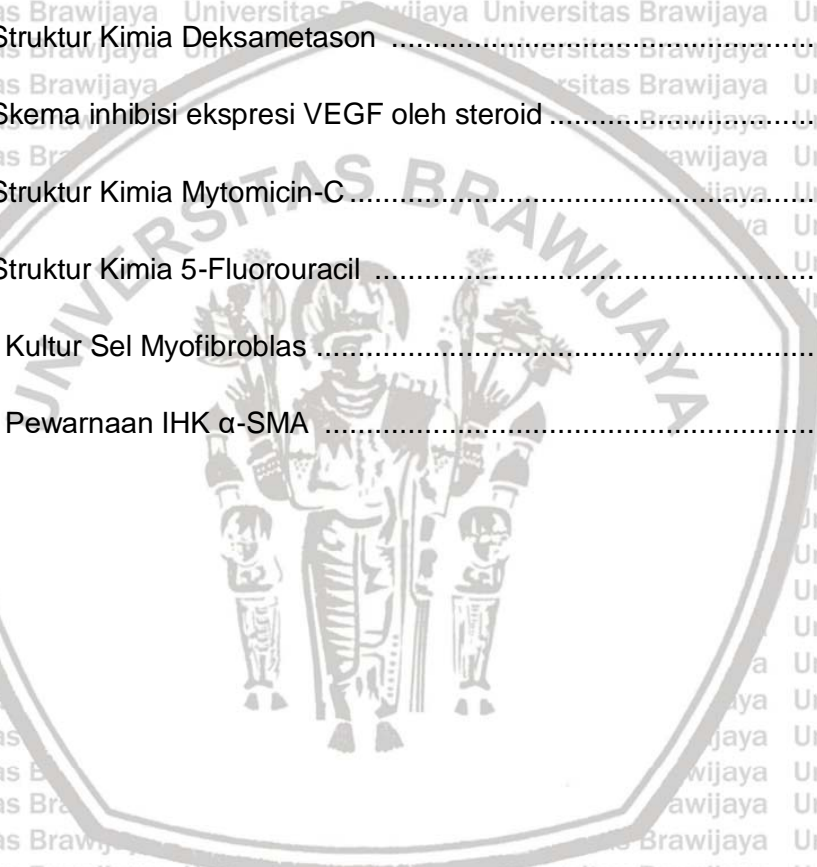


4.11 Organisasi Penelitian	31
4.12 Jadwal Penelitian	32
BAB 5. HASIL PENELITIAN	33
5.1 Hasil Penelitian	33
5.1.1 Kultur Sel Myofibroblas	33
5.1.2 Data Hasil Penelitian	36
5.2 Analisa Statistik	36
BAB 6. PEMBAHASAN	39
6.1 Ekspresi α -SMA	39
6.2 Efektifitas Deksametason, Mytomicin-c dan 5-Flourouracil terhadap α -SMA Jaringan soket kontraktur	40
BAB 7. PENUTUP	44
DAFTAR PUSTAKA	45
Lampiran.....	56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Soket Kontraktur	7
Gambar 2. Penyembuhan luka pada konjungtiva	10
Gambar 3. Potongan konjungtiva	12
Gambar 4. Struktur Kimia Deksametason	13
Gambar 5. Skema inhibisi ekspresi VEGF oleh steroid	16
Gambar 6. Struktur Kimia Mytomicin-C	17
Gambar 7. Struktur Kimia 5-Fluorouracil	20
Gambar 5.1 Kultur Sel Myofibroblas	33
Gambar 5.2 Pewarnaan IHK α -SMA	34



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Regimen Yang Digunakan Menghambat Proliferasi Fibroblas Okuli. 13

Tabel 2. Perbandingan Deksametason Dengan Kortikosteroid Lain..... 14

Tabel 5.1 Hasil Efektifitas 35

Tabel 5.2 Rerata Jumlah Myofibroblas 35

Tabel 5.3 Rerata Ekspresi α -SMA 35

Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas Jumlah Sel Myofibroblas..... 36

Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas Jumlah Sel Myofibroblas 37

Tabel 5.6 Hasil Uji Perbedaan Rerata Jumlah Sel Myofibroblas 37

Tabel 5.7 Hasil Uji Lanjut Perbedaan Rerata Jumlah Sel Myofibroblas 37



PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anoftalmia adalah suatu keadaan dimana pada rongga orbita tidak terdapat mata.

Kondisi ini dapat terjadi karena bawaan maupun didapat. Anoftalmia bawaan merupakan kasus jarang dengan prevalensi 0,2-0,3/10.000. Sedangkan anoftalmia didapat merupakan kondisi yang umum terjadi. Dapat terjadi setelah trauma dan biasanya setelah operasi pembedahan pada mata.¹

Pada beberapa pasien anoftalmia dapat terjadi komplikasi berupa kontraksi soket. Berdasarkan penelitian Adhikari tahun 2007, soket kontraktur dapat terjadi pada 7,7% dari 1739 soket anoftalmia. Kontraksi soket merupakan pemendekan jaringan pada orbita sehingga menyebabkan ketidaknyamanan pemakaian protesa. Patofisiologi kontraksi soket merupakan akibat dari terbentuknya jaringan parut pada konjungtiva dan subkonjungtiva, dimana melibatkan fibroblas dan terjadi kontraksi jaringan setelah penyembuhan luka atau peradangan.^{1,2,3}

Peranan fibroblas sebagai komponen utama pembentuk jaringan granulasi merupakan hal yang unik. Fibroblas berdiferensiasi sehingga memiliki karakteristik menyerupai jaringan otot polos serta memiliki kemampuan untuk berkontraksi. Hal tersebut memiliki peran dalam menyebabkan kontraksi luka, yang akhirnya menyebabkan remodeling jaringan dan kerusakan organ.¹

Dalam proses penyembuhan luka, sel utama yang terlibat adalah fibroblas. Sel fibroblas mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler, sitokin dan faktor pertumbuhan (*growth*

factors), yang berfungsi menstimulasi proliferasi sel. Pada saat jaringan mengalami peradangan, maka fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak tersebut. Fibroblas berevolusi menjadi myofibroblas yang bertanggungjawab terhadap kontraksi luka. Myofibroblas mengekspresikan *α-smooth muscle actine* (α -SMA). Sehingga dapat dikatakan bahwa *α-smooth muscle actine* merupakan prediktor utama dari myofibroblas.¹

Setelah trauma, fibroblas yang berada di sekeliling matriks teraktivasi untuk berproliferasi dan bermigrasi ke arah luka pada proses pembentukan matriks baru. Penggunaan antimetabolit seperti aplikasi injeksi subkonjungtiva intraoperasi mitomycin-c (MMC) atau 5-fluorouracil (5-FU) memiliki bukti menurunkan derajat jaringan parut post operasi, seperti yang disebutkan pada beberapa penelitian. Terapi tersebut dapat mengurangi respon penyembuhan dengan mensupresi proliferasi fibroblas. Penggunaan deksametason sebagai antiinflamasi juga dapat menurunkan migrasi sel radang sehingga menurunkan proliferasi fibroblas.^{4,5}

Studi komparatif retrospektif oleh Kamal et al, 2013, pada 15 pasien dengan soket kontraktur berulang postoperasi setelah cangkok mukosa *buccal*, menyatakan bahwa injeksi 5-fluorouracil penting untuk menghentikan perkembangan soket kontraktur berulang setelah rekonstruksi post operasi tersebut. Dimana 5-fluorouracil dapat menghindari kekambuhan post operasi. Sedangkan penelitian Mandour S.S et al, 2016, terhadap 40 pasien soket kontraktur, menunjukkan bahwa penggunaan mitomycin-c intraoperasi dosis 0,2 mg/mL pada rekonstruksi soket kontraktur memainkan peran penting dalam mempertahankan posisi protesa. Untuk penelitian tentang peran deksametason terhadap fibroblas dilakukan Wen-Sheng et al, 2006, dengan pemberian deksametason pada kultur sel fibroblas jaringan keloid. Ditemukan bahwa deksametason dapat menekan ekspresi VEGF dan menurunkan proliferasi fibroblas.^{6,7,8}

Penelitian lain yang membandingkan efek penggunaan berbagai agen antiinflamasi, adalah penelitian Tawfik et al, 2016. Studi tersebut dilakukan untuk mengetahui dampak injeksi tunggal mitomycin-c, 5-fluorouracil dan triamnicolone terhadap jumlah sel miofibroblas soket kontraktur. Percobaan tersebut dilakukan pada kelinci yang dibagi menjadi 5 kelompok, dan setiap kelompok menerima injeksi subkonjungtiva dari jenis agen yang berbeda. Didapatkan hasil hitung rata-rata myofibroblas tertinggi untuk kelompok kontrol, dan semua kelompok mencapai penurunan jumlah myofibroblas signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol.⁹

Berdasarkan hal tersebut, mitomycin-c, 5-fluorouracil dan deksametason memiliki pengaruh dalam menurunkan fibroblas berbagai jaringan. Namun penelitian yang membandingkan ketiga jenis agen tersebut masih terbatas jumlahnya dan dilakukan pada jaringan kontraktur hewan coba atau jaringan kontraktur manusia bukan pada mata. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek mitomycin-c dan 5-fluorouracil, merupakan antimetabolit yang banyak digunakan karena aman digunakan sebagai tambahan terapi pada bidang mata, serta deksametason, merupakan antiinflamasi yang dipakai secara luas pada berbagai bidang daripada kortikosteroid jenis lain, aman dan poten, terhadap ekspresi α -Smooth Muscle Actine (SMA) antibody jaringan soket kontraktur.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah perbedaan efektifitas antara mitomycin-c, 5-fluorouracil dan deksametason terhadap ekspresi α -Smooth Muscle Actine (SMA) antibody jaringan soket kontraktur?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui perbedaan efektifitas antara mitomycin-c, 5-fluorouracil dan deksametason terhadap ekspresi α -Smooth Muscle Actine (SMA) antibody jaringan soket kontraktur.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu referensi mengenai perbandingan efektifitas antara mitomycin-c, 5-fluorouracil dan deksametason terhadap ekspresi α -Smooth Muscle Actine (SMA) antibody jaringan soket kontraktur. Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam pemilihan terapi tambahan pada soket kontraktur.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 SOKET KONTRAKTUR

2.1.1 Definisi

Soket kontraktur didefinisikan sebagai mengecilnya sebagian atau seluruh jaringan orbita yang menyebabkan pendangkalan forniks dan pengurangan volume orbita. Secara anatomis soket kontraktur diartikan sebagai tidak adanya jaringan ektodermal dan mesodermal. Sedangkan secara klinis soket kontraktur adalah tidak adanya bola mata dalam rongga orbita. Sehingga hal tersebut dapat menyebabkan ketidakmampuan mempertahankan protesa (mata palsu). Dapat berakibat pada kesulitan pemasangan protesa atau bahkan tidak dapat terpasangnya protesa pada soket yang pada akhirnya menimbulkan masalah kosmetik pada penderita sehingga berakibat pada gangguan psikologis juga. Soket kontraktur ini merupakan masalah yang sering terjadi pada soket anoftalmia.^{1,2,3}

2.1.2 Epidemiologi

Studi yang dilakukan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang pada 1 Januari sampai 31 Desember 2007 menunjukkan bahwa terdapat 10 kasus (32,25%) soket kontraktur dari 31 kasus soket anoftalmi. Dari studi tersebut juga diidentifikasi bahwa kasus kontraktur soket lebih banyak terjadi pada jenis kelamin perempuan, sebanyak 6 (60%), dengan rerata usia $32,6 \pm 10,18$ tahun, dan rentang usia 16 sampai 46 tahun (50%). Interval terjadinya soket kontraktur terbanyak adalah 5 tahun paska operasi pengambilan mata, yaitu pada 6 (60%) penderita, sebanyak 2 (20%) penderita terjadi dalam interval 1-5 tahun dan 2 (20%) penderita lainnya terjadi kurang dari 1 tahun pada soket kontraktur. Didapatkan hasil bahwa soket

kontraktur dapat terjadi pada 7,7% dari 1739 socket anoftalmia. Sebesar 5,9% merupakan socket kontraktur yang didapat, sedangkan yang berasal dari bawan sebesar 1,8%. Pola demografis studi tersebut menunjukkan bahwa trauma pada laki-laki terjadi 2 kali lebih sering di bandingkan pada perempuan. Sedangkan studi pada socket kontraktur yang dilakukan Adhikari et al tahun 2007 didapatkan hasil bahwa socket kontraktur dapat terjadi pada 7,7% dari 1739 socket anoftalmia. Sebesar 5,9% merupakan socket kontraktur yang didapat, sedangkan yang berasal dari bawan sebesar 1,8%. Pola demografis studi tersebut menunjukkan bahwa trauma pada laki-laki terjadi 2 kali lebih sering di bandingkan pada perempuan.^{2,10}

2.1.3 Etiologi

Kontraktur socket bisa terjadi karena penyusutan serta pemendekan dari sebagian atau seluruh jaringan orbita pada socket anoftalmia. Hal tersebut menyebabkan forniks konjungtiva tidak mampu lagi menahan protesa. Hal ini di pengaruhi oleh beberapa faktor seperti defisit volume dan redistribusi volume. Defisit volume dapat terjadi karena tidak adanya bola mata dan jaringan sekitarnya, ukuran implant tidak adekuat dan kehilangan konjungtiva yang terlalu banyak. Redistribusi volume dapat disebabkan karena kontraksi tenon kapsul, retraksi otot periaurikular dan pergeseran lemak orbita kebawah dan kedepan. Meskipun begitu, patogenesis kontraktur socket masih belum dapat di pahami secara menyeluruh.^{1,2,3}

Socket kontraktur dapat dibagi menjadi dua berdasar penyebabnya, yaitu karena bawaan dan didapat. Penyebab bawaan antara lain dalah mikroftalmos, kriptoftalmos, ankiloblefaron, koloboma kelopak, obliterasi forniks, ekstropon dan lain sebagainya. Sedangkan penyebab didapat antara lain simblefaron, defisiensi volume, obliterasi forniks inferior, ekstropon, tidak menggunakan conformer dalam jangka waktu lama. Pesudoptosis dan terlalu ketat serta longgarnya tendon kantung yang merupakan akibat dari teknik enukleasi yang salah, radiasi, infeksi, migrasi dari implant, operasi yang berulang.²

Infeksi kronis dan inflamasi merupakan penyebab paling sering di temukan pada socket kontraktur. Sebagian besar disebabkan dari kontraksi socket karena terapi radiasi yang biasanya terdapat pada pasien tumor, trauma yang berat sebelumnya (trauma kimia, trauma panas atau laserasi luas yang banyak merusak konjungtiva), infeksi socket yang berat, teknik operasi anoftalmia yang kurang bagus atau tidak menggunakan protesa, operasi berulang, lepasnya implan, tidak menggunakan conformer atau protesa terlalu lama, keloid pada daerah socket, reaksi alergi terhadap obat-obatan (*steven Johnson syndrome*), *cicatrizing conjunctival disease* dan juga bisa karena kelainan kongenital (misal mikroftalmus).^{2,11,12,13}

Faktor utama yang berpengaruh pada patogenesis socket kontraktur adalah inflamasi dan fibrosis sehingga menyebabkan pemendekan konjungtiva. Dapat ditemukan massa keras di dalam socket orbita meskipun tidak di pasang implant orbita, dimana massa yang teraba keras ini merupakan jaringan ikat sikatriks (*fibrous cicatrix*).Dapat juga terdapat simblefaron, konjungtiva infeksi, keradangan konjungtiva yang lain atau jaringan ikat (*scarring*) konjungtiva.¹⁰

2.1.4 Gambaran Klinis

Kontraktur socket memiliki beberapa gambaran klinis. Diantaranya adalah hilangnya forniks karena adanya jaringan parut dan granulasi, tampak *srunken* socket, tidak mampu mempertahankan protesa di dalam socket, lagofthalmus, ptosis, entropion, nyeri dan adanya sekret. Kontraktur ini dapat terjadi pada daerah forniks superior, inferior atau seluruh area socket yang memberikan gambaran berupa hilangnya daerah permukaan konjungtiva, jaringan ikat, atrofi lemak orbita dan kontraktur atau pendangkalan forniks.^{3,10}

Pemahaman kondisi klinis sesuai dengan klasifikasi socket kontraktur sangat diperlukan. Terdapat beberapa indikator yang berhubungan dengan klasifikasi kontraktur socket.

