



*Jurnal
Kedokteran*

MULAWARMAN

Daftar Isi

Editorial

- * Edisi Pertama Jurnal Kedokteran Mulawarman
Dr. Krispinus Duma

Artikel Penelitian

- * Perbandingan Membran Amnion Fresh dan Preserved Pada Penatalaksanaan Kelainan Permukaan Mata
Nur Khoma Fatmawati
- * Permasalahan Dalam Pelaksanaan LINTAS Diare di Puskesmas Samarinda
Anti Mangi Mangampa, Lukas Daniel Leatemala, Riries Choiru PY
- * Hubungan Antara Tingkat Kebugaran Jasmani Dengan Prestasi Belajar Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman
Bobby Faisyal Rakhman, Muh Khairul Nuryanto, Cisca H Nelwan
- * Uji Respons Dilatasi Aorta Tikus Wistar Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* [L.] DC.) secara *In Vitro*
Alif Via Saltika Putri, Khemasili Kosala, Yuniati
- * Identifikasi Pemanis Buatan Siklamat Dan Sakarin Pada Jajanan Makanan Dan Minuman Tidak Berlabel Di Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Samarinda Ulu
Rismay Chandra Pratiwi, Agus Joko Praptomo, Siti Raudah, Hary Nugroho
- * Profil Penderita Fibroadenoma Mammae (FAM) Berdasarkan Gambaran Histopatologi di Bagian Patologi Anatomi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda Periode 2008-2012
Annisa Ichsani Tamaya, Hadi Irawiraman dan Sinar Yani
- * Perbandingan Uji Widal dan Uji Lateral *Flow* pada Penderita Suspek Demam Tifoid di Puskesmas Palaran Samarinda
Nataniel Tandirogang, Puspa Lestari, Fitria Rimadhanty
- * Studi Pemberian Asi Eksklusif di Posyandu Langsung Kelurahan Sempaja Utara Kota Samarinda
Rahmat Bakhtiar, Fitrie Widyastuti, Siti Desy Astari, Raden Rizki Aulia, Dina^c, Irama Majid.

Makalah

- * Manifestasi Klinis Keratokonus dan Rencana Penatalaksanaannya (Laporan Kasus)
Nur Khoma Fatmawati

PERBANDINGAN MEMBRAN AMNION FRESH DAN PRESERVED PADA PENATALAKSANAAN KELAINAN PERMUKAAN MATA

Nur Khoma Fatmawati

Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Unmul

Email: gusma_riqo@yahoo.com

ABSTRACT

The use of amniotic membrane for transplantation as graft in ocular surface reconstruction has become widespread such as neurotrophic ulcers, persistent epithelial defects, shield ulcers, band keratopathy, bullous keratopathy, chemical ocular trauma, conjunctival reconstruction after excision of pterygium and symblepharon. For clinical use the membrane can be prepared in fresh and preserved membrane. Both of fresh and preserved amnion membrane have advantage and disadvantage. Many literature concluded that the use of fresh and preserved amniotic membrane as graft in ocular surface reconstruction did not differ significantly.

Key words : fresh amnion membrane, preserved amnion membrane

ABSTRAK

Membran amnion saat ini banyak digunakan sebagai bahan untuk memperbaiki kelainan permukaan mata seperti *neurotrophic ulcers, persistent epithelial defects, shield ulcers, band keratopathy, bullous keratopathy*, trauma okuli kemis, rekonstruksi konjungtiva setelah eksisi pterigium dan simblefaron. Membran amnion yang dapat digunakan dapat berupa *fresh* atau *preserved*, yang masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Dari beberapa jurnal didapatkan bahwa hasil akhir penggunaan *fresh* maupun membran amnion *preserved* untuk memperbaiki kelainan permukaan bola mata tidak berbeda bermakna.

Kata kunci : membran amnion *fresh*, membran amnion *preserved*

PENDAHULUAN

Membran amnion merupakan bagian terdalam dari plasenta yang terdiri dari membran basalis dan stroma yang bersifat avaskular. Kemampuan membran amnion untuk diferensiasi multipotent, memfasilitasi migrasi sel epitel, meningkatkan adesi, menghambat proses inflamasi dan kemampuan modulasi sikatriks stroma memungkinkan membran amnion dapat digunakan untuk rekonstruksi kelainan permukaan mata secara luas. Membran amnion juga mempunyai sifat immunogen yang rendah sehingga resiko penolakan jaringan juga rendah.¹⁻³

Keuntungan lain penggunaan membran amnion sebagai bahan untuk memperbaiki kelainan permukaan mata adalah hanya sedikit berkaitan dengan masalah etika. Membran amnion pada dasarnya di buang pada waktu proses kelahiran, tetapi secara hukum membran amnion ini masih merupakan hak milik dari sang ibu, sehingga untuk mendapatkannya memerlukan ijin tertulis dari ibu dan disetujui oleh komite etik dari masing-masing institusi. Untuk mendapatkan

membran amnion tidak dibutuhkan tindakan yang dapat menyakiti atau melukai ibu maupun bayinya.³

Penanganan kelainan permukaan mata yang saat ini banyak menggunakan membran amnion adalah *neurotrophic ulcers, persistent epithelial defects, shield ulcers, microbial keratitis, band keratopathy, bullous keratopathy*, dan trauma okuli kimiawi. Rekonstruksi konjungtiva setelah eksisi luas neoplasia permukaan mata, pterigium atau simblefaron juga banyak menggunakan membran amnion.⁴

Pada saat ini metode pengawetan membran amnion terdiri dari beberapa cara yaitu secara *fresh*, diawetkan dengan cara *cryopreserved* pada suhu -80°C , atau dengan cara *freeze dried* dengan proses liofilisasi. Berbagai metode pengawetan ini mempunyai konsekuensi terhadap perubahan struktur, viabilitas dan aktifitas kerja membran amnion.⁵

Tujuan penulisan dari makalah ini adalah untuk menganalisa berbagai jurnal dan literatur mengenai penggunaan membran amnion *fresh* dan

preserved untuk rekonstruksi kelainan permukaan mata. Dengan mengetahui kelebihan dan kekurangan penggunaan membran amnion *fresh* dan *preserved* dapat memberikan wawasan dalam menentukan pilihan penggunaan membran amnion *fresh* atau *preserved* untuk memperbaiki kelainan permukaan mata.

