

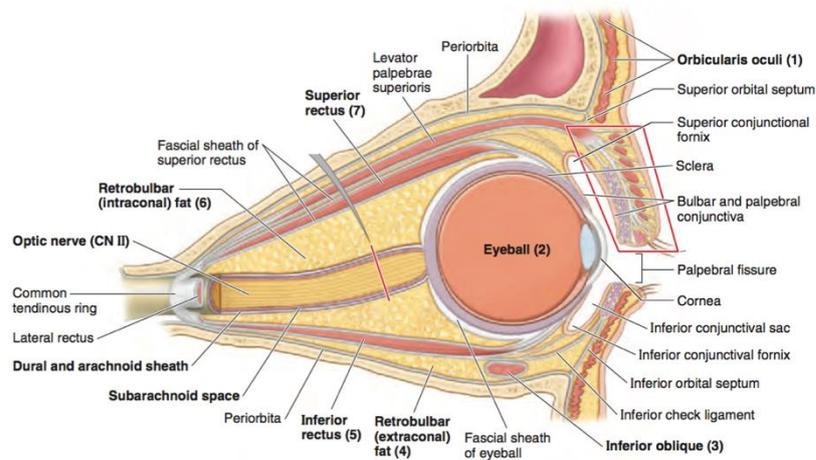
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Orbita

Regio orbita adalah daerah pada wajah di atas orbit dan bola mata, melingkupi kelopak mata atas, bawah, dan *lacrimal apparatus*. Sedangkan orbit adalah rongga tulang bilateral pada skeleton wajah yang membentuk rongga piramid quadrangular dengan basis ke arah anterolateral dan apex ke arah posteromedial. Rongga orbita berisikan:

- kelopak mata, yang menutup orbit di bagian depan, mengontrol paparan bola mata bagian depan;
- otot ekstra-okuli, yang memposisikan bola mata dan mengangkat kelopak mata atas;
- serabut syaraf dan pembuluh darah menuju bola mata dan otot-ototnya;
- *orbital fascia* yang melingkupi di sekitar bola mata dan otot-ototnya;
- membran mukosa (konjungtiva) yang melapisi kelopak mata dan bola mata bagian depan;
- *lacrimal apparatus* yang memberi lubrikasi; dan
- lemak orbita (Moore, 2014)



**Gambar 2.1** Anatomi mata potongan sagital, dilihat dari lateral (Moore, 2014).

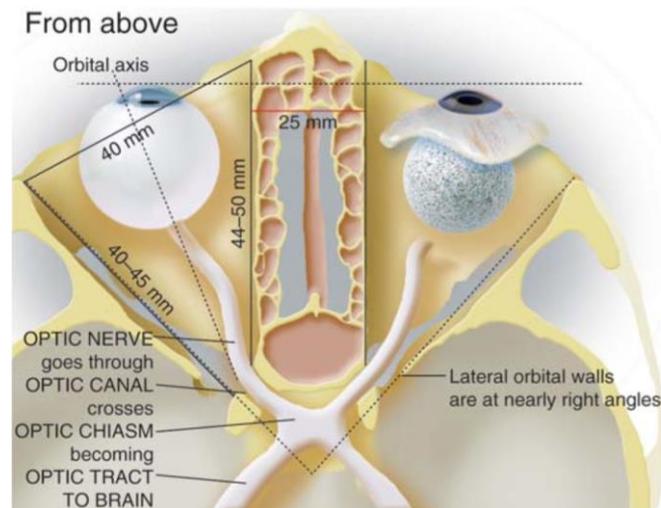
## 2.2 Soket Anoftalmia

Soket anoftalmia atau anoftalmia adalah keadaan tidak adanya bola mata di dalam rongga orbita. Kecelakaan, penyakit, atau kondisi yang memerlukan tindakan enukleasi dapat menyebabkan kondisi anoftalmia. Anoftalmia sangat mempengaruhi kondisi psikis pasien, sehingga tujuan utama operasi soket adalah dapat menempatkan prostesa yang menyerupai mata normal sebelah lainnya semirip mungkin (Smith *et.al.*, 2008, dan Tawfik *et.al.*, 2009).



