

Buku Ajar Ketuban Pecah Dini



Ketut Surya Negara
Ryan Saktika Mulyana
Evert Solomon Pangkahila

TIM PENYUSUN

Penulis

dr. Ketut Surya Negara, SpOG(K), MARS

Staf Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah

dr. Ryan Saktika Mulyana, M.Biomed, SpOG

Staf Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah

dr.Evert Solomon Pangkahila, M.Biomed, SpOG

Staf Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah

Editor

dr. Andi Yusrizal

dr. Florence Desiree

dr. I Gusti Ngurah Yudhi Pramana

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa Buku Ajar Ketuban Pecah Dini dapat diselesaikan pada waktunya meskipun dengan beberapa keterbatasan. Buku Ajar ini diharapkan menjadi sarana untuk pembaca agar lebih memahami materi tentang ketuban pecah dini. Manfaat lainnya yang diharapkan adalah semoga buku ini dapat sampai pula di tangan para praktisi kesehatan yang berkecimpung di bidang obstetri dan ginekologi.

Materi yang terdapat dalam buku ini diantaranya berupa panduan klinik praktis yang dapat diterapkan atau dapat dijadikan panduan di tempat bekerja para pembaca dan praktisi kesehatan. Buku ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan up date yang bersifat general dan dapat diterapkan di layanan primer sampai tersier.

Tiada gading yang tak retak, demikian pula dengan penyusunan buku ini. Semoga buku ini dapat memberi banyak manfaat dalam menghadapi masalah ketuban pecah dini di Indonesia.

Denpasar, 19 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Tim Penyusun.....	i
Pengantar.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Bab I Ketuban Pecah Dini.....	1
Definisi Ketuban Pecah Dini.....	2
Epidemiologi.....	2
Bab II Membran Amnion	5
Pembentukan Membran Amnion.....	6
Membran Amnion, Struktur dan Fungsinya	9
Struktur, Komposisi, dan Metabolisme	
Matriks Ekstra Seluler Membran Janin.....	17
Dinamika Matriks Ekstraseluler dan Pecah Ketuban	
Komposisi dan Struktur Kolagen	23
Perubahan Komposisi Matriks Ekstraseluler Selama	
Kehamilan	27
Bab III Peran Matrik Metalloproteinase pada KPD.....	30
Bab IV Perubahan Fokal pada Membran Janin.....	47
Bab V Mekanisme Ketuban Pecah Dini	55
Peran Infeksi Pada Ketuban Pecah Dini	58
Faktor Nutrisi Pada Ketuban Pecah Dini.....	65
Peran Hormon Relaksin pada Ketuban Pecah Dini.....	69
Peran Mekanik pada Ketuban Pecah Dini.....	78
Peran Gen pada Ketuban Pecah Dini	79
Peran ROS pada KPD.....	80
Peran Apoptosis pada KPD.....	83
Bab VI Diagnosis, Pentalaksanaan dan Komplikasi KPD	95
Diagnosis	96
Penatalaksanaan	99
Komplikasi	104
Penyembuhan Selaput Ketuban	105
Penyembuhan selaput ketuban Invitro	110

Bab VII Amnion Patch112
 Dasar Teori114
 Prosedur Amnionpatch.....116
 Komplikasi Amnionpatch.....118

Daftar Pustaka 123123

BAB I KETUBAN PECAH DINI (KPD)
Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Definisi Ketuban Pecah Dini (KPD)

Ketuban pecah dini memiliki bermacam-macam batasan, teori dan definisi. Ketuban pecah dini (KPD) atau *Premature Rupture of the Membranes* (PROM) adalah keadaan pecahnya selaput ketuban sebelum terjadinya proses persalinan pada kehamilan aterm. Sedangkan *Preterm Premature Rupture of the Membranes* (PPROM) adalah pecahnya ketuban pada pasien dengan usia kehamilan kurang dari 37 minggu (Parry and Strauss, 1998; Brian and Mercer, 2003; Mamede dkk., 2012).

Epidemiologi KPD

Kejadian ketuban pecah dini (KPD) terjadi pada 10-12% dari semua kehamilan. Pada kehamilan aterm insidensinya 6-19%, sedangkan pada kehamilan preterm 2-5%. Laporan lain mendapatkan ketuban pecah dini terjadi pada sekitar 6% sampai 8% wanita sebelum usia kehamilan 37 minggu dan secara langsung mendahului 20% sampai 50% dari semua kelahiran prematur (Getahun dkk., 2012). Insiden KPD di seluruh dunia bervariasi antara 5-10% dan hampir 80% terjadi pada usia kehamilan aterm (Adeniji dkk., 2013; Endale dkk., 2016). Sementara itu, insiden KPD preterm diperkirakan sebesar 3-8% (Okeke dkk., 2014). Dalam keadaan normal, 8-10% wanita hamil aterm akan mengalami KPD dan hanya 1% terjadi pada usia kehamilan preterm (Soewarto, 2010). Prevalensi dari KPD preterm di dunia adalah 3 - 4,5 % kehamilan (Lee, 2001) dan merupakan penyumbang dari 6 - 40 % persalinan preterm atau prematuritas

(Furman dkk., 2000). Di China dilaporkan insiden KPD lebih tinggi sekitar 19.53% dari seluruh kehamilan (Yu, 2015), sedangkan di Indonesia berkisar antara 4,5% sampai 7,6% (Wiradarma dkk., 2013). Di RSUP Sanglah Denpasar, Suwiyoga dan Budayasa (2005) melaporkan angka kejadian kasus KPD sebesar 12,92 % dimana kasus KPD aterm sebesar 83.23% dan KPD preterm sebesar 16.77% dari 2113 persalinan. Budijaya dan Surya Negara (2016) melaporkan kasus Ketuban Pecah Dini (KPD) di RSUP Sanglah Denpasar sebanyak 212 kasus dari 1450 persalinan (14,62%). Kejadian persalinan dengan KPD pada usia kehamilan aterm (≥ 37 minggu) yaitu 179 kasus (84,43%), sedangkan pada preterm sebanyak 33 kasus (15,57%).

Ketuban pecah dini preterm dikaitkan dengan 30-40% kelahiran prematur dan merupakan penyebab utama kelahiran prematur. Ketuban pecah dini preterm yang terjadi sebelum usia kehamilan 24 minggu, juga disebut sebagai KPD preterm *previable*, kejadiannya kurang dari 1% kehamilan dan berhubungan dengan komplikasi yang berat pada ibu ataupun janin (Brian dan Mercer, 2003; Adeniji dkk., 2013; Endale dkk., 2016). Kasus dengan ketuban pecah dini akan mengalami persalinan hampir 95% dalam waktu 24 jam. Ketuban pecah dini pada kehamilan preterm akan lahir sebelum umur kehamilan aterm terjadi dalam satu minggu setelah selaput ketuban pecah (Revanthi dkk., 2015; Endale dkk., 2016; Lorthie dkk., 2016).

Pada ketuban pecah dini preterm terjadi risiko baik pada janin maupun pada ibu. Komplikasi maternal meliputi infeksi

intrauterin, retensio plasenta, dan solusio plasenta; juga dilaporkan ada beberapa kasus sepsis dan kematian maternal. Pada kehamilan preterm angka insiden korioamnionitis sekitar 13-60% dan solusio plasenta terjadi pada 4-12% kehamilan dengan ketuban pecah dini. Peradangan selaput ketuban atau korioamnionitis terjadi pada 9% kehamilan dengan ketuban pecah dini aterm, risiko meningkat sampai 24% apabila pecah ketuban terjadi lebih dari 24 jam. Parameter morbiditas neonatus yaitu sindrom distres pernafasan / respiratory distress syndrome (RDS), displasia bronkopulmoner, hipertensi pulmonal permanen pada neonatus (PPHN), patent ductus arteriosus (PDA), infeksi, perdarahan intraventricular (IVH), kontraktur, retinopathy of prematurity (ROP), dan necrotizing enterocolitis (NEC). Kematian janin dilaporkan pada 3 - 22% kasus pecah ketuban dini preterm dengan usia kehamilan 16 - 28 minggu. Kejadian sepsis pada ibu sekitar 0,8% yang menyebabkan kematian 0,14%. Risiko pada janin dapat terjadi infeksi intrauterin, penekanan tali pusat dan solusio plasenta. Usia kehamilan saat terjadinya KPD preterm *previable* dan saat persalinan, keduanya menentukan hasil luaran neonatus. Komplikasi neonatus yang umum terjadi adalah hipoplasia jaringan paru, displasia bronkopulmoner, kontraktur dan infeksi. Tingkat survival neonatus telah meningkat dalam beberapa dekade terakhir. Namun, angka kematian neonatus setelah komplikasi obstetri ini dilaporkan masih tinggi dan bervariasi antara 34 sampai 82% (Tsiartas dkk., 2013; Endale dkk., 2016; Linehan dkk., 2016).

BAB II MEMBRAN AMNION

Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Pembentukan Membran Amnion

Fertilisasi dimulai ketika spermatozoa bertemu dengan oosit sekunder, yang menghasilkan pembentukan satu embrio bersel. Dalam 2-3 hari pertama perkembangan, sebuah pembelahan embrio terjadi sepanjang corpus uteri dengan cara kontraksi tuba dan pergerakan silia. Mitosis terjadi sekitar satu per hari, meningkatkan jumlah sel-sel atau blastomer, dan masing-masing blastomer dianggap totipoten. Embrio memasuki cavum uteri setelah sekitar setengah minggu, di mana terdapat sekitar 8-12 sel. Ketika sudah terdapat 8-16 sel, terjadi blastomer yang memaksimalkan kontak antar seluler dan meminimalkan ruang antar seluler, sehingga massa seluler sama yang disebut morula. Embrio disebut morula bila terdapat 12 atau lebih sel sampai rongga blastocystic muncul. Setelah 4-5 hari dan ketika terdapat 16-32 sel, rongga dapat dideteksi dalam massa seluler dari morula, dan morula ini sekarang disebut sebagai blastocyst. Penampakan blastocyst menunjukkan diferensiasi menjadi (1) sel-sel trofoblas perifer terletak dan pembentukan pertama dari epitel dan (2) sel-sel embrionik membentuk *inner cells mass*.

Trofoblas berdiferensiasi menjadi dua varietas utama (pada hari 6): (1) lapisan dalam dari sitotrofoblas, dan (2) lapisan sel luar berinti, sinsitiotrofoblas. Sitotrofoblas mengelilingi rongga blastocystic. Sinsitiotrofoblas berkembang dari sitotrofoblas, dan mensintesis serta mengeluarkan chorionic gonadotropin dan hormon plasenta lainnya.

Sebelum implantasi, inner cell mass mulai berdiferensiasi menjadi lapisan sel eksternal dan internal. Kedua lapisan itu disebut epiblast (ektoderm), yang merupakan lapisan sel eksternal, dan hypoblast (endoderm), yang merupakan lapisan sel internal yang. Akhirnya, kombinasi dari epiblast dan hypoblast membentuk *embryonic disc* (terjadi segera setelah implantasi). Cairan dalam rongga blastocystic diyakini berasal dari trofoblas.

Pada hari ke 6, blastokista mulai menempel pada endometrium, yang menandai awal dari implantasi. Setelah blastokista mulai menembus epitel uterus, endometrium disebut desidua. Desidualisasi, atau reaksi desidua, adalah serangkaian perubahan endometrium yang terjadi dalam menanggapi invasi blastokista ke dalam endometrium. Endometrium mulai menyimpan glikogen dan lipid, yang berfungsi sebagai sumber energi untuk janin.

Suatu fungsi pertama dari mesenkim adalah produksi mesoblast ekstra-embrio dari daerah caudal yang terdapat proliferasi sekitar 7-8 hari. Kombinasi dari trofoblas pada jaringan uterus dan mesoblast ekstra-embrio dikenal sebagai korion (8-12 hari). Awalnya trofoblas adalah solid (7-8 hari). Namun, hari ke 9 lapisan trofoblas membentuk lakuna karena meluas ke endometrium (8-10 hari). Sebagai syncytium dari trofoblas invasi ke endometrium, itu mengikis dan menembus sinusoid ibu, atau pembuluh darah, yang kemudian terjadi pengisian darah ibu ke lakuna (10-12 hari).

Penggabungan dari pembuluh darah ibu dan trofoblas adalah dasar dari sirkulasi plasenta. Sebagai suatu lakuna yang menyatu, darah ibu mulai mengalir, dan terjadi pertukaran oksigen, karbon dioksida dan nutrisi. Sementara lakuna mengandung darah, tetapi juga ditunjukkan bahwa ruang intervillous kekurangan aliran darah selama trimester pertama dan diisi terutama dengan cairan aselular, mungkin plasma .

Cavum amnion muncul bersamaan dengan *inner cell mass*, disusun oleh sel epiblastic (hari 7-8) dan tertutup oleh amnion. Cavum amnion dibatasi oleh epiblast, dan bagian belakang, dengan lapisan ektoderm amnion. Pada aspek ventral dari diskus embrionik, ekstra-embrionik endoderm tumbuh mengelilingi suatu rongga yang disebut *primary umbilical vesicle* (yolk sac) .

Plasenta adalah bagian yang terdapat untuk kehamilan intrauterin, yang memfasilitasi pertumbuhan janin. Plasenta mensintesis berbagai macam hormon dan mempunyai fungsi di bidang nutrisi, respirasi, sekresi, dan ekskresi. Villi korialis adalah fitur dasar dari plasenta dan terbentuk sekitar hari ke 17-23. Bagian yang solid dari sitotrofoblas, atau unit sitotrofoblas, mengikuti sinsitiotrofoblas ke endometrium dan penetrasi darah mengisi ruang lacunar sebagai villi korionik primer atau stem villi. Dengan demikian, villi ini mengandung inti sitotrofoblas, yang ditutupi oleh sel-sel syncytial. Mesoblast penetrasi ke dalam inti kumpulan sitotrofoblas dan membentuk korionik sekunder (stem) villi. Akibatnya, villi korionik sekunder mengandung inti yang

dibentuk oleh puncak mesoblastik, sitotrofoblas, dan ditutupi oleh sel-sel syncytial. Di awal periode embrio, beberapa villi korionik mengembangkan massa padat sel trofoblas pada ujungnya. Sel sitotrofoblas melakukan kontak dengan endometrium dan menyebar sebagai bagian dari lapisan ruang intervillous (lapisan sitotrofoblas atau basal membran). Shell ini tegas menempel plasenta ke endometrium. Kemudian core vili memperpanjang melalui kolom sel menjadi berlabuh ke desidua (Penahan villi). Kebanyakan vili, bagaimanapun, mempertahankan tips gratis di ruang intervillous (floating villi). Kapiler dalam vili menjadi terhubung dengan hati embrio melalui pembuluh pusat. Susunan vili adalah bahwa dari pohon gugur dengan akar di lempeng korionik dan batang; cabang dan ranting, ditanggihkan dalam genangan darah ibu, menempati ruang intervillous.

Pada 56 hari, coelom ekstra-embrio, ruang antara mesoderm dari korion dan mesoderm meliputi kuning karung, dilenyapkan, dan rongga rahim menjadi berkurang. Dengan 17-20 minggu, amnion dan korion menjadi menyatu.

Membran Amnion, Struktur dan Fungsinya

Terdapat dua tipe sel utama pada amnion manusia. Pada awal embriogenesis, sebelum usia kehamilan 8 minggu, amnion terdiri dari sebuah lapisan sel epitelium (diduga berasal dari ektoderm janin) dan sebuah lapisan terpisah dari sel mesenkim (diduga berasal dari mesoderm janin) yang terletak berdekatan dengan sel epitelium. Pada tahap awal embriogenesis ini, amnion merupakan

membran dengan dua lapisan sel. Seiring dengan kantong amnion yang semakin besar, sel epitelium melakukan replikasi agar dapat mempertahankan epitelium yang terdiri dari lapisan sel berdekatan yang dihubungkan oleh desmosom. Laju replikasi dari sel mesenkim nampaknya tidak dapat mengimbangi ekspansi kantong amnion; dimulai pada usia kehamilan 10-14 minggu, sel yang serupa dengan fibroblas mulai terburai, yang pada mulanya hanya dihubungkan oleh jaringan ikat longgar (Joyce, 2009; Mamede *et al.*, 2012).

Pada tahap awal kehamilan ini, deposit kolagen diletakkan antara sel epitelium dan mesenkim, sehingga tercipta pembatas antara dua sel tersebut yang tersusun oleh zona aselular dari kolagen interstisial, yang disebut zona compacta atau lapisan padat dari amnion. Pada trimester ketiga, terdapat sekitar sepersepuluh sel mesenkim bila dibandingkan dengan sel epitelium. Terdapat pula beberapa makrofag (berasal dari janin) pada amnion manusia, namun jaringan ini tidak memiliki vaskuler, otot halus, sistem limfatik, atau jaringan saraf (Joyce, 2009; Mamede *et al.*, 2012).

Membran ketuban merupakan suatu struktur membran yang lunak yang mengelilingi fetus selama kehamilan. Kehamilan normal memerlukan kekuatan integritas dari membran ketuban hingga kehamilan aterm, dimana pada saat terjadinya pecahnya membran ketuban merupakan bagian yang sangat vital pada saat persalinan. Membran ketuban terdiri dari struktur dua lapis yang terdiri dari lapisan amnion dan lapisan chorion. Lapisan korion

lebih tebal dan lebih selular, dan sedangkan lapisan amnion lebih kaku dan kuat. Ketebalan lapisan amnion $\pm$ 20% dari ketebalan membran ketuban. Telah dikonfirmasi bahwa amnion dan lapisan-lapisan korion mengandung kolagen tipe I dan III di samping jenis kolagen IV dan V (Benirschke *et al.*, 2012; Abrantes *et al.*, 2015)

Amnion manusia terdiri dari lima lapisan yang berbeda, tidak mengandung pembuluh darah atau saraf, nutrisi yang dibutuhkan dipasok oleh cairan ketuban. Lapisan paling dalam, yang terdekat dengan janin, adalah epitel amnion. Sel epitel amnion mensekresikan kolagen tipe III dan IV dan glikoprotein nonkolagen (laminin, nidogen, dan fibronectin) yang membentuk membran basal, lapisan berikutnya dari amnion (Hasaneroglu and Murat, 2014; Abrantes *et al.*, 2015).

Lapisan kompakta jaringan ikat yang dekat dengan membran basal membentuk kerangka fibrosa utama amnion. Kolagen lapisan padat tersebut disekresikan oleh sel mesenkim pada lapisan fibroblas. Kolagen interstisial (tipe I dan III) predominan dan membentuk ikatan paralel yang mempertahankan integritas mekanik amnion. Kolagen tipe V dan VI membentuk penghubung filamentosa antara kolagen interstisial dan membran basal epitel. Tidak ada penempatan substansi dasar amorf antara fibril kolagen dalam jaringan ikat amnion aterm, sehingga amnion mempertahankan daya regangnya sepanjang tahap akhir kehamilan normal (Hasaneroglu and Murat, 2014; Abrantes *et al.*, 2015).

Lapisan fibroblast adalah lapisan yang paling tebal diantara lapisan amnion, mengandung sel-sel mesenkim dan makrofag dalam suatu matriks ekstraselular. Kolagen pada lapisan ini membentuk jaringan longgar dengan pulau-pulau glikoprotein nonkolagen.

Lapisan intermediat (lapisan spons, atau zona spongiosa) terletak di antara amnion dan korion. Kandungan yang melimpah dari proteoglikan terhidrasi dan glikoprotein memberikan sifat "kenyal" lapisan ini dalam preparat histologis, dan mengandung jaringan nonfibrillar sebagian besar kolagen tipe III. Lapisan intermediat menyerap tekanan fisik dengan membuat amnion bergeser di korion dasarnya, yang melekat kuat pada desidua maternal (Hasaneroglu and Murat, 2014; Abrantes *et al.*, 2015).

Lapisan korion lebih tebal dari pada lapisan amion dan berisi sublapisan jaringan ikat dan sitotrofoblas . Sel-sel sitotrofoblas dikelilingi oleh kolagen tipe IV dan lapisan korion berikatan kuat dengan lapisan decidua, di mana sel-sel desidua dikelilingi oleh kolagen tipe III, IV, dan V. Ketika membran janin terpisah dari rahim saat melahirkan, beberapa jaringan rahim yang melekat, bagian dari desidua tersebut, tetap melekat pada korion (Parry and Strauss, 1998; Hasaneroglu and Murat, 2014; Abrantes *et al.*, 2015)

Korion terdiri dari 4 lapisan yang tersusun sebagai berikut :

1. Trofoblast

Terdiri dari sel – sel trofoblast dari yang bulat sampai polygonal.

2. *Pseudobasement membrane*

Merupakan lapisan tebal sel – sel *cytotrophoblastic* polygonal dengan 2 tipe sel yang berbeda morfologinya.

3. Lapisan reticular

Terdiri dari jaringan serabut – serabut fusiformis dan sel – sel stellata.

4. Lapisan seluler

Merupakan lapisan sel – sel bervakuola dan melekat satu dengan yang lain secara erat dengan ruang intraseluler yang sempit (basal sitotrofoblast).

Membran amnion adalah struktur biologis yang transparan yang tidak memiliki saraf, otot atau pembuluh limfe. Sumber nutrisi dan oksigen adalah cairan chorionic, cairan amnion dan permukaan pembuluh darah janin, menjadi penyedia nutrisi melalui cara difusi. Energi utamanya diperoleh melalui proses glikolitik anaerobik karena pasokan oksigen terbatas. Transporter protein Glukosa 1 dan 3 telah ditemukan di permukaan apikal sel epitel membran amnion (Todaet *al.*, 2007; Benirschke *et al.*, 2012).

Layer	Extracellular-Matrix Composition	MMP or TIMP Produced
Amnion		
Epithelium		MMP-1, MMP-2, MMP-9
Basement membrane	Collagen types III, IV, V; laminin, fibronectin, nidogen	
Compact layer	Collagen types I, III, V, VI; fibronectin	
Fibroblast layer	Collagen types I, III, VI; nidogen, laminin, fibronectin	MMP-1, MMP-9, TIMP-1
Intermediate (spongy) layer	Collagen types I, III, IV; proteoglycans	
Chorion		
Reticular layer	Collagen types I, III, IV, V, VI; proteoglycans	
Basement membrane	Collagen type IV; fibronectin, laminin	
Trophoblasts		MMP-9

Gambar skema lapisan dari selaput membran janin dan komponen protein, MMP (*Matrix Metalloproteinase*), TiMP (*Tissue Inhibitor Metalloproteinase*). (Strauss, 1998)

Ketebalan membran amnion bervariasi dari 0,02 mm sampai 0,5 mm dan terdiri dalam tiga lapisan histologis utama: lapisan epitel, membran basal yang tebal dan jaringan avascular mesenchymal. Lapisan dalam, berdekatan dengan cairan amnion, didasari oleh lapisan homogen tunggal dari sel-sel epitel kuboid yang terfiksasi pada membran basal yang melekat pada lapisan aseluler yang kental yang terdiri dari kolagen tipe I, II dan V. Sel epitel amnion memiliki banyak mikrovili di permukaan apikal mereka dan mungkin memiliki fungsi sekresi aktif dan fungsi transportasi intra dan transseluler. Sel-sel ini memiliki inti besar yang ireguler dengan nucleolus homogen yang besar dan banyak

organel intrasitoplasmik dan vesikula pinocytic. Sel epitel amnion yang mengekspresikan penanda epidermal, seperti glikoprotein CA125 dan reseptor oksitosin. Erythropoietin dan reseptornya diekspresikan dalam sel epitel amnion manusia. Erythropoietin, yang fungsinya masih belum diketahui di membran amnion, merangsang diferensiasi, proliferasi dan kelangsungan hidup prekursor eritroid dan produksi diatur oleh konsentrasi oksigen dalam darah (Mamede *et al.*, 2012).