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Histologi membran amnion

Membran amnion berkembang dari jaringan ekstra embrionik dan terdiri dari komponen fetal (*chorionic plate*) dan komponen maternal (*deciduas plate*). Komponen fetal terdiri dari membran amnion dan membran korion yang memisahkan fetus dari endometrium. Membran amniokorionik ini membentuk bagian luar kantung yang membungkus fetus, sedangkan yang membentuk bagian dalam kantung adalah membran amnion.⁶

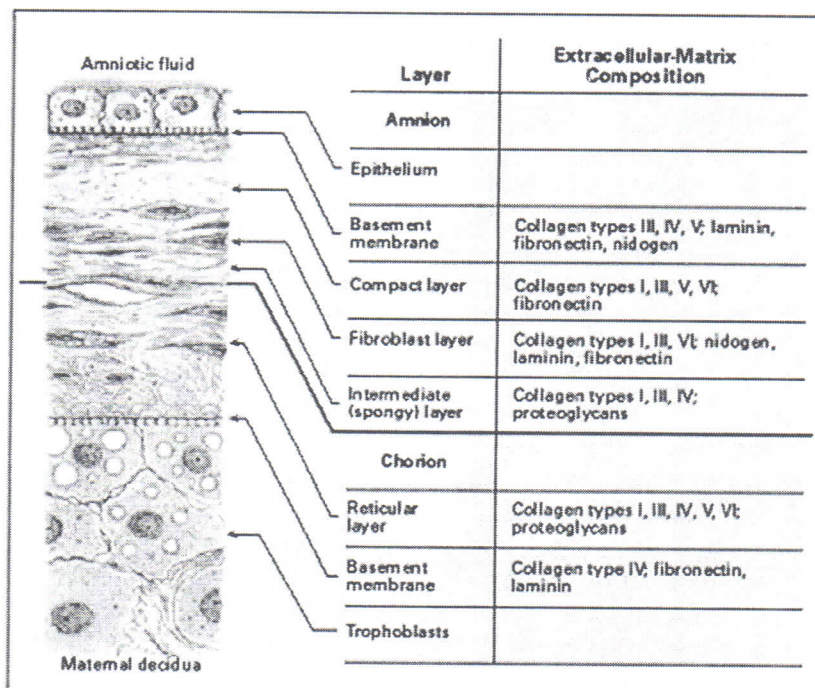
Membran amnion terdiri dari satu lapis epitel yang berbentuk kubus, membran basalis yang tebal, dan stroma yang bersifat avaskular serta mempunyai ketebalan 0,02-0,5 mm. Membran amnion ini tidak mengandung pembuluh darah atau saraf, sehingga untuk kebutuhan nutrisi mendapat dari cairan amnion secara difusi atau dari lapisan desidua.⁵

Lapisan epitel amnion terletak pada bagian dalam membran dan berdekatan dengan fetus. Lapisan ini mengandung satu lapis sel yang

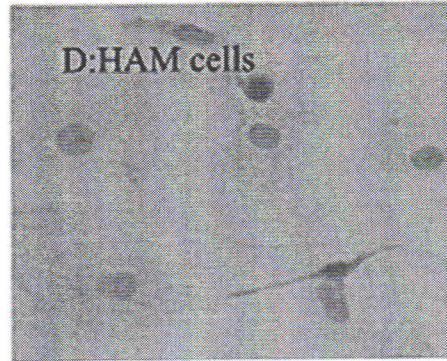
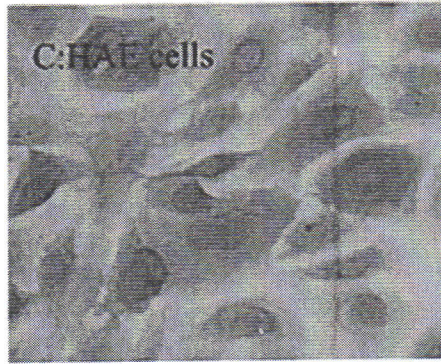
tersusun di atas membran basalis yang tebal.⁵ Sel epitel ini berasal dari lapisan ektoderm. Pada bagian permukaan sel epitel mempunyai mikrovili dan pada bagian basal terdapat prosesus yang meluas samapi membran basalis. Prosesus ini melekat dengan bantuan hemidesmosom. Sel epitel membran amnion mempunyai nukleus dengan ukuran yang besar dan bentuk yang irregular, serta mempunyai nukleolus yang besar.⁷

Membran basalis pada membran amnion ini merupakan membran basalis yang paling tebal yang didapatkan pada manusia.⁶ Salah satu komponen utama membran basalis adalah laminin, yang ikut berkontribusi dalam menentukan kemampuan diferensiasi sel, bentuk sel, mempertahankan fenotip jaringan dan meningkatkan daya tahan sel dengan meningkatkan ekspresi reseptor integrin dan *dystroglycan*. Laminin mempunyai beberapa bentuk heterodimer yang tersusun dari unit α -, β -, dan γ -, yang masing-masing unit mempunyai beberapa tipe subunit antara lain $\alpha 1-5$, $\beta 1-3$, $\gamma 1-3$.³

Lapisan stroma yang padat dan berdekatan dengan membran basalis berfungsi sebagai skeleton fibrosa utama.⁶ Pada lapisan ini didapatkan kolagen interstitial yang diproduksi oleh beberapa tipe sel. Kolagen tipe I dan III terutama diproduksi oleh sel mesensim, sedangkan kolagen tipe IV diproduksi oleh sel epitel membran amnion.³



Gambar 2.1. Histologi membran amnion. Diambil dari Hassan Niknejad dkk, *Properties Of The Amniotic Membrane For Potential Use In Tissue Engineering*, 2008



Gambar 2.2. Sel Epitel dan Sel Mesensimal Membran amnion. Diambil dari Toda dkk , *The Potential of Amniotic Membrane/Amnion-Derived Cells for Regeneration of Various Tissues*, 2007

Integritas mekanik membran amnion dibentuk oleh kolagen interstitial tipe I dan III yang membentuk bundel parallel. Kolagen V dan VI membentuk jembatan filamentous antara kolagen interstitial dengan membran basalis epitel. Lapisan intermediet terdiri dari lapisan spongiosa dan berdekatan dengan membran korion. Lapisan ini mengandung proteoglikan dan glikoprotein yang menyebabkan lapisan tampak seperti busa. Lapisan ini berhubungan secara longgar dengan membran korion, sehingga membran amnion mudah dipisahkan dari membran korion secara tumpul.⁶

2.2. Mekanisme kerja membran amnion dalam memperbaiki kelainan permukaan mata.

Pada dasarnya aplikasi membran amnion pada permukaan mata di bagi dalam 3 tipe, yaitu:³

1. *Grafting* : dengan transplantasi membran amnion pada kornea atau stroma sklera diharapkan terjadi proses proliferasi dan diferensiasi sel epitel permukaan mata.
2. *Patching* : membran amnion dapat digunakan untuk menghambat inflamasi permukaan mata, terutama yang berhubungan dengan defek epitel. Fungsi ini juga dapat dilakukan pada fase akut trauma kimia atau pada *Steven-Johnson Syndrome*
3. *Stuffing* : dapat dilakukan pada keadaan ulserasi kornea yang dalam atau perforasi kecil.

