

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Keloid banyak ditemukan dalam praktek sehari-hari dan sering menimbulkan keluhan sehingga mengganggu kualitas hidup penderitanya. Keloid merupakan penyakit fibro-proliferatif yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan ikat abnormal, melewati batas tepi luka dan banyak dijumpai pada orang-orang yang memiliki predisposisi kuat (Kose *et al.*, 2008; Shaheen, 2017b; Mari *et al.*, 2015). Deposisi kolagen yang berlebihan pada keloid di dermis dan subkutis dapat terjadi setelah mengalami trauma seperti luka bakar, tindakan bedah, vaksinasi, inflamasi, tindik, ataupun muncul secara spontan. Keloid akan melewati batas tepi luka dan sering dijumpai pada orang kulit berwarna (Shaheen, 2017a; Shaheen, 2017b).

Angka insidensi keloid didapatkan berbeda-beda di setiap populasi. Hal ini menunjukkan bahwa insidensi keloid sangat dipengaruhi berbagai macam faktor salah satunya adalah perbedaan etnik. Orang dengan kulit gelap memiliki angka insidensi yang lebih tinggi dibandingkan orang dengan kulit putih. Selain itu, berbagai penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa keloid dapat diwariskan. Angka kejadian keloid yang sama pada pasangan saudara kembar mendukung bukti keterlibatan secara genetik ini (Halim *et al.*, 2012). Berdasarkan beberapa penelitian, faktor lingkungan menjadi faktor pencetus munculnya keloid terhadap orang-orang yang diduga memiliki pola pewarisan genetik (Halim *et al.*, 2012; Glass, 2017). Selain itu, keloid dapat terjadi pada semua kelompok usia tetapi angka kejadiannya lebih tinggi pada usia pubertas dan pra-pubertas karena usia muda memiliki kulit yang relatif elastis dan lebih sering mengalami trauma daripada orang lanjut usia (Wolfram *et al.*, 2009).

Pola pewarisan keloid secara familial tampak pada orang-orang yang memiliki kulit berwarna berisiko 15 kali lebih tinggi dibandingkan dengan penderita albinisme. Penderita albinisme tidak pernah dilaporkan menderita

keloid. Beberapa penelitian yang dilakukan di Jepang, Afrika-Amerika dan Cina Han membuktikan bahwa kromosom 2q23, 7p11 dan 10q23.31 adalah lokus kromosom yang dihubungkan erat dengan kejadian keloid (Huang *et al.*, 2013a).

Angka insidensi keloid yang lebih tinggi pada kulit berwarna diduga berhubungan dengan kadar pigmen melanin seseorang. Pertumbuhan fibroblas dapat dipicu oleh melanosit sehingga akan terjadi deposisi sintesis kolagen dan matriks ekstraseluler, mengaktivasi *transforming growth factor* (TGF- β) *signaling pathway* serta memicu terjadinya jaringan skar abnormal. Pada proses penyembuhan luka, melanosit di lapisan basal akan kontak dan berinteraksi dengan fibroblas dari lapisan dermis setelah adanya kerusakan membran basal. Proses ini akan memicu proliferasi fibroblas dan sekresi/deposisi dari kolagen (Gao *et al.*, 2013).

Patogenesis keloid belum sepenuhnya diketahui hingga saat ini (Mari *et al.*, 2015). Fibroblas keloid dan biosintesis fibronektin meningkat 4x lipat dibandingkan dengan fibroblas kulit normal dan skar. Fibronektin ini berperan penting pada beberapa proses penyembuhan luka, berfungsi untuk memicu pembentukan *clot* pembekuan, pembentukan jaringan granulasi dan re-epitelialisasi jaringan. Kolagen yang utama pada jaringan keloid adalah kolagen tipe I dan III. Kolagen tipe III dan IV juga dapat ditemukan dalam jumlah yang kecil. Sintesis kolagen pada keloid meningkat 20x lebih tinggi daripada jaringan normal dan 3x lebih tinggi dari jaringan skar hipertrofi. *Growth factor* juga diketahui memiliki peran penting dalam kontraksi skar. *Transforming growth factor- β* (TGF- β) dan *platelet derived growth factor* (PDGF) merupakan faktor penting dalam memicu kontraksi fibroblas kulit normal. *Transforming growth factor- β* akan memicu kemotaksis fibroblas menuju daerah inflamasi sehingga memicu produksi protein matriks ekstraseluler. Aktifitas TGF- β secara normal akan berhenti saat penyembuhan luka telah sempurna (Wolfram *et al.*, 2009).