Membran basal mengandung sejumlah besar proteoglikan yang kaya sulfat heparan dan yang berfungsi sebagai penghalang permeabel untuk makromolekul amnion dan beberapa molekul dengan fungsi struktural sehingga memungkinkan pemeliharaan integritas membran. Molekul-molekul ini adalah aktin, α -actinin, spectrin, Ezrin, beberapa cytokeratins, vimentin, desmoplakin dan laminin. Ekspresi laminin telah banyak diteliti, karena molekul ini memberikan kontribusi terhadap kelangsungan hidup sel, diferensiasi, bentuk dan gerakan dan terlibat dalam pemeliharaan fenotipe jaringan (Takashima *et al.*, 2008; Mamede *et al.*, 2012).

Lapisan luar dari membran amnion terdiri dari sel-sel seperti fibroblast mesenchymal yang diduga berasal dari lempeng embrionik mesoderm dan yang tersebar di membran full term. Isi dari lapisan mesenchymal kaya kolagen meningkatkan kekuatan tarik. Beberapa penulis menyebut lapisan terluar dari amnion dengan zona spongiosa, karena kandungan melimpah dari proteoglikan dan glikoprotein menghasilkan penampilan spons dalam preparat histologis. Lapisan ini berada berdekatan dengan

korion laeve yang merupakan struktur hampir aselular dan berisi jaringan nonfibrillar sebagian besar dari kolagen tipe III (Parry dan Strauss 1998; Toda *et al.*, 2007). Lapisan spons, berhubungan dekat dengan membran korionik, terdiri dalam bundel yang bergelombang dari retikulum yang bermandikan musin; maka, membran amnion mudah lepas dari korion dengan cara diseksi tumpul. Seperti yang diharapkan, amnion bervariasi dalam penampilan histologis dari konsepsi hingga maturitas dan beberapa pola yang berbeda sering ditemukan, bahkan pada aterm (Benirschke *et al.*, 2012; Mamede *et al.*, 2012).

Membran amnion bukan hanya struktur avaskular sederhana, tetapi memiliki beberapa fungsi metabolisme seperti transportasi air dan bahan-bahan larut dan produksi faktor bioaktif, termasuk peptida vasoaktif, *growth factor* dan sitokin (Cunningham 2010). Salah satu fungsi dasar dari membran amnion adalah untuk menjaga perkembangan embrio dengan melindungi terhadap pengeringan dan lingkungan suspensi, di mana embrio dapat tumbuh bebas dari tekanan dari struktur yang mengelilingi tubuhnya. Memang, resistensi traksional dari membran amnion utamanya terkait dengan lapisan kental interstitial kolagen tipe I, II dan elastin. Di sisi lain, elastisitas amnion utamanya disebabkan oleh kolagen tipe III. Karena kehadiran kolagen interstitial, satu sifat penting dari membran amnion adalah ketahanan terhadap faktor proteolitik. Membran amnion juga memiliki peran penting selama kelahiran, karena zat yang dihasilkan oleh epitel membran amnion memungkinkan inisiasi dan pemeliharaan kontraktilitas

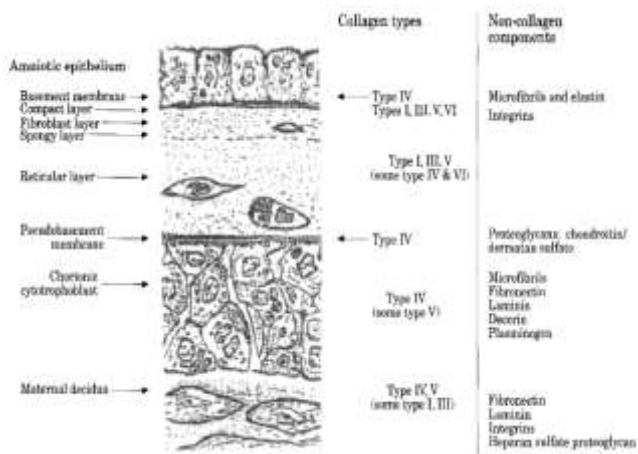
uterus. Prostaglandin, terutama prostaglandin E2 dan enzim yang diintegrasikan ke dalam sintesis prostaglandin, seperti phospholipases dan prostaglandin synthase, adalah beberapa molekul yang diproduksi di epitel amnion dan yang memiliki peran dalam fisiologi kontraksi. Human chorionic gonadotropin, corticotrophin releasing hormon dan glukokortikoid mengatur produksi prostaglandin. Interleukin (IL) 4 juga telah menunjukkan dapat menekan aktivitas prostaglandin-H synthase-2 pada sel epitel amnion. Selama kehamilan, epitel amnion sangat aktif secara metabolik dan memiliki peran penting dalam menjaga pH cairan amnion, menjaganya agar tetap pada nilai konstan. Karbonat anhidrase isoenzim CA-1 dan CA-2 yang ditemukan di sel-sel epitel amnion. Enzim ini, yang terlibat dalam metabolisme bikarbonat / karbon dioksida, diduga memiliki peran regulasi dalam menjaga pH cairan amnion yang konstan (Mamede *et al.*, 2012)

Struktur, Komposisi, dan Metabolisme Matriks Ekstraseluler Membran Janin

Matrik ekstraseluler/ *Extraceluller Matrix* (ECM) dari jaringan ikat adalah material komposit yang kompleks, yang terdiri dari serat tak larut, mikrofibril dan berbagai protein terlarut dan glikoprotein. Protein merupakan elemen struktur utama ECM, dimana akan membentuk elemen utama dari struktur jaringan ikat. (Menon and Furnato, 2004).

Extraceluller Matrix ditemukan di semua jaringan mamalia. *Extraceluller Matrix* terdiri atas protein struktural yang

terdiri dari berbagai jenis kolagen (lebih dari 28 jenis rantai yang berbeda) dan elastin. Protein adhesiva, laminin, fibronektin, tenascin, thrombospondin dan proteoglikan juga komponen ECM tersebut. Kolagen fibriliar tipe I, II, III, V dan XI, memberikan struktur dan bentuk, dan merupakan komponen utama dari kulit dan tulang, sedangkan fungsi kolagen lainnya pembentukan jaringan di membran basal. Kolagen yang dominan pada cervix adalah tipe I dan III, dan beberapa tipe IV dan V, ini juga merupakan kolagen yang dominan pada membran janin (Strauss, 2013).



Gambar distribusi komponen kolagen dan non kolagen pada selaput ketuban janin (Bryant, 1998)

Matrik ekstraseluler telah dikenal sebagai komponen utama dalam pengaturan fisiologi sel, menyediakan lingkungan untuk migrasi sel, divisi, diferensiasi, dan dalam beberapa kasus

untuk penentuan hidup atau matinya suatu sel. Kolagen merupakan komponen struktural utama dari semua jaringan ikat serta jaringan interstisial hampir pada semua organ fungsional. Kolagen berkontribusi untuk stabilitas jaringan dari organ dan mempertahankan integritas struktural jaringan ikat mereka. Peranan fisiologis kolagen yang dicapai oleh agregat molekul, dan konstruksi agregat ini sangat penting untuk integritas dari jaringan ikat tersebut (Joyce, 2009; Mamede *et al.*, 2012).

Membran janin manusia adalah salah satu jaringan reproduksi yang diteliti lebih baik sehubungan dengan komposisi ECM. Konten dari molekul ECM pada membran ditentukan oleh tingkat sintesis dan deposisi dan tingkat degradasi. Meskipun sejumlah besar molekul ECM diketahui, penelitian yang ada telah difokuskan terutama pada fibrillar umum dan kolagen membran basement (tipe I, II, III, IV, dan V) dan molekul ECM yang sudah dikenal seperti fibronectin, hyaluronan, biglycan, dan decorin. Komponen penting lainnya untuk struktur ECM, seperti tenascin-c, matrilins, dan osteonectin/SPARC, telah secukupnya diteliti (Strauss, 2013; Sukhikh *et al.*, 2015).

Membran janin adalah jaringan avaskular viskoelastik yang terdiri dari beberapa lapisan yang berbeda secara morfologis. Lapisan terdekat janin terdiri dari sel-sel epitel amnion yang terletak pada membran basal yang mengandung kolagen IV dan glikoprotein NC. Di bawah membran basal terletak lapisan kompak terdiri dari kolagen tipe I, III, dan V disekresikan oleh sel-sel mesenkimal dalam lapisan fibroblast. Lapisan spons/berpori

terletak di bawah lapisan fibroblast, konterdiri dari proteoglikan dan glikoprotein dan kolagen tipe III. Ini memisahkan amnion dari korion dan memungkinkan amnion untuk meluncur pada korion yang mendasari. Lapisan chorion berisi sitotrofoblas tertanam dalam matriks dari kolagen tipe IV dan V. Itu dengan kuat melekat pada jaringan desidua uterus (Weiss *at al.*, 2007; Strauss, 2013; Sukhikh *at al.*, 2015).

Sifat biomekanis dari membran janin telah dikarakteristikkan, memberikan kesempatan untuk menghubungkan komposisi biokimia dengan fungsi. Parameter biomekanik yang diperiksa termasuk pengujian kekuatan tarik/regangan dengan menarik membran berjauhan sementara pemantauan kekuatan dan regangan; mencirikan pecah/kerapuhan, dengan menerapkan peningkatan tekanan pada tiap-tiap membran sampai jaringan rusak; dan pengujian tusukan, di mana probe menggantikan bagian tengah membran, sementara kekuatan diukur (Weiss *at al.*, 2007; Strauss, 2013; Sukhikh *at al.*, 2015).

Distribusi komponen ECM, termasuk kolagen tipe I, III, IV, V, dan VI, pada membran janin manusia waktu persalinan telah diperiksa oleh teknik imunohistokimia. Kolagen tipe I dan III ditemukan di sebagian besar lapisan membran janin, kecuali di lapisan korion trofoblas. Fibronektin, laminin, dan kolagen tipe I dan IV yang terletak di jaringan ECM yang merangkum sel-sel sitotrofoblas di korion. Kolagen tipe V ditemukan pada retikular dan juga pada lapisan trofoblas. Kolagen tipe VI terutama ditemukan

dalam amnion dan lapisan reticular. Fibulin 1, 3, dan 5 ditemukan di amnion, dan kelimpahan/kelebihan mereka dikurangi pada zona lemah amnion dibandingkan dengan bagian lainnya (Strauss, 2013; Hasaneroğlu *et al.*, 2014; Abrantes *et al.*, 2015).

Sel mesenkimal adalah tempat sintesis dan pengolahan kolagen di amnion. Kelimpahan prokolagen $\alpha 1(I)$, $\alpha 2(I)$, dan $\alpha 1(III)$ messenger RNA (mRNA) adalah terbesar dalam sel mesenkimal amnion, dengan jumlah yang tak berarti ditemukan dalam sel epitelial amnion. Sintesis kolagen tipe I dan III juga minimal pada sel epitelial amnion, sedangkan jumlah besar diproduksi oleh sel mesenkimal. Level prokolagen $\alpha 1(I)$, $\alpha 2(I)$, dan $\alpha 1(III)$ subunit mRNA, dan aktivitas spesifik dari enzim prolyl 4-hidroksilase dan lysyl hydroxylase, yang diperlukan untuk sintesis kolagen, adalah yang terbesar pada amnion kehamilan awal, menurun setelah minggu ke-12 hingga ke-14 kehamilan hingga terendah bertahan sampai waktu(persalinan).

Kepadatan sel mesenkimal pada amnion manusia menurun setelah trimester pertama kehamilan. Oleh karena itu, peningkatan pada rasio epitelial terhadap sel mesenkimal sebagai fungsi dari usia kehamilan dapat menjelaskan penurunan pada level mRNA kolagen dan aktivitas spesifik lysyl dan prolyl hydroxylases pada amnion (Joyce, 2009; Strauss, 2013; Sukhikh *et al.*, 2015).

Proteoglikan adalah komponen NC penting dari membran janin. Biglycan, suatu proteoglikan kaya leusin kecil, berikatan dengan kolagen fibrillar dan beberapa faktor pertumbuhan.

Decorin, proteoglikan lain dengan 55% homologi dengan biglycan, berhubungan dengan sejumlah molekul matriks dan TGF- β 1. Decorin terlibat dalam fibrilogenesis kolagen, sedangkan biglycan dan Hyaluronan mengganggu kolagen. Sejumlah besar dari Hyaluronan, suatu glikosaminoglikan *nonsulfated* molekul tinggi berat yang terdiri dari disakarida polimer dari asam D-glucuronic dan N-acetyl -glucosamine, ditemukan di amnion dan di desidua dalam hubungan dengan proses kelahiran (Joyce, 2009; Strauss, 2013; Sukhikh *et al.*, 2015).

Pecahnya selaput ketuban melibatkan urutan peristiwa yang dimulai dengan distensi dan hilangnya elastisitas, pemisahan korion dan amnion, gangguan korion, distensi dan herniasi amnion, dan akhirnya pecahnya/ruptur amnion. Urutan peristiwa/kejadian yang diusulkan ini tampaknya merupakan hasil dari perubahan struktural pada ECM dengan menghasilkan perubahan biomekanik dalam membran, terutama amnion, yang merupakan komponen terkuat dari membran janin/selaput ketuban. Karena insufisiensi serviks sering dikaitkan dengan PPRM, ada kemungkinan bahwa perubahan serviks preterm memfasilitasi pecahnya membran pada PPRM (Strauss, 2013; Sukhikh *et al.*, 2015).

Seperti dibahas di bawah, perubahan pada konten dan komposisi dari membran janin dimediasi sebagian oleh aksi dari matriks yang menurunkan enzim, terutama anggota keluarga MMP, metalloenzim mengandung seng yang bekerja pada substrat tertentu, termasuk kolagen fibril dan basal membran.

Dinamika Matriks Ekstraseluler dan Pecah Ketuban

Matriks ekstraseluler (ECM) memainkan peran penting dalam menentukan fungsi sel dan organ: (1) merupakan suatu substrat pengorganisasian yang menyediakan kekuatan tarik/regangan jaringan; (2) merupakan sel-sel jangkar/pengikat dan mempengaruhi morfologi dan fungsi sel melalui interaksi dengan reseptor permukaan sel; dan (3) adalah suatu reservoir untuk faktor pertumbuhan. Perubahan dalam konten dan komposisi ECM menentukan sifat fisik dan biologisnya, termasuk kekuatan dan kerentanan terhadap degradasi. Komponen ECM sendiri juga mengandung matrikines samar, yang bila terpapar oleh perubahan konformasi atau proteolisis memiliki efek kuat pada fungsi sel, termasuk merangsang produksi sitokin dan matriks metaloproteinase (MMP). Secara kolektif, sifat-sifat dari ECM ini mencerminkan suatu komponen jaringan dinamis yang mempengaruhi kedua bentuk dan fungsi jaringan. Defek atau cacat dalam sintesis dan metabolisme ECM dan proses fisiologis dari pergantian ECM berkontribusi terhadap perubahan pada membran janin yang mendahului partus normal dan memberikan kontribusi pada peristiwa/kejadian patologis yang menyebabkan ketuban pecah dini preterm (PPROM) (Mamede et al., 2012; Strauss, 2013)

Reproduksi membutuhkan remodeling dramatis dari jaringan yang berkaitan dengan peristiwa penting dalam prokreasi termasuk ovulasi, menstruasi, implantasi, plasentasi, partus, rahim, dan perbaikan serviks setelah persalinan. Proses remodeling dan perbaikan mempengaruhi baik sel dan matriks ekstraseluler (ECM)

sekitarnya. Perubahan dinamis pada ECM menghasilkan pada perubahan dalam komposisi stroma, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi fungsi sel dimediasi melalui reseptor membran yang mengenali komponen ECM tertentu/spesifik, atau melalui penyerapan atau pelepasan faktor pertumbuhan, terutama anggota dari keluarga faktor pertumbuhan pengubah/*transforming growth factor* (TGF), yang dikenal untuk memainkan peran kunci dalam reproduksi. Ciri unik dari protein ECM besar/mayor juga mempengaruhi stabilitas ECM, dan karena itu dapat menjadi faktor yang menyebabkan efek samping termasuk plasentasi abnormal, ketuban pecah dini preterm (PPROM), insufisiensi serviks, ruptur uterus, dan prolaps organ panggul/pelvis. Metabolisme matriks ekstraselular juga memainkan peran penting dalam kondisi patologis lainnya dari saluran reproduksi termasuk fibroid uterus, endometriosis, dan keganasan ginekologi (Joyce, 2009; Strauss, 2013).

Sintesis dan katabolisme ECM dikendalikan secara ketat melalui faktor pertumbuhan dan sitokin, serta melalui ekspresi protein pendamping, dan aktivator dan inhibitor dari enzim proteolitik. Saat pergantian/onset ECM terjadi, selain penghapusan komponen tertentu, enzim yang mengkatabolisme ECM mengekspos atau melepaskan fragmen bioaktif yang memiliki aksi yang berbeda dari protein induk, dan mempengaruhi sel melalui jalur sinyal yang berbeda daripada yang digunakan oleh molekul induk. Ulasan ini menjelaskan kemajuan terbaru dalam pemahaman struktur dan metabolisme ECM yang relevan dengan

proses persalinan normal dan abnormal, dengan fokus pada ruptur membran janin/pecah ketuban, yang merupakan penyebab utama kelahiran prematur/preterm.

Komposisi dan Struktur Kolagen

Terdapat 28 jenis kolagen berbeda yang berbagi ciri-ciri umum karena mereka adalah molekul trimerik terdiri dari rantai α dikodekan oleh gen-gen berbeda. Setidaknya 1 bagian trimer dari rantai α terdiri dari struktur heliks rangkap tiga, yang dihasilkan dari pengulangan triplet pada rantai α yang mengandung glisin di setiap residu ketiga. Daerah heliks rangkap tiga dari molekul kolagen diapit oleh domain *noncollagenous* (NC) yang tidak memiliki/kekurangan tripeptide yang mengandung glisin. Domain NC dari beberapa kolagen berisi molekul sinyal "samar/cryptic" yang dilepaskan pada saat proteolisis. Penelitian jenis kolagen berbeda yang ada pada jaringan reproduksi, terutama mereka yang mengalami remodeling yang ekstensif, dan di mana integritas jaringan penting untuk reproduksi normal, relatif terbatas (Bryant-Greenwood, 2000; Strauss, 2013; Abrantes *et al.*, 2015).

Kolagen fibrillar (jenis/tipe I, II, III, V, XXIV, dan XXVII) berbeda sehubungan dengan kerentanan mereka terhadap pembelahan oleh matriks metalloproteinase (MMPs). Misalnya, kolagen tipe III lebih efisien dibelah oleh MMP-1 daripada kolagen tipe I. Kolagen tipe V resisten terhadap sebagian besar kolagenase, kecuali gelatinase MMP-2 dan MMP-9 dan sejumlah enzim lainnya. Molekul kolagen trimerik dapat terdiri dari 3 rantai α

identik seperti dalam kasus kolagen tipe II, atau mereka dapat heterotrimerik seperti dalam kasus kolagen tipe I dan V. Komposisi rantai α memiliki pengaruh besar pada sifat-sifat molekul kolagen. Sebuah contoh bagaimana komposisi rantai α mempengaruhi stabilitas kolagen ditemukan dalam kolagen tipe I, yang terdiri dari 2 rantai α yang berbeda, $\alpha 1(I)$ dan $\alpha 2(I)$. Homotrimers dari $\alpha 1(I)$ telah diidentifikasi dalam jaringan janin hewan, jaringan fibrotik, dan kanker. Bentuk kolagen tipe I ini resisten terhadap degradasi oleh MMP-1 dibandingkan dengan kolagen tipe I $\alpha 1(I)/\alpha 2(I)$ heterotrimer. Relatif resisten terhadap degradasi MMP-1 tampaknya karena stabilitas yang lebih besar dan melepas kurang efisien dari homotrimer heliks rangkap tiga (Joyce, 2009; Mamede *et al.*, 2012; Strauss, 2013).

Molekul kolagen fibrillar dirakit menjadi fibril, yang bertanggung jawab untuk kekuatan regangan jaringan. Ukuran fibril ditentukan oleh aksi dari kolagen tipe V, yang kopolimer dengan kolagen tipe I dan III dan molekul proteoglikan. Kolagen lainnya berhubungan dengan fibril ini (kolagen tipe IX, XII, dan XIV), dan bentuk jaringan lainnya (kolagen tipe IV, VI, VII, VIII, dan X) pada membran *basement*. Beberapa kolagen merupakan molekul transmembran (kolagen tipe XIII, XVII, XXIII, dan XXV), yang dapat dilepaskan dari permukaan sel sebagai bentuk larut (Joyce, 2009; Mamede *et al.*, 2012; Strauss, 2013).

Protein matriks ekstraselular mempengaruhi perilaku morfologi sel dengan sinyal melalui reseptor permukaan sel. Subdomain "Matrikine" pada protein ini berfungsi dalam molekul

ECM asli atau mereka terpapar (matrikine samar atau *matricryptin*) oleh perubahan konformasi atau dilepaskan sebagai hasil dari proses proteolitik, terutama oleh MMPs. Matrikines samar prototipik berasal dari domain NC (domain NC1) dari rantai kolagen IV $\alpha 1$ (IV)/ $\alpha 2$ (IV)/ $\alpha 3$ (IV) (masing-masing arrestin, canstatin, dan tumstatin), kolagen XV (Restin), dan kolagen XVIII (endostatin) (Nagae *et al.*, 2006; Strauss, 2013).