Membran amnion dapat digunakan sebagai bahan untuk rekonstruksi kelainan permukaan mata oleh karena mempunyai beberapa sifat dan kemampuan yang menguntungkan, antara lain :

1. Meningkatkan proses epitelisasi.

Membran amnion dapat meningkatkan penyembuhan epitel, oleh karena sel epitel membran amnion akan memproduksi berbagai faktor pertumbuhan dan adanya membran basalis

akan memfasilitasi migrasi sel epitel, meningkatkan adesi sel epitel basal dan diferensiasi sel epitel.⁸ Sel epitel membran amnion akan mensekresikan *brain natriuretic peptide* dan *corticotrophin releasing hormone* yang berfungsi untuk meningkatkan proliferasi sel dan metabolisme kalsium. Membran amnion juga dapat mengekspresikan mRNA untuk *epidermal growth factor* (EGF). Isoform laminin yang didapatkan di membran basalis akan memfasilitasi adesi dan ekspansi sel epitel kornea.⁴

2. Menghambat fibrosis.

Pada proses transplantasi biasanya akan menimbulkan reaksi inflamasi oleh karena dianggap benda asing. Proses inflamasi akan menstimulasi *giant cell* dan makrofag yang akhirnya akan memproduksi sitokin dan fibroblast dan akan menyebabkan terjadinya fibrosis. Membran amnion mempunyai kemampuan down regulasi TGF- β dan reseptornya yang diekspresikan oleh sel fibroblast, sehingga membran amnion dapat mengurangi fibrosis. Dengan demikian membran amnion dapat memodulasi proses penyembuhan lebih kearah rekonstruksi jaringan dibandingkan pembentukan jaringan sikatriks.⁶ Membran amnion juga menghambat diferensiasi keratosit menjadi miofibroblast dan menjaga kejernihan kornea.⁴

3. Menghambat inflamasi dan angiogenesis.

Membran amnion mempunyai aktifitas biologi yang dapat membantu mengatasi keadaan inflamasi yang berat di kornea, antara lain dapat mencegah skar, inflamasi, memperbaiki neovaskularisasi, dan penyembuhan luka. Transplantasi membran amnion dapat memperbaiki ulkus kornea. Dari berbagai literatur telah banyak dilaporkan bahwa transplantasi membran amnion dapat bekerja sebagai anti inflamasi, antara lain menekan reaksi leukosit dan menekan peran limfosit T.¹

Peran membran amnion dalam menghambat proses inflamasi sudah banyak diteliti. Mekanisme anti inflamasi membran amnion antara lain adanya efek supresi interleukin-1 α dan β yang merupakan sitokin proinflamasi yang potensial. Dari hasil penelitian yang dilakukan Solomon dkk (2006) membuktikan bahwa sel limbal manusia yang dikultur pada membran basalis amnion mengekspresikan mRNA IL-1 jauh lebih rendah apabila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa efek penekanan sitokin ini pada tingkat gen.⁴

Membran amnion mempunyai kemampuan untuk menghambat aktifitas kerja komplemen. Hal ini oleh karena membran amnion mengekspresikan CD59 yang berfungsi sebagai faktor inhibitor komplemen. Komplemen merupakan salah satu agen inflamasi yang kuat. CD59 diekspresikan baik pada sel epitel maupun pada sel stromal, sehingga kemampuan anti inflamasi membran amnion tidak tergantung pada posisi membran amnion di permukaan mata.⁹

Membran amnion dapat berperan menghambat proses neovaskularisasi. Kemampuan ini sangat diperlukan untuk rekonstruksi kornea. Kemampuan ini diduga karena pada membran basalis didapatkan *pigment epithelium-derived factor* (PEDF) yang berfungsi menghambat pertumbuhan sel endotel di kornea, di lain pihak PEDF akan meningkatkan proliferasi sel epitel kornea.³ Membran basalis membran amnion mengandung kolagen tipe I, III, IV, V dan VII, laminin dan *fibronectin*, yang berperan juga sebagai anti inflamasi, menghambat aktifitas proteinase dan menurunkan peroksidasi lipid.²

4. Imunogenitas yang rendah

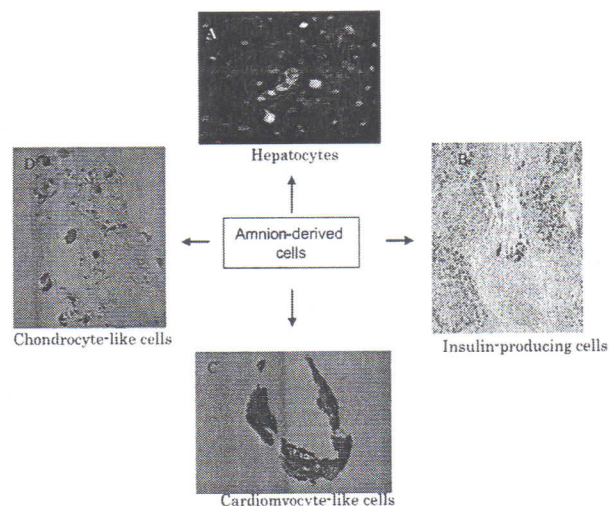
Penggunaan membran amnion untuk rekonstruksi kelainan permukaan mata mempunyai beberapa keuntungan, antara lain karena membran amnion mempunyai sifat imunogen yang rendah. Sampai saat ini belum ada laporan tentang penolakan akut pada transplantasi membran amnion. Hal ini diduga oleh karena membran amnion tidak mengekspresikan HLA-A, -B, -C, dan -DR. Membran amnion mengekspresikan HLA-G (kelas Ib) yang mempunyai polimorfisme yang rendah apabila dibandingkan dengan HLA kelas Ia. Ekspresi HLA-G ini akan mempengaruhi sistem imun host, oleh karena HLA-G mempunyai peran sebagai peptida toleragenik yang akan menginaktivasi limfosit atau dendritik host dengan cara berikatan dengan reseptor inhibisi. Selain itu HLA-G juga akan dikenali oleh sel T tertentu oleh karena CD8 dapat berikatan dengan HLA-G dan akan berfungsi sebagai supresor.³ Membran amnion tidak mengekspresikan HLA-A, -B dan HLA-DR sehingga membran amnion ini relatif bersifat immunology inert dan akan mengurangi resiko penolakan atau reaksi imun ketika ditransplantasikan.⁶

5. Anti mikroba dan anti virus

Membran amnion mempunyai kemampuan sebagai antimikroba oleh karena epitel membran amnion mempunyai kemampuan memproduksi β -*defensins*, *secretory leukocyte proteinase inhibitor* (SLPI) dan *elafin*, yang merupakan peptide antimikroba.⁶

6. Kemampuan pluripotent

Sel epitel membran amnion juga mempunyai kemampuan pluripotent yang telah dibuktikan dengan adanya diferensiasi sel epitel membran amnion dapat menjadi tiga *germ layer* (ektodermal, mesodermal, endodermal).⁶



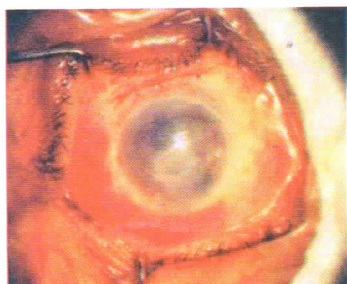
Gambar 2.3. Diferensiasi sel amnion menjadi beberapa tipe sel. Diambil dari Toda dkk, *The Potential of Amniotic Membrane/Amnion-Derived Cells for Regeneration of Various Tissues*, 2007.