Sinyal molekular yang penting berpengaruh pada patogenesis keloid antara lain *TGF- β 1 pathway*, *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) *pathway*, *insulin-like growth factor-I* (IGF-I) *pathway* dan *integrin pathway* (Unahabhokha *et al.*, 2015). Dua jalur TGF- β 1 yang sudah diketahui adalah jalur

Smad (*canonical*) dan non-Smad (*non-canonical*). Protein Smad (*Small mothers against decapentaplegic*) yang berperan dalam keloid adalah Smad2 dan Smad3 yang kemudian akan membentuk kompleks dengan Smad4 sedangkan jalur sinyal TGF- β 1 non-Smad MAPK terdiri dari p38 MAPK, *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) dan *c-Jun-N-terminal kinase* (JNK). Jalur ini akan mengaktifasi TGF- β 1 tergantung tipe dan lingkungan mikronya (Hall *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2013; Biernacka *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2014a).

Proses sinyal TGF- β dimulai saat TGF- β ligan akan menempel pada reseptor *serine-threonine kinases* yaitu TGF- β RI dan TGF- β RII. *Transforming growth factor- β* ligan ditangkap oleh TGF- β RII membentuk ikatan kompleks heterotetrametrik dengan TGF- β RI yang akan memfosforilasi dan mengaktifkan faktor transkripsi dari R-Smad (Smad2 dan Smad3) (Bruce *et al.*, 2012). Fosforilasi Smad 2 dan Smad 3 akan membentuk kompleks dengan Smad 4 dan akan mengalami translokasi ke dalam nukleus untuk mengaktifkan transkripsi kolagen yang mana jalur ini adalah salah satu jalur yang terpenting dalam patogenesis keloid (Li *et al.*, 2017; Garg *et al.*, 2015). Fosforilasi Smad 3 ini akan meningkat pada keloid, sehingga jika menekan proses fosforilasi Smad 3 ini, maka ekspresi gen prokolagen dari fibroblas keloid juga akan turun (Andrews *et al.*, 2016).

Penanganan keloid menjadi tantangan tersendiri bagi dermatologis, karena keloid sendiri memberikan masalah secara fisik, estetik dan sosial kepada penderitanya. Keluhan klinis berupa nyeri dan gatal juga akan menyebabkan gangguan tidur, kecemasan, depresi dan gangguan aktifitas sehari-hari. Kontraktur yang muncul pada lesi keloid dapat menyebabkan deformitas yang berat serta gangguan fungsional sehingga akan mempengaruhi kualitas hidupnya (Lee *et al.*, 2018).

Hingga saat ini belum ada terapi tunggal yang benar benar efektif untuk penanganan keloid. Beberapa terapi yang digunakan untuk terapi keloid saat ini antara lain injeksi kortikosteroid triamsinolon asetonid (TA) intralesi, silikon gel, bedah krio, bedah eksisi, terapi tekan, laser, terapi radiasi, interferon, 5-FU, imiquimod, injeksi interferon, bleomisin, maupun kombinasi dari beberapa

mode terapinya. Injeksi kortikosteroid intralesi sampai saat ini masih menjadi terapi pilihan utama yang banyak dikerjakan untuk pengobatan keloid (Butler *et al.*, 2008; Gauglitz *et al.*, 2011).