**Gambar 2.2** Soket anoftalmia (mata kiri) sebelum (atas) dan setelah (bawah) pemasangan prostesa (Hughes, 2007).

Dua masalah utama yang harus diatasi pada soket anoftalmia adalah hilangnya volume rongga orbita, yang dapat diatasi dengan penempatan implan, dan memastikan adanya fornix yang adekuat untuk menompang prostesa, yaitu fornix inferior yang dalam dan sehat (Smith *et.al.*, 2008).



Gambar 2.3 Mata normal (kiri) dan soket anoftalmia dengan prostesa serta implan (kanan) (Hughes, 2007).

### 2.3 Soket Kontraktur

Soket kontraktur adalah kondisi yang terjadi pada soket anoftalmia. Soket kontraktur ditandai dengan hilangnya fornix dengan pembentukan skar atau jaringan parut dan adanya jaringan granulasi. Secara histopatologis, pada soket kontraktur dapat dilihat adanya infiltrasi sel inflamasi, metaplasia epitel konjungtiva, penurunan densitas sel goblet, dan peningkatan keratinisasi. Pada soket kontraktur juga terjadi atrofi lemak orbita, yang kemungkinan besar disebabkan oleh berkurangnya sirkulasi dan menurunnya kebutuhan metabolik soket anoftalmia. Hubungan dan sokongan otot levator juga terganggu pada orbit yang telah dilakukan enukleasi, dan biasanya juga didapati adanya ptosis (Soll, 1982, dan Kurtul, 2014). Soket kontraktur ini bukanlah masalah yang asing bagi

pasien soket anoftalmia, dan utamanya dapat menyebabkan pasien datang dengan keadaan prostesa mata yang tidak terpasang dengan tepat atau tidak dapat menggunakan prostesa sama sekali (Petrelli, 1982, dan Kurtul, 2014).

Sementara itu, patogenesis soket kontraktur belum dapat dipahami secara menyeluruh. Soket kontraktur sendiri dapat terjadi setelah fibrosis karena trauma, inflamasi kronis, infeksi atau penyakit sikatriks konjungtiva, teknik operasi yang salah sehingga terjadi diseksi berlebihan dari konjungtiva atau kapsula Tenon, prosedur berulang pada soket anoftalmia, luka bakar akibat zat alkali, iradiasi, atau tindakan enukleasi. Dalam jangka panjang, infeksi kronis dan inflamasi menjadi penyebab tersering dari soket kontraktur. Fibrosis yang terjadi juga dapat disebabkan oleh ekstrusi implan atau kegagalan penempatan prostesa (Poonyathalang *et.al.*, 2005, Tawfik *et.al.*, 2009, dan Kurtul, 2014).



Gambar 2.4 Soket kontraktur mata kanan (Mavrikakis, 2006).

Soket kontraktur sendiri terbagi menjadi beberapa derajat, dengan masing-masing derajat menentukan tatalaksana yang berbeda. Derajat tersebut terbagi menjadi beberapa kategori:

- **Derajat 0:** Soket memiliki konjungtiva yang sehat, fornix yang dalam dan terbentuk dengan baik (Gambar 4 A)

- **Derajat 1:** Soket memiliki karakteristik fornix inferior yang dangkal atau datar (Gambar 4 B)
- **Derajat 2:** Soket memiliki karakteristik hilangnya fornix superior dan inferior (Gambar 4 C)
- **Derajat 3:** Soket memiliki karakteristik hilangnya fornix superior, inferior, medial dan lateral (Gambar 4 D)
- **Derajat 4:** Soket memiliki karakteristik hilangnya seluruh fornix dan berkurangnya pembukaan kelopak mata baik pada dimensi horizontal maupun vertikal (Gambar 4 E)
- **Derajat 5:** Pada beberapa kasus terjadi rekurensi kontraksi soket setelah rekonstruksi berulang (Gambar 4 F) (Webb, 2010)



Gambar 2.5 Derajat soket kontraktur: Derajat 0 (A), Derajat 1 (B), Derajat 2 (C), Derajat 3 (D), Derajat 4 (E), Derajat 5 (F) (Webb, 2010)

Untuk mengatasi soket kontraktur, diperlukan operasi rekonstruksi dengan tujuan membentuk fornix yang dalam dan memperluas permukaan konjungtiva. Rekonstruksi ini membutuhkan rongga dengan bentuk dan ukuran yang cukup.