2.3. Penggunaan membran amnion pada kelainan permukaan mata.

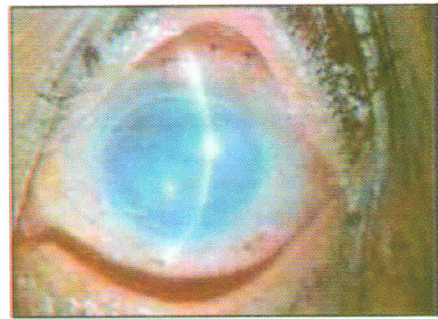
Penggunaan membran amnion untuk rekonstruksi kelainan permukaan matapertama kali dilakukan oleh De Roth pada tahun 1940 dengan menggunakan membran amnion *fresh* untuk penatalaksanaan *conjunctival epithelial defect* setelah eksisi *symblepharon*. Pada tahun-tahun berikutnya *membran amnion transplant* tidak banyak muncul di literatur sampai pada tahun 1995 Kim dan Tseng menggunakan membran amnion *transplant* untuk rekonstruksi kerusakan kornea yang berat pada hewan coba kelinci. Sejak muncul penelitian tersebut membran amnion *transplant* banyak digunakan untuk berbagai kelainan permukaan mata seperti *persistent corneal epithelial defects*, *neurotrophic corneal ulcers*, kebocoran bleb setelah operasi glaukoma, eksisi pterigium, rekonstruksi *conjunctival surface*, *bullous keratopathy*, trauma kimia serta trauma termis dan pada pasien dengan sikatriks okular akibat *pemphigoid* atau *Stevens-Johnson syndrome*.⁸

2.3.1. Persistent epithelial defect dan neurotrophic ulcer

Tujuan penatalaksanaan persistent epithelial defect adalah untuk mengatasi faktor yang menjadi penyebab, mengatasi proses inflamasi dan melindungi permukaan bola mata. Dengan menggunakan membran amnion maka proses inflamasi dapat ditekan dan dapat melindungi permukaan mata, karena membran amnion mempunyai kemampuan untuk menghambat proses inflamasi dan meningkatkan proses epitelisasi. Membran amnion berlapis dapat digunakan untuk memperbaiki ulkus kornea yang dalam atau ulkus steril dengan perforasi yang kecil, karena membran amnion mengandung kolagen dan *growth factors* untuk proses penyembuhan. Kelemahan membran amnion untuk penalaksanaan keadaan ini adalah adanya proses kerusakan jaringan yang berjalan terus di bawah transplant, sehingga dibutuhkan *stem cell* di limbus yang cukup, keratosit yang normal di sekitar lesi dan sensoris yang baik untuk proses penyembuhan.¹⁰



Gambar 2.4. Persistent epithelial defect



Gambar 2.5. Persistent Epithelial Defect setelah transplantasi membran amnion

Diambil dari : Arya SK, dkk. *Role of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders*. 2010

2.3.2. Shield ulcers

Oleh karena kemampuan untuk meningkatkan proses epitelisasi dan mempunyai aktifitas anti inflamasi dan anti sikatriks maka membran amnion dapat digunakan untuk mengatasi *shield ulcer* yang tidak responsif dengan terapi konvensional. Hal ini pernah dilakukan pada 7 pasien dengan *shield ulcer* grade II-III dan didapatkan hasil proses penyembuhan yang lebih cepat.¹⁰

2.3.3. Infectious keratitis

Membran amnion dapat digunakan sebagai terapi keratitis infeksi baik bakteri, parasit maupun jamur. Keterbatasan metode ini adalah tidak dapat memonitor proses penyakit di bawah membran.¹⁰

2.3.4. Bullous keratopathy

Pemberian membran amnion pada *bullous keratopathy* dapat mengurangi rasa nyeri. Durasi hilangnya nyeri ini bervariasi mulai dari 88% sampai 90% pada minggu ke empat sampai minggu ke empatpuluh lima. Bagaimana mekanisme kerja membran amnion dapat mengurangi rasa nyeri ini belum jelas.¹⁰

2.3.5. Band keratopathy

Pasien dengan *band keratopathy* akan mengeluhkan nyeri pada mata oleh karena kerusakan sel epitel kornea. Penatalaksanaan *band keratopathy* pada 16 pasien menggunakan membran amnion setelah dilakukan keratektomi superficial didapatkan hasil 15 pasien (93,75 %) mengalami perbaikan.

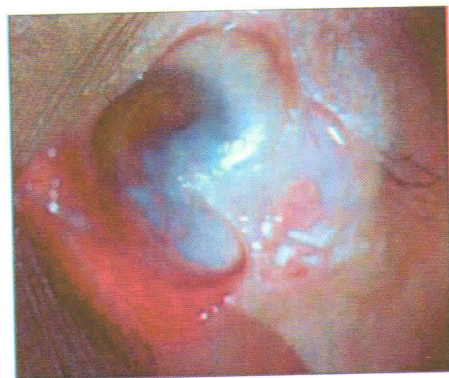
2.3.6. Trauma Kimia

Pada fase akut trauma kimia akan didapatkan proses inflamasi yang hebat, pemecahan sel epitel yang selanjutnya akan terjadi membuburnya jaringan. Dengan memberikan membran amnion diharapkan proses inflamasi akan berkurang, epitelisasi akan meningkat,

mencegah nekrosis jaringan dan menghindarkan proses sikatrisasi pada proses penyembuhan yang pada akhirnya menyelamatkan tajam penglihatan. Pada trauma kimia ringan sampai sedang membran amnion akan mencegah terjadinya pembentukan *symblepharon*. Pada trauma kimia berat yang didapatkan proses inflamasi yang luas, iskemia stroma dan kerusakan *stem cell* limbus yang banyak, membran amnion dapat menurunkan proses inflamasi, mencegah kerusakan *stem cell* dan mencegah terjadinya *symblepharon*.¹⁰