Gopal Krishna, 1980, menyatakan socket kontraktur diklasifikasikan dalam derajat sesuai dengan keparahannya, yaitu:^{3,14}

- Derajat 0 : soket dengan konjungtiva sehat, forniks dalam dan berbentuk baik
- Derajat 1 : soket dengan forniks inferior landai dan dangkal
- Derajat 2 : soket dengan forniks superior dan inferior hilang
- Derajat 3 : soket dengan forniks superior, inferior, medial dan lateral hilang
- Derajat 4 : soket dengan forniks seluruhnya hilang dan menyempitnya ukuran dari aperture palpebra horizontal dan vertikal
- Derajat 5 : pada beberapa kasus dengan rekurensi soket kontraktur setelah dilakukan operasi rekontruksi berulang-ulang



Gambar 1. Soket Kontraktur, grade 0 (A), grade 1 (B), grade 2 (C), grade 3 (D), grade 4(E),grade 5 (F).¹⁴

Goel R et al, 2010, juga membagi soket kontraktur menjadi beberapa klasifikasi sebagai berikut:³

- Ringan termasuk grade 1 dan 2 dimana hanya forniks inferior yang terlibat dan terdapat pemendekan lamella posterior dari palpebra
- Sedang termasuk grade 3 dimana kedua forniks superior dan inferior terlibat

- Berat terdiri dari kasus dimana seluruh forniks terlibat dan disertai phimosis dari aperture palpebra
- Ganas adalah yang paling berat dari kriteria ini merupakan hasil dari trauma berat atau operasi berulang.

Pada gambaran klinis derajat ringan terdapat gambaran pendangkalan pada 1 atau 2 forniks dan biasanya protesa masih bisa terpasang. Semakin besar derajat soket kontraktur maka dapat terjadi pendangkalan forniks yang lebih luas dan berat. Pada derajat 3 atau 4 terdapat gambaran yang sama yaitu hilangnya forniks, tetapi berbeda pada hilangnya aperture palpebra pada derajat yang lebih besar. Pada derajat yang paling berat yakni derajat 5 tidak terdapat perbedaan gambaran aperture, tetapi hanya dibedakan dari adanya rekurensi kontraktur yang terjadi setelah dilakukan operasi rekonstruksi yang tidak berhasil dalam 1 tahun terakhir. Hal ini penting di pertimbangkan karena dibutuhkan rentang waktu spesifik sebelumnya dilakukan rekonstruksi yang berikutnya agar tidak terjadi kegagalan berikutnya yaitu sekitar 1 tahun. Kasus kontraktur soket terbanyak adalah derajat 4 dengan gambaran kontraktur konjungtiva berat dan bahkan ada yang tidak memiliki jaringan konjungtiva. Sehingga terdapat gambaran kantung yang membulat akibat hilangnya forniks.¹⁴

2.1.5 Penatalaksanaan

Tujuan utama dari penatalaksanaan soket kontraktur adalah untuk membuat soket mampu untuk mempertahankan protesa dan memberikan hasil kosmetik yang lebih baik. Langkah awal dari penatalaksanaan soket kontraktur adalah tindakan pencegahan. Dimana perlu mempertahankan jaringan konjungtiva sebanyak mungkin, memotong sedikit mungkin forniks, membatasi kauterisasi pada jaringan orbita, menempelkan otot rektus pada posisi anatomi yang normal untuk meminimalkan pemendekan forniks serta pemakaian conformer atau protesa sesudah operasi dengan rutin.^{13,15}

Pada soket kontraktur yang ringan, biasanya tidak didapatkan masalah pemasangan protesa. Lubrikasi pada protesa, menggosok protesa setiap 6 bulan, dan memberikan steroid topikal jika terjadi konjungtivitis. Soket kontraktur yang disertai dengan hilangnya forniks superior dan inferior, makadapat menyebabkan hilangnya volume. Jika terdapat kontraktur, band atau simblefaron, maka dapat dilakukan tindakan *band release* yang dianjurkan dengan *z-plasty* dan pemasangan conformer. Untuk hilangnya volume dapat dilakukan implant bola mata sekunder, *dermis fat graft* atau flap otot sementara.^{13,15}

Soket kontraktur berat merupakan tantangan untuk dokter mata. Pada soket kontraktur yang berat, terdapat penutupan komplit dari forniks dengan atau tanpa deformitas tulang yang membuat protesa tidak dapat dipertahankan di tempatnya. Deformitas tulang yang berat mungkin memerlukan tindakan rekonstruksi kraniofasial yang agresif dengan *external wiring*. Diantaranya dibutuhkan fiksasi conformer pada forniks superior dan inferior dengan kawat yang bertujuan untuk mencegah kontraktur forniks selama masa penyembuhan luka. Serta bisa juga dilakukan injeksi silicon diantara conformer tersebut.^{15,16}

Sedangkan penggunaan antimetabolit yang aman pada operasi di mata dan system lacrimaltelah banyak dipublikasikan. Mitomycin-C (MMC) merupakan ankylosing agent yang mampu menghambat sintesa DNA, sehingga mempunyai efek menekan aktivitas fibroblas dan mencegah pembentukan jaringan parut. Sedangkan 5-fluorouracil (5-FU) merupakan analog pyrimidine *short acting* yang mempercepat apoptosis pada fibroblas setelah beberapa minggu paparan lokal.¹⁷

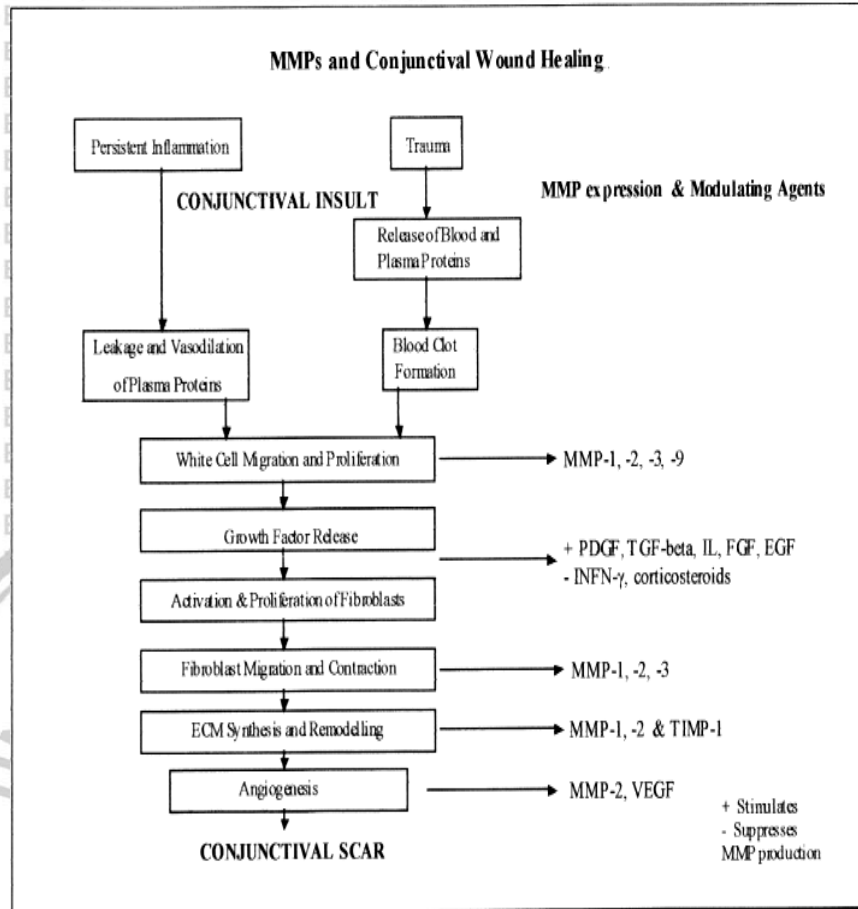
2.2 Penyembuhan Luka

Sesaat setelah terjadi luka, maka jalur interseluler dan intraseluler akan teraktivasi. Komponen seluler yang teraktivasi tersebut adalah sistem imun, sistem pembekuan darah dan sistem inflamasi. Apabila proses ini berjalan dengan baik, maka proses penyembuhan luka

akan berhenti saat luka menutup dengan baik. Sebagian luka akan menghasilkan jaringan parut ketika jaringan fungsional menjadi fibroblas, serta terjadi disorganisasi matrik ekstraseluler (kolagen).¹⁸

2.2.1 Fase Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses multifaktorial kompleks yang terdiri dari rentetan kejadian tumpang tindih, termasuk hemostasis, peradangan, proliferasi sel dan remodeling jaringan. Setelah trauma, terjadi hemostasis, terbentuk bekuan darah dan fibrin untuk mengurangi kehilangan darah. Hal ini menyebabkan fase inflamasi, dimana terjadi perubahan vaskuler yang mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah dan juga perubahan selular yang menyebabkan neutrofil, makrofag dan limfosit bergerak ke arah luka sebagai bagian dari respon imun. Kemudian diikuti oleh fase proliferasi, dimana terjadi migrasi dan proliferasi fibroblas di daerah luka, kemudian reepithelisasi, angiogenesis dan pembentukan jaringan granulasi. Sintesis kolagen oleh fibroblas dimulai pada hari ke 3-5 proses penyembuhan dan berlanjut terus sampai beberapa minggu. Selanjutnya proses penyembuhan luka memasuki fase remodeling. Pada fase remodeling jaringan dan pembentukan jaringan parut, matriks metaloproteinase memainkan peran penting dalam proses tersebut.^{18,19,20,21}



Gambar 2. Penyembuhan luka pada konjungtiva, kaskade seluler terjadinya jaringan parut pada konjungtiva.²⁰

2.2.2 Peran Fibroblas Dalam Penyembuhan Luka

Dalam proses penyembuhan luka, sel utama yang terlibat adalah fibroblas. Sel fibroblas merupakan sel yang secara normal ditemukan pada jaringan ikat dan mensintesa beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans dan proteoglikans) serta glikoprotein multiadhesif, laminin, dan fibronectin) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Sel fibroblas juga mensekresikan sitokin dan faktor pertumbuhan (*growth factors*) yang dapat menstimulasi proliferasi sel. Morfologi sel fibroblas adalah berbentuk gelondong dengan inti sel lonjong dan sitoplasma bercabang.

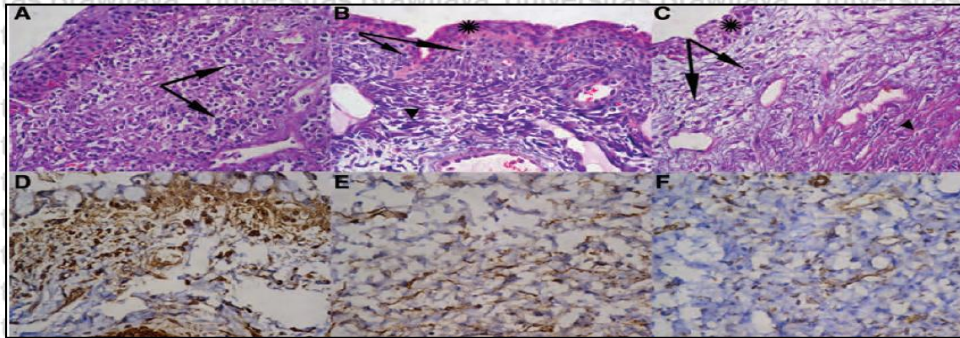
^{18,19,20,21}

Pada saat jaringan mengalami trauma atau inflamasi, maka fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka dan berproliferasi, serta memproduksi matriks ekstraseluler untuk memperbaiki jaringan yang rusak tersebut. Fibroblas akan menghasilkan matriks kolagen yang akan mempertahankan tepi luka. Proliferasi fibroblas dalam proses penyembuhan luka tersebut distimulasi oleh *interleukin-1 β* (IL-1 β), *platelet derived growth factor* (PDGF), dan *fibroblast growth factor* (FGF).^{18,22}

Dalam proses penyembuhan luka, fibroblas berevolusi menjadi myofibroblas yang bertanggung jawab terhadap kontraksi luka. Myofibroblas merupakan sel dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblas dan sel otot polos. Dibandingkan dengan fibroblas, myofibroblas memiliki jumlah kolagen tipe dan proteoglikan yang lebih tinggi sehingga menimbulkan kekuatan kontraktile dalam penyembuhan luka. Kekuatan kontraktile tersebut disebabkan oleh kumparan aktin dalam myofibroblas, yang diteruskan ke tepi luka oleh ikatan sel-sel dan sel matriks. Myofibroblas memiliki fungsi sementara dan terbatas pada luka akut normal. Pada penyembuhan luka akut normal, myofibroblas akan meningkatkan susunan kolagen dan fibronektin selama waktu 7-14 hari dalam studi hewan model. Namun, durasi tersebut bervariasi tergantung ukuran dan jenis luka. Myofibroblas menghilang melalui mekanisme apoptosis, dan bekas luka menetap di daerah yang terkena. Jika myofibroblas tetap bertahan dalam luka, hal tersebut mengindikasikan terjadinya skar pada bekas luka. Meitz et al, 2006 mengatakan bahwa sel myofibroblas memiliki peran penting dalam penyembuhan luka pada berbagai bagian tubuh.^{18,22}

Bentuk myofibroblas pertama kali ditemukan dengan penggunaan mikroskop elektron, yang menunjukkan adanya *bundle microfillament* sitoplasma yang menonjol dan adanya adhesi fokal perifer di dalam sel fibroblas jaringan granulasi. Selanjutnya ditunjukkan adanya *gap junction* yang menghubungkan myofibroblas, sehingga memperkuat kesamaan struktur antara myofibroblas dan sel otot polos (smooth muscle). Terdapat produksi antibodi spesifik berupa

aktin α -smooth muscle (SM), isoform aktin khas sel otot polos vaskular, menunjukkan bahwa myofibroblas mengekspresikan α -smooth muscle actine (SMA)..^{18,22}