Namun, penanganan soket kontraktur secara umum ternyata belum memiliki protokol atau algoritma yang terstandardisasi. Proses rekonstruksi yang berhubungan dengan osteotomi dan *free-flap* pun ternyata memakan banyak waktu, sulit dikuasai, dan membutuhkan lebih dari satu tim pembedahan. Fasilitas untuk melakukan pendekatan multidisiplin ini bisa jadi tidak tersedia di semua pusat kesehatan. Selain itu, rekonstruksi fornix membutuhkan *graft* yang biasanya didapat dari mukosa bukal, mukosa nasal, septum nasal, atau palatum mole. Namun, *graft* dari jaringan-jaringan ini memiliki jumlah yang sedikit, menambah jam operasi, dan ketidaknyamanan pada lokasi donor. Kerjasama antara pasien, dokter mata, dan juga okularis pun sangat diperlukan untuk menyesuaikan prostesa yang dibutuhkan (Poonyathalang *et.al.*, 2005, Tawfik *et.al.*, 2009, dan Webb, 2010).

## **2.4 Penyembuhan Luka (*Wound Healing*)**

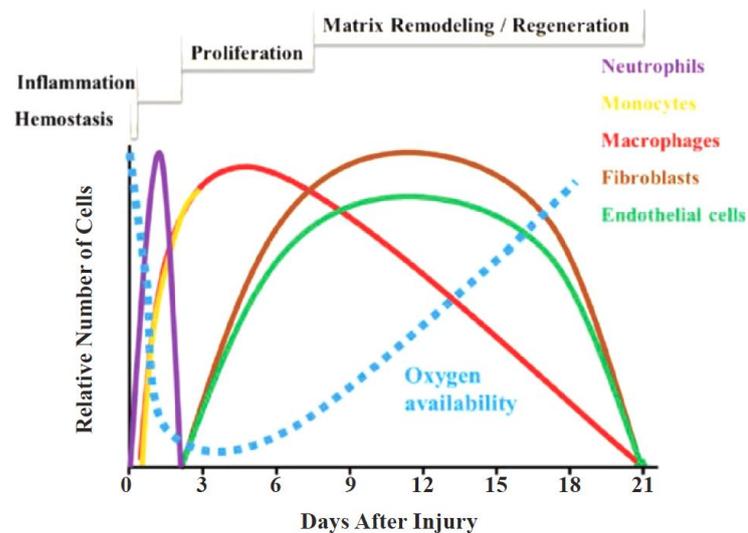
### **2.4.1 Fisiologis**

Setelah luka akut, jaringan yang terluka mengalami empat tahap perbaikan yang berusaha mengembalikan jaringan tersebut pada keadaan sebelum terluka. Empat tahap yang dimaksud yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi sel (termasuk fibroblas), serta sintesis matriks ekstraseluler/pembentukan skar dan *remodeling*, dengan jangka waktu masing-masing yang bervariasi sesuai dengan keparahan luka dan adanya faktor yang memperparah luka (seperti infeksi) (Czubryt, 2012).

Fase awal dari proses penyembuhan luka ditandai dengan ruptur platelet dan degranulasi sel mast setempat, yang kemudian diikuti pembentukan benang-benang fibrin, sehingga menyebabkan pembekuan darah. Makrofag juga berperan pada fase inflamasi hingga regenerasi jaringan dan menghasilkan *growth factor* dalam jumlah besar. Dalam pengaruh *growth factor* ini, jumlah myofibroblas

bertambah banyak pada saat fase kedua (proliferasi) dimulai, termasuk di dalamnya proses angiogenesis, proliferasi sel fibroblas, serta remodeling dan pembentukan skar. Myofibroblas menghasilkan komponen matriks ekstraseluler (ECM) dan menggunakan kemampuan kontraksinya untuk membantu penutupan luka (Koh *et.al.*, 2011, Czubryt, 2012, Darby *et.al.*, 2014, dan Falke *et.al.*, 2015).