2.3.7. Rekonstruksi konjungtiva

Penggunaan *conjunctival autograft* dan *mucous membrane grafts* untuk rekonstruksi konjungtiva dapat memberikan hasil kosmetik yang kurang baik, resiko infeksi, dan resiko sikatrik pada tempat donor. Membran amnion diketahui dapat digunakan untuk rekonstruksi konjungtiva dengan hasil yang bagus pada kasus defek konjungtiva setelah dilakukan eksisi konjungtiva, *Steven Johnson syndrome*, eksisi tumor konjungtiva, *conjunctivochalasis* dan *ocular cicatricial pemphigoid*. Hal ini dimungkinkan oleh karena membran amnion dapat menekan proses inflamasi dan proses pembentukan jaringan sikatriks dan meningkatkan poses epitelisasi. Keuntungan lain penggunaan membran amnion adalah dapat memperbaiki kosmetik, dapat memonitor kekambuhan lokal tumor dibawah *graft* amnion.



Gambar 2.6. Preoperative simblefaron



Gambar 2.7. Post operatif menggunakan *amnion membran*

(Diambil dari : Arya SK, et al. Role of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Nep J Oph* 2010;2(4):145-153)

2.3.8. Pterigium

Kemampuan membran amnion untuk menekan fibroblast baik pada konjungtiva normal atau pada pterigium dapat digunakan sebagai dasar terapi penatalaksanaan pterigium menggunakan membran amnion. Tingkat rekurensi pterigium primer yang diterapi dengan membran amnion adalah sebesar 3 % sedangkan pada pterigium rekuren adalah sebesar 9,5%. Apabila dibandingkan dengan *conjunctival autograft* yang mempunyai tingkat rekurensi sebesar 10,7% dan *bare sclera* sebesar 38,7% maka membran amnion mempunyai kelebihan.¹⁰

2.4. Metode penyimpanan membran amnion

Metode penyimpanan membran amnion mempunyai peran yang sangat besar untuk mempertahankan integritas membran basalis dan stroma yang berfungsi meningkatkan kecepatan re-epitelisasi.

Berdasarkan metode penyimpanannya membran amnion terbagi menjadi *fresh* dan *preserved*.

2.4.1. Membran amnion fresh

Plasenta yang didapatkan dicuci dengan normal saline steril yang mengalir untuk membersihkan darah yang menggumpal. Bagian dalam membran amnion dipisahkan dari korion secara tumpul. Setelah itu dicuci dengan normal saline, yang mengandung *ampicillin*, *streptomycin* dan *amphotericin B*. Kemudian dicuci menggunakan DMSO 4%, 8% dan 10% masing-masing selama 5 menit. Kemudian membran amnion di letakkan pada kertas nitroselulose dengan bagian epitel menghadap ke atas, dan dipotong sebesar 2 x 2 cm dan disimpan dalam suhu 4°C, dan dapat digunakan sampai 2 minggu.⁸

2.4.2. Membran amnion preserved

Prosedur penyimpanan membran amnion *fresh* belum menjamin kondisi sterilitas yang sempurna, sehingga dikembangkan metode penyimpanan yang dapat menjamin kondisi sterilitas.¹¹

Membran amnion *preserved* terbagi menjadi membran amnion *cryopreserved* dan *freeze dried*. Pada membran amnion *cryopreserved* disimpan dalam suhu -80°C, sedangkan membran amnion *freeze dried* disimpan dalam suhu ruangan.

2.4.2.1. Cryomembran amnion preserved

Untuk metode pengawetan dengan suhu -80 °C pertama kali dilakukan pencucian membran amnion dengan larutan garam fisiologis yang mengandung *ampicillin*, *streptomycin* dan

amphotericin B. Kemudian dicuci menggunakan DMSO 4%, 8% dan 10% masing-masing selama 5 menit. Kemudian membran amnion di letakkan pada kertas nitroselulose dengan bagian epitel menghadap ke atas, dan dipotong sebesar 2 x 2 cm atau 47 x 47 mm dan dibekukan pada suhu -80 °C dalam sebuah botol yang berisi medium yang mengandung *glycerol* dan *modified Eagle's Medium* dengan perbandingan 1:1, 3,3% L-glutamin, 25 ug/ml gentamicin, 50 units/ml

Untuk mengonfirmasi status seronegative HIV dan hepatitis dilakukan pengulangan pemeriksaan serologi dalam 3-4 bulan. Setelah semua prosedur pengawetan dilakukan *membran amnion* siap digunakan. Sebaiknya *membran amnion* ini digunakan sampai 6 bulan setelah proses pembuatan, oleh karena adanya perubahan viabilitas sel dan penurunan kadar *growth factor*.² *Membran amnion* yang diawetkan dengan metode *cryopreservation* akan mengalami perubahan kapasitas proliferasi dan viabilitas.²

Membran amnion yang akan digunakan sebaiknya di buka diruang operasi, sehingga menghindari kontaminasi kuman, selain itu juga harus dalam keadaan dingin. Medium pembawa juga perlu diperhatikan apakah warnanya tetap berwarna merah muda terang atau sudah mengalami perubahan warna. Perubahan warna pada medium pembawa menunjukkan adanya kontaminasi bakteri, demikian pula apabila medium pembawa menjadi keruh.²

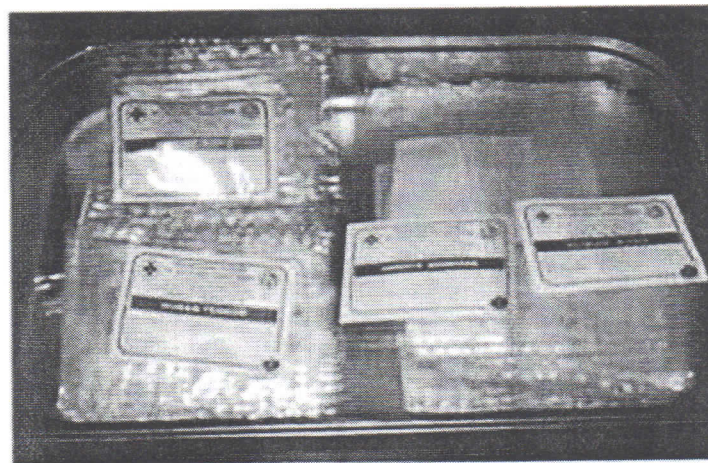
Saat ini ada dua tipe amnion yang diawetkan dengan metode *cryopreserved* yaitu Amniograft^R dan Prokera^R. Amniograft di transplantasikan dengan cara menjahit, sedangkan Prokera dilakukan seperti memasang lensa kontak.