Gambar 3. Potongan konjungtiva (H&E, perbesaran x400). Ditunjukkan permukaan epitel intak (ditunjukkan tanda bintang). Stromal menunjukkan infiltrasi inflamasi kronik (ditunjukkan tanda panah panjang) pada grup kontrol (A) dan lebih sedikit pada grup kontraktur socket yang dipapar triamniolone (B) dan MMC (C) bersama myofibroblas (ditunjukkan tanda kepala panah). Pewarnaan imunohistokimia pada α -smooth muscle actin myofibroblas konjungtiva, ditunjukkan dengan densitas positif berwarna coklat, grup kontrol (D), dengan penurunan densitas myofibroblas pada triamniolone (E) dan MMC (F).⁹

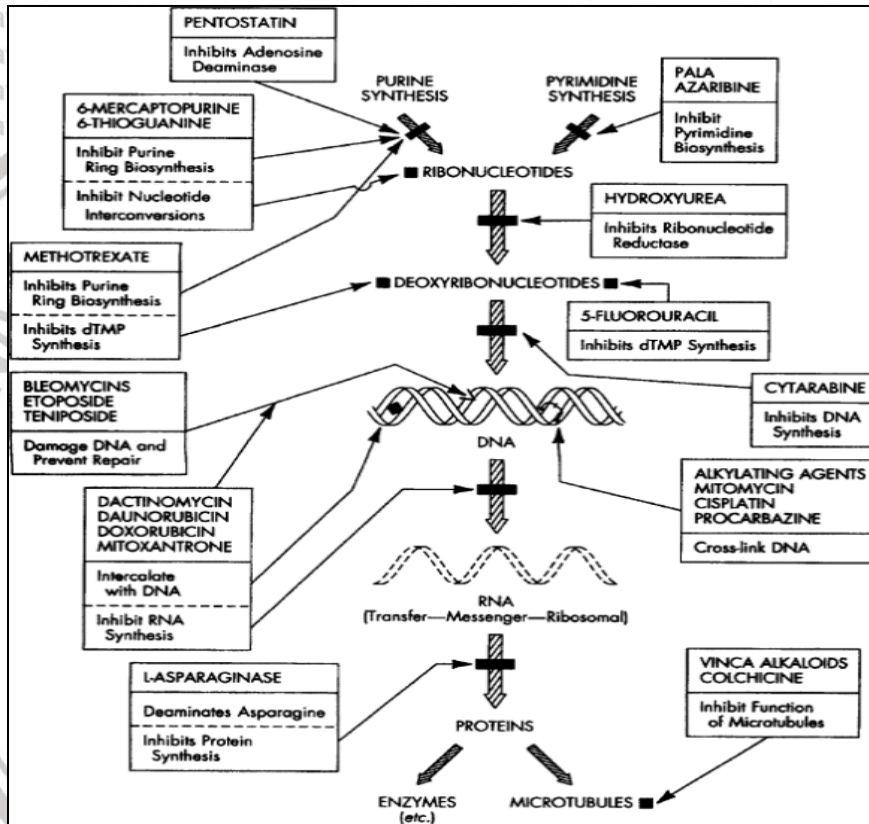
Terdapat beberapa regimen terapi yang dapat diberikan untuk mencegah serta menghambat terjadinya jaringan parut. Grierson et al, tahun 1989, menunjukkan beberapa regimen yang dapat menghambat jaringan parut dengan tabel berikut.²³

Tabel 1. Regimen yang digunakan menghambat proliferasi fibroblas okuli.²³

Corticosteroids	Prednisolone, Dexamethason, Triamniolone
Antimetabolites	5-Fluorouracil, Daunomycin, Doxorubicin, Methotrexate, Thiotepa, Bleomycin, Cytosine arabinose, Anthracycli
Antimicrotubules	Colchicine, Vincristine, Vinblastine, Nocodazole, Taxol
Antihistamine	Dyphenhydramine

Kortikosteroid diprediksi dapat menghambat secara langsung proliferasi fibroblast pada penelitian Grierson, 1989. Antihistamin terdapat dalam jumlah yang sangat tinggi pada fibroblas. Dyphenhydramine yang diberikan pada sel fibroblas dapat menurunkan proliferasi

fibroblas. Antimetabolit seperti 5-fluorouracyl yang popular, digunakan untuk menghambat proliferasi fibroblas secara langsung melalui penghambatan sintesis DNA pada fase S dan sintesis RNA. Alkaloid seperti kolkisin, menghambat proliferasi sel fibroblas dengan mekanisme penghentian proses pematangan sel dimana *spindle* sel tidak terbentuk, sehingga kromosom keluar ke sitoplasma yang pada akhirnya terjadi kematian sel.²³



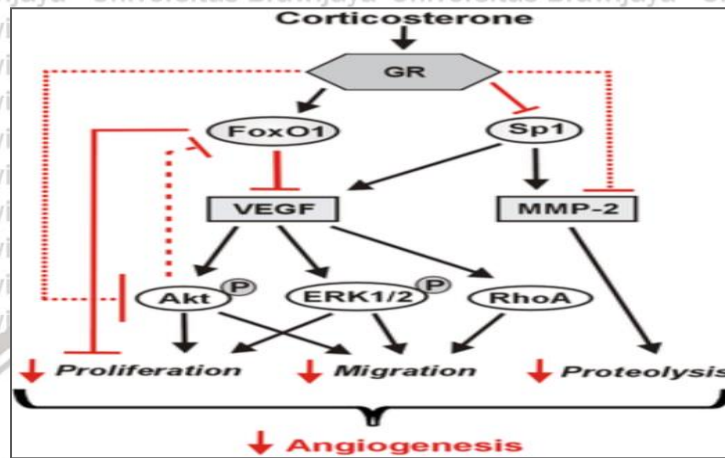
Gambar 4. Skema titik tangkap dari agen antifibrotik pada DNA dan RNA sel.²³

2.3 Deksametason

2.3.1 Mekanisme Kerja

Deksametason merupakan golongan glukokortikoid yang telah banyak digunakan karena bersifat poten. Sebagai anti inflamasi, deksametason bekerja dengan menurunkan migrasi sel leukosit dan menghambat proliferasi sel fibroblas. Deksametason juga telah terbukti

dapat memblokir produksi matriks ekstraselular dan sel fibronektin, mematikan gen yang mengkode sitokine proinflamasi dan mengaktifkan sitokin antiinflamasi.²⁴



Gambar 5. Mekanisme antiinflamasi dari steroid.²⁴

Dalam penelitiannya tentang tatalaksana edema pada tumor otak yang menggunakan kortikosteroid sebagai anti inflamasi, ditunjukkan bahwa deksametason memiliki efek antiinflamasi yang paling kuat dibandingkan dengan kortikosteroid lain. Kaal CA, et al, 2004, menyimpulkan bahwa deksametason enam kali lebih poten dari pada prednison, dimana 20mg deksametason sebanding dengan 120mg prednison. Deksametason memiliki efek mineralkortikoid (retensi garam) paling rendah dibandingkan dengan kortikosteroid yang lain, sehingga dapat terjadi hiponatremia yang akan berujung pada terjadinya edema anasarka.²⁵

Tabel 2. Perbandingan Deksametason Dengan Kortikosteroid Lain.²⁵

Variable	Dose ~ 20 mg cortisol, mg	Biological half life, h	Antiinflammatory activity (cortisol=1)	Mineralcorticoid activity (cortisol=1)
Hydrocortisone or Cortisol	20	8—12	1	1
Deksametason	0.75	36—54	25—30	<0.2
Prednisone	5	12-36	3.5	0.8

Methylprednisolone	4	12-36	5	0.5
--------------------	---	-------	---	-----

Hochhaus G, 2001, membandingkan farmakokinetik deksametason fospat dan sodium deksametason. Dalam jurnalnya, deksametason tersebut diberikan melalui suntikan intramuskular dan intravena. Didapatkan hanya 25% deksametason sodium yang dirubah menjadi bentuk aktif deksametason dalam waktu pemberian intramuskuler 5.4 jam dan intravena 7.4 jam dengan rata-rata masa kerja 10.4 jam sampai dengan 11.6 jam. Pada deksametason fospat masa kerjanya adalah 6.1 jam, lebih pendek dari deksametason sodium. Deksametason sodium merupakan produk yang akan dirubah menjadi bentuk aktif sehingga penggunaannya harus dipertimbangkan pada keadaan emergensi.²⁶

Oretega M, et al 2013, melakukan penelitian terhadap deksametason gel mata yang didesain sebagai nano jel berbahan siklodextrin. Nano gel berisi 25 mg deksametason dalam 1 ml, setelah 6 jam deksametason masih terdeteksi dalam lapisan air mata. Kadar deksametason tertinggi dalam cairan aqueous dicapai pada jam kedua setelah penetesan. Nilai ini lebih tinggi dibanding dengan deksametason suspensi dengan dosis 1 mg per 1 ml, dan tidak didapatkan tanda-tanda toksisitas ataupun iritasi okular dengan penggunaan deksametason nano jet.²⁷

2.3.2 Efek Deksametason Terhadap Fibroblas

Deksametason dapat menghambat sekresi *transforming growth factor-β1* (TGF-β1) seperti yang diteliti oleh Jang YH et al, tahun 2013. Penelitian tersebut dilakukan pada *epithelial-to-mesenchymal transition* (EMT) manusia. EMT memiliki peran dalam respon fisiologis terhadap cedera dan kejadian patologis seperti fibrosis organ. EMT sel mesothelial peritoneal manusia adalah mekanisme kunci dari fibrosis peritoneal. Dimana deksametason menghambat pengendapan matriks ekstraselular. TGF-β1 dapat menginduksi terbentuknya EMT, ditandai dengan adanya perubahan morfologi dan perubahan marker mesenchym α-SMA.

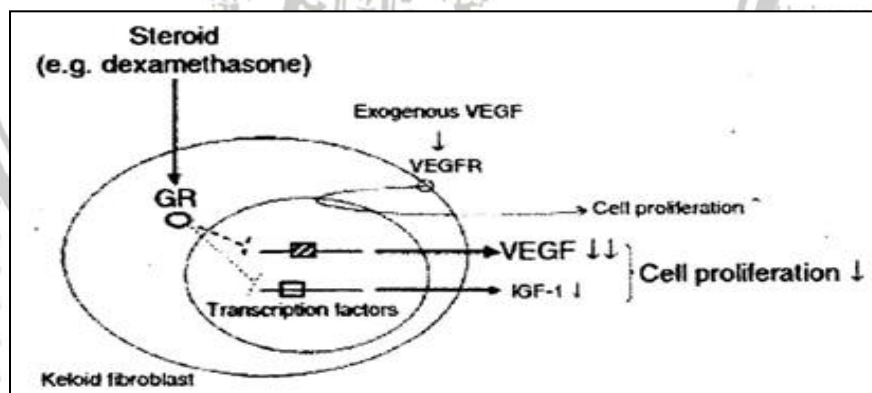
Sedangkan pemberian deksametason dapat menghambat sekresi TGF- β 1 dan memperbaiki EMT. Deksametason juga memperbaiki migrasi sel yang diinduksi oleh TGF- β 1. Peningkatan motilitas sel secara signifikan juga hampir kembali ke tingkat kontrol setelah pemberian deksametason. Dinyatakan juga bahwa pada pemberian deksametason dosis <10 mg/ml tidak memiliki efek sitotoksik yang signifikan terhadap sel tersebut.²⁸

Efek deksametason terhadap penyembuhan luka pada mukosa septum hidung tikus cobaditeliti oleh Khalmuratova R, et al, tahun 2011. Dinyatakan bahwa deksametason dapat menurunkan edema post operasi dibandingkan dengan grup kontrol. Pada hari ke-5 post operasi menunjukkan bahwa grup yang diberikan deksametason, fase granulasi berkurang ditandai dengan berkurangnya fibroblas, monosit dan angiogenesis dibandingkan dengan grup kontrol. Namun fibrosis yang terjadi tidak menunjukkan perbedaan signifikan antara grup diberikan deksametason dengan grup kontrol. Penelitian ini menggunakan deksametason yang diinjeksikan secara sistemik (0,15mg/KgBB) setelah terjadi luka pada mukosa hidung.⁵

Pernyataan lain disampaikan Miller M et al, 1990 yang melakukan penelitian terhadap kelinci yang dilakukan operasi filtrasi glaukoma. Pada penelitiannya deksametason 1% diberikan sebagai tetes mata dua kali per hari, memperlihatkan penurunan aktivitas sel makrofag, neutrofil dan fibroblas. Fibrin yang terbentuk tetap dan tidak berkurang karena sel radang yang bertugas mengabsorpsi juga berkurang. Pada pemeriksaan mikroskop elektron jaringan parut pada grup yang tidak diberikan deksametason dibandingkan dengan grup yang diberikan deksametason, tidak menunjukkan perbedaan. Namun demikian, jumlah sel fibroblas pada grup yang diberikan deksametason lebih sedikit dibandingkan dengan grup yang tidak diberikan deksametason. Sel fibroblas pada grup yang diberikan steroid banyak terdapat vakuola dan mitokondria yang berdilatasi.²⁹

Pemberian deksametason dapat menurunkan permeabilitas pembuluh darah setelah satu jam pemberian. Wen Sheng Wu et al, 2006 melakukan penelitian menilai kadar VEGF sel

fibroblas yang diambil dari jaringan keloid. Jaringan keloid diambil sebesar satu sentimeter dari pasien yang memiliki keloid yang tidak pernah diobati. Jaringan tersebut kemudian disentrifugasi, kemudian sel supernatan dan sel trombosit yang mengendap sebagai sedimen, di kultur. Sel supernatan tersebut kemudian diberikan perlakuan dengan deksametason dalam berbagai konsentrasi. Kemudian diukur kadar VEGF dengan menggunakan ELISA. Dalam penelitiannya didapatkan bahwa deksametason secara signifikan menurunkan ekspresi VEGF-A pada kultur sel supernatan setelah observasi 24 jam. Dalam hipotesisnya disebutkan deksametason dapat menghambat terjadinya keloid melalui penghambatan reseptor glukokortikoid, ekspresi VEGF dan proliferasi fibroblas. Dalam penelitian tersebut juga dilakukan pemberian VEGF eksogen pada sel fibroblas keloid yang sebelumnya diberikan deksametason, didapatkan bahwa proliferasi secara signifikan meningkat. Sehingga disimpulkan bahwa deksametason menghambat VEGF endogen (yang dibentuk oleh sel fibroblas keloid).⁸