Perubahan Komposisi Matriks Ekstraseluler Selama Kehamilan

Sifat biokimia dan mekanik membran janin dari minggu 23-41 kehamilan, dan membran yang pecah sebelum waktunya telah ditentukan. Pada beberapa penelitian, kandungan kolagen dilaporkan menurun pada PPRM. Pada sampel PPRM, rasio dari tipe III/tipe I, tipe III/tipe V, dan tipe III/total kolagen secara signifikan lebih rendah dibandingkan pada sampel non-PPRM. Rasio dari tipe I/tipe V, tipe I/total kolagen, dan tipe V/total kolagen menunjukkan tidak ada perubahan pada gestasi dengan dan tanpa PPRM. Perubahan-perubahan ini pada ECM janin membran mencerminkan perubahan dalam sintesis dan pergantian komponen. Bukti bahwa yang terakhir ini penting berasal dari penelitian hewan, yang mengungkapkan induksi MMP dalam membran janin atau peningkatan pada level dalam cairan amnion diasosiasikan dengan partus normal (Xu P *et al.*, 2002; Strauss, 2013).

Kekuatan membran, tercermin dengan kekuatan selaput ketuban dan pecahnya selaput ketuban, menurun seiring dengan bertambahnya usia kehamilan pada kedua daerah lemah dan kuat dari membran. Penurunan kekuatan yang paling dramatis setelah 38 minggu kehamilan. Amnion dan korion juga lebih tipis di daerah yang lemah dibandingkan dengan daerah kuat (Xu P *et al.*, 2002; Strauss, 2013).

Pada membran sebelum persalinan, konsentrasi biglycan pada amnion di atasnya serviks adalah 40% lebih rendah daripada pada amnion zona pertengahan. Setelah melahirkan amnion serviks menunjukkan peningkatan 2 kali lipat dalam biglycan dan penurunan 50% pada konsentrasi decorin. Sebuah laporan terbaru menjelaskan kelahiran prematur pada tikus yang kekurangan baik decorin dan biglycan, menunjukkan bahwa kekurangan dalam komponen matriks ini dapat berkontribusi untuk prematuritas (Xu P *et al.*, 2002; Strauss, 2013).

Amnion dan koriodesidua menunjukkan berbagai tingkat pemisahan. Peningkatan pemisahan dan penurunan adheren terlihat baik dengan meningkatnya usia kehamilan dan dengan persalinan. Pemisahan membran ini dikaitkan dengan pembentukan dari substansi gelatinous yang kaya hyaluronan. Telah diasumsikan bahwa mekanisme biokimia umum terlibat dalam pecahnya membran janin pada persalinan normal dan ruptur prematur patologis. Namun, perubahan biokimia yang mungkin dipicu oleh kejadian-kejadian yang berbeda dalam pengaturan partus yang normal dibandingkan ruptur yang tidak

terjadwal terkait dengan kelahiran prematur, meskipun jalur umum akhir dari degradasi matriks yang melibatkan MMPs, apoptosis, dan pelemahan struktural dari membran mungkin terlibat (Xu P *et al.*, 2002; Saglam *et al.*, 2013; Strauss, 2013).

Hal ini telah menjadi jelas bahwa perubahan biokimia dan struktural terjadi pada area terbatas dari membran, umumnya pada bagian atasnya serviks. Hal ini mungkin mencerminkan konsekuensi dari beberapa faktor independen yang berbeda. Di antaranya adalah kekuatan fisik (yaitu, distensi atau regangan) mengakibatkan respon biokimia. Hal ini konsisten dengan observasi bahwa regangan mempengaruhi ekspresi gen ECM dan MMP di jaringan lain. Mikroba ascending saluran reproduksi dapat memicu respon inflamasi yang mengakibatkan produksi dari enzim yang merusak matriks endogen, atau mikroba dapat menghasilkan protease mereka sendiri yang merusak matriks. Secara teoritis, daerah pada membran janin mungkin menentukan atau memodifikasi urutan biokimia, atau proses ruptur dapat diinisiasi oleh faktor (misalnya, hormon atau sitokin) yang berasal dari janin, plasenta, atau segmen rahim bagian bawah (serviks) (Rangaswamy *et al.*, 2012; Strauss, 2013).

**BAB III PERAN MATRIK METALLOPROTEINASE
PADA KETUBAN PECAH DIN**
Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Selama proses kehamilan membran janin mengalami proses remodeling kolagenolytic yang terprogram yang dimediasi oleh MMPs dan tiap MMP ini menurunkan zat yang spesifik. Metalloproteinase menggunakan zinc-dependent catalys untuk menurunkan komponen ekstraseluler matriks. Zinc defisiensi secara signifikan meningkatkan aktifitas MMP dan menyebabkan penurunan rasio kolagen tipe I/III, dan menunda proses proliferasi sel serta penyembuhan luka. MMP9 dipercaya sebagai enzim terakhir dalam proses remodeling ekstraseluler matriks.

Matriks metalloproteinase (MMP) merupakan endopeptidase yang memiliki sifat zinc dependen dan disekresi sebagai proenzim laten pada ruang ekstraseluler. Saat teraktivasi, MMP mampu mendegradasi berbagai komponen matriks ekstraseluler (ECM). MMP yang larut, khususnya MMP2 dan MMP9, merupakan modulator utama pada integritas selaput ketuban selama kehamilan dan agen tersebut juga bertanggung jawab pada proses pecahnya selaput ketuban dalam proses persalinan. *Membrane type 1* MMP (MT1-MMP, juga dikenal sebagai MMP14) disintesis sebagai enzim laten 63kDa yang tidak aktif, kemudian dibawa ke membran sel dimana dilakukan pemotongan menjadi bentuk aktif 57 kDa.³ Sebagai tambahan untuk proses degradasi komponen ECM, MT1-MMP merupakan aktivator fisiologis yang bersifat poten dari MMP yang larut dalam air. Inhibitor jaringan dari metalloproteinase (TIMP) merupakan inhibitor endogen MMP yang meregulasi aktivasi mereka dengan

melakukan binding 1:1 stokiometri; merubah keseimbangan antara TIMP dan MMP aktif sebagai hasil dari aktivitas proteolitik yang berlebih (Gibbs Ronald, 2005; Tency *et al.*, 2012; Vincent *et al.*, 2015).

MMP2 laten (proMMP2) disekresi sebagai proenzim 72 kDa, dan belum dapat diaktivasi menjadi bentuk aktif 68 kDa oleh pembelahan proteolitik. Aktivasi agen tersebut dimediasi oleh sel permukaan melalui berbagai reaksi yang melibatkan MT1-MMP dan TIMP2. Kompleks proMMP2/TIMP2 terbentuk melalui C-terminal dari kedua protein, meninggalkan inhibitor N-terminal TIMP2 secara bebas untuk mengikat MT1-MMP pada permukaan sel. ProMMP2 diaktifkan oleh MT1-MMP di permukaan sel, yang bebas dari TIMP. Namun bila TIMP2 sudah menghambat MT1-MMP, kompleks ini dapat bertindak sebagai reseptor untuk proMMP2 (Bryant-Greenwood, 2000; Nagase *et al.*, 2006; Tency *et al.*, 2012).

Regulasi MT1-MMP pada plasenta manusia belum dipahami secara keseluruhan. MT1-MMP sebelumnya ditemukan pada selaput ketuban yang dikumpulkan dari operasi caesar pada kehamilan aterm, dan dari persalinan spontan pervaginam. Fortunato dkk melaporkan bahwa mRNA dan protein MT1-MMP terdapat pada selaput ketuban dan tidak memiliki perbedaan setelah dilakukan kultur dengan lipopolisakarida (LPS), hal tersebut menunjukkan ekspresi konsektif dari MMP pada selaput ketuban (Menon and Fortunato, 2004; Tency *et al.*, 2012; Vincent *et al.*, 2015).

Aktivitas MMP di regulasi oleh kontrol dari proses transkripsi, translasi pada tahap post translasi, dan juga di tahap jaringan oleh Tissue inhibitors of Metalloproteinase (TIMP). Keseimbangan aktivitas antara MMP dan TIMP telah didokumentasikan pada proses remodeling jaringan. Penurunan TIMP sealama persalinan bisa meningkatkan peluruhan extracelular matrix pada membran janin dan desidua pada proses kelahiran, oleh karena itu perubahan persinyalan sel pada fetomaternal akan memfasilitasi ruptur membran.

Peningkatan kolagenolisis dan penurunan zat kolagen membran bersamaan dengan aktivasi MMP telah didokumentasikan di PPRM. seluruh sistem dari MMPs, TIMPs, MMP aktivator dan elemen regulator terdapat di Membran janin. Beragam MMP telah diinvestigasi dan terlibat di PPRM. Kebanyakan bentuk aktif dari MMPs (MMP 2,8,9) meningkat di membran yang telah mengalami ruptur prematur. Pengeluaran MMP9 di induksi di sel epitel, monosit, dan makrofag oleh pro-inflamatory sitokin dan endotoksin bakteri. Nilai tengah konsentrasi fetal plasma janin dari MMP9 secara signifikan lebih tinggi ($P=0.035$) pada janin dengan PPRM dan janin yang dibedakan dengan PPRM dari janin yang tengah mengalami persalinan prematur dengan membran yang utuh. Peregangan yang berlebihan dari membran janin seperti terlihat pada janin multipel berhubungan dengan peningkatan IL-8 dan MMP yang akan menuju ke arah PPRM.

Rupturnya membran amnion, baik itu preterm ataupun aterm secara signifikan berhubungan dengan peningkatan bentuk aktif dari MMP-9. Penurunan yang signifikan dari bentuk aktif MMP-2 mengakibatkan terjadinya PPRM sementara beberapa peneliti melaporkan bentuk aktif MMP-2 di cairan amnion meningkat pada proses PPRM. Peningkatan jumlah MMP2 berhubungan dengan penurunan jumlah dari natural inhibitor dan aktivator MMP2, TIMP2, di cairan amnion selama ruptur prematur membran janin.

Terdapat informasi yang membingungkan tentang peran MMP2 pada proses pecahnya selaput ketuban pada persalinan aterm. MMP2 dilaporkan muncul secara konsektif pada selaput ketuban selama masa kehamilan. Namun, penelitian terakhir menunjukkan terdapat peningkatan pada amnion seiring dengan usia kehamilan, dan juga pada persalinan aterm. MMP2 juga terlibat pada *preterm premature rupture of membranes* (PPROM) dan semakin meningkat dengan adanya LPS. Protein TIMP2 meningkat pada kehamilan lewat waktu dan menurun pada persalinan preterm ataupun aterm, PPRM, dan saat terdapat infeksi intra amnion. Protein TIMP2 juga menurun pada kultur selaput ketuban yang terpapar LPS (Nagase *et al.*, 2006; Tency *et al.*, 2012).

Matrix Metalloproteinase (MMP), juga disebut *matrixins*, merupakan golongan enzim yang menggunakan *zinc* sebagai mekanisme katalitik, yang berfungsi untuk mendegradasi protein

matriks dan nonmatrix, termasuk proteoglikan. Manusia memiliki 23 jenis MMP (Nagase *et al.*, 2006; Strauss, 2013)

Matrix Metalloproteinase pada manusia dibagi menjadi sub – divisi yang terdiri atas empat kelompok ;

1. Kolagenase

Yang meliputi MMP-1, MMP-8, (disekresi oleh neutrofil), dan MMP-13. Dimana tipe kolagenase ini dapat memecah kolagen yang berstruktur triple helix. Dan kelompok ini menghancurkan kolagen tipe I dan III. MMP-1, MMP-8, MMP-13, dan MMP-18 (*Xenopus*) berada di kelompok ini. Fitur utama dari enzim ini adalah kemampuan mereka untuk kolagen interstitial membelah I, II, dan III di situs tertentu tiga perempat dari N-terminus. Kolagenase juga bisa mencerna sejumlah molekul ECM dan non-ECM lainnya.

2. Gelatinase

Yang termasuk MMP-2 dan MMP-9. Kelompok ini mempunyai *Fibronectin* type II pada struktur nya, yang berfungsi untuk berikatandengan gelatin dan memecah struktur gelatin tersebut. Gelatinase A (MMP-2) dan gelatinase B (MMP-9) milik kelompok ini. Mereka mudah mencerna kolagen didenaturasi, gelatin. Enzim ini memiliki tiga mengulangi dari tipe II domain fibronektin dimasukkan dalam domain katalitik, yang mengikat gelatin, kolagen,

dan laminin. MMP-2, tetapi tidak MMP-9, mencerna tipe I, II, dan III kolagen.

3. Stromelysins

Yang termasuk MMP-3, MMP-10, dan MMP-11. Pada kelompok ini menghancurkan kolagen tipe IV, V, IX, dan X.

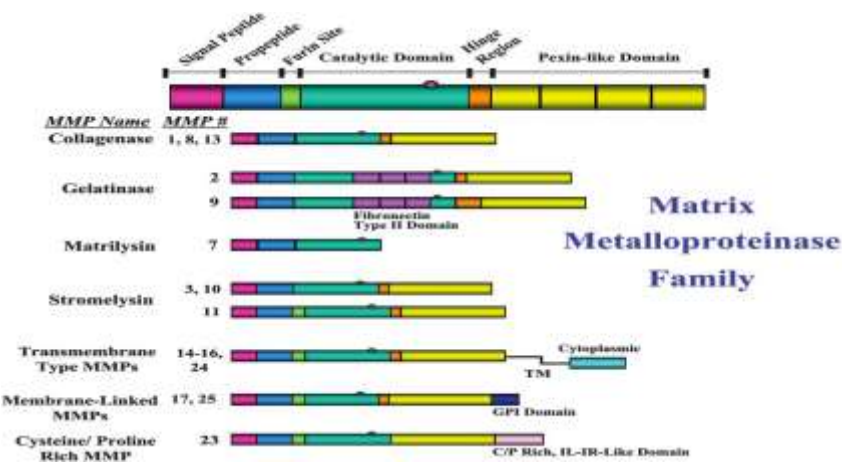
4. Membran MMP tipe 1

Yang termasuk adalah MMP– 14. Pada kelompok ini memiliki furin pada strukturnya, dimana furin ini memiliki fungsi untuk membantu mengaktivasi MMP yang masih di intraseluler, sehingga pada kelompok ini tidak diekskresikan ke ekstra selluler (Nagase H, 2006).

Matrix Metalloproteinase memainkan peran utama untuk degradasi kolagen, akan tetapi juga berfungsi dalam perbaikan dan remodeling jaringan, penyembuhan luka, dan morfogenesis. Fungsinya tidak hanya terbatas pada degradasi ECM. Oleh karena MMP memiliki peran penting pada sel – sel permukaan dan ECM dan aktivasi protein pada ECM (Menon and Fortunato, 2004; Tency *et al.*, 2012).

Matrix Metalloproteinase menghancurkan sel – sel permukaan atau sel-molekul ECM yang mengubah sel-matriks atau interaksi sel - sel, dan melepaskan growth factors. MMP berperan dalam migrasi sel, diferensiasi sel, pertumbuhan sel,

apoptosis dan respon inflamasi (Menon and Fortunato, 2004; Tency *et al.*, 2012; Strauss, 2013).

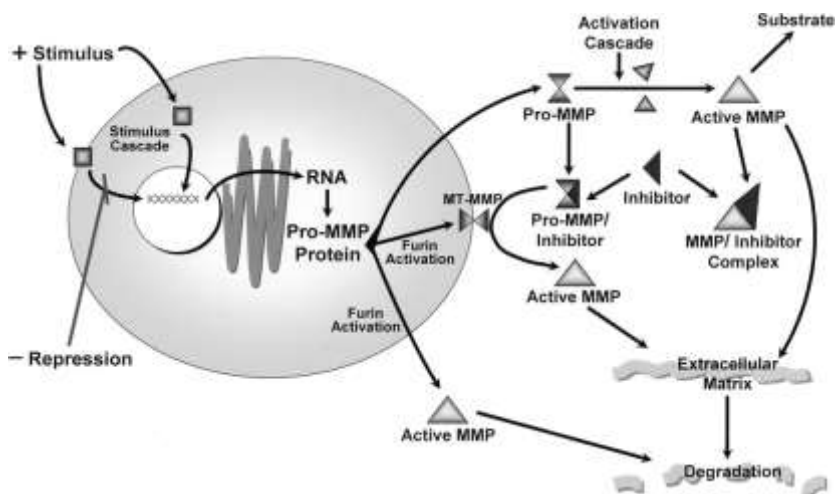


Gambar Skematik dari Golongan *Matrix Metalloproteinase* (Curryet *al.*, 2002)

Kekuatan regangan dari membran janin sebagian besar berasal dari serabut kolagen yang berkontribusi terhadap komposisi dari membran ketuban. Sebelum terjadinya persalinan pada saat aterm, membran menjadi lemah di daerah yang servik yang dikenal sebagai ZAM (*Zone of Altered Membrane*). Bersamaan dengan peningkatan ekspresi MMP. Bersama ini melemahkan membran yang menyebabkan membran ketuban menjadi pecah (McLaren *et al.*, 2000; Rangaswamy *et al.*, 2012).

Mekanisme kerja dari MMP dimana dapat mengakibatkan degradasi ECM yaitu, adanya suatu stimulus, yang bekerja melalui ikatan membran atau adanya reseptor intaseluler, yang akan

mengakibatkan adanya signal cascade intraseluler yang akan menyebabkan sintesis dari spesifik MMP mRNA. Dimana MMP mRNA ini akan dirubah ke dalam bentuk laten atau pro MMP protein. *Matrix Metalloproteinase* tertentu, seperti MT-MMP dan MMP-11, yang diaktifkan intraseluler melalui jalur furin proteolitik dimana akan dihasilkan atau dimasukkan kedalam membran dalam bentuk aktif. Mayoritas pro-MMP, diproduksi dalam bentuk laten yang membutuhkan aktivasi di dalam ekstraseluler oleh proteinase lain. Setelah MMP aktif, dapat mendegradasi matrik ekstraseluler, yang menyebabkan degradasi. Atau, MMP aktif dapat terikat oleh inhibitor MMP, seperti TIMP, yang mengakibatkan adanya inhibisi pada aktivitas MMP (Nagase *et al.*, 2006; Tency *et al.*, 2012).



Gambar Skema aktivasi dari *Matrix Metalloproteinase*

(Curry, et al, 2002)

Tabel Grup dari Matrik Metalloproteinase (Nagase, 2006).

Enzyme	MMP	Chromosomal location (human)
<i>Colagenases</i>		
Intertitial Collagenase ; Collagenase 1	MMP-1	11q22-q23
Neutrophil Collagenase ; Collagenase 2	MMP-8	11q21-q22
Collagenase 3	MMP-13	11q22.3
Collagenase 4 (Xenopus)	MMP-18	Not found in humans
<i>Gelatines</i>		
Gelatinase A	MMP-2	16q13
Gelatinase B	MMP-9	20q11.2-q13.1
<i>Stromelysins</i>		
Stromelysins 1	MMP-3	11q23
Stromelysins 2	MMP-10	11q22.3-q23
<i>Matrilysins</i>		
Matrilysins 1	MMP-7	11q21-q22
Matrilysins 2	MMP-26	11p15
Stromelysins	MMP-11	22q11.2
<i>Membrane type MMPs</i>		
(A) Transmembrane type		
MT1- MMP	MMP-14	14q11-q12
MT2- MMP	MMP-15	15q13-q21
MT3- MMP	MMP-16	8q21
MT5- MMP	MMP-24	20q11.2
(B) GPI-anchored		
MT4-MMP	MMP-17	12q24.3
MT6-MMP	MMP-25	16p13.3

<i>Others</i>		
Macrophage Elastase	MMP-12	11q22.2-q22.3
-	MMP-19	12q14
Enamelysin	MMP-20	11q22.3
-	MMP-21	
CA-MMP	MMP-23	1p36.3
-	MMP-27	11q24
Epilysin	MMP-28	17q21.1

MMP adalah grup dari protein yang memecah kolagen. Kolagen memberikan kekuatan regangan utama pada membran janin, dan itu tidak mengherankan bahwa jika pecahnya selaput membran janin dikaitkan dengan peningkatan ekspresi MMP dan aktivitas dan penurunan ekspresi dan aktivitas dari tissue inhibitors of matrix metalloproteinase (TIMPs). Menggunakan analisis Northern, pemeriksaan dari korio desidua pada berbagai titik waktu sepanjang persalinan pada aterm menunjukkan tingginya ekspresi MMP-1 sebelum persalinan, meningkatnya ekspresi MMP-3 dan MMP-9 selama persalinan dan meningkatkan TIMP-1 setelah persalinan (Nagase *et al.*, 2006; Tency *et al.*, 2012).

Kadar MMP pada cairan ketuban meningkat berhubungan dengan persalinan aterm dan preterm, tetapi tidak pada pecah spontannya selaput membran ketuban. Sebaliknya meningkatnya ekspresi dan aktifitas MMP-9 pada cairan ketuban (ditentukan oleh enzimlinked immunosorbent assay (ELISA) timbul oleh karena adanya hubungan dengan pecahnya selaput membran ketuban pada kehamilan aterm. Imunohistokimia dan data kultur sel menunjukkan MMP-9 yang dihasilkan dalam sel epitel amnion dan

sel chorion trofoblas sel. Hipotesis bahwa MMPs memiliki efek kausatif pada pecahnya selaput membran ketuban ini diperkuat oleh sebuah studi yang memperlihatkan peningkatan lokal MMP 9 dan konsentrasi protein di daerah cervix dari selaput membran janin sebelum persalinan , yaitu daerah ZAM (*Zone of Altered Morphology*), mana tempat terjadi pecahnya selaput membran ketuban (McLaren *et al.*, 2000; Rangaswamy *et al.*, 2012).