2.4.2.2. Membran amnion *freeze dried*

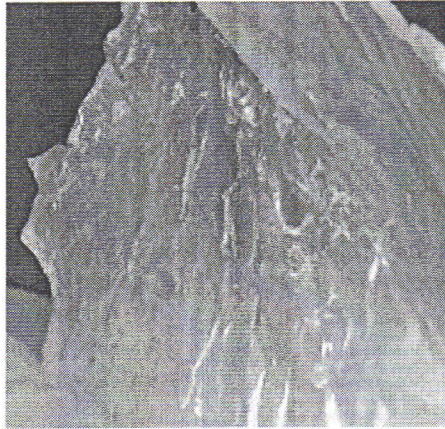
penicillin, 100ug/ml ciprofloxacin dan 0.5mg/ ml Amphotericin B. Bagian luar botol di beri label yang berisi data ukuran dan tanggal pembuatan. Satu buah botol yang berisi bahan tersebut di atas di ambil secara random dan diletakkan di suhu ruangan selama 1 jam dan kemudian di kultur dalam medium *brain heart infusion* dan *thioglycolate broth* selama 21 hari untuk memastikan bahan tersebut terbebas dari bakteri dan jamur.²

Pengawetan dengan metode *cryopreserved* membutuhkan alat penyimpanan yang relatif mahal dan membutuhkan ruangan yang besar. Metode ini hanya dapat bertahan sampai 6 bulan. Pada saat ini dikembangkan metode pengawetan yang menjamin sterilitas dengan biaya yang relatif lebih murah dan mempunyai jangka waktu pemakaian yang relatif lama, yaitu dengan metode *freeze drying*.¹¹

Pada metode *freeze dried* dilakukan proses liofilisasi atau *freeze drying* yaitu menghilangkan kandungan air secara selektif melalui proses sublimasi menjadi bentuk es kemudian secara langsung mengalami proses penguapan tanpa melalui fase pencairan. Karakteristik dari materi yang telah mengalami proses *freeze drying* adalah bahan tersebut menjadi solid dan tidak dapat berinteraksi secara fisika atau kimiawi. Proses strerilisasi yang dilakukan pada bahan yang telah mengalami proses liofilisasi adalah dengan radiasi. Membran amnion yang telah mengalami proses liofilisasi ini sel epitelnya akan mati, namun sifat-sifat fisik seperti tegangan putus, daya tembus uap air dan daya serap air tidak terjadi perubahan, serta kandungan kimiawi yang ada seperti laminin, integrin, fibronektin dan kolagen yang dibutuhkan untuk proses reepitelisasi saat ditransplantasikan masih tetap dipertahankan.¹²



Gambar 2.8. Kemasan amnion *freeze dried* yang diproduksi di RSUD dr. Sutomo Surabaya (diambil dari Buletin Ditjen Bina Upaya Kesehatan, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Pelayanan Bank Jaringan, 2012)



Gambar 2.9. Membran amnion *freeze dried* (diambil dari Toda dkk, *The Potential of Amniotic Membrane/Amnion-Derived Cells for Regeneration of Various Tissues*, 2007)

III. PEMBAHASAN

3.1. Membran *amnion fresh*

Berbagai laporan keberhasilan penggunaan membran *amnion fresh* untuk rekonstruksi kelainan permukaan mata telah banyak diteliti dengan berbagai tingkat keberhasilan. Adds dkk (2001) telah melakukan penelitian secara invitro antara membran *amnion fresh* dan membran *amnion cryopreserved*. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan aktifitas mitokondria yang bermakna antara membran *amnion fresh* dan membran *amnion cryopreserved*.⁵

Kadar *transforming growth factor* β 2 (TGF- β 2) antara membran *amnion fresh* dan membran *amnion cryopreserved* tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Hasil ini dilaporkan oleh Hoesin RG (2009) pada 13 membran *amnion* pada keadaan segar dan setelah dilakukan proses *cryopreserved*.¹³

Permeabilitas membran *amnion fresh* dan membran *amnion cryopreserved* terhadap ofloxacin 3% secara invitro tidak berbeda bermakna. Pada kedua jenis membran *amnion* ofloxacin dapat dideteksi dengan konsentrasi yang tinggi pada menit ke-90 setelah penetesan.¹⁴

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Salman (2010) didapatkan bahwa penggunaan membran *amnion fresh* untuk penatalaksanaan ulkus kornea steril pada 47 pasien mempunyai tingkat keberhasilan 80,8%. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa dengan satu lapis membran *amnion fresh* akan mempercepat epitelisasi, menurunkan inflamasi, meningkatkan kenyamanan tetapi tidak menurunkan keadaan vaskularisasi kornea. Penggunaan membran *amnion fresh* pada kasus ini juga dapat

meningkatkan *best corrected visual acuity* lebih dari dua baris pada 29,8 % kasus.⁸

Polymorphonuclear neutrophil yang merupakan sel inflamasi utama pada reaksi radang akut dapat diturunkan dengan menggunakan membran *amnion fresh*. Efek membran *amnion fresh* dalam induksi apoptosis *polymorphonuclear neutrophil* lebih besar dari pada membran *amnion preserved*. Keadaan ini diakibatkan oleh konsentrasi EGF, bFGF, antagonis reseptor IL-1, IL-10 dan *matrix metalloproteinase inhibitor membran amnion fresh* lebih tinggi dibandingkan membran *amnion preserved*.¹⁵

Aurora R (2005) melaporkan dari 15 pasien dengan trauma okuli kemis derajat II, III dan IV didapatkan perbaikan permukaan mata pada derajat II yang melibatkan hilangnya sebagian *stem cell*. Pada trauma okuli kemis derajat III membran *amnion fresh* dapat mempercepat proses epitelisasi, dan didapatkan hasil semua pasien tidak ada yang mengalami defek epitel. Tajam penglihatan juga mengalami kemajuan, serta tidak ada pasien yang memburuk menjadi ulkus atau mengalami perforasi. Membran *amnion* tidak dapat menghambat terjadinya *simblefaron* dan neovaskularisasi kornea. Pada grade IV membran *amnion* kurang efektif untuk mengatasi kerusakan permukaan mata.¹⁶

Penggunaan membran *amnion fresh* pada *bullous keratopathy* dengan nyeri yang hebat telah diteliti oleh Farrukh (2010) dan didapatkan hasil 13 dari 15 pasien rasa nyeri hilang dalam 24 jam, 1 pasien keluhan nyeri hilang setelah beberapa hari dan 1 pasien memerlukan transplantasi membran *amnion* lagi.¹⁷