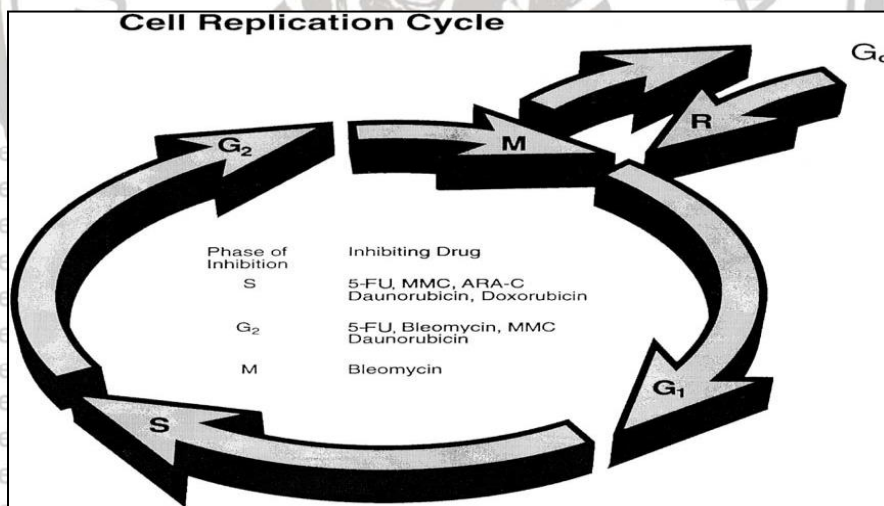


Gambar 5. Skema inhibisi ekspresi VEGF oleh steroid. Steroid (deksametason) menghambat proliferasi sel fibroblas keloid dan penurunan ekspresi VEGF endogen. Steroid menghambat *growth receptor* fibroblas sehingga proliferasi sel fibroblast memodulasi transkripsi VEGF dan transkripsi IGF-1, terutama menurunkan ekspresi VEGF.⁸

2.4 Mitomycin-C

2.4.1 Mekanisme Kerja

Mitomycin-C (MMC) adalah agen antineoplastik antibiotik yang diisolasi dari bakteri *Streptomyces caespitosus*. Mitomycin-C memiliki efek cytotoxic secara langsung melalui inhibisi DNA. Hal ini tidak tergantung pada siklus sel dan memiliki efek secara langsung pada konsentrasi yang diberikan. Mitomycin-c membentuk ion karbonium yang mengikat DNA double-stranded pada adenosine dan guanine fase akhir G atau fase S, mencegah pemisahan strand DNA selama replikasi, sehingga mitosis terhenti. Mitomycin-C juga mengikat promotor gen yang berguna dalam induksi sel RNA dan sintesis protein. Mitomycin-C memiliki efek antifibrotik dengan hambatan proliferasi fibroblas dan sintesa kolagen. Untuk mekanisme mitomycin-c sebagai obat antikanker adalah berikatan dengan DNA tumor sehingga replikasi DNA dari tumor terganggu dan lama kelamaan akan mati.³¹



Gambar 6. Skema inhibisi replikasi sel oleh berbagai agen antifibrotik.G₀: fase istirahat; G₁: pre-DNA synthesis; S = DNA synthesis; G₂: RNA synthesis; M: mitosis; R: recruitment fase.³²

Efek antifibrosis mitomycin-c pada dosis rendah diteliti oleh Kumar et al, 2016. Studi ini menyatakan bahwa konsentrasi rendah dan durasi terapi mitomycin-c jangka pendek dapat efisien mengurangi kontraksi dan migrasi yang tinggi dari HMNFs sebagai respons terhadap cedera.¹⁵ Dengan pemberian mitomycin-c dosis 0,2 mg/ml atau 0,5 mg/ml, maka konsentrasi mitomycin-c dalam humor aqueous berkisar 5,4-12,0 mg/ml. Mitomycin-c terdeteksi pada humor

aqueous beberapa menit setelah aplikasi. Nakamura dan Yamamoto, 1994, menyatakan bahwa mitomycin-c dapat menurunkan progresifitas fibroblas pada okuli lebih besar dibandingkan fibroblas pada daerah tubuh lain.³³ Mitomycin-c dosis 0,2 mg/mL ini memberikan stimulasi awal yang diperlukan jaringan rusak tanpa menyebabkan resiko fibrosis jangka panjang. Li et al, 2013, melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi efek sitotoksitas dan antifibrotik dari mitomycin-c pada fibroblas pita suara manusia normal dan bekas luka. Diberikan perlakuan mitomycin-c dosis 0,2; 0,5; atau 1mg/mL, dan kontrol. Hasilnya didapatkan penurunan sel fibroblas signifikan untuk kelompok perlakuan semua dosis pada hari ke 3 dan 5. Pewarnaan ekstraselular juga menunjukkan adanya apoptosis dan nekrosis, integritas membran sel berubah, dan terjadi pelepasan protein sitosolik ke lingkungan ekstraselular.³⁴

2.4.2 Efek Mitomycin-C terhadap Fibroblas

Sherwood et al, 2016, menyatakan mitomycin-c adalah alkylating, anti tumor antibiotik, umumnya digunakan dalam operasi karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi fibroblas dan menekan pertumbuhan vaskular. Mitomycin-c bersifat sitotoksik untuk fibroblas dan sel endotel mikrovaskuler, jadi tidak saja mengurangi produksi fibroblas, tapi juga suplai darah mikrovaskuler ke daerah tersebut. Sehingga penggunaan mitomycin c pada kasus glaucoma dapat menghambat proliferasi fibroblas dan jaringan parut bleb pasca trabekulektomi. Mitomycin-c intraoperasitersebut diberikan dengan konsentrasi 0.2mg/ml dan 0.4mg/ml pada kasus glaukoma resiko tinggi. Juga dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan keberhasilan atau komplikasi yang signifikan antara aplikasi mitomycin-c secara subkonjungtiva maupun intrasklera pada trabekulektomi tersebut.³²

Efek mitomycin-c pada soket kontraktur diteliti oleh Mandour S.S et al, 2016. Dilakukan studi acak prospektif pada 40 pasien dengan kontraktur soket. Kelompok A adalah pasien yang menjalani operasi rekonstruksi soket tanpa tambahan mitomycin-c. Kelompok B dengan tambahan mitomycin-c saat operasi. Pasien dievaluasi selama 12 bulan untuk dinilai

kedalaman fornix inferior (IF) dan kemampuan mempertahankan prostesaokular. Hasil yang ditemukan pada akhir masa follow up, kedalaman IF pasca operasi secara signifikan lebih dalam pada kelompok B (dengan mitomycin-c) daripada pada kelompok A (tanpa mitomycin-c).

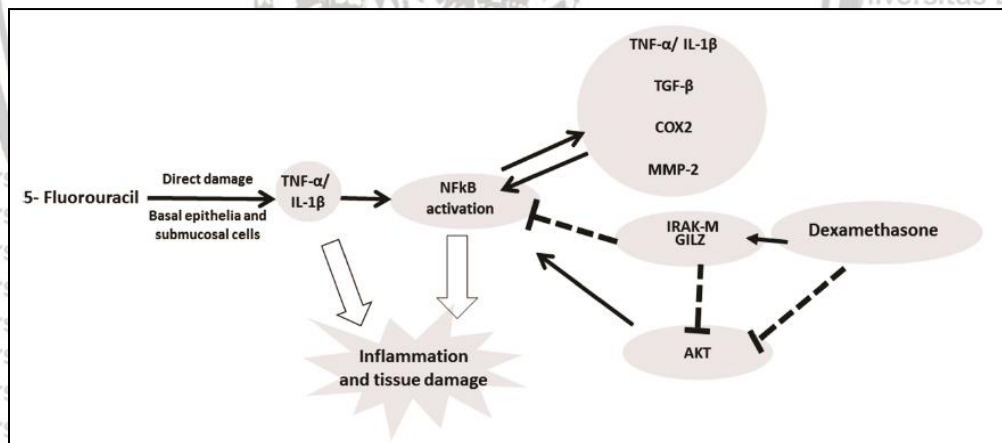
Sebanyak 75% pasien pada kelompok B dapat mempertahankan protesa, sedangkan hanya 35% kelompok A yang dapat mempertahankan protesa. Aplikasi mitomycin-c dalam kasus ini menekan proliferasi fibrosis dan pembentukan jaringan parut.⁷

Mitomycin-c menyebabkan penurunan ekspresi *transforming growth factor* (TGF)- β 1. Kumar et al, 2016 melakukan studi untuk mengetahui pengaruh mitomycin-c terhadap kontraksi dan migrasi fibroblas mukosa hidung manusia (*human nasal mucosal fibroblasts* atau HNMF) secara in vitro dan mengidentifikasi konsentrasi minimal mitomycin-c yang diperlukan untuk mencegah skar pada dacryocystorhinostomy (DCR). Perubahan myofibroblas dari HNMFs diinduksi menggunakan TGF- β 1 dan dikonfirmasi dengan pemeriksaan SMA. Dinyatakan bahwa mitomycin-c menghambat TGF- β 1, menurunkan kontraksi kolagen dan secara signifikan mengurangi migrasi HNMF pada konsentrasi rendah 0,2 mg/mL.³⁴ Wang et al, 2012, juga mengevaluasi manfaat mitomycin-c terhadap pertumbuhan fibroblas kulit dan sel keratinosit (sel HaCat). Fibroblas sel dermis dan sel HaCat dikultur secara in vitro dan diberi larutan mitomycin-c 0,4 dan 0,04 mg/ml, dan medium bebas serum sebagai kontrol. Dinyatakan bahwa mitomycin-c dapat menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis fibroblast serta menghambat proliferasi sel HaCat.³⁸ Dachlan et al 2016, juga meneliti efek mitomycin terhadap aktivitas fibroblas kolagen jaringan keloid. Keloid ini terjadi karena hiperaktivitas proliferasi dan migrasi fibroblas keloid (KF), bersamaan dengan tingkat degradasi kolagen yang rendah. Hiperaktivitas proliferasi dan migrasi fibroblas terjadi karena pengaruh TGF- β . Mitomycin-c digunakan mengobati keloid dengan aplikasi topikal dosis 0,02% sampai 0,08% selama operasi. Produksi TGF- β secara signifikan menurun dengan pemberian mitomycin-c pada kultur fibroblas keloid.³⁵

2.5 5-Fluorouracil

2.5.1 Mekanisme Kerja

Antimetabolit 5-Fluorouracil (5-FU) adalah analog uracil dan memiliki struktur kimia relatif terhadap thymine dan uracil. 5-Fluorouracil pertama kali di sintesa pada tahun 1957 oleh Dushinski et al. dan dipatenkan pada 1956 serta digunakan secara medis pada tahun 1962. Mekanisme kerja 5-fluorouracil (5-FU) adalah sebagai inhibitor thymidylate synthetase, dan memblok sintesa pirimidin-timidin, nukleosida yang dibutuhkan untuk replikasi DNA. 5-Fluorouracil bekerja pada fase S siklus sel dengan menghambat sintesis DNA dan membatasi ketersediaan timidilat. Agen fibrotic 5-fluorouracil juga menghambat sintesis, proses dan fungsi RNA. Meskipun demikian, hanya sel pada fase sintesis tertentu yang terpengaruh, sedangkan sel lainnya tetap melanjutkan proliferasi setelah paparan 5-fluorouracil selesai.³⁶



Gambar 7. Mekanisme antifibrotik 5-fluorouracil dan deksametason. Ditunjukkan 5-fluorouracil memiliki efek kerusakan sel secara langsung. Sedangkan untuk deksametason mempengaruhi sekresi sitokin yang kemudian menyebabkan kerusakan sel.⁴⁰

2.5.2 Efek 5-Fluorouracil Terhadap Fibroblas

Efek 5-fluorouracil pada jaringan fibroblas telah diamati oleh beberapa peneliti. Diantaranya oleh Ophir, pada tahun 1991 melakukan penelitian dengan menggunakan 5-fluorouracil (5-FU) untuk menghambat proliferasi fibroblas pada jaringan parut. Pengaruh 5-

flourouracil terhadap proliferasi fibroblas in vivo, 2 dan 4 minggu post injeksi menyebabkan akumulasi vakuola intrasitoplasma, perubahan morfologi dan penghambatan deposisi kolagen matriks.³⁷ Jemec et al, 2000, menyatakan bahwa 5-flourouracil dapat menurunkan diferensiasi dan kepadatan sel myofibroblas, secara signifikan pada kultur fibroblas Dupuytren dan penyakit fascia lain. Pengukuran tersebut menggunakan pemeriksaan immunohistokimia α -sma.³⁹

Ragoowansi et al, 2001, meneliti pengaruh paparan 5-flourourasil selama 5 menit terhadap produksi matriks metaloproteinase (*matrix metalloproteinase* atau MMP) fibroblas endotenon dan fibroblas sinovial. Fibroblas diambil dari tendon fleksor kelinci putih selandia baru dan dipapar dengan konsentrasi 5-flourourasil yang bervariasi (mulai dari 0.25mg/ml sampai 25mg/ml) selama 5 menit. Dianalisis produksi MMP pada hari ke 1, 3 dan 7 setelah paparan. Paparan 5-flourouracil tersebut menurunkan produksi MMP, khususnya MMP 2 dan 9. Reduksi ini signifikan pada sebagian besar konsentrasi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.³⁸

Paparan 5-flourouracil memiliki efek antiproliferasi yang signifikan pada fibroblas kapsul tenon. Merriman MB et al, 2001, melakukan penelitian untuk mengetahui apakah waktu pemaparan 5-Flourouracil (5-FU) yang lebih singkat memiliki efektifitas yang sama dalam penghambatan proliferasi fibroblas kapsul tenon. Penggunaan 5-FU secara umum diaplikasikan selama 5 menit menggunakan spon. Sampel diperoleh dari kapsul tenon pasien post operasi strabismus, kemudian direndam in vitro dalam 5-FU konsentrasi 50 mg/mL selama 1 sampai 10 menit. Kemudian dibiakkan selama 7 hari dan dianalisis kepadatan, viabilitas dan proliferasi sel.