Selanjutnya dalam proses remodeling ini, enzim proteolitik *matrix metalloproteinase* (MMP) dan inhibitorynya (*tissue inhibitor of metalloproteinases* [TIMP]) berperan penting, dengan peran MMP utamanya yaitu menurunkan produksi ECM serta degradasi matrix. Secara bertahap, kolagen tipe III yang menjadi penyusun utama jaringan granulasi digantikan oleh kolagen tipe I yang merupakan komponen utama dermis. Akhirnya, elastin yang berperan untuk elastisitas jaringan akan muncul kembali. Pada fase resolusi, jumlah sel menjadi amat jauh berkurang dengan mekanisme apoptosis sel pembuluh darah dan sel myofibroblas (Darby *et.al.*, 2014).



Gambar 2.6 Skema fase penyembuhan luka (Kimmel *et.al.*, 2016).

#### **2.4.1.1 Peran Growth Factor**

Sitokin dan *growth factors* (seperti *transforming growth factor* [TGF]- $\beta$ , *fibroblast growth factor* [FGF], *vascular endothelial growth factor* [VEGF], *epidermal growth factor*, *connective tissue growth factor*, dan *platelet-derived growth factor* [PDGF]) yang juga dilepaskan oleh platelet berperan pada: fase proliferasi (termasuk proliferasi sel fibroblas); fase inflamasi, yaitu saat pemanggilan sel-sel inflamasi menuju daerah luka; pada fase fibrosis/pembentukan skar. Makrofag juga memproduksi *growth factor* dalam jumlah besar, seperti *pro-epidermal growth factor* dan juga TGF- $\beta$  yang memicu proliferasi sel dan sintesis ECM. Sedangkan pengaruh *growth factor* terhadap myofibroblas yaitu menstimulasi tingkat *survival* sel tersebut melalui konsentrasi lokal TGF-  $\beta$ 1 dan endothelin-1 via aktivasi protein kinase B (AKT) (Czubryt, 2012, Darby *et.al.*, 2014, dan Falke *et.al.*, 2015).

#### **2.4.1.2 Peran Fibroblas, Proto-myofibroblas, dan Myofibroblas**

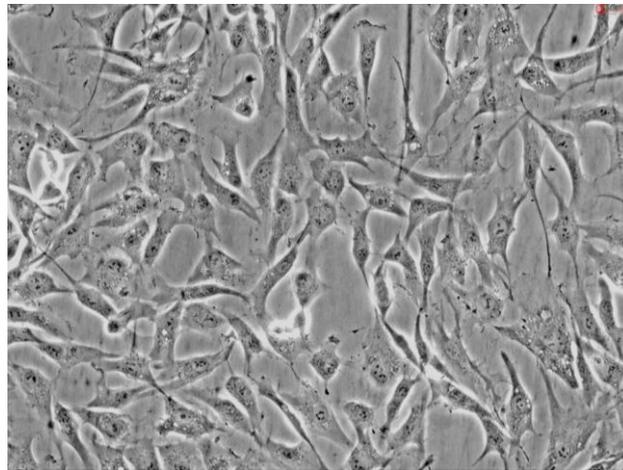
##### **2.4.1.2.1 Fibroblas**

###### **2.4.1.2.1.1 Karakteristik**

Seperti sel jaringan ikat lainnya, fibroblas berasal dari mesenkim primitif. Fibrosit (inaktif) berukuran lebih kecil dari fibroblas (aktif), biasanya berbentuk spindle dengan penonjolan yang lebih sedikit, nukleus yang lebih kecil, panjang, dan gelap, serta sitoplasma yang asidofilik dengan sedikit retikulum endoplasma (RE) kasar. Sitoplasmanya bercabang, mengelilingi nukleus yang elips dan berbintik dengan satu atau dua nukleolus. Sementara fibroblas (aktif) dapat dikenali dengan nukleus yang oval dan pucat, sitoplasma yang lebih banyak, RE kasar, aparatus golgi, vesikel sekretori, dan mitokondria (Sandhu *et.al.*, 2012, dan Dave *et.al.*, 2014).