Rekonstruksi permukaan mata pada 10 pasien menggunakan membran *amnion fresh* setelah dilakukan eksisi luas *ocular surface neoplasia* didapatkan hasil kemajuan visus dari 20/100 menjadi 20/20 pada 50% pasien, 20% pasien visus tidak berubah yang diakibatkan katarak dan skar makula. Sedang 30% pasien baik pre dan post operasi visus tetap 20/20. Pada semua kasus tidak didapatkan reaksi penolakan, infeksi maupun inflamasi.¹⁸

Rekonstruksi konjungtiva pada 42 mata yang mengalami *simblefaron* setelah trauma kemis dan *Steven Johnson syndrome* didapatkan 37 mata mengalami perbaikan dan hilangnya hambatan gerak bola mata. Pada 5 mata masih didapatkan rekurensi *simblefaron* yang minimal.¹⁹

Qosida I, dkk (2008) juga berhasil menggunakan membran *amnion fresh* untuk mengatasi kondisi sklerektasi yang mengalami inflamasi pada pasien usia 11 tahun. Transplantasi membran *amnion fresh* ini dikombinasi dengan

teknik *cryosurgery*. Kondisi inflamasi dapat hilang setelah 2 minggu pasca transplantasi dan keadaan sklerektasi dapat hilang setelah 1 bulan transplantasi.²⁰

Wang X, dkk (2012) telah membandingkan efek antimikroba membran amnion *fresh* yang mempunyai epitel yang masih ada dan yang sel epitelnya sudah dihilangkan. Penelitian tersebut dilakukan secara invitro dengan membran amnion *fresh* dipapar dengan staphylococcus dan *E. coli*, dan didapatkan hasil bahwa membran amnion *fresh* dengan epitel yang masih utuh mempunyai kemampuan antimikroba yang lebih besar daripada membran amnion *fresh* dengan epitel yang sudah hilang.²¹

Penggunaan membran amnion *fresh* mempunyai beberapa kendala antara lain, meningkatkan resiko tertularnya penyakit melalui darah. Hal ini dapat diakibatkan karena pada membran amnion *fresh* tidak dapat dilakukan pengulangan test serologi pada donor, sedangkan pada membran amnion *preserved* dapat dilakukan pengulangan test serologi pada donor setelah 6 bulan. Kendala ini dapat diatasi dengan pemeriksaan ELISA yang teliti atau dilakukan pemeriksaan menggunakan PCR. Kesulitan lainnya adalah pada penggunaan membran amnion *fresh* didapatkan kesulitan mencari donor yang sesuai pada waktu yang diinginkan. Penggunaan membran amnion *fresh* juga akan meningkatkan biaya operasional, oleh karena membran amnion yang didapat ditujukan untuk pasien tertentu sehingga sisa membran amnion yang tersisa dibuang, sedangkan pada yang metode *preserved* dapat dihasilkan sampai 30 potongan yang dapat disimpan.⁵

3.2. Membran amnion *preserved*

Penyimpanan membran amnion pada suhu -80°C mempunyai pengaruh terhadap penurunan aktifitas *transforming growth factor β* (TGFβ) 1 dan 2, *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *hepatocyte growth factor* (HGF) sebesar 50%.²² Setelah dua bulan proses pembekuan pada suhu -80 °C sebanyak 50% sel amnion yang masih viabel dan dapat berproliferasi. Setelah 18 bulan proses pembekuan tidak didapatkan sel yang masih viabel.² Pada penelitian Fust dkk (2012) juga didapatkan hasil bahwa setelah proses pembekuan -80°C selama 6 bulan tidak didapatkan sel yang masih hidup.⁹

Penelitian Libera dkk (2008) menunjukkan bahwa penggunaan membran amnion *freeze dried* menghasilkan struktur desmosom dan membran basalis kornea yang lebih baik daripada penggunaan membran amnion *cryopreserved*.¹²

Nakamura dkk (2004) juga melaporkan pada metode *freeze dried*, membran basalis dan serat kolagen dapat dipertahankan strukturnya dengan baik dan secara imunohistokimia didapatkan kolagen tipe I, III, IV dan V serta adanya fibronektin.¹¹

Kekuatan fisik antara *cryopreserved* dan membran amnion *freeze dried* tidak berbeda secara signifikan. Pada kondisi basah membran amnion dengan ukuran 10x30 mm diuji kekuatan *one point suspension strength* dan *stretch stress* didapatkan data pada *cryopreserved* rata-rata kekuatan robekan *one point suspension* sebesar 14.3 gf dan *stretch stress* sebesar 257.7 gf. Pada membran amnion *freeze dried* didapatkan *one point suspension strength* sebesar 15.4 gf dan *stretch stress* sebesar 286.7gf.¹¹

Kemampuan anti inflamasi antara membran amnion *fresh* dan membran amnion *preserved* tidak didapatkan perbedaan. Berdasarkan hasil penelitian Fust dkk (2012) dengan metode *flowcytometry* didapatkan bahwa baik pada *fresh* atau membran amnion *preserved* mengekspresikan CD59 yang berfungsi sebagai inhibitor komplemen.⁹

Hasil penelitian Bauer D, dkk (2012) didapatkan bahwa secara in vitro membran amnion *cryopreserved* yang diperlakukan pada kultur makrofag yang diaktifasi oleh IFN-γ akan meningkatkan apoptosis makrofag dan menurunkan aktifitas fagositosis makrofag. Kemampuan membran amnion ini didasari oleh aktifitas membran amnion dalam meningkatkan ekspresi PPAR- γ yang berperan dalam menurunkan jalur signal Nfk-B.²³

Penggunaan membran amnion *cryopreserved* pada 5 pasien sebagai bahan *patching* untuk trauma okuli kemis derajat II-III pada fase akut menghasilkan hilangnya rasa nyeri 1 hari setelah *patching*, inflamasi cepat reda dan dalam 2 minggu proses epitelisasi sudah sempurna.²⁴ Pada keratitis HSV-1 yang diterapi dengan membran amnion *cryopreserved* didapatkan reepitelisasi setelah 2 hari pasca transplantasi dan jumlah sel neutrofil juga menurun.²⁵

Pemakaian membran amnion *cryopreserved* pada fase akut *Steven Johnson syndrome* juga dapat mengurangi terjadinya *simblefaron*. Dari 12 pasien dengan *Steven Johnson syndrome* dan dilakukan transplantasi membran amnion *cryopreserved* dalam waktu 2 minggu setelah onset penyakit didapatkan 2 pasien yang mengalami *simblefaron*, sedangkan sisanya tidak didapatkan *simblefaron*.²⁶

Apabila dibandingkan dengan membran amnion *fresh* dan *cryopreserved* yang memungkinkan masih ada sel yang masih hidup maka pada amnion *freeze dried* hampir tidak didapatkan sel yang masih hidup. Hal ini mengakibatkan sifat *immunogenicity* jauh lebih rendah, sehingga kemungkinan reaksi inflamasi oleh karena proses penolakan graft menjadi jauh lebih rendah.³