Paparan 5-FU selama 1 dan 5 menit menghasilkan penghambatan yang serupa dan memiliki efek yang signifikan terhadap penurunan densitas sel dan persentase viabilitas sel dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan waktu paparan 3 dan 10 menit juga menghasilkan efek penghambatan yang serupa.⁴⁰

Sedangkan Kamal et al, 2013, melakukan studi retrospektif komparatif di pusat perawatan mata yang melibatkan pasien dewasa dengan kontraksi soket rekuren pascaoperasi setelah cangkok mukosa bukal. Kelompok A terdiri dari pasien yang diobati dengan injeksi subkonjungtiva 5-fluorouracil 10mg di fornix selama 5 minggu. Kelompok B terdiri dari pasien yang dijadikan kontrol. Ukuran hasil utama adalah kedalaman fornix superior (SFD), kedalaman inferior fornix (IFD) dan volume soket (SV) pada follow up 6 bulan. Terdapat peningkatan signifikan pada kedalaman fornix dan volume soket pada pasien kelompok A. Tidak terdapat kekambuhan dan efek samping yang terlihat pada akhir follow up kelompok A.⁶

Beberapa peneliti membandingkan efek beberapa golongan antifibrotik. Prabashwat, 2015; membandingkan efektifitas injeksi subkonjungtiva 5-fluorouracil (5-FU) dengan injeksi intralesi triamcinolone pada pterygium rekuren. Semua pasien telah menjalani eksisi pterygium 6 bulan sebelumnya. Sebanyak 109 mata dengan pterygium rekuren, dibagi menjadi 3 kelompok: 35 mata sebagai kontrol, 39 mata mendapat injeksi 5mg 5-FU/minggu selama 2 minggu, dan 35 mata menerima injeksi intralesi triamcinolone 20mg. Semua kelompok menerima prednisolon asetat 1% tetes mata 4 kali sehari selama 8 minggu. Dengan waktu follow up 10,9 +/- 5,5 bulan (kisaran 6-26 bulan), tingkat keberhasilan kelompok 5-fluorourasil dan triamcinolon lebih tinggi daripada kelompok kontrol (masing-masing 87,2%, 71,4%, dan 48,6%). 5-Fluorourasil secara signifikan lebih efektif dalam menghambat kekambuhan pterygium dibandingkan dengan kelompok kontrol sepanjang waktu selama masa follow up. Periode bebas kambuh kelompok 5-FU secara signifikan lebih lama dari pada kelompok kontrol, tetapi tidak signifikan antara kelompok triamcinolone dibandingkan dengan kelompok kontrol.⁴¹

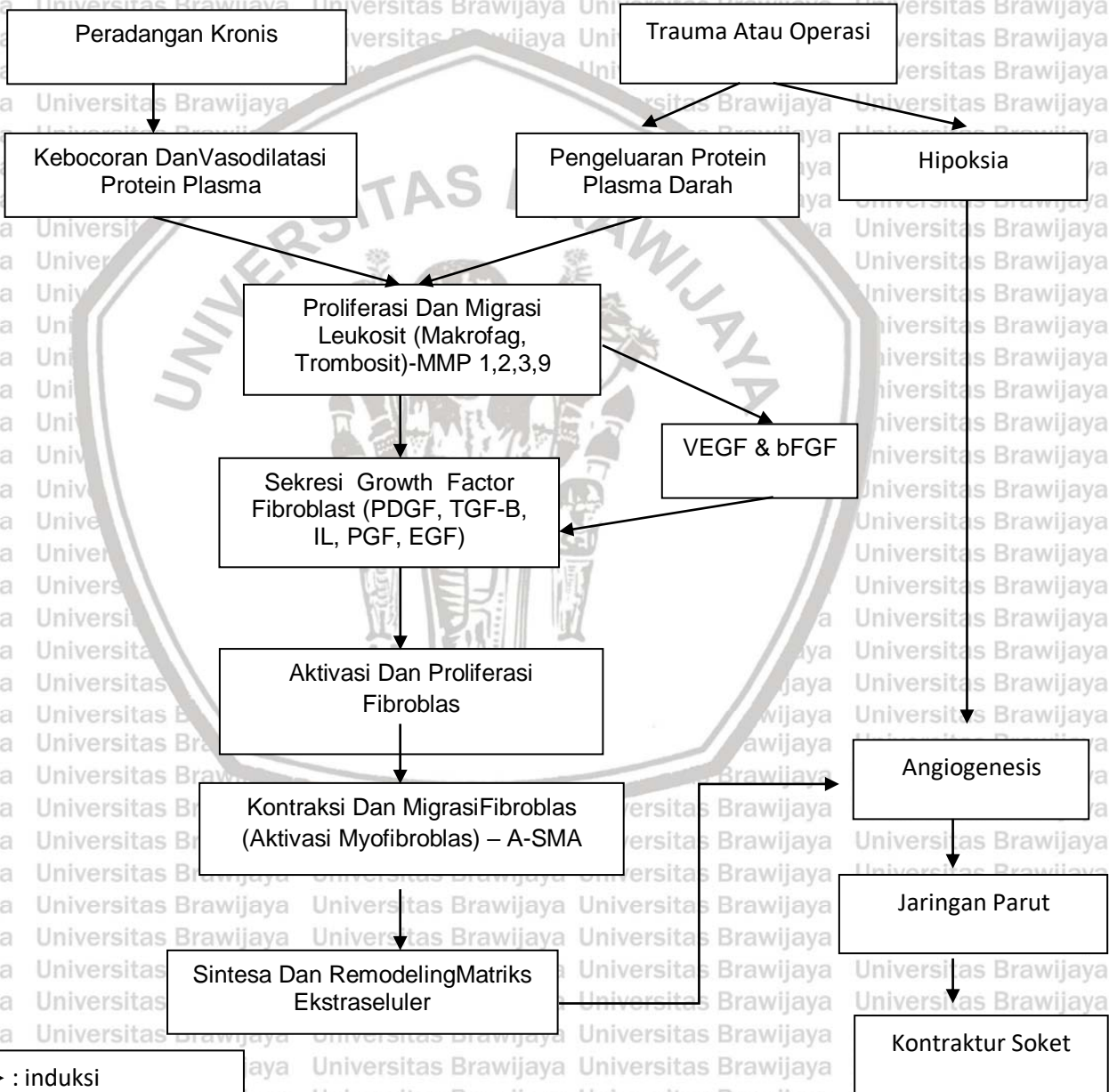
Tawfik et al, 2016, membandingkan efek lebih dari dua antifibrosis. Studi tersebut untuk mengetahui dampak injeksi tunggal berbagai agen anti-inflamasi, antimetabolit, dan antiangiogenik terhadap jumlah sel miofibroblas soket kontraktur. Percobaan tersebut dilakukan

pada kelinci yang dibagi menjadi 5 kelompok, dan masing-masing kelompok mendapat injeksi bevacizumab 25 mg/ml, triamcinolon: 40 mg/ml, 5-fluorourasil 50 mg/ml, mitomycin-c 0,4 mg/ml dan kelompok kontrol. Dilakukan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan *primary clone 1A4 antihuman mouse monoclonal α -SMA antibody*, dilakukan rata-rata 5 pembacaan jumlah myofibroblas di setiap slide. Infiltrasi inflamasi seluler kronik terjadi pada kelompok kontrol dan terdapat penurunan densitas inflamasi pada kelompok dengan perlakuan. Juga ditemukan bentuk *spindle shape cellyang* diasumsikan sebagai myofibroblas. Hasil hitung rata-rata ekspresi α -SMA antibody myofibroblas tertinggi adalah pada kelompok kontrol, dan semua kelompok perlakuan mengalami penurunan jumlah myofibroblas signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dari evaluasi menunjukkan bahwa kelompok mitomycin-c mencapai nilai rata-rata myofibroblas terendah, diikuti oleh kelompok triamcinolone. Sedangkan kelompok bevacizumab mengalami penurunan jumlah myofibroblas paling sedikit.⁹

BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori

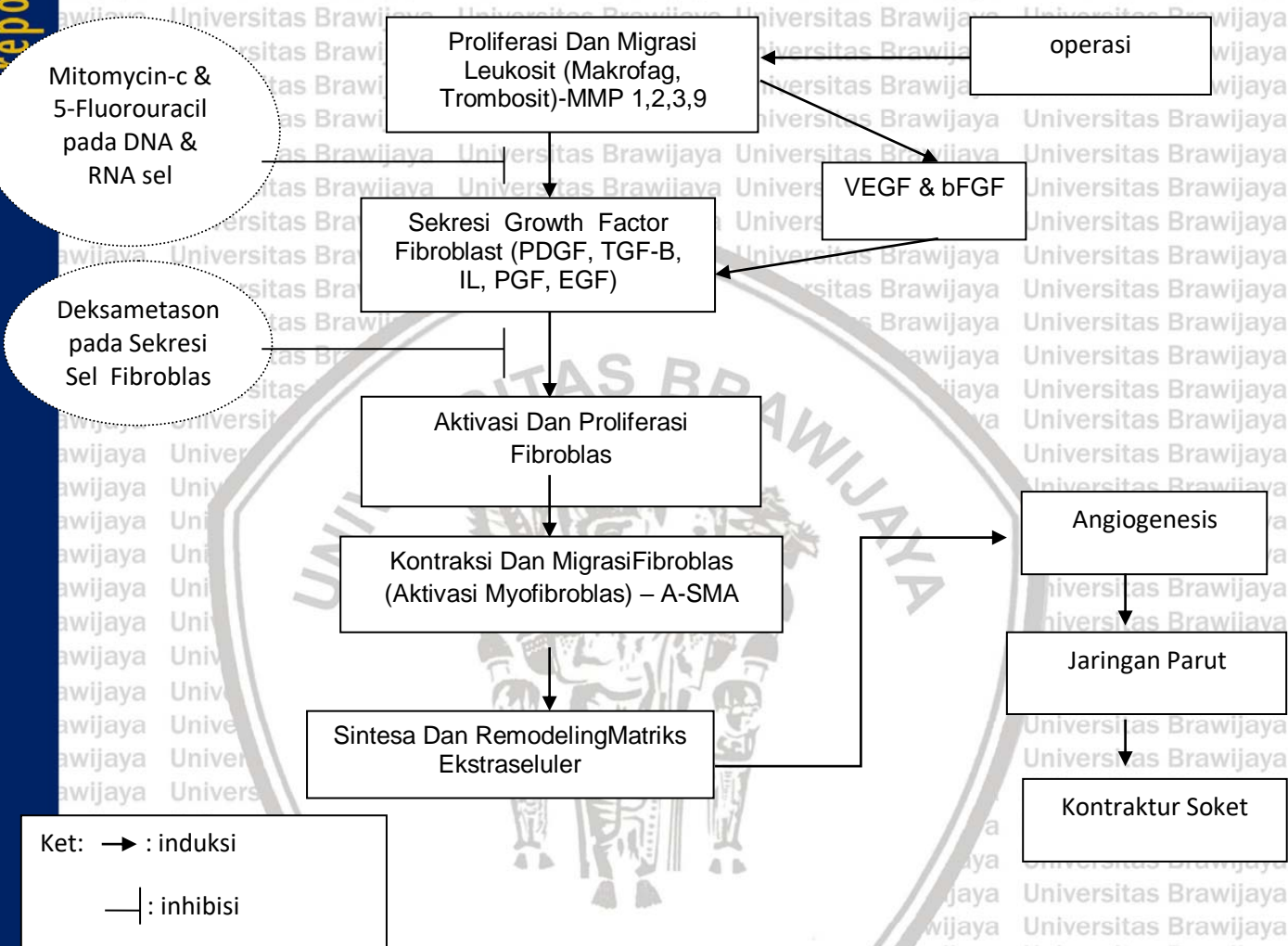


Ket: → : induksi

—| : inhibisi



3.2 Kerangka Konsep



3.3 Hipotesa Penelitian

Terdapat perbedaan-perbedaan efektifitas antara deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorouracil dalam menurunkan ekspresi α -SMA soket kontraktur.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris in vitro pada kultur sel fibroblas jaringan soket kontraktur yang kemudian dipapar oleh deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorouracil dan kelompok kontrol.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Faal dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli 2018 sampai selesai.

4.3 Kelompok Penelitian

Ethical approval diperoleh dari komite etik RSU dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang. Sampel merupakan jaringan soket hasil diseksi soket kontraktur dari 1 pasien yang secara *procedural* diambil saat operasi dan dilakukan kultur jaringan sel fibroblas untuk dijadikan sampel penelitian.

Sampel dikelompokkan kedalam empat kelompok sebagai berikut:

Kelompok 1: diukur ekspresi α -SMA antibody tanpa diberikan perlakuan (kontrol).

Kelompok 2: diberikan deksametason dosis 16 mg/ml, kemudian diukur ekspresi α -SMA antibody.

Kelompok 3: diberikan mitomycin-c dosis 0,4mg/ml, kemudian diukur ekspresi α -SMA antibody.

Kelompok 4: diberikan 5-fluorouracil dosis 50mg/ml, kemudian diukur ekspresi α -SMA antibody.

4.3.1 Kriteria Inklusi

Kultur sel fibroblas yang tumbuh berbentuk gelondong (*spindle shape*), inti sel lonjong dan sitoplasma bercabang.

4.3.2 Kriteria Eksklusi

- Hasil pemeriksaan immunohistokimia tidak dapat dievaluasi.
- Kultur mengalami kontaminasi jamur (fungi), mikroorganisme lain maupun bahan kimia lain
- Sel kultur tidak tumbuh

4.4 Variabel dan Definisi Operasional Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Penelitian

- Variabel bebas adalah deksametason dosis 16 mg/ml, mitomycin-c dosis 0,4mg/ml, 5-fluorouracil dosis 50mg/ml dan kontrol
- Variabel tergantung adalah kadar dan ekspresi α -SMA antibody fibroblas jaringan soket kontraktur.

4.4.2 Definisi Operasional Variabel Penelitian

- Soket kontraktur adalah penyusutan sebagian atau seluruh jaringan orbita yang menyebabkan pendangkalan forniks dan berkurangnya volume orbita sehingga protesa tidak dapat tertahan sempurna didalam orbita

- Kultur sel fibroblas adalah biakan sel fibroblas yang diambil dari jaringan soket kontraktur berbagai derajat (tidak memandang derajat soket kontraktur) yang diisolasi pada saat operasi rekonstruksi soket di RSSA dan ditanam pada media kultur.
- Deksametason adalah glukokortikoid yang diambil dari sediaan ampul kalmethasone dengan dosis 16 mg/ml, dan diambil menggunakan mikropipet.
- Mitomycin-c adalah mitomycin yang diambil dari sediaan vial mytomycin-c kyowa yang dilarutkan sehingga didapatkan dosis 0,4 mg/ml, dan diambil menggunakan mikropipet.
- 5-Fluorouracil adalah analog pyrimidin yang diambil dari sediaan vial 5-fluorouracil yang dilarutkan sehingga didapatkan dosis 50 mg/ml, dan diambil menggunakan mikropipet.
- Ekspresi α -SMA antibody adalah densitas berwarna kecoklatan pada pemeriksaan mikroskop dengan pewarnaan imunohistokimia H&E.

4.5 Penentuan Besaran Replikasi Penelitian

Perhitungan besaran sampel penelitian berdasarkan rancangan penelitian eksperimental dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$[(t-1)(r-1) \geq 15]$$

Dimana t adalah banyaknya kelompok penelitian dan n adalah jumlah sampel pada tiap kelompok. Pada penelitian ini didapatkan 4 kelompok penelitian, maka jumlah replikasi yang diperlukan pada tiap kelompok adalah 5 kali. Dengan demikian banyak sampel yang diperlukan pada penelitian adalah sebanyak 20 well. Untuk setiap sampel penelitian

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Alat Penelitian

- ✓ Sarung tangan steril
- ✓ Jas laboratorium

- ✓ sentrifugator
- ✓ Gelas obyek
- ✓ plate
- ✓ Incubator
- ✓ Tip pipet
- ✓ Mikroskop cahaya

4.6.2 Bahan Penelitian

1. Kultur Sel Fibroblas

- a. Jaringan diambil dari soket kontraktur pasien yang dilakukan operasi rekonstruksi soket di RSSA malang.
- b. Collagenase II (Invitrogen, Carlsbad, CA).
- c. Falcon T-25 flasks (Becton-Dickinstori, Franklin Lakes, NJ).
- d. DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium).
- e. Serum fetal sapi / fetal bovine serum.
- f. Antibiotic-antimikroba (Gibco, Carlsbad, CA).
- g. Falcon T-75 flasks (Becton-Dickinson, Bedford, MA).
- h. Trypsin 0.05%.
- l. Phosphate-buffered saline.