Tanda – tandayang menstimulasi aktivitas MMP belum dapat dipahami sepenuhnya. Namun, PGE2 merangsang MMP-9 di membran janin *ex vivo* dan PGF2 merangsang MMP- 2 dan MMP-9, dan menghambat produksi TIMP-1 dalam desidua *ex vivo*. Selain itu, IL-1 meningkatkan biosintesis dari kolagenase (MMP-1, -8 dan -13) dalam kultur sel chorionic *ex vivo*. Sejak COX,-2 yang memproduksi prostaglandin dan IL-1 dimana keduanya meningkat pada membran janin yang berhubungan dengan awal persalinan. Peningkatan aktivitas MMP mungkin dirangsang oleh adanya prostaglandin endogen yang meningkat (Weiss *et al.*, 2007)

Peningkatan aktivitas MMP juga telah ditunjukkan dalam hubungannya dengan KPD preterm, dan sejumlah besar jenis MMP tampaknya terlibat, yang telah diperkirakan pada kondisi ini yang berhubungan dengan berbagai sebab. Peningkatan. MMP-1, MMP-8 pada cairan ketuban dan peningkatan aktifitas MMP-9 dan ekspresi MMP-2 pada selaput membran janin, telah menunjukkan adanya hubungan dengan KPD preterm. Selain itu, pada KPD preterm dalam hubungannya dengan infeksi intrauterin, ekspresi MMP-7 meningkat. Peristiwa biokimia yang terjadi di setiap KPD

preterm dan persalinan preterm adalah berbeda. Secara khusus, KPD preterm memiliki kadar MMP-2, MMP-9 dan tipe membran 1 (MT-1) yang meningkat pada selaput membran janin dan penurunan ekspresi TIMP-2 mRNA dibandingkan dengan membran janin dari wanita yang mengalami persalinan preterm tanpa adanya pecah ketuban. dan kemudian mengakibatkan KPD preterm. Makrofag dan neutrofil berasal MMP-7 dan MMP-8 dimana masing-masing mungkin dirangsang oleh lipopolysaccharides dan sitokin yang terdapat pada uterus yang berhubungan dengan inflamasi. Demikian pula dengan TNF, yang meningkat pada infeksi intra-amniotic, dapat merangsang produksi MMP 1 dari chorionic (Xu P et al., 2002; Weiss *et al.*, 2007)

Beberapa MMP (MMP-1 dan MMP-2) dihasilkan dalam jumlah yang relatif tetap selama kehamilan namun produksi enzim yang lain (MMP-3 dan MMP-9) meningkat selama proses persalinan. Koroamnionitis menginduksi munculnya dan pelepasan dari MMP-9 dari membran (Lochsmith dkk, 1999). Matrix metalloproteinase-9 yang juga dikenal sebagai *92-kDa type IV collagenase / gelatinase B*, mendegradasi berbagai komponen matriks ekstraselular meliputi kolagen tipe IV, V, dan XI, elastin, proteoglikan, dan gelatin. MMP-9 disekresi oleh berbagai sel-sel penghasil produk inflamasi, sel tumor, dan sel normal sebagai *zymogen*. MMP-9 dianggap memiliki hubungan dengan *cellular migration*, invasi dan *tissue remodeling* pada proses reproduksi. MMP-9 diketahui diproduksi oleh banyak *inflammatory cells* seperti macrophage, polymorphonuclear leukocytes, T-lymphocytes, dan

B-lymphocytes. Peningkatan konsentrasi MMP-9 di segmen bawah uterus selama persalinan diinduksi oleh adanya IL-8 dan TNF- α (Roh CR dkk, 2000). Beberapa sitokin telah teridentifikasi potensial memodulasi ekspresi MMP pada membrane fetal, namun mekanisme aktivasi MMP belum diketahui secara pasti. *In vitro* stimulasi terhadap amniokorion manusia dengan IL-1 β atau TNF- α menyebabkan sekresi dari MMP-9 proenzim. Dari percobaan yang menggunakan amniokorion yang distimulasi dengan lipopolisakarida (LPS) menunjukkan bahwa IL-1 β merupakan sitokin kunci yang menginduksi ekspresi MMP-9 pada jaringan (Ortega dkk, 2005).

Tabel Hubungan sitokin inflamasi dengan modulasi ekspresi MMP-9 pada korioamnion (Ortega dkk ,2005)

Sitokin	Target	Hasil
IL-1 β	Amnion Sel Epithelial Trophoblast	Peningkatan MMP-9 Ekspresi dan aktivasi Sekresi MMP-9
TNF- α	Sel Korion Trophoblast Sel Amnion	Ekspresi MMP -9 Peningkatan aktivasi MMP-9 dan Penurunan aktivasi MMP-2 Peningkatan sekresi dan aktivasi MMP-9
IL-6	Trophoblast	Peningkatan aktivasi MMP-9 dan MMP-2

Pada membran janin produksi IL-8, TNF- α , IL-6 dan IL-1 β meningkat, menyebabkan peningkatan MMP-9, penurunan MMP-2, dan penurunan kadar TIMPs. Enzim MMP-9 meningkat secara signifikan oleh amnion tapi tidak oleh korion. Kadar MMP-9 meningkat ketika amion dipapar oleh TNF- α atau IL-1 β , walaupun sekresi dari korion tidak berubah. Peningkatan aktivitas kolagenase menyebabkan lemahnya kekuatan regangan membrane dan memicu pecahnya membrane (Peltier, 2003). TNF- α dan IL- β memperlihatkan efek produksi MMP-9 dari amnion (Ortega dkk,2005). Stimulasi sel amnion dan korion oleh IL-1 β dan TNF- α menyebabkan peningkatan produksi prostaglandin E2

(PGE2) melalui cyclooxygenase (COX)-2. PGE2 menyebabkan peningkatan produksi MMP-9 atau menyilang membrane menstimulasi ripening serviks pada serviks atau menstimulasi kontraksi oleh myometrium (Peltier, 2003).

Matriks metaloproteinase-9 (MMP-9) mampu mendegradasi sebagian besar komponen matriks ekstraselular pada membran desidua. Proses degradasi komponen matriks ekstraselular yang dilakukan oleh MMP-9 selanjutnya akan diikuti oleh proses apoptosis. Apoptosis dan peningkatan ekspresi MMP merupakan kunci penting bagi integritas membran. MMP-9 mempunyai aktivitas proteolitik yang tinggi terhadap kolagen tipe IV, yaitu kolagen yang membangun membran basal serta ekspresinya di amnion meningkat pada saat memasuki masa persalinan. Peningkatan MMP-9 juga memberikan dampak pada degradasi matriks ekstraselular dan proses apoptosis sel epitel amnion yang pada akhirnya menyebabkan proses perenggangan dan ruptur membran. Pada tahap awal katabolisme kolagen dimediasi oleh MMP-1 yang akan menghasilkan fragmen fragmen yang selanjutnya didegradasi kembali oleh MMP jenis lain termasuk MMP kelas gelatinase seperti MMP-9 (Udin Sabarudin, 2011).

Peningkatan ekspresi MMP-9 dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu persalinan, kerja enzim, prostaglandin, dan pemilihan sampel. Kerja enzim MMP dalam mendegradasi matriks ekstraselular tidak dilakukan sendiri-sendiri, akan tetapi dilakukan oleh sekelompok enzim MMP tertentu. Hal ini disebabkan karena

terkadang sel penghasil enzim MMP tertentu juga menghasilkan jenis enzim MMP lainnya. Data yang diperoleh dari penelitian ini bahwa pada kedua kelompok penelitian ditemukan ekspresi MMP-9 yang tidak berbeda nyata. Diharapkan dengan mendekati masa persalinan, ekspresi MMP-9 akan jauh lebih besar serta peristiwa pecah ketuban sebelum waktunya akan memberikan data ekspresi MMP-9 yang lebih besar daripada kelompok ketuban positif. Pada mekanisme persalinan, peningkatan aktivitas MMP juga diimbangi oleh peningkatan aktivitas prostaglandin. Prostaglandin memicu produksi MMP pada serviks dan membran desidua untuk proses ripening (pelunakan) serviks dan aktivasi membran desidua. Prostaglandin berperan secara langsung maupun tidak langsung pada aktivasi perubahan serviks dan pecah ketuban. Peranan secara tidak langsung melalui aktivasi MMP. Pada setiap kehamilan terjadi degradasi matriks ekstraselular pada membrane yang dimulai pada saat usia kehamilan memasuki minggu ke-20. Tingginya ekspresi MMP terutama MMP-9 yang dimulai saat minggu kehamilan ke-20, menyebabkan tidak berbedanya ekspresi MMP-9 pada kedua kelompok (Udin Sabarudin, 2011).

Dalam penelitian oleh Athayde (2014) disebutkan ketuban pecah dini berhubungan signifikan dengan peningkatan konsentrasi MMP-9 pada selaput amnion. Peningkatan konsentrasi MMP-9 secara signifikan terlihat pada KPD preterm yang disertai invasi mikroba pada ruang amnion.

BAB IV PERUBAHAN FOKAL PADA MEMBRAN JANIN
Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Pecahnya selaput ketuban merupakan bagian integral dari *onset* dan perjalanan persalinan. Meskipun pecah ketuban biasanya terjadi akibat adanya kontraksi uterus, terdapat 10% kejadian pecah ketuban sebelum munculnya kontraksi uterus pada kehamilan aterm dan 40% pada kehamilan preterm. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan kontraksi yang menyebabkan peregangan bukan merupakan faktor satu-satunya penyebab pecahnya selaput ketuban. (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Pecahnya selaput ketuban yang terjadi pada saat intrapartum disebabkan oleh penurunan kekuatan secara merata, pada seluruh bagian, akibat adanya kontraksi uterus dan peregangan yang berulang. Hal ini dibuktikan oleh percobaan Rangswamy dkk., yang menyimpulkan bahwa terdapat penurunan daya regang dari selaput ketuban yang sudah mengalami proses persalinan dibanding daya regang selaput ketuban yang belum mengalami proses persalinan. (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Kemudian muncul pertanyaan, apakah yang menyebabkan selaput ketuban pecah sebelum adanya kekuatan kontraksi? Berbagai penelitian yang telah dilakukan menemukan bahwa pada selaput ketuban yang pecah sebeluminpartu (ketuban pecah dini) ditemukan adanya defek yang bersifat fokal. Area yang berdekatan dengan lokasi ruptur dideskripsikan sebagai *“restricted zone of extreme altered morphology”* yang ditandai oleh adanya pembengkakan dan kerusakan jaringan fibriler kolagen pada

masing-masing lapisan kompak, fibroblas dan lapisan berongga. (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Setelah ruptur spontan dari membran pada kondisi aterm, terdeteksi daerah membran fetus yang menunjukkan gambaran morfologi unik yang hanya ditemukan dalam area terbatas sepanjang garis pecahnya selaput ketuban. Area terbatas ini telah disebut '*zone altered morphology*' (ZAM) dan gambaran yang diuraikan konsisten dengan potensi kelemahan struktural. Ini termasuk gangguan dari lapisan jaringan ikat dan pengurangan ketebalan, dan *cellularity*, baik dari sitotrofoblas dan lapisan desidua. Mengingat gambaran struktural dari ZAM dan yang lokalisasinya yang terbatas terhadap daerah dalam garis ruptur, telah diusulkan bahwa ZAM mungkin telah mewakili lokasi awal ruptur ketuban dalam respon terhadap peningkatan tekanan intra-amnion yang terjadi selama persalinan (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Suatu zona dari morfologi yang sangat berubah, ditandai dengan pembengkakan dan gangguan jaringan ikat, penipisan lapisan trofoblas, mungkin terkait dengan peningkatan regional pada apoptosis trofoblast, dan penipisan atau tidak adanya desidua, telah diidentifikasi pada membran janin di lokasi ruptur pada kehamilan waktunya/normal dan pada PPRM. Ciri-ciri morfologi dari zona morfologi yang sangat berubah berkorelasi dengan kelemahan struktural. Ciri-ciri ini terlihat pada membran janin saat waktu persalinan normal pada daerah di atasnya serviks. Karena sifat fokal perubahan ini, perawatan harus diambil

dalam interpretasi dari penelitian yang tidak secara hati-hati menentukan daerah membran janin yang dianalisis (Rangaswamy *et al.*, 2012; Strauss, 2013).

Model pada tikus percobaan menunjukkan bahwa amnion, sebagai komponen terkuat dari selaput ketuban, memiliki kekuatan 6-9 kali lebih kuat dibandingkan korion yang hanya berkontribusi sebesar 10-15 persen dari kekuatan selaput ketuban. Penelitian oleh Lei dkk., menyimpulkan bahwa apoptosis dan degradasi matriks ekstraselluler pada selaput ketuban hewan coba tikus terjadi sebelum *onset* persalinan. Akibat dari kedua proses ini terjadi perubahan bentuk fisik amnion dari lembaran yang elastis menjadi jeli tidak berbentuk, sebelum *onset* persalinan akibat kematian sel epitel amnion dan juga lisis matriks kolagen di bawahnya. Akhirnya selaput ketuban menjadi semakin lemah dan semakin rentan untuk pecah mendekati akhir masa kehamilan.

Malak dan Bell pada tahun 1994 adalah yang pertamakali menemukan adanya sebuah area yang disebut dengan “*high morphological change*” pada selaput ketuban pada daerah di sekitar serviks. Daerah ini merupakan 2-10% dari keseluruhan permukaan selaput ketuban. Bell dan kawan-kawan kemudian lebih lanjut menemukan bahwa area ini ditandai dengan adanya peningkatan MMP-9, peningkatan apoptosis trofoblas, perbedaan ketebalan membran, dan peningkatan myofibroblas. Penelitian lain oleh Rangaswamy dkk. mendukung konsep *paracervical weak zone* tersebut. Mereka menemukan bahwa selaput ketuban daerah paraservikal pecah dengan hanya 20-50% dari kekuatan yang

dibutuhkan untuk menimbulkan robekan di area selaput ketuban lainnya. Dengan menggunakan pemeriksaan histologi hematoksilin-eosin tampak gambaran perubahan yang sesuai dengan gambaran histologi khas apoptosis yang terutama terjadi pada daerah supraservikal.¹³ Berbagai penelitian tersebut mendukung konsep adanya perbedaan zona pada selaput ketuban, khususnya zona di sekitar serviks yang secara signifikan lebih lemah dibandingkan dengan zona lainnya seiring dengan terjadinya perubahan pada susunan biokimia dan histologi. *Paracervical weak zone* ini telah muncul sebelum terjadinya pecah selaput ketuban dan berperan sebagai *initial breakpoint* (Rangaswami et al., 2012).

Rata-rata kekuatan untuk terjadinya ruptur dalam zona ini dilaporkan 60% dari membran yang tersisa. Hilangnya susunan seperti jeruji pada susunan kolagen terlihat dekat daerah ruptur. Ada peningkatan jarak fibril dan penurunan 50% pada susunan fibrillar. Zona lemah di atasnya serviks juga mengalami peningkatan MMP-9, peningkatan level dari faktor transkripsi tertentu, dan jalur transkripsi termasuk NF-kB, FoxO3, dan FoxO4, yang mengatur gen yang terlibat dalam inflamasi, remodeling dan apoptosis ECM, meningkatkan pembelahan polimerase I (penanda apoptosis), menurunkan inhibitor jaringan metaloproteinase 3 (TIMP-3), dan ciri-ciri histologis yang konsisten dengan remodeling dan apoptosis seluler (Rangaswamy et al., 2012; Saglam et al., 2013).

Apoptosis kematian sel terlihat baik pada amnion dan

korion pada ruptur membran waktu persalinan normal maupun pada PPRM. Peningkatan pada level MMP-9 yang terkait dengan apoptosis sel amnion mencerminkan apa yang dilihat pada amnion tikus sebagai pendekatan-pendekatan persalinan. Hal itu mungkin bahwa katabolisme ECM memulai proses apoptosis, karena ekspresi paksa dari MMP-9 memprovokasi apoptosis pada kultur organ amnion tikus dan inhibitor dari MMPs mencegah kematian sel apoptosis di hadapan ekspresi MMP- 9. Selain itu, kematian sel apoptosis dan pelepasan berikutnya dari sinyal "bahaya" seluler (misalnya, protein *heat-shock* Hsp60, Hsp70, dan Hsp90 dan kelompok mobilitas tinggi kotak 1 [HMGB1]) yang mengaktifkan reseptor *toll-like* dapat menginduksi ekspresi dan aktivasi MMP memperkuat katabolisme ECM. Selain itu, hormon dapat memodulasi kelangsungan hidup sel sejak progesteron menghambat apoptosis sel membran janin dipicu oleh tumor necrosis factor- α (TNF- α) (Rangaswamy *et al.*, 2012; Saglam *et al.*, 2013).

Pecahnya selaput ketuban adalah sebagai hasil dari proses remodeling dan pematangan servik. Pada servik dan amnion terjadi perubahan pada tipe kolagen dan menyebabkan kelemahan struktur dari matrik ekstraseluler yang diikuti oleh apoptosis seluler. Peningkatan apoptosis sel amnion terutama pada lapisan sel epitel amnion diikuti oleh peningkatan transkripsi MMP yang selanjutnya akan menyebabkan degradasi kolagen. Pada selaput ketuban terdapat daerah fokal dari fetal membran yang disebut dengan "*high morphology change*", di dalamnya terdapat proses

remodeling dan apoptosis (El Khwadet *al.* 2005;Rangaswamy, *et al.*, 2012).

Malak dan Bell pada tahun 1994 adalah yang pertama kali menemukan adanya sebuah area yang disebut dengan “*high morphological change*” pada selaput ketuban pada daerah di sekitar serviks. Daerah ini merupakan 2-10% dari keseluruhan permukaan selaput ketuban. Bell dan kawan-kawan kemudian lebih lanjut menemukan bahwa area ini ditandai dengan adanya peningkatan MMP-9, peningkatan apoptosis trofoblas, perbedaan ketebalan membran, dan peningkatan myofibroblas (Rangaswamy, *et al.*, 2012).

Penelitian lain oleh Rangaswamy dan kolega mendukung konsep *paracervical weakzone* tersebut. Mereka menemukan bahwa selaput ketuban daerah paraservikal pecah dengan hanya 20-50% dari kekuatan yang dibutuhkan untuk menimbulkan robekan di area selaput ketuban lainnya. Berbagai penelitian tersebut mendukung konsep adanya perbedaan zona pada selaput ketuban, khususnya zona di sekitar serviks yang secara signifikan lebih lemah dibandingkan dengan zona lainnya seiring dengan terjadinya perubahan pada susunan biokimia dan histologi. *Paracervical weak zone* ini telah muncul sebelum terjadinya pecah selaput ketuban dan berperan sebagai *initial breakpoint* (Reti, 2007; Rangaswamy, *et al.*, 2012).

Proses yang menyebabkan pembentukan *paracervical weak zone* selain proses remodeling, ini berkaitan erat dengan proses apoptosis, dimana beberapa penelitian yang telah

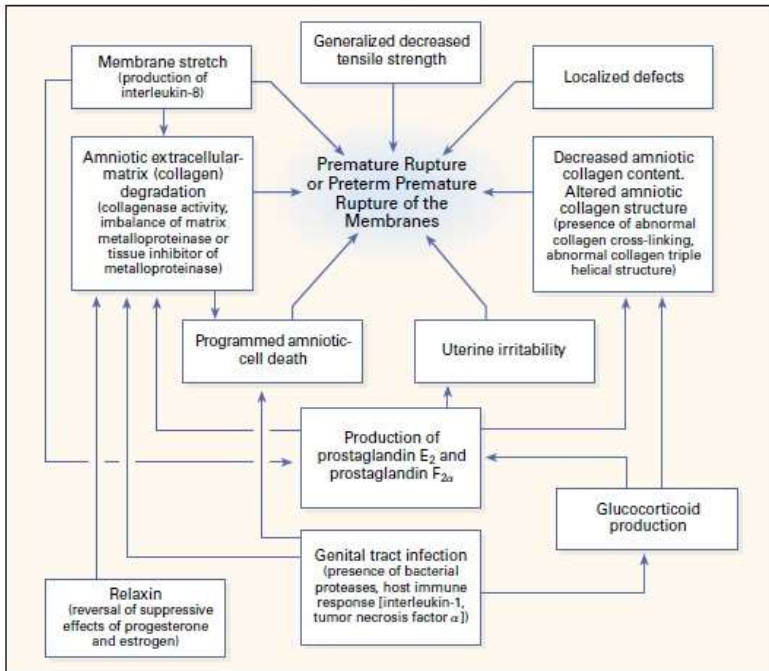
dilakukan mendukung teori ini. Penelitian oleh El Khwad menemukan adanya peningkatan MMP-9 dan *cleaved PARP*, serta penurunan TIMP-3 pada *weak zone*. Penelitian lain oleh Reti dan kolega menunjukkan bahwa selaput ketuban di daerah supraservikal menunjukkan peningkatan aktivitas petanda apoptosis yaitu *cleaved-caspase-3*, *cleaved-caspase-9*, dan penurunan *Bcl-2* (El Khwadet *al.* 2005; Reti *et al.* 2007).

Penelitian lain oleh Reti dan kolega (2007), menunjukkan bahwa selaput ketuban di daerah supraservikal menunjukkan peningkatan aktivitas petanda apoptosis yaitu *cleaved-caspase-3*, *cleaved-caspase-9*, dan penurunan *Bcl-2*. Metode lain untuk membuktikan adanya proses apoptosis dilakukan oleh Kataoka, dkk. dengan cara mengukur derajat fragmentasi DNA dengan densitometer. Didapatkan hasil laju apoptosis ditemukan lebih tinggi pada amnion dari pasien dengan ketuban pecah dini dibandingkan pasien tanpa ketuban pecah dini, dan laju apoptosis ditemukan paling tinggi pada daerah sekitar serviks dibandingkan dengan daerah fundus (Kataoka, 2001).

BAB V MEKANISME KETUBAN PECAH DINI

Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Ketuban pecah dini terjadi setelah terdapat aktivasi dari multifaktorial dan berbagai mekanisme. Faktor epidemiologi dan faktor klinis dipertimbangkan sebagai pencetus dari ketuban pecah dini. Faktor ini termasuk infeksi traktus reproduksi pada wanita (Bakterial vaginosis, Trikomoniasis, Gonorrhea, Chlamydia, dan korioamnionitis subklinis), faktor-faktor perilaku (merokok, penggunaan narkoba, status nutrisi, dan koitus), komplikasi obstetri (kehamilan multipel, polihidramnion, insufisiensi servik, operasi servik, perdarahan dalam kehamilan, dan trauma antenatal), dan kemungkinan karena perubahan lingkungan (tekanan barometer). Sinyal biokimia dari fetus termasuk sinyal apoptosis dan sinyal endokrin dari fetus, juga merupakan implikasi dalam inisiasi dari terjadinya ketuban pecah dini (Menon dkk., 2011; Hackenhaar dkk., 2014).



Gambar Diagram Berbagai Mekanisme yang Diduga Berperan pada Kejadian Ketuban Pecah Dini (Parry dan Strauss, 1998)

Sebagian besar di dalam proses melahirkan, persalinan diikuti oleh robeknya selaput ketuban dan kelahiran. Walaupun terkadang prosesnya dapat dimulai dengan robeknya selaput ketuban, dan berkembang menjadi persalinan dan kelahiran. Jika proses ini terjadi pada waktunya akibatnya tidak akan terlalu parah dibandingkan robeknya selaput ketuban sebelum 37 minggu akan mengancam terjadinya kelahiran preterm. Terdapat beberapa bukti

bahwa mekanisme-mekanisme robekan aterm dan preterm dapat saja berbeda.

Peran Infeksi Pada Ketuban Pecah Dini

Mikroorganisme dapat mencapai akses cavum amniotic secara; ascending dari vagina dan serviks; penyebaran secara hematogen melalui plasenta; keterpaparan secara tidak sengaja saat dilakukan operasi/tindakan, dan melalui penyebaran retrograde melalui tuba fallopi.

Saat mikroorganisme dan produk hasilnya mencapai akses ke janin, mereka akan merangsang produksi sitokin-sitokin dan sebuah *systemic fetal inflammatory response syndrome* (FIRS). Produk dari microbial dan respon maternal terhadap infeksi juga berhubungan dengan PPRM. Beberapa mekanisme aksi dari infeksi dapat dianggap berasal dari pengaruh kolagenase bakteri, dan enzim yang mendegradasi matriks yang diproduksi oleh bakteri. Enzim-enzim ini telah tampak di dalam studi-studi *in vitro* secara signifikan mengurangi kekuatan tegangan dan elastisitas selaput ketuban, yang mana secara *dose-dependent* mengarah ke robekan dari selaput ketuban tersebut.