#### 2.4.1.2.1.2 Peran

Pada jaringan sehat, fibrosit berada pada keadaan inaktif, namun dapat secara aktif mengalami proliferasi menjadi fibroblas ketika mendapat stimuli mitogenik (pemicu mitosis), seperti *signalling* dari *growth factor* ketika terjadi luka pada jaringan. Setelah merespon *growth factor* dan memasuki daerah luka, fibroblas mengalami proliferasi dan konversi (Enoch *et.al.*, 2008, dan Czubryt, 2012).



Gambar 2.7 Fibroblas manusia dewasa, dengan phase contrast, pembesaran 200x (Science Cell Laboratories).

#### 2.4.1.2.2 Proto-myofibroblas

Saat ini mulai dikenal bahwa perubahan sel fibroblas menjadi myofibroblas dimulai dengan munculnya proto-myofibroblas, yang di dalamnya hanya terdapat  $\beta$ - dan  $\gamma$ -cytoplasmic actins. Proto-myofibroblas biasanya berkembang menjadi myofibroblas terdiferensiasi yang mampu melakukan kontraksi hanya setelah terdapat ekspresi *stress fiber  $\alpha$ -smooth muscle actin* ( $\alpha$ -SMA). Salah satu pertanda penting agar terjadi pembentukan sifat kontraktile dari proto-myofibroblas adalah adanya ketegangan secara mekanis (*mechanical tension*) atau kontraktilitas, sehingga fibroblas yang terkena stress mekanis dari jaringan granulasi di

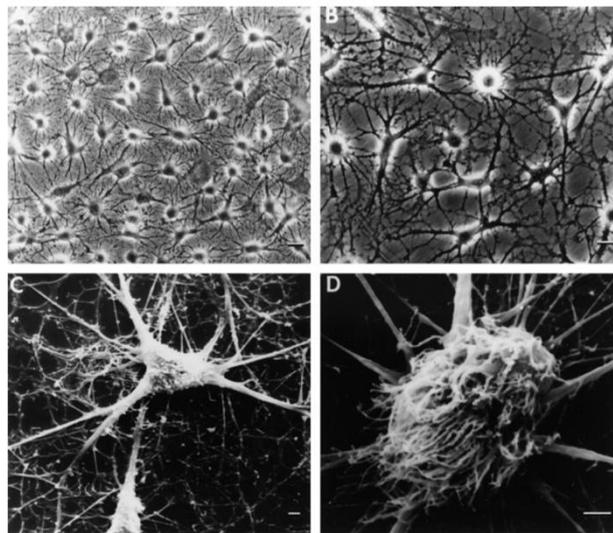
sekitarnya akan membentuk stress fiber dan mengalami diferensiasi menjadi myofibroblas. Diferensiasi ini dipengaruhi oleh *growth factor* TGF- $\beta$  (Tomasek *et.al.*, 2002, Meyer-ter-Vehn *et.al.*, 2006, dan Darby *et.al.*, 2014).

### 2.4.1.2.3 Myofibroblas

#### 2.4.1.2.3.1 Karakteristik

Myofibroblas memiliki karakteristik sebagai berikut:

- Morfologi *spindle-cell* atau *stellate-cell*
- Sitoplasma eosinofilik pucat
- *Pericellular matrix* dalam jumlah banyak
- Immunofenotip: terdapat vimentin,  $\alpha$ -SMA, non-muscle myosin, fibronectin; tidak terdapat smooth-muscle myosin dan desmin.