2. Perlakuan:

- Deksametason dengan dosis 16 mg/ml.
- Miyomycin-c dosis 0,4 mg/ml.
- 5-Fluorouracil dosis 50mg/ml.

4.7 Cara Kerja Penelitian

4.7.1 Pengambilan Sampel dan Reagen

Eksisional atau insisional biopsi sebesar kurang lebih satu sentimeter atau melalui *punch biopsi* jaringan soket kontraktur pasien. Tindakan ini telah mendapat persetujuan etikolegal RSSA Malang dan sesuai deklarasi Helsinki.

1. Jaringan konjungtiva soket kontraktur di potong-potong sebesar 1 mm³ menggunakan pisau bedah ukuran 11. Collagenase II (Invitrogen, Carlsbad, CA) 750 U/ml ditambahkan pada potongan fragmen tersebut dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 jam.
2. Ambil campuran tersebut dengan menggunakan jarum 18G, 21G atau 23G, sebanyak 4 kali untuk tiap-tiap jarum. Kemudian sampel di sentrifugasi pada kecepatan 1500 radius per menit (RPM) selama 5 menit.
3. Sel di letakan pada media Falcon T-25 flasks (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ) dengan 5 ml DMEM kultur media. Media kultur mengandung 10% serum fetal sapi / *fetal bovine serum* (Hyclone, Taurange, New ZEland) dan antibiotik-antimikotik (Gibco, Carlsbad, CA).
4. Sel kultur disimpan pada suhu 37 °C pada inkubator yang dijaga kelembapannya dengan 5% Co₂.
5. Media diganti setiap 3 hari sampai dengan fibroblas tumbuh dengan baik. Ketika fibroblas tumbuh dengan baik, kemudian dilakukan sub kultur dengan menggunakan 75-Cm² Falcon T-75 flasks (Becton-Dickinson, Bedford, MA) menggunakan trypsin 0.05% (Gibco) dalam larutan garam sulfat (phosphate- buffered saline).
6. Sub kultur di tempatkan pada media DMEM bebas serum tanpa kandungan phenol red-containing 0.1% serum albumin sapi (Sigma, St Louis, MO) dan antibiotik.
7. Subkultur dilakukan 3 kali sebelum diberikan perlakuan.

4.7.2 Perlakuan Fibroblas

1. Kultur sel fibroblas di berikan deksametason 16mg/ml, mitomycin-c 0,4mg/ml dan 5-fluorouracil 50mg/ml selama 24 jam.
2. Kultur sel kemudian diinkubasi pada 95°C selama 5 menit, di amplifikasi pada suhu 95°C selama 10 detik dan 55°C selama 3 detik.

4.8 Pemeriksaan Kadar α -SMA Antibody

4.8.1 Alat dan Bahan Yang Dibutuhkan

- Primary clone 1A4 antihuman mouse monoclonal α -SMA antibody
- Serum bovine albumin (Cat #M0851, Dako, Carpinteria, CA, USA)
- Avidine-Biotine Immunoperoxidase complex (Biogenex, C.A, USA)
- Hematoxyllin
- Olympus Microscope (Cx51)

4.8.2 Prosedur pemeriksaan α -SMA Antibody

- Pemeriksaan imunohistokimia menggunakan Primary clone 1A4 antihuman mouse monoclonal α -SMA antibody yang dilarutkan dengan Serum bovine albumin (Cat #M0851, Dako, Carpinteria, CA, USA) sebesar 1:50.
- Avidine-Biotine Immunoperoxidase complex (Biogenex, C.A, USA) digunakan untuk mendeteksi antibody yang terikat.
- Kemudian jaringan difiksasi dengan poly-L-coated slides selama 1 malam.
- Dilakukan parafinisasi dan rehidrasi dengan alcohol, kemudian dipanaskan dengan microwave dalam 10mM citrate buffer (pH 6,0)
- Dilakukan block endogen peroxide dan inkubasi dalam Protein block serum-free solution (Dakocytomation, Glostrup, Denmark) selama 20 menit.
- Diinkubasi dengan α -SMA Antibody

Dikonjugasi dengan Biotinylated antimouse immunoglobulin dan streptavidine, kemudian ditambahkan horseradish peroxidase, dan chromogen untuk membentuk produk insoluble berwarna coklat.

Kemudian dilakukan pewarnaan hematoxylin.

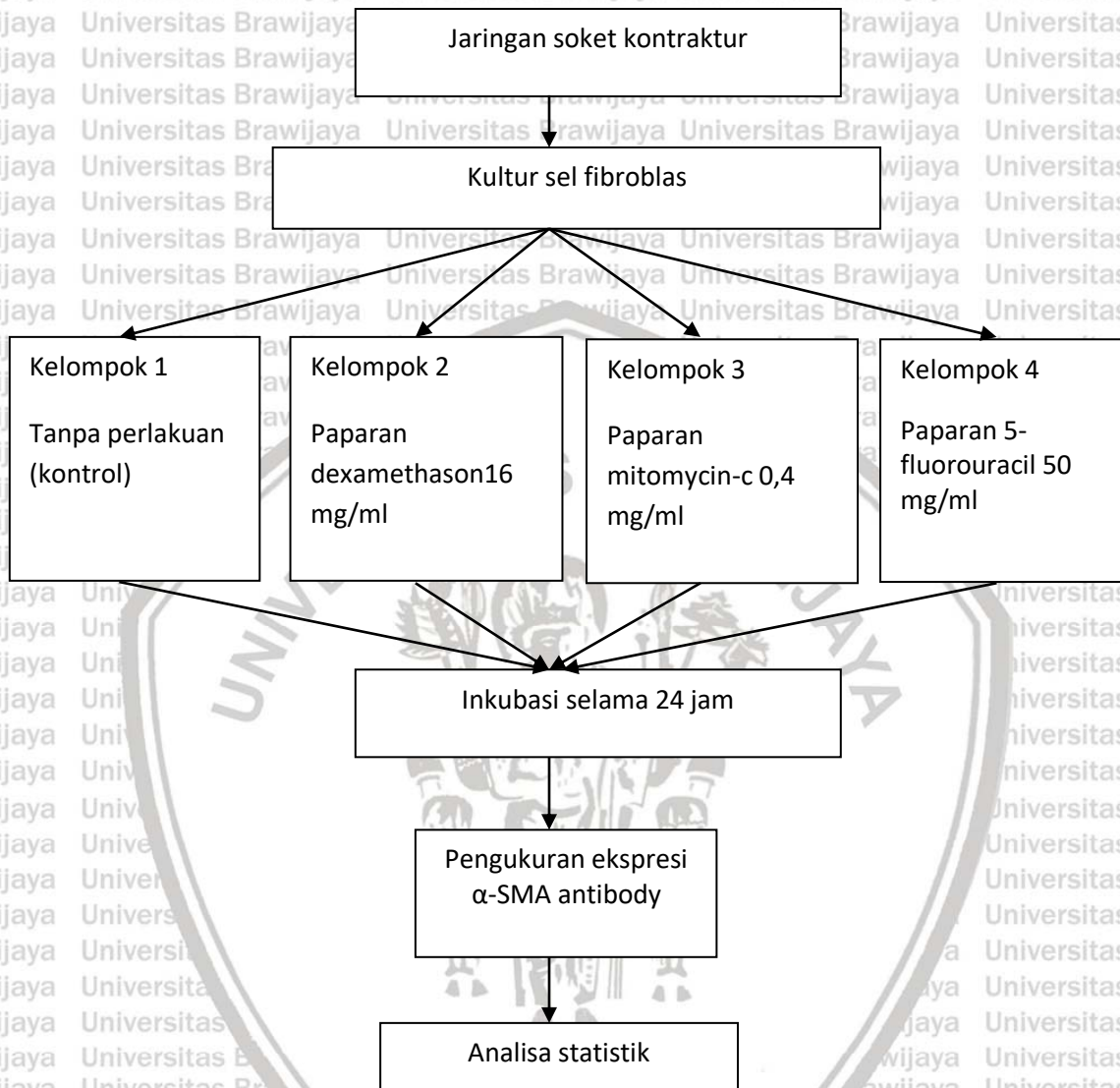
Setiap specimen diperiksa ekspresi α -SMA antibody menggunakan Olympus Microscope (Cx51) dengan perbesaran 400x. Ini dapat memeriksa daerah lapang pandang horizontal 313.32 μ m, dan vertical 233.13 μ m.

4.9 Analisis Data

Analisa data untuk mengetahui efek pemberian deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorouracil terhadap ekspresi α -SMA antibody dilakukan sebagai berikut:

- Untuk mengetahui perbandingan proporsi data ekspresi α -SMA antibody antar kelompok dilakukan dengan uji *One Way Anova*
- Untuk membandingkan data ekspresi α -SMA antibody dari masing-masing kelompok perlakuan tersebut dilakukan dengan uji *Tukey*
- Uji statistik dikatakan bermakna bila $p < 0,05$.
- Data disajikan dalam bentuk tabulasi menggunakan program *software SPSS21*.

4.10 Alur Kerja Penelitian



4.11 Organisasi Penelitian

Peneliti : dr. Tina

Pembimbing 1 : DR.dr. Debby Shintiya Dewi, Sp.M(K)

Pembimbing 2 : dr. Hidayat Sujuti, Sp.M. Ph.D

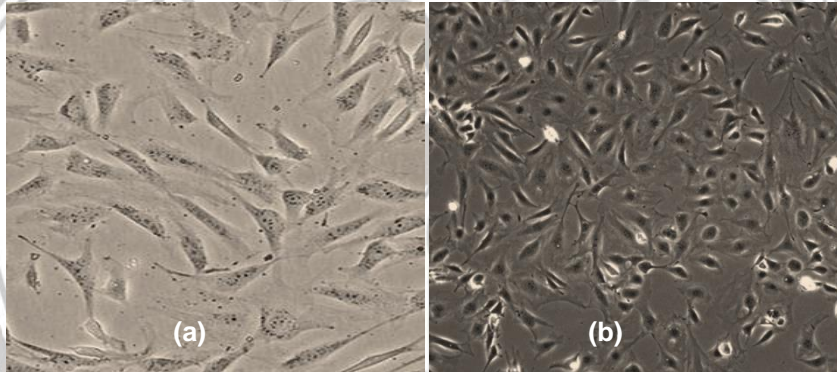
4.12 Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	2017					2018			
		Jun	Jul	Ags	Sept	Okt	Nov	Jul	Ags	Sept
1.	Studi Kepustakaan									
2.	Pengajuan Judul									
3.	Pembuatan Usulan Penelitian									
4.	Konsultasi Usulan Penelitian									
5.	Presentasi Usulan Penelitian									
6.	Pelaksanaan Penelitian									
7.	Pembuatan Laporan Penelitian									
8.	Presentasi Laporan Penelitian									
9.	Pengumpulan Laporan Penelitian									

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Kultur Sel Myofibroblas Jaringan Soket Kontraktur

Sel kultur pada penelitian ini menggunakan kultur sel myofibroblas yang berasal dari jaringan penderita soket kontraktur yang diperiksa di Poliklinik Mata RS. Saiful Anwar, Malang, dan kemudian menjalani operasi rekonstruksi soket kontraktur.

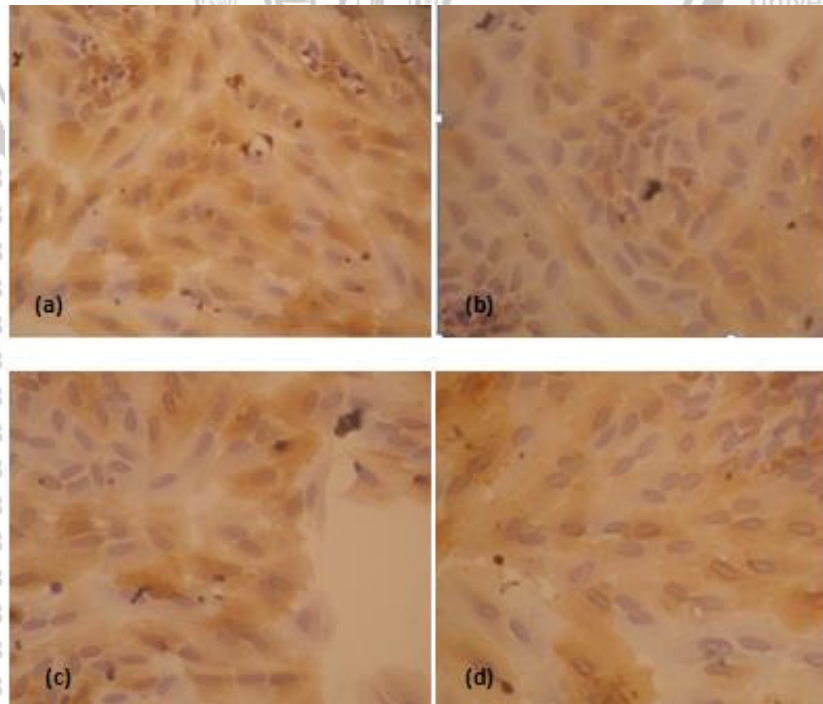


Gambar 5.1 Kultur sel myofibroblas dilihat menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 40x. (a) Kultur sel myofibroblas pada minggu kedua, (b) Kultur sel myofibroblas pada minggu kelima, tampak sel myofibroblas yang telah konfluens.

Pada pemeriksaan kualitatif sel myofibroblas menunjukkan permukaan epitel konjungtiva yang utuh di semua kelompok, dengan stroma yang menunjukkan peradangan kronis. Pada gambar diatas tampak gambaran kultur sel myofibroblas dari jaringan penderita soket kontraktur, dimana terlihat sel yang aktif berbentuk lonjong atau gelendong pipih (*spindle shaped*), dengan permukaan sel yang rata, membran plasma dan sitoplasma matriks ekstraseluler, monolayer, dan tidak didapatkan adanya sel – sel myofibroblas yang mengalami kerusakan. Sel yang rusak akan ditandai dengan permukaan sel yang iregular akibat kerusakan membran sel, terlepasnya sel dari plate kultur, maupun terjadi vakuolisasi sitoplasma. Pada

gambar 5.1 b, tampak kultur sel yang konfluens yang telah mencapai 70% konfluens. Keadaan ini ditandai dengan pertumbuhan sel yang rapat serta memenuhi 70% ruangan pada plate kultur.