Secara terpisah aksi enzim bakteri dan produk-produknya terhadap respon maternal selaput ketuban janin (terhadap infeksi) dalam bentuk sitokin maternal juga terlibat di dalam mekanisme patofisiologi persalinan preterm sebagai komplikasi PROM. Kadar serum maternal sitokin IL-1 α dan IL-1 β pada wanita dengan persalinan premature dengan PPRM secara signifikan lebih

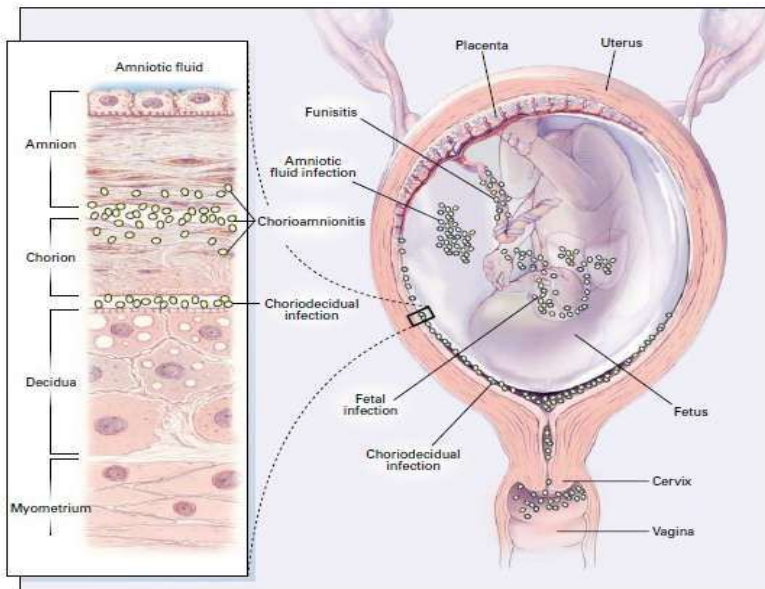
tinggi dibandingkan dengan wanita persalinan aterm disertai PROM.

Infeksi merupakan penyebab tersering dari persalinan preterm dan ketuban pecah dini, dimana bakteri dapat menyebar ke uterus dan cairan amnion sehingga memicu terjadinya inflamasi dan mengakibatkan persalinan preterm dan ketuban pecah dini. Terdapat beberapa macam bakteri yang dihubungkan dengan persalinan preterm dan ketuban pecah dini yaitu : *Gardrenella vaginalis*, *Mycoplasma homnis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma urealyticum*, *Fusobacterium*, *Trichomonas vaginalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* dan *Hemophilus vaginalis* (Samuel dan Jerome, 2006; Sohail, 2012).

Sebelum proses persalinan terjadi dan selaput ketuban masih utuh, janin mendapat perlindungan dan isolasi terhadap mikroorganisme sekitarnya. Hal ini terjadi karena adanya mekanisme pertahanan yang dapat melindungi fetus dan plasenta dari infeksi yaitu "*ascending infection*" yang berupa "*physical barrier*" yang terjadi karena adanya mukus serviks di kanalis servikalis yang mengandung lysozyme, selaput ketuban yang utuh dan akibat dari adanya anti bakterial dari cairan amnion yang terdiri dari lysozyme, transiarin, immunoglobulin dan zincprotein complex (Gibbs, 2005; Cuningham dkk., 2010).

Pada vagina ibu hamil terdapat berbagai macam mikroorganisme berupa mikroorganisme patogen maupun flora normal di vagina. Mikroorganisme patogen pada vagina dapat menyebabkan infeksi pada vagina maupun masalah medis lainnya.

Beberapa organisme yang dapat menyebabkan infeksi neonatal yang ditemukan pada vagina adalah *N. Gonorrhoe*, *C. Trachomatis*, Group B streptococcus, *E. coli* yang menyebabkan terjadi septikemia dan kematian. Herawati (2005) melakukan pengamatan langsung apusan atau swab vagina ibu hamil menemukan terbanyak adalah bakteri *Lactobacillus* (30%), *G. vaginalis* (20%), dan *Streptococcus* sp (15%) (Herawati, 2005).



Gambar Lokasi Potensial Infeksi Bakteri (Goldenberg , 2008)

Goldenberg (2008), mengemukakan peranan jalur infeksi untuk terjadinya ketuban pecah dini. Infeksi bakteri pada lapisan koriodesidua akan merangsang pelepasan endotoksin, eksotoksin,

juga mengaktifkan desidua dan membran janin untuk menghasilkan berbagai sitokin, seperti TNF- α , IL- α , IL- 1 β , IL-6, IL-8 dan *granulocyte colony-stimulating factor*(GCSF). Dengan terbentuknya sitokin, endotoksin, dan eksotoksin akan merangsang pembentukan selanjutnya pelepasan prostaglandin serta terjadi pembentukan dan pelepasan metalloprotease dan substansi bioaktif lainnya. Prostaglandin akan merangsang kontraksi uterus dan penipisan servik, serta adanya metalloprotease pada membran korioamnion menyebabkan pecahnya selaput ketuban (Menon dkk., 2002; Agrawal dan Hirsch, 2012).

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) adalah sitokin proinflamasi dengan peran multipel dalam respon imun. TNF- α terlibat dalam remodeling serviks dan selaput ketuban dengan mendukung produksi kolagen yang mendegradasi matriks metalloproteinase, termasuk MMP-1 dan MMP-9. TNF- α dalam kondisi fisiologis menginduksi diferensiasi trofoblast, invasi dan adhesi, implantasi, pembentukan plasenta, pertumbuhan dan remodeling selaput ketuban. Perubahan fungsi TNF- α dapat memicu peristiwa buruk seperti inhibisi fungsi endokrin, aktivasi protease, dan degradasi matriks ekstraselular yang menghasilkan terminasi kehamilan jika itu terjadi dalam awal kehamilan, atau PPRM jika misregulasi terjadi di kehamilan lanjut. Infeksi subklinis bermanifestasi sebagai perdarahan vagina selama kehamilan dapat menyebabkan terjadinya PPRM. Perdarahan vagina dan generasi thrombin menyebabkan terjadinya kaskade

proteolitik, dan meningkatkan ekspresi MMP-3 desidual, yang mampu merusak selaput ketuban, selanjutnya terjadi PPRM. TNF- α terlibat dalam pembentukan serviks dan ketuban dengan mengubah produksi metalloproteinase dengan menurunkan kolagen matriks, termasuk MMP- 1 dan MMP-9. TNF α dalam kondisi fisiologis menginduksi diferensiasi trofoblas, invasi dan adhesi, implantasi, pembentukan plasenta, pertumbuhan ketuban. Perubahan dalam fungsi TNF α dapat memicu efek samping seperti penghambatan fungsi endokrin, aktivasi protease, dan degradasi matriks ekstraseluler sehingga mengakibatkan mengakhiri kehamilan jika terjadi pada awal kehamilan, atau PPRM terjadi jika misregulation pada kehamilan.

Inflamasi yang diinduksi oleh infeksi mikroba, umumnya terkait dengan kelahiran prematur dan PPRM. Perubahan dalam struktur dan integritas matrik ekstraseluler dipengaruhi oleh respon host endogen, yang mencakup sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan interleukin 1 β (IL-1 β) yang menginduksi produksi MMP untuk mendegradasi matrik ekstraseluler. Selain itu, mikroba yang menyerang dapat menghasilkan enzim yang dapat merusak enzimnya sendiri, termasuk kolagenase yang bekerja pada protein matrik ekstraseluler. Enzim yang merusak matriks endogen dan yang berasal dari mikroba dapat mengekspos atau melepaskan matrikine yang memperkuat proses inflamasi (Menon dan Fortunato, 2007; Strauss, 2013).

Faktor epidemiologi, klinis, histologi, mikrobiologi dan data biologi molekuler menunjukkan bahwa infeksi fokal dan inflamasi

mungkin memainkan peran primer atau sekunder dalam patogenesis ketuban pecah dini. Pemeriksaan histologi menunjukkan bahwa infeksi dan inflamasi dari rongga intraamniotik dan selaput ketuban bisa mendahului terjadinya KPD, dimana perubahan inflamasi lebih sering terlihat di lokasi robeknya selaput ketuban. Banyak peneliti sekarang percaya bahwa infeksi bakteri kemungkinan sebagai inisiator sedangkan respon inflamasi host adalah agen penyebab sebenarnya dalam persalinan preterm dan KPD preterm. Ketuban pecah dini merupakan penyakit autotoksik endogen dimana respon inflamasi host akan mengaktifkan matrik ekstraseluler kolagen spesifik MMP . Aktivasi endogen MMP dapat menyebabkan degradasi dari matrik ekstraseluler yang selanjutnya menyebabkan rupturnya selaput ketuban (Goldenberg dkk.,2008; Strauss, 2013).

Sitokin yang terdapat di dalam cairan amnion dikaitkan dengan infeksi korioamnion. Produksi prostanoid pada desidua, korion, amnion dan sel miometrium dan produksi endotelin oleh sel amnion dan sel desidua distimulasi karena tingginya konsentrasi endotoksin dan juga oleh IL-1 dan TNF- α . Adanya IL-6 pada serum, cairan amnion serta sekret servikovagina berhubungan dengan kejadian korioamnionitis dan persalinan preterm. Aktivasi dari sitokin menyebabkan peningkatan apoptosis plasenta dan selaput korioamnion dengan glikoprotein pada Fas Ligand (Fas-L). Apoptosis dari sel otot polos servik berperan dalam pembukaan servik dan sel epitel amnion dalam sel selaput janin dan menyebabkan pecahnya selaput ketuban (Menon dan Fortunato,

2007; Agrawal dan Hirsch, 2012).

Ditemukannya mikroorganisme patologik dalam flora vagina yang ditemukan setelah pecahnya selaput ketuban mendukung konsep bahwa infeksi bakteri berperan dalam patogenesis terjadinya ketuban pecah dini. Data epidemiologi menunjukkan adanya kolonisasi dari mikroorganisme pada traktus genitalis oleh *B streptococcus*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus species*, genital mycoplasmas dan peningkatan risiko dari ketuban pecah dini (Menon dan Fortunato, 2007; Ulett dan Adderson, 2006; Combs dkk., 2014). Beberapa studi tentang pengobatan dengan antibiotika pada wanita yang terinfeksi menurunkan angka kejadian ketuban pecah dini preterm. Pada suatu penelitian in vitro, efek proteolisis dari matrik membran dapat dihambat dengan pemberian antibiotika (Yudin dkk., 2009; Vanderhoeven dkk., 2014). Adanya infeksi memberikan respon berupa reaksi inflamasi yang selanjutnya merangsang produksi sitokin, MMP, dan prostaglandin oleh netrofil PMN dan makrofag. Sitokin proinflamasi seperti Interleukin-1 dan *Tumor Necrosis Factor α* yang diproduksi oleh monosit akan meningkatkan aktivitas MMP-1 dan MMP-3 pada sel korion (Vrachnis dkk., 2012; Elfayomy dan Almasry, 2014). Infeksi bakteri dan respon inflamasi juga merangsang produksi prostaglandin oleh selaput ketuban yang diduga berhubungan dengan ketuban pecah dini (Hoang dkk., 2014). Respon imunologis terhadap infeksi juga menyebabkan produksi prostaglandin E2 oleh sel korion akibat perangsangan sitokin yang diproduksi oleh monosit. Sitokin

juga terlibat dalam induksi enzim siklooksigenase II yang berfungsi mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin (Zeng and Zhou, 2004; Gomez dkk., 2011).

Hubungan antara produksi prostaglandin dan ketuban pecah dini belum diketahui, namun prostaglandin terutama E2 dan F2 α telah dikenal sebagai mediator dalam persalinan dan prostaglandin E2 diketahui mengganggu sintesis kolagen pada selaput ketuban dan meningkatkan aktivitas dari MMP-1 dan MMP-3 (Heaps dkk., 2005; Menon dan Fortunato, 2007). Infeksi sistemik bisa berasal dari penyakit periodontal, pneumonia, sepsis, pankreatitis, pielonefritis, infeksi traktus genitalis, korioamnionitis dan infeksi amnion semuanya berhubungan dengan terjadinya pecahnya ketuban (Menon dan Fortunato, 2007; Goldenberg dkk., 2008; Bayles, 2014).

Komponen yang lain sebagai respon adanya infeksi adalah produksi dari glukokortikoid. Pada kebanyakan jaringan aksi antiinflamasi dari glukokortikoid dimediasi oleh karena penekanan produksi dari prostaglandin. Pada jaringan amnion, glukokortikoid memproduksi prostaglandin. Hal ini menunjukkan bahwa produksi glukokortikoid sebagai respon terhadap stress dari infeksi mikroba yang dapat menyebabkan pecahnya selaput ketuban (Brian dan Mercer, 2003).

Faktor Nutrisi Pada Ketuban Pecah Dini

Faktor nutrisi seperti kekurangan gizi merupakan salah satu faktor predisposisi untuk terjadinya gangguan dari struktur kolagen, yang

dikaitkan dengan peningkatan risiko pecahnya selaput ketuban.

Vitamin memainkan peran penting dalam metabolisme matrik ekstraseluler. Vitamin C adalah suatu kofaktor untuk lysyl hidroksilase, enzim penting yang terlibat dalam sintesis kolagen, dan defisiensi vitamin C mempengaruhi produksi matrik ekstraseluler. Wanita hamil dengan PPRM terjadi defisiensi vitamin C, dan suplementasi vitamin C pada populasi berisiko tinggi mengurangi PPRM. Meskipun temuan ini mengesankan bahwa status gizi dapat mempengaruhi risiko PPRM, penelitian epidemiologi dan intervensi gizi tidak menetapkan bahwa vitamin C mempengaruhi risiko PPRM sebagai akibat langsung dari konten matrik ekstraseluler dari membran janin. Namun, penelitian dari membran PROM mengungkapkan suatu pengurangan asam askorbat dan konsentrasi kolagen pada pecah ketuban preterm dibandingkan dengan membran waktu persalinan normal (Hauth dkk., 2003; Strauss, 2013).

Vitamin C merupakan kofaktor dari pembentukan kolagen. Defisiensi vitamin C menyebabkan struktur kolagen yang terbentuk tidak sempurna. Vitamin C memegang peranan dalam sintesis dan degradasi kolagen dan untuk pemeliharaan dari selaput ketuban. Selaput ketuban mempunyai elastisitas yang berbeda tergantung kadar vitamin C dalam darah ibu. Kurangnya asupan vitamin C selama kehamilan merupakan salah satu faktor risiko untuk terjadinya ketuban pecah dini. Pemberian vitamin C 100 mg per hari setelah umur kehamilan 20 minggu efektif menurunkan insiden terjadinya ketuban pecah dini (Tejero dkk., 2003; Casanueva dkk.,

2005).

Gangguan nutrisi seperti mikronutrien merupakan faktor predisposisi adanya gangguan pada struktur kolagen. Asam askorbat yang berperan dalam pembentukan struktur kolagen tripel heliks berhubungan dengan pecahnya selaput ketuban. Zat tersebut kadarnya lebih rendah pada kasus ketuban pecah dini (Challis, 2005; Rangaswamy dkk., 2012). Penelitian oleh Hauth dkk, (2010) tentang pemberian vitamin C dan E untuk pencegahan persalinan preterm dan ketuban pecah dini mendapatkan bahwa pemberian vitamin C dan E mengurangi frekuensi dari ketuban pecah dini preterm sebelum umur kehamilan 32 minggu.

Senyawa makanan lainnya dapat mempengaruhi risiko PPRM. Asam α -lipoic, antioksidan yang ditemukan dalam makanan manusia, menghambat proinflamasi yang diinduksi sitokin dan diinduksi trombin melemahkan persiapan membran janin dalam sistem in vitro. Ekspresi MMP-9 yang diinduksi *tumor necrosis factor- α* dan produksi prostaglandin E2 juga dicegah dengan pengobatan asam α -lipoic (Rangaswamy dkk., 2012; Strauss, 2013).

Merokok dikaitkan dengan PPRM, paparan dari membran janin terhadap komponen asap rokok menginduksi stres oksidatif dan kematian sel apoptosis. Ketika eksplan ketuban atau membran janin dikumpulkan pada waktu persalinan normal dirangsang dengan ekstrak asap rokok F2-isoprostan, biomarker stres oksidatif, adalah meningkat. Ada juga penurunan tergantung dosis dalam ekspresi protein anti apoptosis, Bcl2, dan peningkatan

pada efektor kematian, caspase 3 aktif, berkaitan dengan fragmentasi DNA nuclear pada sel kedua amnion dan korion dibandingkan dengan persiapan kontrol. Disimpulkan bahwa jalur yang diinduksi ekstrak asap rokok juga meningkatkan proteolisis dan mengakibatkan pada melemahnya membran (Strauss, 2013). Beberapa penelitian menghubungkan ibu perokok dan penyalahgunaan zat, infeksi, perdarahan ante-partum diketahui bisa memproduksi ROS atau menurunkan proteksi antioksidan yang sudah dihipotesiskan akan menyebabkan kolagenolisis dari membran janin. Rokok mengandung superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl ions dan Nitrit oxide yang bisa merusak matrix kolagen atau merusak pertahanan antioksidan (Thombre, 2014).

Merokok meningkatkan risiko terjadinya ketuban pecah dini dihubungkan dengan penurunan konsentrasi dari asam askorbat. Pemberian *cigarette smoke extract* (CSE) dapat menginduksi stress oksidatif dan apoptosis. Ketika fetal membran distimulasi dengan *cigarette smoke extract* maka F2-isoprostane sebagai biomarker dari stress oksidatif akan meningkat. Juga terjadi penurunan dari antiapoptosis protein Bcl-2 dan peningkatan *death effector* caspase-3 aktif, terjadi fragmentasi DNA pada sel amnion dan korion. Proses ini sebagai jalur terjadinya apoptosis pada selaput ketuban dan degradasi dari matrik ekstraseluler yang berperan terhadap terjadinya ketuban pecah dini dan persalinan preterm (Menon dkk., 2011; Rangaswamy dkk., 2012). Hubungan respon dosis antara merokok dan PPRM telah dilaporkan bahwa merokok lebih dari 10 batang per hari merupakan faktor risiko

untuk PPRM (Thombre, 2014).

Demikian pula kadar homosistein yang tinggi juga telah dikaitkan dengan kelainan pada kolagen. Vitamin B12 dan folat adalah kofaktor penting dalam metabolisme homosistein, dengan rendahnya kadar folat mengarah pada peningkatan kadar homosistein plasma. Namun sebuah studi kasus kontrol tidak bisa mendeteksi perbedaan antara homosistein puasa, folat sel darah merah, kadar vitamin B12 dan asupan makanan antara perempuan yang mengalami PPRM dan persalinan term. Defisiensi zinc juga telah dikaitkan dengan PPRM. Kadar zinc ibu lebih rendah pada wanita PPRM dibandingkan dengan kontrol. Defisiensi zinc dikaitkan dengan risiko PTD, terutama ketika pecahnya selaput mendahului awitan persalinan (AOR = 3,46, 95% CI 1.04, 11.47) (Thombre, 2014).

Peran Hormon Relaksin pada Ketuban Pecah Dini

Relaxin adalah hormone peptida kolagenolitik yang diproduksi oleh corpus luteum dan placenta selama kehamilan sebagai respon terhadap rangsangan oleh human gonadotropin (hCG). Relaxin secara luas disetujui sebagai hormone yang terlibat di dalam pertumbuhan dan pembentukan uterus, kontraktilitas myometrium dan pematangan serviks. Relaxin menyebabkan peningkatan produksi matriks metalloproteinases (MMP's) dan sitokin-sitokin proinflammatory, dan oleh karena itu berdampak pada PPRM dibandingkan dengan kelahiran preterm akibat persalinan preterm. Resiko PPRM berhubungan dengan kenaikan kadar relaxin di

dalam plasenta (Bogic, 1997). Di dalam selaput ketuban janin yang diperoleh dari dua belas seksio caesaria elektif sebelum onset persalinan, human relaxin (hRLX-2) secara in vitro menunjukkan menyebabkan pengurangan kekuatan tegangan selaput ketuban sebesar 30%. Ekspresi dari dua gen human relaxin dihitung di dalam deciduas dan plasenta, dari masing-masing subjek. Studi ini dapat menunjukkan bahwa secara signifikan lebih banyak relaxin yang diekspresikan di dalam deciduas preterm dari pasien-pasien dengan PPRM saat dibandingkan dengan pasien-pasien dengan kelahiran preterm atau pasien-pasien dengan section caesaria karena alasan medis dengan membrane yang intak dan tidak ada kelahiran preterm. Relaxin telah terlihat memiliki mekanisme yang berbeda dalam robekan selaput term dan preterm. Jaringan plasenta setelah PPRM secara signifikan lebih besar dan ekspresi yang berlebihan secara seragam di dalam syncytiotrophoblast plasenta. Kelompok jaringan yang sama yang dikumpulkan pada usia aterm gagal menunjukkan perbedaan signifikan dalam ekspresi relaxin yang mengindikasikan bahwa relaxin terlibat dalam patologi dari preterm premature rupture of fetal membrane tetapi tidak dalam robekan selaput normal yang aterm. Ekspresi berlebihan dari relaxin menunjukkan tidak tergantung pada korioamnionitis pada PPRM, yang mengindikasikan sebuah mekanisme lain yang berbeda dari mekanisme yang berhubungan dengan jalur infeksi. Bagaimanapun cara yang berbeda dari aksi relaxin pada aterm dan preterm tidak berulang (tidak bereplikasi). Jika mekanisme-

mekanisme robekan selaput ketuban yang aterm dan preterm berbeda, maka kemudian dengan mengidentifikasi kejadian-kejadian pemicu akan membuka pilihan untuk intervensi dan prevensi PPRM (Thombre, 2014).

Faktor hormonal juga berperan pada proses remodeling dari matriks ekstraseluler. Hormon progesteron dan estradiol dapat menekan proses remodeling matriks ekstraseluler dengan menurunkan konsentrasi MMP-1 dan MMP-3, serta meningkatkan konsentrasi TIMP pada fibroblast serviks. Konsentrasi progesteron yang tinggi menyebabkan penurunan produksi kolagenase. Hormon relaksin yang diproduksi oleh sel desidua dan plasenta berfungsi mengatur pembentukan jaringan ikat, dan mempunyai aktivitas yang berlawanan dengan efek inhibisi oleh progesterone dan estradiol dengan meningkatkan aktivitas MMP-3 dan MMP-9 pada selaput ketuban (Goldsmith dkk.,2005; Thombre, 2014).