Sekitar tahun 1990, 5-FU yang merupakan salah satu obat kemoterapi mulai diperkenalkan sebagai terapi untuk penanganan keloid (Bijlard *et al.*, 2015). Obat ini adalah analog *fluorinated pyrimidine* yang bekerja sebagai obat anti metabolik dengan menghambat *thymidylate synthase* dan akan mengganggu sintesis RNA. 5-fluorourasil akan menghambat proliferasi fibroblas dan menekan sintesis kolagen (Ibrahim *et al.*, 2018). Beberapa studi sebelumnya telah meneliti kombinasi antara TA dan 5-FU yang bertujuan untuk mengembangkan terapi yang efektif dalam penanganan keloid dan mengurangi efek samping dari TA (Huang *et al.*, 2013b; Srivastava *et al.*, 2018; Khalid *et al.*, 2019).

Pirfenidon (*5-methyl-1-phenyl-2-(1H)-pyridone*) adalah obat yang sudah mendapat persetujuan dari FDA sebagai terapi dari fibrosis paru idiopatik. Selain itu, PFD juga mempunyai efek anti inflamasi dan anti fibrotik pada berbagai macam penyakit fibrosis (Hall *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2014b). Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengetahui efek farmakologi PFD untuk mencegah dan menghentikan skar pada jaringan yang luka terutama pada paru, kulit, sendi, kelenjar prostat dan hati (Mora *et al.*, 2015). Efek anti fibrosis dan anti inflamasi dari PFD ini terkait dengan anti-TGF- β and anti-*tumor necrosis factor* (TNF- α) (Mandapalli *et al.*, 2016).

Saito *et al.*, meneliti efek terapeutik PFD pada lesi keloid dengan membuat model kontraksi luka secara *in vitro* dengan fibroblas keloid. Pada studi ini menunjukkan bahwa PFD dapat menekan kontraksi fibroblas dengan jalan menghambat jalur TGF- β 1, sehingga PFD dapat digunakan untuk pengobatan keloid (Saito *et al.*, 2012). Para peneliti terus mencoba mengembangkan terapi alternatif untuk keloid dan banyak penelitian di fokuskan pada *growth factor* antara lain TGF- β , CTGF atau PDGF dalam pengaruhnya terhadap etiologi keloid (Mari *et al.*, 2015).

Berbagai penelitian masih terus dikembangkan untuk mencari pilihan terapi keloid yang aman dan efektif karena sifat keloid yang memiliki angka rekurensi yang tinggi sehingga perlu dikembangkannya terapi-terapi lain baik terapi tunggal maupun kombinasi dalam penanganan keloid. Pirfenidon mempunyai potensi sebagai anti fibrotik telah diteliti pada beberapa penelitian sebelumnya, khususnya untuk kasus-kasus fibrosis paru, ginjal, jantung, dan mata. Akan tetapi, penelitian untuk mengembangkan PFD sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dengan terapi keloid lainnya masih sangat terbatas.

Berdasarkan penelitian pendahuluan, kombinasi PFD 1,5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml paling kuat dalam menghambat deposisi kolagen, sehingga dosis PFD yang digunakan pada penelitian ini adalah 1.5 mg/ml dan dosis untuk 5-FU adalah 1 mg/ml (Dharmawan *et al.*, 2020). Studi lain juga meneliti efek PFD terhadap fibroblas skar epidural dan menyatakan bahwa PFD dosis 0.01, 0.5 dan 1.5 mg/ml tidak memiliki efek sitotoksik dan apoptotik yang signifikan sehingga PFD berperan sebagai anti proliferasi melalui efek non-apoptotik dan non-sitotoksik (Shi *et al.*, 2019).

B. Kebaharuan Penelitian

Hasil dari penelusuran dengan kata kunci kultur fibroblas keloid, kombinasi PFD dan 5-FU, TGF- β 1, pSmad3, kolagen tipe I <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> dan <http://www.google.com> belum didapatkan penelitian yang sama.