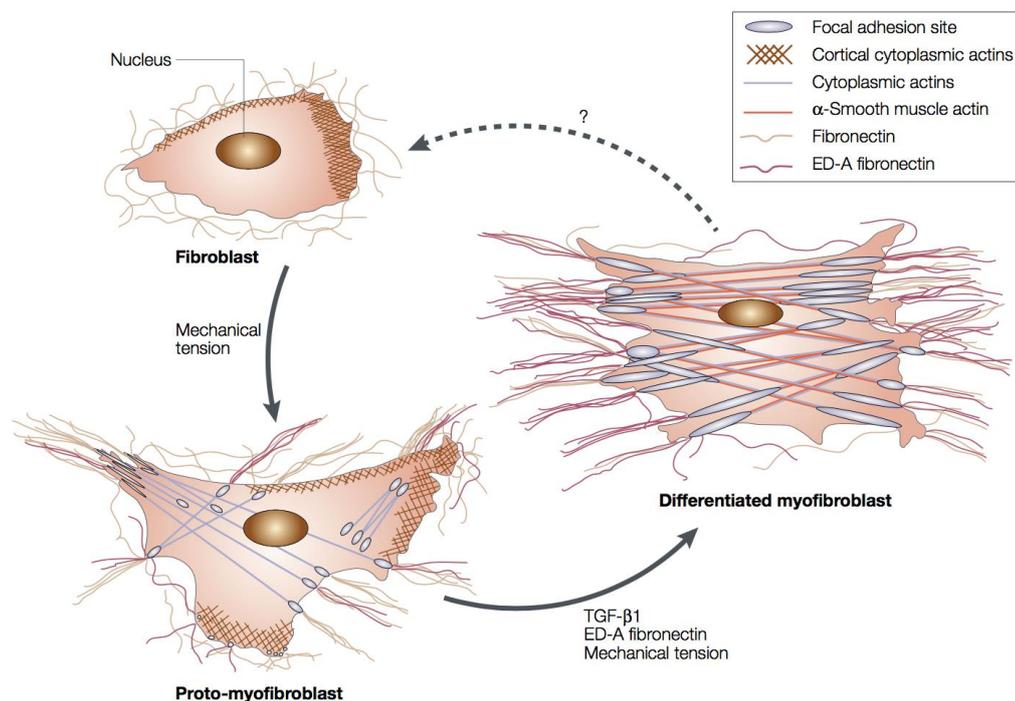


**Gambar 2.8** *Phase-contrast micrographs* (A dan B) dan *scanning electron micrographs* (C dan D) dari sel stellata myofibroblas, menunjukkan gambaran badan sel yang sangat refraktil dan prosesus sel yang sangat bercabang (Powell, 1999).

- Ultrastruktur: retikulum endoplasma kasar yang dominan, myofilamen perifer, aparatus golgi yang memproduksi granula sekretorik kolagen, *fibronexus junctions* tanpa lamina, *gap junctions* (Eyden, 2008).

#### 2.4.1.2.3.2 Peran

Secara umum telah disepakati bahwa sumber utama myofibroblas berasal dari fibroblas jaringan ikat sekitar yang direkrut menuju daerah luka. Myofibroblas merupakan tipe sel efektor utama dalam penyakit fibrosis yang memproduksi ECM, *crosslinking enzymes*, dan inhibitor MMP dalam jumlah besar. Myofibroblas juga memiliki sifat kontraktile yang dimediasi oleh protein filamen perantara, seperti vimentin (VIM) dan  $\alpha$ -SMA (Brisset *et.al.*, 2001, Falke *et.al.*, 2005, dan Czubryt, 2012).