Ekspresi dan aktivitas dari relaxin gen meningkat sebelum persalinan pada selaput ketuban pada kehamilan aterm. Selaput ketuban menjadi jaringan target dari hormon relaxin yang merupakan hormon endogen, menyebabkan pelepasan enzim kolagenolitik untuk memulai proses pelemahan dan pecahnya selaput ketuban. Pada satu penelitian didapatkan kadar ekspresi relaxin yang bermakna pada pasien dengan ketuban pecah dini dibandingkan pada pasien dengan persalinan preterm dan pada pasien yang dilakukan seksio sesarea pada ibu dengan komplikasi kehamilan (Goldsmith dkk.,2005; Rangaswamy dkk., 2012; Thombre, 2014).

Relaxin menyebabkan peningkatan produksi matriks metalloproteinases (MMP's) dan sitokin-sitokin proinflammatory, dan oleh karena itu berdampak pada PPRM dibandingkan dengan kelahiran preterm akibat persalinan preterm. Resiko PPRM berhubungan dengan kenaikan kadar relaxin di dalam plasenta. Di dalam selaput ketuban janin yang diperoleh dari dua belas seksio caesaria elektif sebelum onset persalinan, human relaxin (hRLX-2) secara in vitro menunjukkan menyebabkan pengurangan kekuatan tegangan selaput ketuban sebesar 30%. Ekspresi dari dua gen human relaxin dihitung di dalam deciduas dan plasenta, dari masing-masing subjek. Studi ini dapat menunjukkan bahwa secara signifikan lebih banyak relaxin yang diekspresikan di dalam deciduas preterm dari pasien-pasien dengan PPRM saat dibandingkan dengan pasien-pasien dengan kelahiran preterm atau pasien-pasien dengan section caesaria karena alasan medis dengan membrane yang intak dan tidak ada kelahiran preterm (Thombre, 2014).

Peningkatan kadar serum relaksin yang terus berlangsung selama masa kehamilan, dapat memicu terjadinya persalinan preterm. Penelitian dengan subjek wanita hamil yang sebelumnya telah dilakukan stimulasi ovarium, dibandingkan dengan kontrolnya yang tidak diberi perlakuan, didapatkan hubungan yang signifikan pada peningkatan serum relaksin setelah dilakukan stimulasi ovarium dengan kejadian persalinan preterm (Goldsmith dan Weiss, 2009).

Studi yang dilakukan di Denmark oleh Vogel dkk (2004),

menggunakan subjek wanita sehat dengan kehamilan tunggal yang mengalami gejala inpartu sebelum usia kehamilan 34 minggu, mendapatkan bahwa kadar s-relaksin secara signifikan lebih tinggi pada wanita yang melahirkan pada usia kehamilan kurang dari 34 minggu dibandingkan wanita yang melakukan persalinan pada usia kehamilan lebih dari 34 minggu. Berdasarkan kurva ROC didapatkan *cutt-off* kadar s-relaksin yang digunakan untuk memprediksi kelahiran prematur sebelum usia kehamilan 34 minggu yaitu sebesar >300 pg/mL (Vogel dkk., 2002).

Pada persalinan preterm, juga didapatkan ekspresi gen reseptor relaksin (LGR7) dan proteinnya dalam desidua dan plasenta jumlahnya meningkat secara signifikan pada pasien dengan persalinan preterm akibat PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*) dibandingkan pada persalinan aterm, pengikatan hormon relaksin dan ekspresi gen reseptor relaksin (LGR7) terutama terjadi dalam korion dan desidua. Selanjutnya ekspresi LGR7 dan relaksin menurun jumlahnya setelah proses persalinan spontan baik pada persalinan preterm maupun aterm. Hal ini menunjukkan bahwa peran relaksin mungkin berbeda dalam persalinan aterm dibandingkan patologi pada persalinan preterm (Bryant dkk., 2005).

Kadar serum relaksin (s-relaksin) yang meningkat juga berkontribusi dalam memprediksi terjadinya persalinan preterm pada PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*) dalam waktu kurang dari 3 hari sejak dimulainya gejala inpartu (terdiri dari gejala kontraksi dan pematangan serviks). Kadar s-relaksin secara

signifikan memiliki angka lebih tinggi pada wanita dengan PPROM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*) dibandingkan pada wanita dengan gejala kontraksi saja pada persalinan preterm. Selain itu penelitian secara invitro dengan melakukan inkubasi jaringan ketuban dengan hormon relaksin, mendapatkan bahwa hormon relaksin dapat mengakibatkan kekuatan regangan jaringan ketuban berkurang (Vogel dkk., 2002; Bryant dkk., 2005).

Berkurangnya kekuatan jaringan selaput ketuban akibat regangan yang dipengaruhi ukuran janin yang lebih besar dipercaya dapat menyebabkan kelahiran prematur akibat PPROM dibandingkan pada kehamilan dengan ukuran janin normal. Atas dasar ini dilakukan studi in Vitromenggunakan *human amniotic epithelial-like cell line* (WISH) untuk membuktikan efek dari relaksin terhadap pertumbuhan janin dan pertumbuhan epitel amnion. Didapatkan bahwa relaksin bekerja sebagai faktor pertumbuhan untuk ketuban terutama dengan menyebabkan ekspresi IGF-II pada sel-sel epitel amnion dan sitotrofoblas yang menyebabkan peningkatan proliferasi yang signifikan pada media WISH. Didukung dengan studi in vivo yang mendapatkan bahwa ekspresi gen relaksin secara signifikan lebih besar pada ketuban pasien dengan bayi makrosomia atau bayi yang lebih besar dari pada ukuran normal (Bryant dkk., 2005).

Terkait dengan regangan pada selaput ketuban, hormon relaksin dipercaya berperan dalam renovasi kolagen pada unit uteroplasenta yang dapat menurunkan elastisitas selaput ketuban. Konsentrasi kolagen pada selaput ketuban manusia menurun

dengan bertambahnya usia kehamilan dan juga menurun pada wanita dengan PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*). Karena selaput janin seperti halnya leher rahim, mengalami perubahan selama kehamilan ada kemungkinan bahwa relaksin terlibat dalam proses pematangan ini, karena didapatkan konsentrasi relaksin serum meningkat pada usia kehamilan 18 dan 30 minggu pada wanita yang mengalami persalinan prematur atau PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*). Studi *in vitro* menunjukkan bahwa rangsangan relaksin terhadap sel amnion dan korion akan menginduksi peningkatan aktivitas *collagenolytic*, serta relaksin menginduksi peningkatan kolagenase interstitial (MMP-1), stromelysin (MMP-3) dan gelatinase B (MMP-9) di selaput ketuban manusia utuh setelah 48 jam inkubasi (Saifudin, 2006). Penelitian lainnya juga mendapatkan bahwa penambahan relaksin ke dalam media eksplan ketuban *in vitro* dapat menyebabkan peningkatan yang tergantung dosis dalam ekspresi gen tertentu, protein, dan aktivitas kolagenase interstitial (MMP-1), stromelysin-1 (MMP-3), dan gelatinase B (MMP-9), tetapi tidak untuk gelatinase A (MMP-2) atau inhibitor TIMP-1. Sehingga relaksin lokal desidua (dRLN) bisa menyebabkan aktivasi kaskade enzim spesifik yang dapat mengakibatkan degradasi dalam spektrum yang luas pada komponen matriks ekstraseluler (Vogel dkk., 2004; Thombre, 2014).

Studi oleh Vogel dkk (2004) di Denmark salah satunya untuk membuktikan efek dari relaksin terhadap sifat biomekanik dari selaput ketuban manusia pada rentang konsentrasi tertentu.

Studi ini menggunakan spesimen dari selaput ketuban yang diambil dalam waktu lima menit setelah persalinan dengan bedah Caesar elektif dari kehamilan aterm sebelum adanya inpartu, kemudian jaringan diinkubasi selama 48 jam dengan relaksin H1 dan H2 pada konsentrasi yang berbeda (10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} M). Selain itu, inkubasi juga dilakukan dengan kolagenase inhibitor sintesis (10^{-6} M Cl - 1, N - [3 - N - (benzyloxycarbonyl) amino - (R) - carboxypropyl] - L - leucyl - O - methyl - L - tyrosine N - methylamid), sedangkan untuk kelompok kontrol tidak dilakukan inkubasi baik dengan relaksin maupun kolagenase inhibitor. Pengujian biomekanis dilakukan menggunakan mesin uji material (Alwetron TCT5, Lorentzen dan Wettre, Stockholm, Swedia). Strip dipasang pada 2 klem, jarak antaranya ditingkatkan pada kecepatan konstan 10 mm / menit sampai pecahnya jaringan. Didapatkan bahwa spesimen yang diinkubasi dengan relaksin H2 (10^{-9} M) secara signifikan lebih lemah dari pada kontrolnya dan secara signifikan lebih lemah dari spesimen yang diinkubasi dengan 10^{-8} M serta didapatkan efek kolagenase inhibitor BB-250 menghapuskan efek relaksin terkait sifat biomekanik dari ketuban manusia, enzim ini juga menghambat MMP-1, MMP-3, MMP-2, MMP-9 dan MMP-7. Sedangkan inkubasi 48 jam dengan relaksin H1 tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap sifat biomekanik selaput ketuban. Pelemahan selaput janin setelah inkubasi dengan relaksin dapat menjelaskan hubungan antara tingginya kadar serum relaksin H2 dan peningkatan risiko kelahiran preterm akibat PPRM (*Preterm Premature Rupture of*

Membrane) (Vogel dkk., 2004).

Mengenai pengaruh relaksin terhadap apoptosis sel jaringan ketuban, karena apoptosis sel dianggap berperan penting dalam PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*). Studi in vitro mendapatkan bahwa relaksin memiliki efek protektif ketika sel-sel terkena agen yang menginduksi apoptosis. Salah satu yang dapat menginduksi apoptosis sel adalah infeksi, banyak penelitian telah dilakukan dalam beberapa tahun terakhir ini untuk meneliti peran infeksi sebagai penyebab kelahiran prematur. Telah jelas bahwa infeksi mikroba pada saluran kencing bagian atas berkaitan dengan kelahiran premature spontan. Sebuah studi dilakukan untuk mencari hubungan antara jalur yang diinduksi infeksi ini dengan kelahiran premature dan peran relaksin pada PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*). Studi in vivo menggunakan media eksplan dari membrane janin aterm manusia dikumpulkan sebelum inpartu persalinan aterm, lalu diinkubasi selama 4 dan 24 jam dengan lipopolisakarida bakteri, kemudian dilakukan pengukuran kadar relaksin, reseptor LGR7, IL-1 β , dan IL-6 dalam eksplan, dan tingkat ekspresinya dibandingkan dengan hasil dari kontrol yang tidak diberi perlakuan. Didapatkan respon yang kuat dari kedua interleukin pada jam ke-4 dan ke-24, namun tidak ada respon yang signifikan dalam ekspresi relaksin atau LGR7. Dengan demikian, infeksi tampaknya memiliki efek kecil pada ekspresi system relaksin dalam jaringan tersebut. Dapat dikatakan bahwa jalur yang diperantarai relaksin untuk PPRM (*Preterm Premature Rupture of Membrane*) adalah berbeda dari

jalur akibat infeksi (Bryant dkk., 2005).

Peran Mekanik pada Ketuban Pecah Dini

Peregangan secara mekanis seperti pada polihidramnion, kehamilan ganda dan berat badan bayi besar (trauma) akan menyebabkan regangan selaput ketuban yang akan merangsang beberapa faktor di selaput ketuban yakni prostaglandin E2 dan interleukin-8. Selain itu peregangan juga merangsang aktivitas MMP-1 pada membran. Interleukin-8 diproduksi dari sel amnion dan korionik bersifat kemotaktik terhadap neutrofil dan merangsang aktifitas kolagenase. Hal – hal tersebut akan menyebabkan terganggunya keseimbangan proses sintesis dan degradasi matriks ekstraseluler yang akhirnya menyebabkan pecahnya selaput ketuban. Konsentrasi interleukin-8 dalam cairan amnion selama trimester kedua kehamilan rendah, tetapi akan meningkat cukup tinggi pada akhir kehamilan, dan diinhibisi oleh progesteron. Jadi produksi interleukin-8 dan prostaglandin amnion akan memperlihatkan perubahan biokimia pada selaput ketuban yang mungkin dimulai oleh adanya regangan selaput ketuban dan apoptosis (Samuel P, dkk. 2006).

Distensi uterus yang berlebihan disebabkan oleh karena adanya Polyhidramnions atau kehamilan kembar. Pecahnya selaput membran ketuban oleh karena distensi uterus yang berlebihan disebabkan oleh karena adanya peregangan mekanik. Dimana peregangan mekanik ini akan menyebabkan peningkatan dari COX 2 dan produksi dari prostaglandin. Distensi uterus yang

berlebihan juga mengakibatkan meningkatnya tekanan intrauterine yang dapat mengakibatkan semakin melemahnya selaput membran ketuban (Terzidou, 2005).

Meskipun fokus penelitian baru-baru ini ke dalam etiologi ruptur ketuban telah terjadi perubahan mediasi biokimia, studi sebelumnya jelas menunjukkan bahwa deformasi jaringan dan menipis karena kekuatan peregangan mekanik juga melemahkan membran janin. Lavery dan Miller menunjukkan lebih dari dua dekade yang lalu bahwa selaput janin menunjukkan sifat viskoelastik. Sebagai akibatnya, deformasi non-recoverable terjadi bahkan sebagai hasil dari kekuatan peregangan intrauterine relatif kecil. deformasi non-recoverable signifikan jelas mengikuti tekanan yang disebabkan oleh kontraksi persalinan. Selain itu, membran yang membentang di rahim kontraksi pra-persalinan (Braxtone Hicks) dan sebagai akibat dari perbedaan tingkat pertumbuhan relatif dari membran dan rongga rahim. kontraksi BraxtoneHicks dapat meningkatkan tekanan intrauterin dasar (10 mmHg) ke 20-30 mmHg, cukup untuk secara signifikan mempengaruhi aliran darah utero-plasenta. Pra-persalinan, peregangan terkait, efek dapat menambah biokimia dimediasi melemahnya ketuban. Selain efek langsung pada jaringan, kekuatan peregangan juga menyebabkan sejumlah gen terkait dengan kedua apoptosis dan aktivasi MMP.

Peran Gen Pada Ketuban Pecah Dini

induksi dari MMP2 mungkin merupakan sebuah fungsi dari

peningkatan ekspresi gen p53 pada PROM. Aktivitas genatolytic baik yang tersembunyi ataupun yang aktif dari MMP9 meningkat dan konsentrasi TIMP menurun di cairan amnion pada wanita dengan PROM dan PPROM. Gen MMP9 di induksi di amniokorion selama persalinan,PROM dan ketika adanya infeksi. MMP juga diinisiasi oleh agen genotoxic, atau faktor2 yang tidak diketahui. Fragmentasi DNA dihubungkan dengan peningkatan konsentrasi dari 2 produk pro apoptotic gen (p53 dan bax) dan penurunan antiapoptosis bcl-2, pada PROM infeksi membran janin menginduksi banyak jalur apoptosis in vitro. Proses kematian sel atau apoptosis sudah dibuktikan memiliki peran dalam PPROM. 2 jalur apoptosis yg memiliki peran dalam PPROM adalah Tumor Necrosis Factor (TNF) reseptor (TNFRI) dan Fas mediated pathway dan p53 parhway. PPROM dihubungkan dengan kelebihan frekuensi dari sebuah alele gen untuk TNF yang meningkatkan produksi dari TNF dalam respon terhadap invasi mikroba, hubungan ini lebih kuat pada wanita kulit hitam dibandingkan dengan wanita kulit putih. Genetik dan faktor resiko lingkungan terlihat bersama sama meningkatkan resiko PPROM. Jalur awal hingga akhir pada kejadian ini jika benar benar dipetakan akan bisa diaplikasikan untukproses intervensi.

Peran ROS pada Ketuban Pecah Dini

Reactive oxygen species (ROS) merupakan molekul tidak stabil yang diproduksi di dalam tubuh, yang sedang dipertimbangkan bertanggungjawab atas kerusakan kantung chorioamniotic yang

akhirnya akan menyebabkan ruptur. Normalnya terdapat keseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS. Tekanan oksidatif (stress oksidatif OS) timbul ketika per-oksidant melebihi anti-oksidant. Isoprostane (F₂ IPs) diproduksi oleh ROS yang menyerang polyunsaturated asam lemak dan sensitif, spesifik terhadap biomarker lemak per-oksidasi yang ada di dalam sel. Dalam sebuah penelitian oleh Longini dkk isoprostane (F₂ IPs) diukur dalam cairan amnion dan mereka berkesimpulan bahwa terdapat hubungan antara Stress Oksidatif (OS) dan PPRM. OS yang disebabkan oleh ROS bisa merubah kekuatan dan elastisitas dari kolagen pada membran janin dan mengarah kepada PPRM. Beberapa penelitian menghubungkan ibu perokok dan penyalahgunaan zat, infeksi, perdarahan ante-partum diketahui bisa memproduksi ROS atau menurunkan proteksi antioksidant yang sudah dihipotesiskan akan menyebabkan kolagenolisis dari membran janin.

Rokok mengandung superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl ions dan Nitrit oxide yang bisa merusak matrix kolagen atau merusak pertahanan antioksidant. Merokok telah terbukti akan menghambat aktivitas protease. Perdarahan pervaginam telah dihubungkan dengan PPRM sebagai hasil dari pelepasan zat besi dari sel darah merah karena rupturnya pembuluh darah dan perdarahan. Peningkatan serum besi yang bebas telah dihipotesiskan mempercepat konversi hydrogen peroksida ke bentuk ion hydroxyl. Darah yang berdekatan dengan chorioamnion telah dihipotesiskan sebagai medium untuk

pertumbuhan subklinikal mikrobiologi. Hubungan antara infeksi dan PPRM sudah dikenal dengan baik. ROS yang diproduksi di neutrofil yang teraktivasi bisa meluruhkan amnion, membran dasar atau collagen fibril dengan cara melepaskan proteinase, yang mana akan merusak kolagen dan protein struktural seperti fibronectin, laminin dan proteoglycan. Collagen merupakan satu satunya protein yang sesuai untuk proses fragmentasi yang dilakukan oleh superoksida.

Penyalahgunaan kokain dan hubungannya dengan PPRM diyakini sebagai hasil dari ROS yang dimulai dari kokain yang memicu iskemi dan reperfusi. Mungkin penelitian prospective clinical trial dengan suplement antioxidant akan menunjukkan apakah ada keuntungan penggunaan antioksidan terhadap membran janin. Sebagai kesimpulan PPRM dideskripsikan sebagai suatu penyakit komplek autotoxic dan perkembangannya melibatkan aktivasi dan interaksi dari sitokin, MMP dan jalur apoptosis. Variasi genetik, perilaku, dan faktor lingkungan bisa membuat pemahaman akan jalur ini semakin rumit. Relaksin sepertinya terlibat dalam proses preterm ruptur tetapi tidak pada term ruptur yang hanya terjangkit infeksi. ROS bisa menginduksi ruptur membran pada studi in vitro. Peregangan membran juga berakibat menurunnya kekuatan membran melalui jalur IL-8 dan MMP. Mekanisme aksi dari infeksi bakteri sepertinya karena pengaruh kolagenase bakteri dan enzim matrix degrading diantara faktor yang lain. Enzim ini sudah dibuktikan pada penelitian in-vitro secara signifikan mengurangi kekuatan tegangan dan elastisitas

dari sebuah membran, tergantung dari jumlahnya dan akan menyebabkan ruptur. Telah dibuktikan bahwa membran amniochorionic merupakan tempat diproduksi inflammatory cytokin, sebagai respon terhadap infeksi. Oleh karena itu infeksi, inflamasi dan respon tubuh berhubungan dengan PPRM.

Peran apoptosis pada Ketuban Pecah Dini

Studi terbaru menunjukkan bahwa peristiwa molekuler yang menyebabkan persalinan prematur dan KPD secara fundamental berbeda, hal ini mungkin menjelaskan mengapa beberapa wanita mengalami persalinan prematur tanpa pecah ketuban, sementara yang lain mengalami KPD tanpa persalinan. Studi pada membran (in vivo dan in vitro) menunjukkan bahwa unsur-unsur dari kematian sel terprogram (apoptosis) yang didominasi terlihat pada selaput ketuban dari wanita dengan KPD tapi bukan mereka dari wanita dengan persalinan preterm. Infeksi dan endotoksin mampu merangsang banyak faktor-faktor proapoptotik selama KPD preterm. Agen proapoptotik meningkat pada KPD yang berasal dari membran amnion dan bukti kematian sel terprogram terlihat. Beberapa penelitian lainnya juga telah melaporkan hubungan yang kuat antara apoptosis dan KPD (Fortunato dan Menon, 2001).

Pecahnya selaput ketuban tidak hanya berkaitan dengan faktor mekanis dan kimia namun di dalamnya berperan serta juga adanya proses kematian sel terprogram atau apoptosis dari sel-sel yang terdapat pada selaput ketuban. Berbagai penelitian memberikan hasil yang konsisten bahwa selaput ketuban dari ibu

hamil dengan ketuban pecah dini menunjukkan indeks apoptosis yang lebih tinggi dibandingkan dengan selaput ketuban dari persalinan aterm maupun preterm dengan selaput ketuban yang masih utuh (Rangaswamy dkk.,2012; Saglam dkk., 2013).

Melemahnya selaput ketuban di daerah supra servik dihubungkan dengan gambaran histologi dan proses biokimia di mana terdapat gambaran remodeling kolagen dan apoptosis. Gambaran ini tampak pada daerah supra servik membran janin baik dari membran yang didapat dari persalinan sesar atau setelah persalinan normal (El Khwad dkk., 2006; Reti dkk.,2007; Rangaswamy dkk.,2012). Jaringan amnion dan korion pada kehamilan aterm setelah mengalami pecah ketuban dini mengandung banyak sel-sel apoptosis di area sekitar ruptur membran dan sedikit sel apoptosis di area yang lain dari membran. Pada kasus dengan korioamnionitis, apoptosis sel epitel amnion tampak dalam granulosit, yang menunjukkan bahwa respon imun mempercepat kematian sel pada membran amnion (Murtha dkk., 2002;Tanir dkk.,2005; Saglam dkk., 2013).