Tabel 1. Kebaharuan Penelitian

Peneliti, tahun	Judul penelitian	Hasil	Perbedaan
Hall <i>et al.</i> , 2018	Pirfenidone reduces profibrotic responses in human dermal myofibroblasts, in vitro	Pirfenidon 0.1 mg/mL menghambat kolagen tipe I dan III pada matris ekstraseluler via p38 MAPK	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menggunakan fibroblas normal 2. Fibroblas distimulasi dengan TGF-β1 terlebih dahulu 3. Menggunakan pirfenidon tunggal

Saito <i>et al.</i> , 2012	Pirfenidone suppresses keloid fibroblast-embedded collagen gel Contraction	Pirfenidon 0.05 mg/ml kontraksi fibroblas keloid dapat menghambat jalur TGF- β 1	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mengukur daya kontraksi fibroblas keloid. 2. Fibroblas distimulasi dengan TGF-β1 terlebih dahulu 3. Menggunakan parameter CTGF dan α-SMA 4. Menggunakan pirfenidon tunggal
Shi <i>et al.</i> , 2019	Pirfenidone inhibits epidural scar fibroblast proliferation and differentiation by regulating TGF- β 1-induced Smad-dependent and -independent pathways	Pirfenidon 25mg menghambat TGF- β 1 yang diinduksi oleh fosforilasi Smad2, Smad3, Akt dan p38	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pada jaringan skar epidural. 2. Menggunakan PFD tunggal berbagai dosis.
Stahnke <i>et.al</i> , 2017.	Suppression of TGF- β pathway by pirfenidone decreases extracellular matrix deposition in ocular fibroblasts <i>in vitro</i>	Pirfenidon 10 ⁻³ mmol/l menekan TGF- β 1 yang di ekspresikan oleh fibronektin dan α -SMA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menggunakan fibroblas mata manusia 2. Menggunakan pirfenidon tunggal
Sun <i>et al.</i> , 2018	Pirfenidone suppresses TGF- β 1-induced human intestinal fibroblasts activities by regulating proliferation and apoptosis via the inhibition of the Smad and PI3K/AKT signaling pathway	Pirfenidon 1 mg/ml menghambat TGF- β 1 via jalur PI3K/AKT pada fibroblas intestinal manusia	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menggunakan fibroblas intestinal manusia 2. Menggunakan pirfenidon tunggal

C. Rumusan Masalah

1. Apakah ada pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar pSmad3 pada fibroblas keloid?
2. Apakah ada pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar TGF- β 1 pada fibroblas keloid?
3. Apakah ada pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar kolagen tipe 1 pada fibroblas keloid?
4. Apakah ada pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap proliferasi fibroblas keloid?

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum
 - a. Membuktikan dan menganalisis pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar pSmad-3, TGF- β 1, kadar kolagen tipe 1 dan proliferasi fibroblas keloid.
2. Tujuan Khusus
 - a. Membuktikan dan menganalisis pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar pSmad3 pada fibroblas keloid.
 - b. Membuktikan dan menganalisis pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar TGF- β 1 pada fibroblas keloid.
 - c. Membuktikan dan menganalisis pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap kadar kolagen tipe 1 pada fibroblas keloid.
 - d. Membuktikan dan menganalisis pengaruh pemberian kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml terhadap proliferasi fibroblas keloid.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritik
 - Memberikan bukti empirik pengaruh kombinasi PFD 1.5 mg/ml dan 5-FU 1 mg/ml dalam menurunkan kadar pSmad3, menurunkan kadar TGF- β 1, menekan kadar kolagen tipe 1 dan menekan proliferasi fibroblas keloid.

- Dasar pengembangan pemilihan terapi lebih lanjut.

2. Manfaat Aplikatif

- Mengembangkan terapi baru dalam penanganan keloid yang lebih efektif dibandingkan terapi yang menggunakan kortikosteroid.