Sedangkan pemeriksaan kuantitatif sel myofibroblas dapat diidentifikasi menggunakan pewarnaan imunohistokimia dengan melihat ekspresi dari α -SMA yang berupa densitas berwarna kecoklatan. Hasil penelitian ini menunjukkan jumlah sel myofibroblas tertinggi pada kelompok kontrol. Pada kelompok MMC memiliki jumlah rata-rata terendah ($p = 0,000006$), diikuti dengan kelompok 5-fluorouracil ($p = 0,00048$), sedangkan kelompok deksametason menunjukkan angka rata-rata pengurangan jumlah myofibroblas paling sedikit ($p = 0,00148$). Pada semua kelompok perlakuan mengalami penurunan jumlah rata-rata sel myofibroblas yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada gambar berikut tampak gambaran kultur sel myofibroblas dari jaringan penderita soket kontraktur, dimana terlihat sel yang berbentuk lonjong atau gelendong pipih (*spindle shaped*), dan disertai gambaran ekspresi dari α -SMA yang berwarna kecoklatan.



Gambar 5.2 Pewarnaan imunohistokimia α -SMA kultur sel myofibroblas. Ekspresi α -SMA dari sel myofibroblas ditunjukkan dengan densitas berwarna kecoklatan. (a) kelompok kontrol, (b) kelompok deksametason, (c) kelompok 5-FU, (d) kelompok MMC.

5.1.2 Data Hasil Penelitian

Pada penelitian ini, untuk mengetahui efektifitas deksametason, mitomycin c dan 5-fluorouracil terhadap ekspresi α -smooth muscle actine antibody pada kultur sel myofibroblas dari jaringan soket kontraktur, maka digunakan deksametason dosis 16mg/ml, mitomycin c dosis 0,4mg/ml, 5-fluorouracil dosis 50mg/ml dan kontrol positif. Adapun hasil penelitian ini tertera pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Penelitian Efektifitas Deksametason, Mitomycin-C Dan 5-Fluorouracil Terhadap Ekspresi α -SMA Jaringan Soket Kontraktur

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
Deksametason	67.60	74.40	52.50	74.20	49.20	55.50
5-fluorouracil	13.00	19.40	21.40	41.40	67.00	65.60
Mitomycin-C	46.50	30.80	24.80	25.60	27.00	25.00
Kontrol	81.80	73.40	82.60	90.80	77.20	80.40

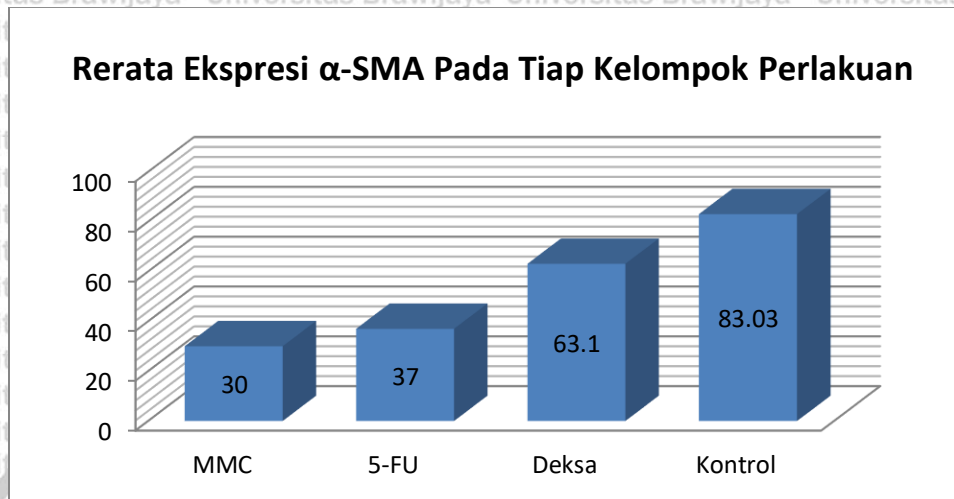
Hasil rerata jumlah sel myofibroblas dirangkum pada tabel 5.2. Dari tabel tersebut tampak penurunan jumlah sel myofibroblas pada semua kelompok perlakuan, yaitu deksametason dosis 16mg/ml, mitomycin-c dosis 0,4mg/ml, dan 5-fluorouracil dosis 50mg/ml daripada kelompok kontrol.

Tabel 5.2 Rerata Jumlah Sel Myofibroblas Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation
5-Fluorouracil	5	37.000	3.700
Deksametason	5	63.100	4.522
Mitomycin-C	5	30.000	6.808
Kontrol	5	83.032	3.295

Berikut jumlah rata-rata sel myofibroblas pada tiap kelompok, yaitu kelompok 5-fluorouracil, Deksametason, Mitomycin-C dan kelompok kontrol. Tampak jumlah sel myofibroblas paling banyak pada kelompok kontrol, yang diikuti kelompok perlakuan

deksametason, dan kelompok perlakuan 5-fluorouracil, serta jumlah sel myofibroblas paling sedikit terdapat pada kelompok perlakuan mitomycin-c.



Grafik 5.3 Rerata Ekspresi α-SMA Pada Tiap Kelompok Perlakuan. Rerata ekspresi α-SMA yang terendah pada kelompok perlakuan dengan Mitomycin-C, dan tertinggi pada kelompok kontrol.

5.2 Analisa Statistik

Pengujian yang dilakukan menggunakan metode uji beda rata-rata yaitu dengan uji one-way Anova (untuk lebih dari 2 kelompok perlakuan), namun sebelum dilakukan pengujian tersebut, ada asumsi yang mendasari yaitu uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogorof-smirnof, dan uji homogenitas dengan uji Levene's. Jika data yang digunakan tidak memenuhi salah satu atau semua asumsi, maka dilakukan pengujian pengganti one-way Anova, yaitu uji Kruskal Wallis.

5.2.1 Uji Normalitas

Dari hasil pengamatan sampel penelitian, dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui distribusi/sebaran data.

Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas Jumlah Sel Myofibroblas

Kelompok	Signifikansi
Jumlah Sel	0,383

Berdasarkan pengujian normalitas data menunjukkan bahwa data hasil analisa jumlah sel memiliki nilai signifikansi lebih besar dari α (0.05), sehingga dapat disimpulkan bahwa data jumlah sel myofibroblas tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan *one-way* ANOVA, karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi.

5.2.2 Uji Homogenitas

Dari hasil pengamatan sampel penelitian, dilakukan uji homogenitas data untuk mengetahui bahwa sekumpulan data memiliki kesamaan ragam antar kelompok. Pada penelitian ini dilakukan uji Levene.

Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas Jumlah Sel Myofibroblas

Uji	Nilai
Statistik Levene	2,310
Signifikansi	0,115

Berdasarkan hasil uji Levene memiliki nilai signifikansi 0,115 yang lebih besar dari nilai α 0.05 ($p > 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data jumlah sel myofibroblas tersebut relatif homogen. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan *one-way* ANOVA, karena asumsi homogenitas ragam data telah terpenuhi.

5.2.3 Uji Perbedaan Menggunakan One Way Anova

Tabel 5.6 Hasil Uji Perbedaan Rerata Jumlah Sel Myofibroblas

Uji F Hitung	Signifikansi	F table	Kesimpulan
130,532	0.000	3.239	Signifikan

Berdasarkan hasil yang tercantum pada table 5.5, diperoleh nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel dan nilai signifikansi sebesar 0,000 lebih kecil dari α (0.05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel myofibroblas pada masing-masing kelompok. Untuk melihat letak perbedaanya, dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey.

Tabel 5.7 Hasil Uji Lanjut Perbedaan Rerata Jumlah Sel Myofibroblas

Perbandingan kelompok	Beda Rerata	Sig.	Kesimpulan
5FU dengan Deksametason	-26.100	0.000	Signifikan
5FU dengan MMC	7.000	0.136	Tidak Signifikan
5FU dengan Kontrol	-46.032	0.000	Signifikan
Deksametason dengan MMC	-33.100	0.000	Signifikan
Deksametason dengan Kontrol	-19.932	0.000	Signifikan
MMC dengan Kontrol	-53.032	0.000	Signifikan

Berdasarkan hasil yang tercantum pada table 5.7 didapatkan perbandingan antara kelompok sebagai berikut, yaitu kelompok 5-fluorouracil memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok deksametason dan kelompok kontrol. Kelompok deksametason memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok mitomycin-c dan kelompok kontrol. Kelompok mitomycin-c memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol. Namun kelompok 5-fluorouracil memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok mitomycin-c.

6.1 Ekspresi α -smooth muscle actine antibody pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur

Myofibroblas merupakan sel yang berasal dari jaringan fibroblas. Fibroblas ini berevolusi menjadi myofibroblas pada proses penyembuhan luka dan memiliki karakteristik berupa kekuatan kontraktile serta mengekspresikan suatu actine isoform yang disebut alpha-smooth muscle actin (α -SMA), suatu actine yang umumnya ditemukan pada sel otot polos vaskular. Ekspresi α -SMA dari myofibroblas ini diperiksa dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia.^{18,22}

Pada penelitian ini dilakukan penghitungan jumlah sel myofibroblas kultur jaringan soket kontraktur, yang mewakili kadar ekspresi α -SMA. Dimana hasil rata-rata penghitungan sel myofibroblas yang didapatkan pada kelompok kontrol adalah sebesar 83,032. Kelompok kontrol adalah kelompok kultur sel myofibroblas dari jaringan soket kontraktur yang tidak mendapatkan paparan apapun. Pada penelitian lain yang juga menggunakan sel myofibroblas didapatkan hasil penghitungan jumlah rata-rata sel yang bervariasi. Tawfik HA, et al, 2016, melakukan penelitian yang membandingkan efek injeksi tunggal berbagai agen antifibrotik, yaitu Bevacizumab dosis 25mg/ml, Triamcinolone dosis 40mg/ml, 5-Fluorouracil dosis 50mg/ml, Mytomicin-C dosis 0,4mg/ml dan kelompok kontrol pada jaringan socket kelinci. Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan pengukuran jumlah myofibroblas jaringan socket pada kelompok kontrol kelinci adalah 321. Dimana ekspresi α -SMA yang dilihat berupa densitas kecoklatan pada kultur sel myofibroblas. Kelinci yang digunakan pada penelitian ini merupakan kelompok kelinci sehat dan tidak dilakukan induksi model peradangan apapun terlebih dahulu sebelum dijadikan sampel penelitian. Gruezo KG, et al, 2007, juga melakukan penelitian yang

membandingkan efektivitas Triamcinolone dengan Mitomycin-C pada kelinci yang dilakukan operasi *filtrasi*, dan kemudian diberikan terapi antibiotik tetes post operasi. Hasil penghitungan rata-rata sel myofibroblas pada kelompok kontrol adalah sebesar 32. Yu E et al, 1993, yang melakukan penelitian terhadap ekspresi α -SMA pada berbagai jenis penyakit pada organ hati, menyatakan bahwa populasi sel myofibroblas yang mengekspresikan α -SMA antara satu kasus penyakit dengan kasus lainnya bervariasi. Sebagaimana kita tahu bahwa myofibroblas ini terbentuk pada proses penyembuhan luka, sehingga kondisi patologis yang mendasari penyakit tersebut dan reaksi inflamasi yang terjadi sangatlah mempengaruhi sel myofibroblas yang terbentuk pada keadaan tersebut. Sehingga hal inilah yang menyebabkan adanya variasi hasil rata-rata penghitungan jumlah sel myofibroblas antara satu penelitian dengan penelitian lain.

9,42,43

6.2 Efek deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorouracil terhadap ekspresi α -sma kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur berdasarkan analisis data

Berdasarkan hasil data penilaian rata-rata kadar ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur pada masing-masing kelompok, maka dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa paparan deksametason dosis 16 mg/ml, mitomycin-c dosis 0,4 mg/ml dan 5-fluorouracil dosis 50 mg/ml, menunjukkan efek atau pengaruh yang signifikan pada ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas. Pada kelompok paparan mitomycin-c didapatkan hasil pengukuran penurunan jumlah rata-rata sel myofibroblas yang paling banyak, diikuti oleh masing-masing kelompok paparan 5-fluorouracil dan kemudian kelompok paparan deksametason. Sedangkan pengukuran penurunan jumlah rata-rata sel myofibroblas paling sedikit pada kelompok kontrol. Perbedaan ekspresi tersebut selanjutnya akan dianalisis sehingga dapat diketahui apakah perbedaan tersebut signifikan atau tidak.^{9,24}

Pada analisis dengan menggunakan one-way Anova untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari berbagai jenis paparan, yaitu deksametason dosis 16mg/ml,

mitomycin-c dosis 0,4mg/ml dan 5-fluorouracil dosis 50mg/ml terhadap ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur, menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur pada kelompok perlakuan dengan paparan deksametason, mytomycin-c dan 5-fluorouracil. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang terangkum dalam literatur, dimana pada paparan dengan menggunakan deksametason, mitomycin-c dan 5-fluorouracil dapat menurunkan ekspresi dari α -SMA. ^{8,9,34,35,37,44}

Selanjutnya pada analisis data menggunakan metode *Tukey's test* akan dilakukan perbandingan terhadap data ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur antara setiap kelompok perlakuan. Dari hasil analisis tersebut, dapat disimpulkan bahwa rata-rata ekspresi α -SMA pada kelompok kontrol berbeda secara signifikan atau bermakna dibandingkan dengan ekspresi α -SMA pada kelompok yang diberi paparan, yaitu deksametason dosis 16mg/ml, mytomycin-c dosis 0,4mg/ml dan 5-fluorouracil dosis 50mg/ml, dengan $p < 0,05$. Hal ini sesuai dengan tujuan penelitian ini, dimana memang terdapat perbedaan ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur yang mendapatkan paparan berbagai agen antifibrotik, yaitu deksametason, mytomycin-c dan 5-fluorouracil dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan paparan atau kontrol. ^{8,9,35,44}

Pada perbandingan rata-rata ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur pada kelompok yang diberi paparan pada masing-masing kelompok perlakuan, deksametason dosis 16mg/ml, mytomycin-c dosis 0,4mg/ml dan 5-fluorouracil dosis 50mg/ml, secara umum didapatkan perbedaan yang signifikan atau bermakna. Pada perbandingan rata-rata ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur antara kelompok paparan deksametason dengan kelompok paparan 5-fluorouracil dan kelompok paparan mytomycin-c didapatkan perbedaan yang signifikan atau bermakna, dengan masing – masing nilai $p < 0,000$ ($p < 0,05$). Amer R, et al, 2015, melakukan penelitian terhadap jaringan fibroblas pterygium yang dipapar dengan deksametason dan mytomycin-c. Dari hasil tersebut didapatkan efek hambatan

mytomycin-c terhadap proliferasi fibroblas yang signifikan dengan nilai $p < 0,001$ dan efek penghambatan proliferasi maksimal adalah sebesar 98,52% pada konsentrasi 10^3 M. Sedangkan pada kelompok paparan deksametason dapat memberikan penghambatan maksimal hanya sebesar 77,1% dan diperlukan konsentrasi maksimal untuk mendapatkan hasil penghambatan tersebut. Chang S, et al, 2009, melakukan penelitian pada fibroblas kornea manusia yang dipapar dengan mytomycin-c atau deksametason, dan didapatkan hasil bahwa mytomycin-c dapat mempengaruhi viabilitas serta menurunkan proliferasi sel fibroblas kornea sampai pada hari ketiga setelah paparan ($p < 0,05$), sedangkan deksametason tidak mempengaruhi viabilitas maupun proliferasi sel fibroblas tersebut. Ribeiro SB, et al, 2017, pada penelitiannya mengenai efek deksametason dan 5-fluorouracil pada oral mucositis hewan coba marmot, dinyatakan bahwa pada mukosa yang dipapar dengan 5-fluorouracil menunjukkan hasil pemeriksaan imunohistokimia untuk TGF- β yang meningkat. Sedangkan untuk hasil pemeriksaan yang dipapar dengan deksametason, didapatkan hasil pemeriksaan imunohistokimia untuk TGF- β yang rendah dibandingkan dengan kelompok paparan 5-fluorouracil. ^{45,46,47}