Proses apoptosis sangat dipengaruhi oleh sinyal yang berasal dari protein ekstraseluler dan intraseluler. Faktor ekstraseluler sangat dipengaruhi oleh infeksi yang telah lama dikenal sebagai pencetus ketuban pecah dini, sedangkan faktor intraseluler diperankan oleh p53 yang merupakan suatu protein yang berperan dalam apoptosis intraseluler melalui pengaktifan protein Bax yang memacu pelepasan sitokrom C. Fungsi normal p53 adalah sebagai penjaga proteinom. Pada keadaan di mana

jumlah p53 rendah maka p53 akan berperan sebagai penjaga sel, sedangkan dalam jumlah banyak akan menyebabkan pengaktifan apoptosis (Hsu dkk., 2000; Haupt dkk., 2003; Suhaimi., 2012). Ditemukan adanya peningkatan ekspresi gen yang bersifat proapoptosis, yaitu p53 dan Bax disertai penurunan ekspresi gen antiapoptosis Bcl-2 pada kasus ketuban pecah dini, baik aterm maupun preterm (Kumagai dkk., 2001; Kataoka dkk., 2002; Chai dkk., 2013).

Proses apoptosis dipercepat di tempat terjadinya robekan selaput ketuban pada kehamilan dengan ketuban pecah dini baik melalui jalur *caspase dependent* dan *caspase independent*. Sinyal apoptosis bisa terjadi secara intraseluler dan ekstraseluler. Jalur ekstrinsik (ekstraseluler) diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*death receptor pathway*) sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria dalam sel (*mitochondrial pathway*) (Xu dan Wang, 2005; Brenner, 2012; Ashkenazi, 2014).

Suatu zona dari morfologi yang sangat berubah, ditandai dengan pembengkakan dan gangguan jaringan ikat, penipisan lapisan trofoblas, mungkin terkait dengan peningkatan regional pada apoptosis trofoblas, dan penipisan atau tidak adanya desidua, telah diidentifikasi pada membran janin di lokasi ruptur pada kehamilan aterm dan pada KPD preterm. Ciri-ciri morfologi dari zona morfologi yang sangat berubah berkorelasi dengan kelemahan struktural. Ciri-ciri ini terlihat pada membran janin saat persalinan normal pada daerah di atas serviks (Rangaswamy dkk.,

2012; Strauss, 2013).

Rata-rata kekuatan untuk terjadinya ruptur dalam zona ini dilaporkan 60% dari membran yang tersisa. Hilangnya susunan fibrillar pada struktur kolagen terlihat dekat daerah ruptur. Ada peningkatan jarak fibril dan penurunan 50% pada susunan fibrillar. Zona lemah di atas serviks juga mengalami peningkatan MMP-9, peningkatan level dari faktor transkripsi tertentu, dan jalur transkripsi termasuk NF-kB, FoxO3, dan FoxO4, yang mengatur gen yang terlibat dalam inflamasi, remodeling dan apoptosis matriks ekstraseluler. Juga meningkatkan pembelahan *poly (ADP-ribose) polymerase 1* (penanda apoptosis), menurunkan inhibitor jaringan metaloproteinase 3 (TIMP-3), dan ciri-ciri histologis yang konsisten dengan remodeling dan apoptosis seluler (McLaren dkk., 2000; Rangaswamy dkk., 2012; Saglam dkk., 2013).

Pecahnya selaput ketuban adalah sebagai hasil dari proses remodeling dan pematangan servik. Pada servik dan amnion terjadi perubahan pada tipe kolagen dan menyebabkan kelemahan struktur dari matriks ekstraseluler yang diikuti oleh apoptosis seluler. Peningkatan apoptosis sel amnion terutama pada lapisan sel epitel amnion diikuti oleh peningkatan transkripsi MMP yang selanjutnya akan menyebabkan degradasi kolagen. Pada selaput ketuban terdapat daerah fokal dari fetal membran yang disebut dengan *high morphology change*, di dalamnya terdapat proses remodeling dan apoptosis (Rangaswamy dkk., 2012).

Malak dan Bell pada tahun 1994, pertamakali menemukan adanya sebuah area yang disebut dengan *high morphological change* pada selaput ketuban pada daerah di atas serviks. Daerah ini merupakan 2-10% dari keseluruhan permukaan selaput ketuban. Bell dan kawan-kawan kemudian lebih lanjut menemukan bahwa area ini ditandai dengan adanya peningkatan MMP-9, peningkatan apoptosis trofoblas, perbedaan ketebalan membran, dan peningkatan myofibroblas (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Setelah ruptur spontan dari membran pada kehamilan aterm, terdeteksi daerah membran fetus yang menunjukkan gambaran morfologi unik yang hanya ditemukan dalam area terbatas sepanjang garis pecahnya selaput ketuban. Area terbatas ini telah disebut '*zone altered morphology*' (ZAM) dan gambaran yang diuraikan konsisten dengan potensi kelemahan struktural dari membran amnion. Keadaan ini termasuk gangguan dari lapisan jaringan ikat dan pengurangan ketebalan, dan selularitas, baik dari sitotrofoblas dan lapisan desidua. Mengingat gambaran struktural dari ZAM dan yang lokalisasinya terbatas di daerah dalam garis rupturnya amnion, telah disepakati bahwa ZAM mewakili lokasi awal ruptur selaput ketuban dalam respon terhadap peningkatan tekanan intra amnion yang terjadi selama persalinan (El Kwad dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

Penelitian lain oleh Rangaswamy dkk, mendukung konsep *paracervical weak zone* tersebut. Mereka menemukan bahwa selaput ketuban daerah paraservikal pecah dengan hanya 20-50%

dari kekuatan yang dibutuhkan untuk menimbulkan robekan di area selaput ketuban lainnya. Berbagai penelitian tersebut mendukung konsep adanya perbedaan zona pada selaput ketuban, khususnya zona di sekitar serviks yang secara signifikan lebih lemah dibandingkan dengan zona lainnya seiring dengan terjadinya perubahan pada susunan biokimia dan histologi. *Paracervical weak zone* ini telah muncul sebelum terjadinya pecah selaput ketuban dan berperan sebagai titik awal terjadinya ruptur membran amnion (Rangaswamy dkk., 2012).

Proses yang menyebabkan pembentukan *paracervical weak zone* selain proses remodeling, ini berkaitan erat dengan proses apoptosis, di mana beberapa penelitian yang telah dilakukan mendukung teori ini. Penelitian oleh El Khwad menemukan adanya peningkatan MMP-9 dan *cleaved PARP*, serta penurunan TIMP-3 pada *weak zone*. Penelitian lain oleh Reti dan kolega menunjukkan bahwa selaput ketuban di daerah supraservikal menunjukkan peningkatan aktivitas petanda apoptosis yaitu *cleaved-caspase-3*, *cleaved-caspase-9*, dan penurunan Bcl-2 (El Khwad dkk., 2005; Reti dkk., 2007).

Metode lain untuk membuktikan adanya proses apoptosis dilakukan oleh Kataoka tahun 2002, dengan cara mengukur derajat fragmentasi DNA dengan densitometer. Didapatkan hasil laju apoptosis ditemukan lebih tinggi pada amnion dari pasien dengan ketuban pecah dini dibandingkan pasien tanpa ketuban pecah dini, dan laju apoptosis ditemukan paling tinggi pada daerah

sekitar serviks dibandingkan dengan daerah fundus (Kataoka dkk., 2002)

Meskipun tidak ditemukan perbedaan yang bermakna pada ekspresi Bax, protein yang bersifat proapoptosis, namun protein antiapoptosis Bcl-2 ditemukan mengalami penurunan pada daerah paraservikal dibandingkan dengan daerah lainnya. Hasil lain yang mendukung bahwa jalur intrinsik berperan pada ketuban pecah dini didapatkan oleh Menon, di mana didapatkan peningkatan ekspresi gen proapoptosis, p53 dan penurunan ekspresi pada gen antiapoptosis Bcl-2 pada wanita dengan ketuban pecah dini (Menon dan Fortunato, 2004). Penelitian oleh Suhaimi, menemukan bahwa dengan pemeriksaan ELISA didapatkan kadar protein p53 yang lebih tinggi pada pasien dengan ketuban pecah dini dibandingkan dengan pasien dengan persalinan normal (Suhaimi, 2012). Perubahan ekspresi protein pro dan antiapoptosis pada daerah paraservikal menyebabkan kelemahan integritas struktur selaput ketuban dan meningkatkan risiko terjadinya pecah ketuban. Bersamaan dengan proses ini kemungkinan dapat juga terjadi proses inflamasi yang menyebabkan pelepasan sitokin dan aktivasi MMP (Reti dkk., 2007; Rangaswamy dkk., 2012).

Matriks metalloproteinase (MMP) merupakan endopeptidase yang memiliki sifat zinc dependen dan disekresi sebagai proenzim pada ruang ekstraseluler. Saat teraktivasi, MMP mampu mendegradasi berbagai komponen matriks ekstraseluler (ECM). MMP yang larut, khususnya MMP-2 dan MMP-9,

merupakan modulator utama pada integritas selaput ketuban selama kehamilan dan agen tersebut juga bertanggungjawab pada proses pecahnya selaput ketuban dalam proses persalinan. Peran MMP-2 pada proses pecahnya selaput ketuban pada persalinan aterm, dilaporkan muncul secara konsekutif pada selaput ketuban selama masa kehamilan. Namun, penelitian terakhir menunjukkan terdapat peningkatan pada amnion seiring dengan usia kehamilan, dan juga pada persalinan aterm. MMP-2 juga terlibat pada KPD preterm dan semakin meningkat dengan adanya lipopolisakarida. Protein TIMP-2 meningkat pada kehamilan lewat waktu dan menurun pada persalinan preterm ataupun aterm, KPD preterm, dan saat terdapat infeksi intra amnion. Protein TIMP-2 juga menurun pada kultur selaput ketuban yang terpapar lipopolisakarida (Nagase dkk., 2006; Tency dkk., 2012; Strauss, 2013).

MMP adalah grup dari protein yang memecah kolagen. Kolagen memberikan kekuatan regangan utama pada membran janin, dan itu tidak mengherankan bahwa jika pecahnya selaput membran janin dikaitkan dengan peningkatan ekspresi MMP dan penurunan ekspresi dan aktivitas dari *tissue inhibitors of matrix metalloproteinase* (TIMP). Menggunakan analisis Northern, pemeriksaan dari korio desidua pada berbagai titik waktu sepanjang persalinan pada kehamilan aterm menunjukkan tingginya ekspresi MMP-1 sebelum persalinan, meningkatnya ekspresi MMP-3 dan MMP-9 selama persalinan dan meningkatnya

TIMP-1 setelah persalinan (Weiss dkk., 2007; Tency dkk., 2012; Vincent dkk., 2015).

Apoptosis sel terlihat baik pada amnion dan korion pada ruptur membran saat persalinan normal maupun pada KPD preterm. Peningkatan level MMP-9 yang terkait dengan apoptosis sel amnion mencerminkan apa yang dilihat pada amnion mendekati proses persalinan. Hal itu menunjukkan bahwa katabolisme matriks ekstraseluler memulai proses apoptosis, karena ekspresi dari MMP-9 memprovokasi apoptosis pada kultur organ amnion dan inhibitor dari MMP mencegah kematian sel apoptosis pada ekspresi MMP-9. Selain itu, kematian sel apoptosis dan pelepasan berikutnya dari sinyal seluler (misalnya, protein *heat-shock* Hsp60, Hsp70, dan Hsp90), yang mengaktifkan *Toll-like receptor* (TLR) dapat menginduksi ekspresi dan aktivasi MMP untuk memperkuat katabolisme matriks ekstraseluler. Selain itu, hormon dapat memodulasi kelangsungan hidup sel sejak progesteron menghambat apoptosis sel membran janin dipicu oleh *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) (Rangaswamy dkk., 2012; Saglam dkk., 2013).

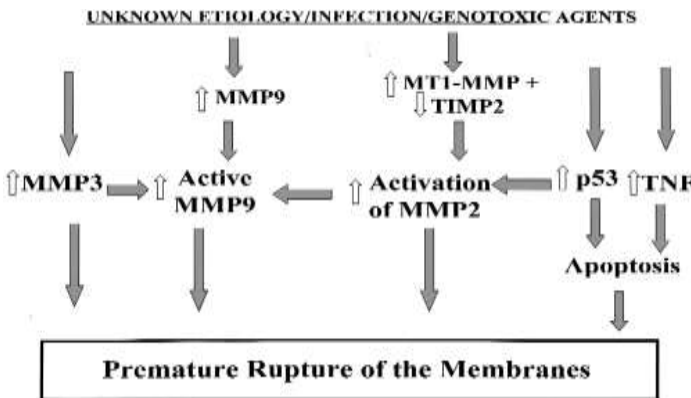
Fortunato dan Menon (2004) telah secara ekstensif mengulas peran yang dimainkan oleh MMP dan apoptosis pada ruptur fetal membran. Kekuatan amnion dan korion sebagian besar disebabkan kolagen. Kolagen I, III, IV, V dan VI terdapat dalam berbagai lapisan amniokorion. Kekuatan utama dalam amnion berasal dari kolagen I (terlihat secara luas di lapisan kompak dan mesoderm yang berdekatan) dan kolagen IV (komponen utama

dari membran basal dan dari bundel yang menghubungkan lapisan mesenkimial dan epitel) (Fortunato dan Menon, 2004).

Degradasi kolagen dikontrol oleh MMP spesifik yang dipengaruhi oleh inhibitor jaringan matriks metalloproteinase (TIMP). Dengan demikian, rasio MMP dan TIMP merupakan indikator yang baik dari degradasi kolagen, yang bersama dengan tingkat deposisi kolagen baru oleh fibroblas, menentukan kekuatan jaringan utama membran amnion. Meskipun MMP jenis 1, 2, 3, 8 dan 9 telah dijelaskan dengan baik di amniokorion, investigasi utama di fetal membran telah dilakukan dengan jenis MMP-2 dan 9. TIMP-1, yang mengontrol aktivitas MMP-9, telah dipelajari secara ekstensif di fetal membran dan mengalami penurunan pada kasus dengan KPD dan persalinan. MMP-9 memainkan peran utama dalam remodeling selaput ketuban, melemah dan pecahnya selaput ketuban. MMP-9 merupakan penanda yang sangat baik untuk menilai kekuatan selaput ketuban (Kumar dkk., 2006; Moore dkk., 2006; Vincent dkk., 2015).

Aktivasi antara MMP dan apoptosis saling terkait. Matriks ekstraseluler bertindak sebagai faktor stabilisasi utama di banyak sistem jaringan. Stabilitas ini dikondisikan ketika aktivasi MMP mengarah ke pemecahan matriks ekstraseluler yang menyebabkan apoptosis. MMP juga dapat menginduksi apoptosis dengan membelah membran terikat sitokin, termasuk TNF α dan FasL. Apoptosis juga dapat menginduksi aktivasi MMP. Selain itu, agen yang sama yang telah dilaporkan menyebabkan apoptosis pada jaringan selaput ketuban juga mengaktifkan dan

meningkatkan transkripsi MMP, khususnya, MMP-1, MMP-9, dan MMP-2 (Moore dkk., 2006; Saglam dkk., 2013; Sukhikh dkk., 2015).



Gambar Aktivasi MMP dan Apoptosis
(Menon dan Fortunato, 2004)

Peningkatan prostaglandin terjadi dengan induksi apoptosis pada epitel amnion dan mesenkim oleh agen apoptosis non-fisiologis (*actinomycin D*, *cycloheximide*, *staurosporin*) dan fisiologis (*ceramide*, *lactosylceramide*, *metabolit PGJ2*). Prostaglandin juga menginduksi transkripsi dan mengaktivasi MMP pada kebanyakan jaringan. Proses apoptosis berpotensi melemahkan selaput ketuban dengan mengeliminasi sel fibroblas, yang berfungsi menyusun kolagen baru, dan secara simultan mengaktivasi sistem enzim yang mengurai kolagen yang ada. Aktivasi MMP selanjutnya akan meningkatkan apoptosis, yang secara simultan memberikan

umpan balik berupa peningkatan lebih banyak lagi aktivasi MMP. Aktivasi MMP dan apoptosis telah menunjukkan kerja yang bersifat sinergis dalam menyebabkan terjadinya pecah ketuban (Moore dkk., 2006; Rangaswamy dkk., 2012).

**BAB VI DIAGNOSIS, PENATALAKSANAAN
DAN KOMPLIKASI KPD**
Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Diagnosis KPD

Berdasarkan Anamnesis pasien merasakan basah pada vagina, atau mengeluarkan cairan yang banyak secara tiba-tiba dari jalan lahir atau “ngepyok”. Cairan berbau khas dan perlu diperhatikan warnanya. Menentukan usia kehamilan dari hari pertama menstruasi terakhir (HPHT) atau dari USG kemudian dari Inspeksi didapatkan pecahnya selaput ketuban dengan adanya cairan ketuban keluar dari vagina. Pemeriksaan dengan speculum dilakukan untuk mengkonfirmasi keluarnya cairan ketuban dari vagina, Pemeriksaan dengan spekulum pada KPD akan tampak keluar cairan dari Orifisium Uteri Eksternum (OUE), kalau belum juga tampak keluar, fundus uteri ditekan, penderita diminta batuk, mengejan, atau bagian terendah digoyangkan, akan tampak keluar cairan dari ostium uteri dan terkumpul pada fornix anterior.

Pada pemeriksaan dalam didapat cairan di dalam vagina dan selaput ketuban sudah tidak ada lagi. Pemeriksaan Vaginal Toucher (VT) perlu dipertimbangkan, terutama pada kehamilan yang kurang bulan yang belum dalam persalinan sangat dibatasi dilakukan pemeriksaan dalam (VT), karena pada waktu pemeriksaan dalam, jari pemeriksa akan mengakumulasi segmen bawah rahim dengan flora vagina yang normal. Mikroorganisme tersebut bisa dengan cepat menjadi pathogen. Pemeriksaan dalam vagina hanya dilakukan pada kasus KPD yang sudah dalam persalinan atau yang dilakukan induksi persalinan.

Berdasarkan Pemeriksaan penunjang (Pemeriksaan Laboratorium dan pemeriksaan ultrasonografi) dilakukan Untuk menentukan ada atau tidaknya infeksi, kriteria laboratorium yang digunakan adalah adanya Leukositosis maternal (WBC yang lebih dari 16.000/uL), adanya peningkatan *C-reactive protein* cairan ketuban dan gas-liquid *chromatography*, serta Amniosentesis untuk mendapatkan bukti yang kuat (misalnya cairan ketuban yang mengandung leukosit yang banyak atau bakteri pada pengecatan gram maupun pada kultur aerob maupun anaerob). Tes lakmus (tes Nitrazin) digunakan, yaitu jika kertas lakmus merah berubah menjadi biru menunjukkan adanya air ketuban (Alkalis). Normalnya pH air ketuban berkisar antara 7-7,5. Darah dan infeksi vagina dapat menghasilkan tes yang positif palsu. Mikroskopik (tes pakis), yaitu dengan meneteskan air ketuban pada gelas objek dan dibiarkan kering. Pemeriksaan mikroskopik menunjukkan gambaran daun pakis.

Pada pemeriksaan Ultrasonografi (USG) dimaksudkan untuk melihat jumlah cairan ketuban dalam kavum uteri. Dikenal tiga cara pengukuran cairan ketuban, yaitu secara subyektif, semikuantitatif (pengukuran satu kantong), dan pengukuran empat kuadran menurut Phelan. Sayangnya tidak ada satupun metode pengukuran volume cairan ketuban tersebut yang dapat dijadikan standar baku emas. Penilaian subyektif oleh seorang pakar dengan menggunakan USG “real-time” dapat memberikan hasil yang baik. Penilaian subyektif volume cairan ketuban berdasarkan atas pengalaman subyektif pemeriksa didalam menentukan

volume tersebut berdasarkan apa yang dilihatnya pada saat pemeriksaan. Dikatakan normal bila masih ada bagian janin yang menempel pada dinding uterus, dan bagian lain cukup terisi cairan ketuban. Bila sedikit, maka sebagian besar tubuh janin akan melekat pada dinding uterus, sedangkan bila hidramnion, maka tidak ada bagian janin yang menempel padadinding uterus.

Pengukuran semikuantitatif dilakukan melalui pengukuran dari satu kantong (single pocket) ketuban terbesar yang terletak antara dinding uterus dan tubuh janin, tegak lurus terhadap lantai. Tidak boleh ada bagian janin yang terletak didalam area pengukuran tersebut. Klasifikasinya dapat dilihat dalam table dibawah ini

Tabel Pengukuran Semikuantitatif (Satu Kantong)
Volume Cairan Ketuban

HASIL PENGUKURAN	INTERPRETASI
> 2 cm, < 8 cm	Volume cairan ketuban normal
> 8 cm 8-12 cm 12-16 cm >16 cm	Polihidramnion Polihidramnion ringan Polihidramnion sedang Polihidramnion berat
≥ 1 cm, ≤ 2 cm	Volume cairan ketuban meragukannormal (borderline)
< 1 cm	Oligohidramnion

Sumber : Weber G, Merz E. Amniotic Fluid.
Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2005:409-414

Pengukuran volume cairan ketuban empat kuadran atau indeks cairan amnion (ICA)/amnion fluid index (AFI) diajukan oleh Phelan, dkk (1987) lebih akurat dibandingkan cara lainnya. Pada pengukuran ini, abdomen ibu dibagi atas empat kuadran. Garis yang dibuat melalui umbilikus vertikal ke bawah dan transversal. Kemudian transduser ditempatkan secara vertikal tegak lurus lantai dan cari diameter terbesar dari kantong ketuban, tidak boleh ada bagian janin atau umbilikus didalam kantong tersebut. Setelah diperoleh empat pengukuran, kemudian dijumlahkan dan hasilnya ditulis dalam millimeter atau sentimeter.

Tabel Indeks Cairan Ketuban Berdasarkan Pengukuran Empat Kuadran (Phelan)

HASIL PENGUKURAN	INTERPRETASI
50 – 250 mm	Normal
> 250 mm	Polihidramnion
< 50 mm	Oligohidramnion

Sumber : modifikasi dari Weber G, Merz E. *Amniotic Fluid. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*.2005:409-414

Penatalaksanaan

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penatalaksanaan KPD adalah; memastikan diagnosis, menentukan umur kehamilan, mengevaluasi ada tidaknya infeksi maternal ataupun infeksi janin, serta apakah dalam keadaan inpartu atauperoleh kegawatan janin. Prinsip penanganan Ketuban Pecah Dini adalah

memperpanjang kehamilan sampai paru-paru janin matang atau dicurigai adanya atau terdiagnosis khorioamnionitis.

a. KPD Dengan Kehamilan Aterm

- 1) Diberikan antibiotika profilaksis, Ampisilin 4 x 500 mg selama 7 hari
- 2) Dilakukan pemeriksaan "admission test" bila hasilnya patologis dilakukan terminasi kehamilan
- 3) Observasi temperatur rektal setiap 3 jam, bila ada kecenderungan meningkat lebih atau sama dengan 37,6°C, segera dilakukan terminasi
- 4) Bila temperatur rektal tidak meningkat, dilakukan observasi selama 12 jam. Setelah 12 jam bila belum ada tanda-tanda inpartu dilakukan terminasi.
- 5) Batasi pemeriksaan dalam, dilakukan hanya berdasarkan indikasi obstetric
- 6) Bila dilakukan terminasi, lakukan evaluasi Pelvic Score (PS):
 - Bila PS lebih atau sama dengan 5, dilakukan induksi dengan oksitosin drip.
 - Bila PS kurang dari 5, dilakukan pematangan servik dengan Misoprostol 50 µg setiap 6 jam per oral maksimal 4 kali pemberian.