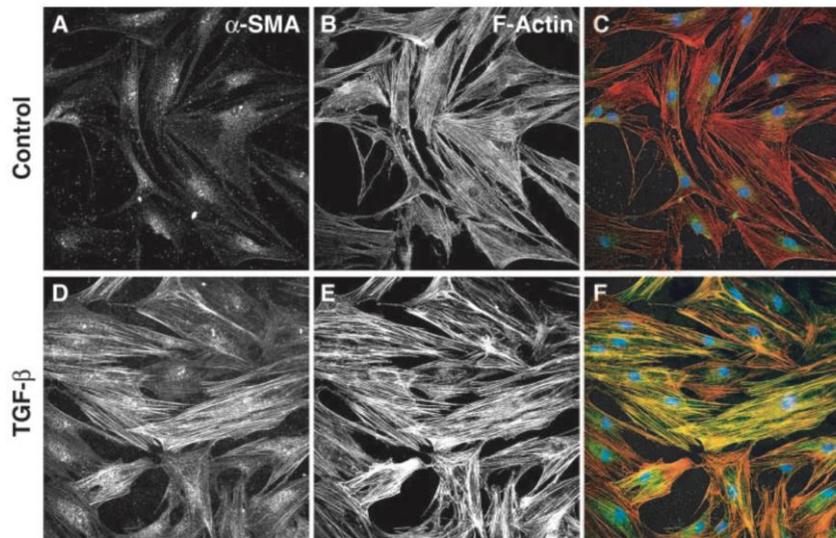


Gambar 2.9 Fase diferensiasi sel fibroblas menuju myofibroblas terdiferensiasi (Tomasek *et.al.*, 2002).

Sementara itu, sebagaimana sinyal mekanis sangat berperan dalam diferensiasi fibroblas dan proto-myofibroblas, maka diferensiasi menjadi myofibroblas pun melibatkan perubahan komposisi dan kekakuan ECM pada jaringan yang terluka ketika proses perbaikan jaringan berlangsung. Semakin kaku kolagen ECM di sekitar fibroblas, maka semakin tinggi jumlah *stress fiber* yang dihasilkan, sehingga adesi fokal yang kuat semakin terbentuk. Hal ini menjadi *positive feedback loop*, yaitu ketika peningkatan sinyal stress mekanis dapat meningkatkan diferensiasi dan *survival* myofibroblas, yang juga tegak lurus dengan produksi TGF- $\beta$ . Sebaliknya, berkurangnya stress mekanis atau kekakuan jaringan terbukti dapat menginduksi apoptosis serta penurunan ekspresi  $\alpha$ -SMA dan kontraktilitas pada myofibroblas. Apoptosis myofibroblas juga diperkirakan merupakan akibat dari berkurangnya konsentrasi *growth factor* lokal yang awalnya berperan untuk *survival* myofibroblas (Meyer-ter-Vehn *et.al.*, 2006, dan Darby *et.al.*, 2014).

#### **2.4.1.3 $\alpha$ -SMA**

Myofibroblas mengekspresikan protein *stress fiber*  $\alpha$ -SMA ( *$\alpha$ -smooth muscle actin*, atau *alpha actin-2* [ACTA2]) dalam kadar yang tinggi. *Stress fiber* ini menyebabkan peningkatan kontraktilitas, sehingga  $\alpha$ -SMA secara general dianggap sebagai penanda atau *marker* definitif yang mampu mengidentifikasi seluruh myofibroblas pada jaringan yang diteliti. Sementara itu, hingga saat ini masih belum diketahui kemampuan myofibroblas untuk kembali pada fenotip inaktifnya, yaitu fibroblas tanpa ekspresi  $\alpha$ -SMA (Darby *et.al.*, 2014 dan Falke *et.al.*, 2015).



Gambar 2.10 Ekspresi  $\alpha$ -SMA dan rekrutmen actin stress fibers pada sebagian sel yang diinduksi TGF- $\beta$  (Meyer-ter-Vehn et.al., 2006).

## 2.4.2 Patologis

### 2.4.2.1 Skar/fibrosis

Skar merupakan gangguan makroskopis pada struktur dan fungsi arsitektur jaringan yang berasal dari hasil akhir luka yang telah sembuh. Proses fibrosis dari pembentukan skar melibatkan *complex interplay* antara beberapa gen pleiotropik, termasuk *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor*, dan *connective tissue growth factor* (Enoch et.al., 2008 dan Falke et.al., 2015).