Mytomycin-c bekerja dengan cara berikatan dengan DNA pada fase G1 atau fase S, sehingga mencegah pemisahan strand DNA selama replikasi, yang pada akhirnya menyebabkan mitosis terhenti. Occleston NL, et al, 1994, menyatakan bahwa mekanisme kerja mytomycin-c adalah dengan efek cytotoxic secara langsung pada sel fibroblas. Sehingga hal ini menyebabkan penurunan yang signifikan jumlah rata-rata sel myofibroblas. Sedangkan 5-fluorouracil bekerja cara dengan memblokir sintesa protein yang dibutuhkan untuk replikasi DNA. Ribeiro SB, et al, 2017, menyatakan 5-fluorouracil bekerja dengan mengakibatkan kerusakan langsung pada sel epitel dan sel fibroblas yang disebabkan hambatan replikasi DNA tersebut. Untuk mekanisme kerja deksametason adalah dengan menghambat sekresi sitokin-sitokin proinflamasi seperti TGF- β 1, *interleukin-1b*, *platelet derived growth factor*, dan *fibroblast growth factor*. Sehingga deksametason ini tidak menyebabkan efek toxic secara langsung pada sel

fibroblas, tetapi menurunkan jumlah myofibroblas dengan mensupresi sitokin proinflamasi. Perlu diingat bahwa myofibroblas ini terjadi pada proses inflamasi, dimana evolusi fibroblas menjadi myofibroblas tersebut dipengaruhi TGF- β 1, *interleukin-1 β* , *platelet derived growth factor*, dan *fibroblast growth factor*.^{48,49}

Untuk perbandingan rata-rata ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur antara kelompok paparan mytomicin-c terhadap kelompok paparan 5-flourouracil didapatkan perbedaan yang tidak signifikan atau bermakna, dengan masing-masing nilai p 0.136 (p>0,05). Na JH, et al, 2015, pada penelitiannya membandingkan antifibrotik efek dari mytomicin-c dan 5-flourouracil terhadap mata penderita glaucoma. Pada kelompok dengan paparan mytomicin-c dosis 0,1 mg/ml terdapat penurunan densitas sel, sedangkan pada kelompok dengan paparan 5-flourouracil 0,2 mg/ml tidak didapatkan efek perubahan morfologi maupun densitas sel. Cincik H, et al, 2015, pada penelitiannya tentang efek mytomicin-c dan 5-flourouracil terhadap jaringan skar trauma subglotis, menyatakan bahwa pada pasien yang diterapi dengan 5-flourouracil dan mytomicin-c, terdapat penurunan jaringan fibrosis yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Dinyatakan juga tidak ada perbedaan signifikan atau bermakna pada perbandingan efek kedua kelompok perlakuan tersebut terhadap fibrosis skar trauma subglotis. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh mekanisme kerja kedua agen antifibrotik tersebut, yang menyebabkan efek penghambatan secara langsung pada sel fibroblas. Sehingga berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa agen antifibrotik dosis yang memiliki efektifitas tertinggi terhadap ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur adalah kelompok mytomicin-c, yang diikuti oleh 5-flourouracil dan kemudian deksametason.^{44,50}

7.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini didapatkan hasil perbedaan efektifitas yang signifikan dari ekspresi dari α -smooth muscle actine antibody kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur yang mendapatkan paparan deksametason, mytomicin-c dan 5-flourouracil. Ekspresi α -smooth muscle actine antibody mengalami penurunan pada kelompok yang mendapat paparan mytomicin-c, 5-flourouracil dan deksaetason jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak mendapatkan paparan (kontrol). Pada perbandingan rata-rata ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur antara kelompok paparan deksametason dengan kelompok paparan 5-fluorouracil dan kelompok paparan mytomicin-c didapatkan perbedaan yang signifikan atau bermakna berdasarkan analisa statistik. Sedangkan pada perbandingan rata-rata ekspresi α -SMA kultur sel myofibroblas jaringan soket kontraktur antara kelompok paparan mytomicin-c terhadap kelompok paparan 5-fluorouracil tidak didapatkan hasil yang signifikan, meskipun penurunan jumlah rata-rata sel myofibroblas lebih tinggi dibandingkan penurunan rata-rata sel myofibroblas kelompok 5-flourouracil.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengetahui efektifitas dosis serta dosis toksisitas dari deksametason, mytomicin-c dan 5-flouracil terhadap ekspresi α -SMA pada kultur sel myofibroblas dari jaringan soket kontraktur. Selain itu untuk mengetahui manfaat selanjutnya dari penurunan ekspresi α -SMA pada soket kontraktur pada pemberian deksametason, mytomicin-c dan 5-flouracil sehingga pemakaian dapat dijadikan bahan referensi terapi pada soket kontraktur dan dapat dimanfaatkan secara klinis dikemudian hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Medel R, Vásquez Lm. Anophthalmic Socket. *Orbital Surgery. Esaso Course Series.* 2014; (5): 92–112.
2. Adhikari Rk, Khazai H, Usha Kd. Prospective Evaluation Of Contracted Sockets. *Kathmandu University Medical Journal.* 2007; (5): 391-395.
3. Goel R Et Al. Contracted Socket. *Dos Times.* 2010; (16).
4. Daniel Jt. Matrix Metalloproteinase Inhibition Modulates Fibroblast-Mediated Matrix Contraction And Collagen Production In Vitro. *Investigative Ophthalmology 7 Visual Science.* 2003; 44 (3): 1104-1110.
5. Khalmuratova R Et Al. Effect Of Dexamethasone On Wound Healing Of The Septal Mucosa In The Rat. *Am J Rhinl Allergy.* 2011; 1112-1116.
6. Kamal S Et Al. Serial Sub-Conjunctival 5-Fluorouracil For Early Recurrent Anophthalmic Contracted Socket. *Graefe's Archive For Clinical And Experimental Ophthalmology.* 2013; 251 (12): 2797–2802.
7. Mandour S S Et Al. Mucous Membrane Grafting Augmented With Topical Mitomycin C Application In Contracted Socket Repair Surgeries. *Journal Of Ocular Pharmacology And Therapeutics.* 2016; 32 (10): 691-694.
8. Wen-Sheng W Et Al. Dexamethason Introduction Of Keloid Regression Through Effective Suppression Of Vegf Expression And Keloid Fibroblast Proliferation. *Journal Of Investigate Dermatology.* 2006; 1254-1264.
9. Tawfik H A Et Al. Revisiting The Role Of The Myofibroblast In Socket Surgery: An Immunohistochemical Study. *Ophthalmic Plastic And Reconstructive Surgery.* 2015.
10. Shinyta D, Lyrwati D. Soket Kontraktur Orbita: Definisi, Penyebab Dan Klasifikasi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 2011; 26 (4):185-190.
11. Holds Jb Et Al. Basic And Clinical Science Course. Orbit, Eyelid And Lacrimal System. San Fransisco: American Academy Ophthalmology. 2011: 119-120.
12. Kurtul Be Et Al. Clinical And Impression Cytology Findings Of Amniotic Membrane And Oral Mucosal Membrane Transplantation For The Management Of Socket Contracture. *Int J Ophtamol.* 2014; 7 (2): 340-344.
13. Jordan Dr, Klapper Sr. Evaluation And Management Of Anophthalmic Socket And Socket Reconstruction. *Smith And Nesi's Ophthalmic Plastic And Reconstructive Surgery.* 3ed. New York: Springer. 2011:1131-73.
14. Webb Mc. Issues In The Management Of Anophthalmic Socket: Clinical, Comfort And Cosmetic. *Ophtalmology Rounds.* 2010; 8 (1):1-6.
15. Kumar K. Contracted Socket. *AIO Journal Of Ophthalmology.* 2013; 1(1): 25-27.
16. Mavrikakis I At Al. Management Of The Severy Contracted Socket Following Reconstruction. *Orbit.* 2006; 25 (3): 215-219.
17. Shirao N. Management Option For Acquired Contracted Socket. *Sci J Med 7 Vis Res Foun.* 2014; 32 (3): 51-54.
18. Bochaton-Piallat Ml, Gabbiani G, And Hinz B. The Myofibroblast In Wound Healing And Fibrosis: Answered And Unanswered Questions. Published Online 2016. Doi: 10.12688/F1000research. 8190.

19. Micallef L Et Al. The Myofibroblast, The Multiple Origin For Major Roles In Normal And Pathological Tissue Repair. Biomed Central. 2012.
20. Wong Ttl Et Al. Matrix Metalloproteinase In Disease And Repair Process In The Anterior Segment. Elsevier. Science Inc. Surv Ophtamol. 2002; 47: 239-256.
21. Yu-Wai-Man C, Khaw P T. Developing Novel Antifibrotic Therapeutics To Modulate Post Surgical Wound Healing In Glaucoma: Big Potential For Small Molecules. Expert Rev. Ophtamol. 2014;10 (1): 65-76.
22. Van De Water L, Varney S, Tomasek J J. Mechanoregulation Of The Myofibroblast In Wound Contraction, Scarring, And Fibrosis: Opportunities For New Therapeutic Intervention. Adv Wound Care. 2013; 2 (4): 122-141.
23. Grierson I Et Al. Wound Healing In Animal Model Glaucoma Fistulizing Surgery In The Rabbit. Ophtalmic Surg. 1989; 20: 350-357.
24. Abraham Sm Et Al. Antiinflammatory Effects Of Dexamethason Are Partly Dependent On Induction Of Dual Specificity Phosphate 1. J Exp Med. 2006; 203 (8): 1883-1889.
25. Kaal Ec. The Management Of Brain Edema In Brain Tumors. Curr Opin Oncol. 2004; 16: 593-600.
26. Hochhaus G Et Al. Pharmacokinetics And Pharmacodynamic Of Dexamethason Sodium-Sulfobenzoate (Ds) After Intravenous And Intramuscular Administration: A Comparison With Dexamethasone Phosphate (Dp). J Clin Pharmacol. 2001; 41 (4): 425-34.
27. Oretaga M. Kinetics Of Γ -Cyclodextrin Nanoparticle Suspension Eye Drops In Tear Fluid. Acta Ophtamol. 2014; 92 (6): 550-6
28. Yang Y H Et Al. Regulation Of Wound Healing By Granulocyte Macrophage C Jolony-Stimulating Factor After Focal Fold Injury. Plos One. 2013; 8 (1): 54256.
29. Miller Jp Et Al. Risk Factors Favouring The Development Of Glaucomatous Visual Field Lost In Ocular Hypertension. Surv Ophtamol. 1980; 25: 155-6
30. Jang Ch, Ahn Sh, Kim Gh. Antifibrotic Effect Of Dexamethasone/Alginate-Coated Silicone Sheet In The Abraded Middle Ear Mucosa. Int J Biol Macromol. 2016; 93 : 1612-1619.
31. Singh P, Singh A. Mitomycin-C Use In Ophthalmology. *Journal Of Pharmacy*. 2013; 3 (1): 12-14.
32. Sherwood Mb. The Pros And Cons Of Using Mitomycin-C. Review Of Ophthalmology. 2016.
33. Nakamura M, Yamamoto M. Dna Interstrand Crosslinking Agent And Human Ocular Fibroblast: Differential Sensitivity To Mytomycin C And Diaminedichloroplatinum. Research Gate. 1994.
34. Li Ny Et Al. Dose-Dependent Effect Of Mitomycin C On Human Vocal Fold Fibroblasts. Head Neck. 2014; 36 (3): 401-410.
35. Wang Yw Et Al. Effect Of Mitomycin On Normal Dermal Fibroblast And Hacat Cell: An In Vitro Study. J Zhejiang Univ Sci B. 2012; 13 (12): 997-1005.
36. Khaw Pt. Antifibrosis Agents Aid Primary Trabeculectomy: 5-Fu And Mitomycin Can Aid Management Of A Large Group Of Patients. Ocular Surgery News. 2000; 15:
37. Ophir A. Effects Of 5-Fluorouracil On Proliferating Fibroblasts In Vivo. Experimental Eye Research. 1991; 53 (6): 799-803.

38. Ragoowansi R Et Al. Reduction In Matrix Metalloproteinase Production By Tendon And Synovial Fibroblasts After A Single Exposure To 5-Fluorouracil. *British Journal Of Plastic Surgery*. 2001; 54: 283–287.
39. Jemec B Et Al. The Effect Of 5-Fluorouracil On Dupuytren Fibroblast Proliferation And Differentiation. *Chir Main*. 2000 Feb; 19 (1):15-22.
40. Merriman Mb Et Al. Effects Of Varying 5-Fluorouracil Exposure Duration On Tenon's Capsule Fibroblasts. *Clinical And Experimental Ophthalmology*. 2001; 29, 248–252.
41. Pinnita Prabhasawat Et Al. Efficacy Of Subconjunctival 5-Fluorouracil And Triamcinolone Injection In Impending Recurrent Pterygium. *Ophthalmology* 2006; 113: 1102–1109.
42. Gruezo, GK, et al. Efficacy of intraoperative subconjunctival triamcinolone acetate as antifibrotic agent in filtration surgery. *Philipp j ophthalmol*. 2007; 32(2): 60-65.
43. Yu E et al. Expression of alpha smooth muscle actin in liver diseases. *Journal of Korean medical Science*. 1993; 8(5): 367-373.
44. Na JH, et al. Antifibrotic effects of pirfenidone on Tenon's fibroblasts in glaucomatous eyes: comparison with mitomycin C and 5-fluorouracil. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015.
45. Amer R, et al. Mycophenolic acid suppresses human pterygium and normal tenon fibroblast proliferation in vitro. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94:1373-1377.
46. Chang SW, et al. Dexamethasone reduces mitomycin C-related inflammatory cytokine expression without inducing further cell death in corneal fibroblasts. *Wound Rep Reg*. 2010; 18 59–69.
47. Ribeiro SB, et al. Protective effect of dexamethasone on 5-Fu-induced oral mucositis in hamsters. *PLoS ONE*. 2017; 12(10): e018651.
48. Occleston NL, et al. Effect of Single Exposure to antiproliferative agents On Ocular Fibroblast-Mediated Collagen Contraction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1994; 35 (10).