Hasil transplantasi membran amnion *cryopreserved* dan membran amnion *freeze dried* pada kornea kelinci tidak didapatkan perbedaan yang signifikan, di mana pada keduanya didapatkan proses penyembuhan setelah 10 hari transplantasi. Setelah satu bulan transplantasi didapatkan hasil kejernihan kornea, tidak didapatkan edema kornea dan neovaskularisasi kornea. Dari hasil kultur sel epitel kornea pada membran amnion *freeze dried* didapatkan sel epitel sudah mulai tumbuh setelah 3 hari, dan pada hari ketujuh seluruh permukaan membran amnion sudah tertutup oleh sel epitel kornea. Pada minggu ketiga didapatkan 4 sampai 5 lapis epitel kornea dengan diferensiasi yang baik dan sama dengan sel epitel kornea. Dengan menggunakan *scanning electron microscope* didapatkan perlekatan antara epitel basal dengan membran amnion *freeze dried* melalui hemidesmosom.¹¹

DAFTAR PUSTAKA

1. Dirk Bauer, 1, Wasmuth S, Hennig M, Baehler H, Steuhl K-P, et al. Amniotic Membrane Transplantation Induces Apoptosis in T Lymphocytes in Murine Corneas with Experimental Herpetic Stromal Keratitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2009;50(7):3188-98.
2. Irfan Z. Qureshi FAaWAK. Technique for Processing and Preservation of Human Amniotic Membrane for Ocular Surface Reconstruction World Academy of Science, Engineering and Technology. 2010;45:757-60.
3. Toda A, Okabe M, Yoshida T, Nikaido T. The Potential of Amniotic Membrane/Amnion-Derived Cells for Regeneration of Various Tissues. *J Pharmacol Sci* 2007;105:215-28.
4. Baradaran-Rafii A, Aghayan H-R, Arjmand B, Javadi M-A. Amniotic Membrane Transplantation. *Iranian Journal Of Ophthalmic Research*. 2007;2(1):58-75.
5. Adds PJ, Hunt CJ, Dart JKG. Amniotic membrane grafts, "fresh" or frozen? A clinical and in vitro comparison. *British Journal Ophthalmology* 2001;85:905-7.
6. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Alexander, et al. Properties of The Amniotic Membrane For Potential Use In Tissue Engineering. *European Cells and Materials* 2008;5:88-9.
7. Baradaran-Rafii A, Aghayan H-R, Arjmand B, Javadi M-A. Amniotic Membrane Transplantation. *Iranian Journal Of Ophthalmic Research* 2007;2(1):58-75.
8. Salman AG. Value of Fresh Amniotic Membrane Graft in Management of Resistant Non Infected Corneal Ulcer. *Journal of Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2010;1(2):1-4.
9. Fust A, Pallinger E, Stundl A, Kovacs E, Olmre L, Sara Toth, et al. Both Freshly Prepared and Frozen-Stored Amniotic Membrane Cells Express the Complement Inhibitor CD59. *The ScientificWorld Journal* 2012;2012:1-5.
10. SK Arya, S Bhala, A Malik, Sood S. Role of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Nep J Oph* 2010;2(4):145-53.
11. Nakamura T, Yoshitani m, Rigby H, Fullwood NJ, Ito W, Inatomi T, et al. Sterilized, Freeze-Dried Amniotic Membrane : A Useful Substrate for Ocular Surface Reconstruction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004;45(1):93-9.
12. Libera RD, Melo GB, Lima AdS, Haapalainen EF, Cristovam P, Gomes JÁP. Assessment of the use of cryopreserved x freeze-dried amniotic membrane (AM) for reconstruction of ocular surface in rabbit model. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(5):669-73.
13. Hoessin RG. The Comparison of Active and Total Transforming Growth Factor- β 2 Concentration on Fresh and Cryopreservation Membran amnion. *Jurnal Oftalmologi Indonesia*. 2009;7(2):6-14.
14. Resch MsD, Resch BIE, Csizmazia E, Imre Ls, 'meth JnN, 'sz PRv, et al. Permeability of Human Amniotic Membrane to Ofloxacin In Vitro. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2010;51(2):1024-7.
15. Shiyou Z, Jiaqi C, Jinfa F. The effects of amniotic membrane on polymorphonuclear cells. *Chinese Medical Journal*. 2003;116(5):788-90.
16. Arora R, Mehta D, Jain V. Amniotic membrane transplantation in acute chemical burns. *Eye*. 2005;19:273-8.
17. Farrukh S. Amniotic Membrane Transplantation for Symptomatic Bullous Keratopathy APMC 2010;4(2):138-42.

-
18. Gunduz K, Ucakhan OO, Kanpolat A, Gunalp I. Nonpreserved human amniotic membrane transplantation for conjunctival reconstruction after excision of extensive ocular surface neoplasia. *Eye*. 2005;20:351-7.
 19. Zhou S, Chen J, Xu L, Lin J, Huang T. Fresh amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Yan Ke Xue Bao* 1999;15(3):169-73.
 20. Qosida I, Ihsan, Suhendro G. Kombinasi Cryosurgery dan Membran amnion fresh Graft Pada Sklerektasis. *Jurnal Oftalmologi Indonesia* 2008;6(2):127-30.
 21. Wang X, Xie J, Tan L, Huo J, Xie H. Epithelium of human fresh amniotic membrane has antimicrobial effects in vitro *African Journal of Microbiology Research* 2012;6(21):4533-7.
 22. Ma DH-K, See L-C, Liau S-B, Tsai RJ-F. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *British Journal Ophthalmology* 2000;84:973-8.
 23. Bauer D, Hennig M, Wasmuth S, Baehler H, Busch M, Steuhl K-P, et al. Amniotic Membrane Induces Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- Positive Alternatively Activated Macrophages. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012;53(2):799-810.
 24. Kobayashi A, Shirao Y, Yoshita T, Yagami K, Segawa Y, Kawasaki K, et al. Temporary amniotic membrane patching for acute chemical burns. *Eye* 2003;17(149-158).
 25. Heiligenhaus A, Bauer D, Meller D, Steuhl K-P, Tseng SCG. Improvement of HSV-1 Necrotizing Keratitis with Amniotic Membrane Transplantation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, August 2001, Vol 42, No 9. 2001;42(9):1969-74.
 26. Shay E, Kheirkhah A, Liang L, Sheha H, Gregory DG, Tseng SCG. Amniotic Membrane Transplantation as a New Therapy for the Acute Ocular Manifestations of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Surv Ophthalmol*. 2009;54(6):686-96.