Pada banyak kondisi fibrosis dan jaringan skar, seperti juga pada respon stroma terhadap tumor, diperkirakan myofibroblas gagal mengalami apoptosis sehingga menetap dan menyebabkan kondisi patologis dan *scarring*. Pada penyembuhan luka normal, ECM akan menghilang perlahan-lahan bersamaan dengan kembalinya struktur dan fungsi normal jaringan. Namun pada fibrosis, *scarring* ini berlanjut, terlipat ganda, dan diperparah dengan beberapa lingkaran

timbang-balik positif, termasuk di dalamnya respon mekanis yang juga penting dalam menyebabkan kontraktur setelah luka. Kontraktur pada jaringan ikat melibatkan pemendekan bahan-bahan pada ECM secara gradual dan anatomis, berbeda dari kontraksi otot biasa (Tomasek *et.al.*, 2002, Garber, 2013, dan Darby *et.al.*, 2014).

## 2.5 Subkultur (*Passage*)

Subkultur, atau disebut juga *passage*, adalah penghilangan media dan pemindahan sel dari kultur sebelumnya ke media pertumbuhan yang baru, yaitu sebuah prosedur yang memfasilitasi pembiakan sel lebih lanjut. Biakan atau kultur sel ini dapat berupa kultur *adherent* (disebut juga *monolayer*), yaitu ketika biakan menempel pada dasar media, atau berupa suspensi. Biakan fibroblas sendiri merupakan biakan *adherent*. Ketika sel pada kultur *adherent* sudah tumbuh menempati seluruh substrat yang ada sehingga tidak ada lagi ruang untuk membelah, proliferasi sel akan mengalami penurunan drastis atau bahkan berhenti sama sekali. Keadaan ini disebut kondisi konfluen. Maka itu, subkultur juga dapat dipahami sebagai proses pemindahan sel dari kondisi konfluen ke tempat tumbuh yang masih kosong (Phan, 2008, dan Thermofisher, 2017).

Sel pada kultur biasanya berproliferasi mengikuti pola pertumbuhan yang standar. Fase pertama adalah fase *lag*, yaitu fase pertumbuhan lambat ketika sel mengalami adaptasi terhadap lingkungan sekitar, hingga kemudian berlanjut pada fase *log*, yaitu ketika sel berproliferasi semakin cepat dan mengonsumsi nutrisi pada medium. Ketika sel sudah tumbuh memenuhi seluruh medium, sel memasuki fase *plateau*, yaitu ketika proliferasi amat berkurang atau berhenti sama sekali. Kegagalan melakukan subkultur pada sel yang konfluen akan menyebabkan

penurunan indeks mitosis, hingga pada akhirnya menyebabkan kematian sel pada kultur (Ricardo *et.al.*, 2008 dan Thermofisher, 2017).

Langkah pertama dalam melakukan subkultur adalah memisahkan sel dari permukaan kultur primer dengan tripsinisasi atau secara mekanis. Hasil pemisahan ini kemudian dilakukan subdivisi atau penanaman kembali pada media kultur yang baru. Pada subkultur kedua ini dilakukan pemeriksaan pertumbuhan serta diberikan nutrisi secara periodik, dan kemudian dapat disubkultur kembali untuk mendapatkan subkultur ketiga. Waktu antar-subkultur yang diperlukan akan berbeda sesuai dengan tipe dan tingkat pertumbuhan sel yang diteliti. Khusus pada sel dengan kultur *adherent*, subkultur harus dilakukan pada saat sel sedang dalam fase *log* sebelum konfluensi tercapai, karena jika sudah terjadi konfluensi, sel sulit untuk memperbaiki diri (Ricardo *et.al.*, 2008 dan Thermofisher, 2017).

Pada kenyataannya, jumlah subkultur sel juga perlu diperhatikan. Meskipun belum ada standar baku yang menentukan jumlah minimal atau maksimal sebuah sel bisa dilakukan subkultur, perlu diingat bahwa banyaknya jumlah subkultur dapat mengubah genotipe—bahkan fenotipe—dari sel tersebut akibat semakin jauhnya biakan sel tersebut dari kultur sel awalnya. Selain itu, subkultur yang terlalu banyak juga dapat meningkatkan resiko kontaminasi mikroba (Masters *et.al.*, 2007).