Tabel Pelvic Score (PS) menurut Bishop

SKOR	0	1	2	3
Pembukaan serviks(cm)	0	1-2	3-4	5-6
Pendataran serviks	0-30%	40-50%	60-70%	80%
Penurunan kepala diukur dari bidang Hodge III (cm)	-3	-2	-1.0	+1,+2
Konsistensi serviks	Keras	Sedang	Lunak	
Posisi serviks	Kebelakang	Searah sumbu jalan lahir	Kearah depan	

b. KPD Dengan Kehamilan Pre Term

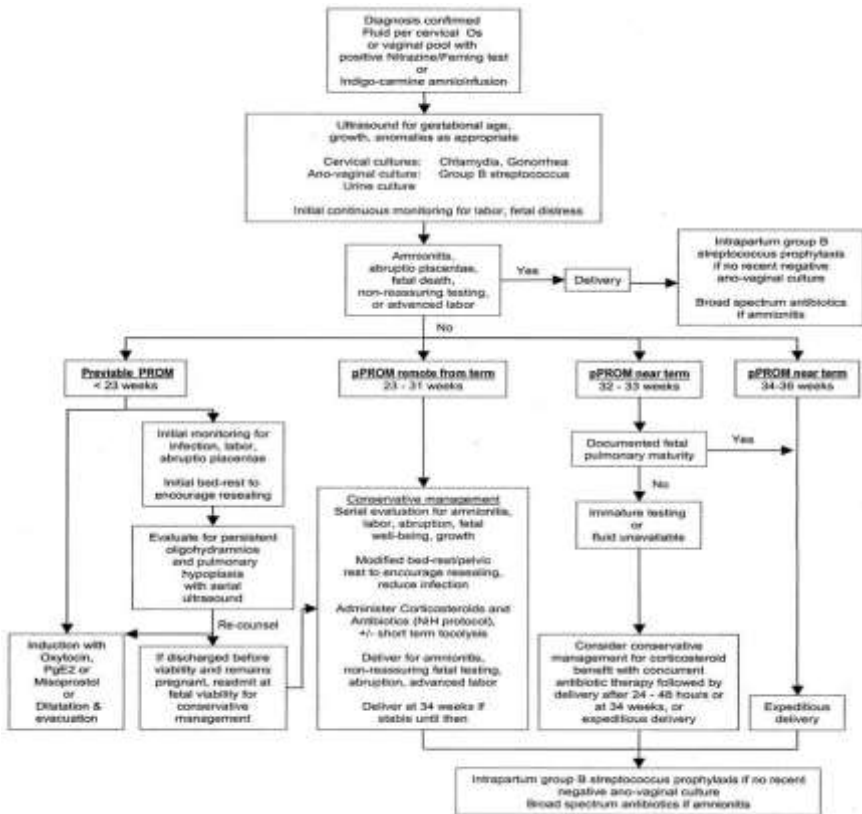
1. Penanganan di rawat di RS
2. Diberikan antibiotika : Ampicillin 4 x 500 mg selama 7 hari.
3. Untuk merangsang maturasi paru diberikan kortikosteroid (untuk UK kurang dari 35 minggu) : Deksametason 5 mg setiap 6 jam.
4. Observasi di kamar bersalin :
 - a. Tirah baring selama 24 jam, selanjutnya dirawat di ruang obstetri.
 - b. Dilakukan observasi temperatur rektal tiap 3 jam, bila ada kecenderungan terjadi peningkatan temperatur

rektal lebih atau sama dengan 37,6° C, segera dilakukan terminasi.

5. Di ruang Obstetri :
 - a. Temperatur rektal diperiksa setiap 6 jam.
 - b. Dikerjakan pemeriksaan laboratorium : leukosit dan laju endap darah (LED) setiap 3 hari.
6. Tata cara perawatan konservatif :
 - a. Dilakukan sampai janin viable
 - b. Selama perawatan konservatif, tidak dianjurkan melakukan pemeriksaan dalam
 - c. Dalam observasi selama 1 minggu, dilakukan pemeriksaan USG untuk menilai air ketuban:
 - Bila air ketuban cukup, kehamilan diteruskan.
 - Bila air ketuban kurang (oligohidramnion), dipertimbangkan untuk terminasi kehamilan.
 - d. Pada perawatan konservatif, pasien dipulangkan pada hari ke-7 dengan saran sebagai berikut :
 - tidak boleh koitus.
 - tidak boleh melakukan manipulasi vagina.
 - segera kembali ke RS bila ada keluar air ketuban lagi
 - e. Bila masih keluar air, perawatan konservatif dipertimbangkan dengan melihat pemeriksaan laboratorium. Bila terdapat leukositosis atau peningkatan LED, lakukan terminasi. Beberapa peneliti menekankan pada pentingnya usia kehamilan

dalam penatalaksanaan KPD seperti tampak dalam Bagan dibawah.

Bagan Penatalaksanaan KPD Berdasarkan Umur Kehamilan



Algorithm for evaluation and management of preterm premature rupture of the membranes (PPROM).

(Mercer BM: Premature rupture of the membranes. Obstet Gynecol 101:178–193, 2003)

c. Terminasi Kehamilan:

- Induksi persalinan dengan drip oksitosin.

- Seksio sesaria bila prasyarat drip oksitosin tidak terpenuhi atau bila drip oksitosin gagal
- Bila skor pelvik jelek, dilakukan pematangan dan induksi persalinan dengan Misoprostol 50 μ gr oral tiap 6 jam, maksimal 4 kali pemberian.

Komplikasi

Beberapa komplikasi yang seringkali ditimbulkan dari KPD sangat berpengaruh terhadap morbiditas dan mortalitas bayi serta dampak terhadap ibunya sendiri, diantaranya adalah: (Wiknyosastro H, 1999)

1. Persalinan premature

Setelah ketuban pecah biasanya segera disusul oleh persalinan. Periode laten tergantung umur kehamilan. Pada kehamilan aterm 90% terjadi dalam 24 jam setelah ketuban pecah. Pada kehamilan antara 28-34 minggu 50% persalinan dalam 24 jam. Pada kehamilan kurang dari 26 minggu persalinan seringkali terjadi dalam 1 minggu.

2. Infeksi

Risiko infeksi ibu dan anak meningkat pada ketuban pecah dini. Pada ibu terjadi korioamnionitis. Pada bayi dapat terjadi septikemia, pneumonia, omfalitis. Umumnya terjadi korioamnionitis sebelum janin terinfeksi. Pada ketuban pecah dini preterm, infeksi lebih sering daripada aterm. Secara umum insiden infeksi sekunder pada ketuban pecah dini meningkat sebanding dengan lamanya

peridometen. Kriteria klinis infeksi yang digunakan pada KPD yaitu; adanya febris, uterine tenderness (di periksa setiap 4 jam), takikardia (denyut nadi maternal lebih dari 100x/mnt), serta denyut jantung janin yang lebih dari 160 x/mnt.

3. Hipoksia dan asfiksia

Dengan pecahnya ketuban terjadi oligohidamnion sehingga bagian kecil janin menempel erat dengan dinding uterus yang dapat menekan tali pusat hingga terjadi asfiksia atau hipoksia. Terdapat hubungan antara terjadinya gawat janin dan derajat oligohidamnion, semakin sedikit air ketuban, janin semakin gawat.

4. Sindrom deformitas janin

Ketuban pecah dini yang terjadi terlalu dini menyebabkan pertumbuhan janin terhambat, kelainan disebabkan kompresi muka dan anggota badan janin, serta hipoplasia pulmonary. (Charnaghan K.H et al, 2009).

Penyembuhan Selaput Ketuban

Secara umum setiap luka yang terjadi pada bagian tubuh akan melalui beberapa tahapan, yaitu : fase Inflamasi, Proliferasi, dan Maturasi. Masing-masing fase melibatkan banyak komponen serta mekanisme yang berbeda, diantaranya:

a. Fase Inflamasi.

Fase inflamasi adalah adanya respons vaskuler dan seluler yang terjadi akibat perlukaan yang terjadi pada

jaringan lunak. Tujuan yang hendak dicapai adalah menghentikan perdarahan dan membersihkan area luka dari benda asing, sel-sel mati dan bakteri untuk mempersiapkan dimulainya proses penyembuhan. Pada awal fase ini, kerusakan pembuluh darah akan menyebabkan keluarnya platelet yang berfungsi hemostasis. Platelet akan menutupi vaskuler yang terbuka (clot) dan juga mengeluarkan substansi “vasokonstriksi” yang mengakibatkan pembuluh darah kapiler vasokonstriksi, selanjutnya terjadi penempelan endotel yang akan menutup pembuluh darah. Periode ini hanya berlangsung 5-10 menit, dan setelah itu akan terjadi vasodilatasi kapiler stimulasi saraf sensoris (local sensoris nerve ending), local reflex action, dan adanya substansi vasodilator: histamin, serotonin dan sitokins. Histamin kecuali menyebabkan vasodilatasi juga mengakibatkan meningkatnya permeabilitas vena, sehingga cairan plasma darah keluar dari pembuluh darah dan masuk ke daerah luka dan secara klinis terjadi edema jaringan dan keadaan lokal lingkungan tersebut asidosis. Eksudasi ini juga mengakibatkan migrasi sel lekosit (terutama netrofil) ke ekstra vaskuler. Fungsi netrofil adalah melakukan fagositosis benda asing dan bakteri di daerah luka selama 3 hari dan kemudian akan digantikan oleh sel makrofag yang berperan lebih besar jika dibanding dengan netrofil pada proses penyembuhan luka. Fungsi makrofag

disamping fagositosis adalah: sintesa kolagen, pembentukan jaringan granulasi bersama-sama dengan fibroblast, memproduksi growth factor yang berperan pada re-epitelisasi, serta pembentukan pembuluh kapiler baru atau angiogenesis.

b. Fase Proliferasi

Proses kegiatan seluler yang penting pada fase ini adalah memperbaiki dan menyembuhkan luka dan ditandai dengan proliferasi sel. Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan, yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Pada jaringan lunak yang normal (tanpa perlukaan), pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan penunjang. Sesudah terjadi luka, fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berkembang (proliferasi) serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, hyaluronic acid, fibronectin dan proteoglycans) yang berperan dalam membangun (rekonstruksi) jaringan baru. Sejumlah sel dan pembuluh darah baru yang tertanam di dalam jaringan baru tersebut disebut sebagai jaringan granulasi, sedangkan proses proliferasi fibroblas dengan aktifitas sintetikanya disebut fibroblasia. Respons yang dilakukan fibroblas terhadap proses fibroblasia adalah: proliferasi, migrasi, deposit jaringan matriks, dan kontraksi

luka. Angiogenesis merupakan suatu proses pembentukan pembuluh kapiler baru didalam luka, mempunyai arti penting pada tahap proliferasi proses penyembuhan luka. Kegagalan vaskuler akibat penyakit (diabetes), pengobatan (radiasi) atau obat (preparat steroid) mengakibatkan lambatnya proses sembuh karena terbentuknya ulkus yang kronis. Jaringan vaskuler yang melakukan invasi kedalam luka merupakan suatu respons untuk memberikan oksigen dan nutrisi yang cukup di daerah luka karena biasanya pada daerah luka terdapat keadaan hipoksik dan turunnya tekanan oksigen. Pada fase ini fibroblasia dan angiogenesis merupakan proses terintegrasi dan dipengaruhi oleh substansi yang dikeluarkan oleh platelet dan makrofag (growth factors). Proses selanjutnya adalah epitelisasi, dimana fibroblas mengeluarkan Keratinocyte Growth Factor (KGF) yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi akan dimulai dari pinggir luka danakhirnya membentuk barier yang menutupi permukaan luka. Dengan sintesa kolagen oleh fibroblas, pembentukan lapisan dermis ini akan disempurnakan kualitasnya dengan mengatur keseimbangan jaringan granulasi dan dermis. Untuk membantu jaringan baru tersebut menutup luka, fibroblas akan merubah strukturnya menjadi myofibroblast yang mempunyai kapasitas melakukan kontraksi pada jaringan. Fungsi kontraksi akan lebih

menonjol pada luka dengan defek luas dibandingkan dengan defek luka minimal. Fase proliferasi akan berakhir jika epitel dermis dan lapisan kolagen telah terbentuk, terlihat proses kontraksi dan akan dipercepat oleh berbagai growth factor yang dibentuk oleh makrofag dan platelet.

c. Fase Maturasi

Fase ini dimulai pada minggu ke-3 setelah perlukaan dan berakhir sampai kurang lebih 12 bulan. Tujuan dari fase maturasi adalah menyempurnakan terbentuknya jaringan baru menjadi jaringan penyembuhan yang kuat dan bermutu. Fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan dari jaringan mulai berkurang karena pembuluh mulai regresi dan serat fibrin dari kolagen bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut. Kekuatan dari jaringan parut akan mencapai puncaknya pada minggu ke-10 setelah perlukaan. Sintesa kolagen yang telah dimulai sejak fase proliferasi akan dilanjutkan pada fase maturasi. Kecuali pembentukan kolagen juga akan terjadi pemecahan kolagen oleh enzim kolagenase. Kolagen muda (Gelatinous collagen) yang terbentuk pada fase proliferasi akan berubah menjadi kolagen yang lebih matang, yaitu lebih kuat dan struktur yang lebih baik (proses re-modelling) (Kalangi, S.J.R, 2004) Karena selaput ketuban manusia tidak memiliki persarafan dan hanya memiliki sedikit vaskularisasi,

respon penyembuhan luka yang meliputi peradangan, pembentukan jaringan parut, dan regenerasi jaringan, seperti pada kulit dan organ lainnya, sulit terjadi. Bukti klinis mengenai potensi penyembuhan selaput ketuban sebagian besar berkaitan dengan pecahnya selaput setelah amniosentesis. Beberapa laporan kasus menyebutkan bertahannya defek selaput ketuban selama beberapa minggu setelah prosedur invasif. Sebagian besar kasus amniorrhexis pasca amniosentesis sembuh dengan sendirinya dan menghasilkan luaran kehamilan yang baik. Terkadang pasien dengan KPD preterm spontan berhenti mengalami kebocoran cairan ketuban. Pasien-pasien ini juga memiliki luaran kehamilan yang baik karena mereka bersalin pada rata-rata umur kehamilan 38 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa selaput ketuban memiliki kemampuan untuk menyumbat defek yang timbul baik secara spontan atau buatan. Namun demikian, defek tersebut dapat ditutupi, atau dapat menyumbat kembali melalui retraksi, pergeseran, kontraksi, dan jaringan parut pada lapisan myometrial dan desidua uterus, daripada melibatkan mekanisme penyembuhan aktif pada tingkatan selaput fetal (Devlieger R, 2003)

Penyembuhan Selaput Ketuban In Vitro

Sel satu lapis yang diperoleh dari galur sel yang berasal dari ketuban (FL[ATCC,CCL-62]) ditemukan mampu memperbaiki

defek bedah mikro sentral, dimana 75-80% defek tersebut diperbaiki dalam waktu 24 jam. Menggunakan galur sel yang sebanding (WISH[ATCC,CCL-25]), ditemukan perbaikan yang dirangsang oleh peningkatan kadar epidermal growth factor dan insulin-like growth factor-1 pada media kultur. Pada amniosit yang diperoleh dari selaput ketuban manusia segar yang telah dicerna, kapasitas perbaikan sel satu lapis tersebut ditemukan sesuai dengan usia kehamilan, dengan sel yang diperoleh pada umur kehamilan lebih muda menunjukkan laju proliferasi yang lebih tinggi dan penutupan defek sentral yang lebih cepat. Dengan susunan yang sama, perbedaan antara jaringan preterm dan aterm hanya terdapat pada sel mesenkim dari Ketuban. (Wiknyosastro H, 1999). Penelitian pada trauma pembedahan pada selaput ketuban manusia yang telah dikultur sampai ketebalan penuh hanya menunjukkan mekanisme perbaikan yang terbatas. Walaupun telah terdapat bukti proliferasi sel epitel, migrasi, serta hidupnya sel explants pada kultur selama 12 hari, ukuran keseluruhan defek tetap tidak berubah. Model ini menawarkan keuntungan yaitu melibatkan semua lapisan selaput ketuban, namun demikian, jaringan explants in vitro menjadi makin tidaksehat seiring berjalannya waktu, dan hal ini tampaknya mempengaruhi kemampuan penyembuhannya.

BAB VII AMNIOPATCH
Buku Ajar Ketuban Pecah Dini

Utuhnya selaput ketuban janin selama masa kehamilan sangat penting untuk mempertahankan homeostasis cairan ketuban dan sebagai pertahanan terhadap infeksi ascending. Walaupun hubungan antara kejadian ketuban pecah dini dan hasil akhir dari kehamilan belum dapat dijabarkan dengan jelas, data tentang kapasitas selaput ketuban janin yang mengalami proses penyembuhan masih terbatas. Beragam terapi potensial telah dikemukakan untuk pengobatan ketuban pecah dini preterm, dimana beberapa telah berhasil, terutama pada kasus post procedural ketuban pecah dini (iatrogenik) (Devlieger R, 2006)

Amniopatch adalah suatu tehnik penambalan selaput ketuban (amnio- chorion membrane) pada ketuban pecah dini yang terjadi pada kehamilan sebelum 37 minggu atau preterm premature rupture of the membranes (PPROM). Idennya adalah memberikan kesempatan pada platelet untuk menemukan area yang cedera lalu clot yang terjadi distabilisasi dengan kriopresipitat. Terapi Amniopatch ini menyerupai “patch darah” yang digunakan pada kasus nyeri kepala spinal setelah kebocoran cairan cerebrospinal iatrogenik. Hal ini didukung oleh data eksperimen in vitro yang menunjukkan bahwa platelet melekat pada ketuban yang terluka dan membentuk sumbatan yang distabilisasi oleh cryopresipitate. Proposal pertama dari metode yang mendukung memperbaiki membran sudah diusulkan sejak 1986 (Baumgarten) dan 1994 (Uchida) yang berdasarkan Instilasi Transcervical Fibrin. Sampai tahun 1996 tidak ada penanganan

yang tersedia untuk KPD iatrogenik. Sampai saat itu (1996) penanganan untuk KPD iatrogenik sebelum 23 minggu sering berupa induksi persalinan karena adanya risiko infeksi untuk ibu disertai dengan kemungkinan hidup yang rendah untuk bayi. Pada tahun 1996 penanganan KPD iatrogenik dengan injeksi platelet dan kriopresipitat kedalam cairan ketuban dilaksanakan dengan sukses, sejak Quintero, dkk melakukan intra-amniotic infusion konsentrat trombosit (platelet) yang bertujuan menutup defek kantong ketuban yang terjadi akibat tindakan fetoscopy untuk mengikat tali pusat darijanin acardiac pada kehamilan kembar monoamniotik (Quintero R, 1999)

Dasar Teori

Telah diketahui bahwa selaput ketuban manusia tidak memiliki persarafan dan avaskuler, sehingga respon penyembuhan luka yang meliputi inflamasi, pembentukan jaringan parut, dan regenerasi jaringan, seperti pada kulit dan organ lainnya, sulit terjadi. Pengalaman beberapa penelitian menunjukkan bahwa ketuban dapat ditutup dengan platelet dan cryopresipitate, serta data eksperimen in vitro yang menunjukkan bahwa platelet melekat pada ketuban yang terluka dan membentuk sumbatan yang distabilisasi oleh cryopresipitate. Mekanisme pasti bagaimana amniopatch bekerja masih belum diketahui dengan pasti. Quintero dkk, mencoba menjawab permasalahan ini dengan penelitian mereka yang untuk pertama kalinya berhasil menyumbat kebocoran membran pada KPD iatrogenik. Mereka berpendapat

bahwa Alpha-granul trombosit mengandung perekat protein, protein plasma, mitogens selular, faktor koagulasi, dan protease inhibitor, yang akan dikeluarkan selama aktivasi platelet dalam sistem hemostasis, inflamasi, dan penyembuhan luka. Fibrin bertindak sebagai kisi-kisi bersama fibroblas, endothelial sel, dan sel-sel lainnya yang diharapkan akan bermigrasi menuju tempat ruptur ataupun mengikuti proses penyembuhan luka pada umumnya. Mereka berspekulasi bahwa pemberian trombosit ke lokasi ruptur dalam rongga amnion, bersama dengan fibrinogen, fibronectin, dan protein haemostatic lainnya dalam cryoprecipitate, dapat menyediakan unsur-unsur yang tidak ada dalam membran avaskuler yang sangat diperlukan untuk penyembuhan luka. (Quintero R, 1998)

Infus intra-amniotic trombosit konsentrat (platelet) bertujuan untuk menyumbat/menutup kebocoran cairan dari selaput ketuban (amniotic sac) yang terjadi selama fetoscopy. Vaskularisasi yang buruk dari membran amniotic menyebabkan prosedur ini kurang begitu efektif, khususnya pada kasus dimana trauma jarum menyebabkan ketuban lepas dari chorion, akan tetapi tidak dapat diharapkan pembentukan platelet dan faktor koagulasi yang mencapai tempat ruptur melalui pembuluh darah (avaskular). Point yang perlu diperhatikan adalah lepasnya chorion dari ketuban yang sangat sering terjadi dalam robekan iatrogenik dan sangat jarang terjadi dalam ruptur spontan. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan infeksi yang sering kali tidak terdeteksi dan terletak dalam bagiancaudal dari kantung dekat cervix dan

vagina. Bahkan dengan menggunakan infusi sederhana larutan garam, yang akan menyebabkan tekanan intra-amniotic kembali normal, membantu kedua membran bersatu kembali dan menutup ruptur yang terjadi. Infusi konsentrat trombosit diikuti dengan cryoprecipitate yang mengandung fibrinogen, fibronectin, faktor pertumbuhan PDGE, TGF-beta, Faktor Von Willebrand, F VIII dan F XIII dalam konsentrasi tinggi dalam suhu dingin mengembalikan hubungan amnio-chorial yang terganggu oleh trauma iatrogenik, sehingga menyebabkan proses perbaikan menjadi lebih efektif. (Contino B, 2004)

Prosedur Amniopatch

Sebelumnya diagnosis KPD dibuat dengan pemeriksaan spekulum yang steril (untuk melihat kebocoran cairan ketuban pada vagina), tes ferning dan nitrazin positif. Sebagai tambahan USG dipergunakan untuk melihat jumlah air ketuban dan melihat apabila ada pelepasan selaput ketuban dari dinding uterus. Pelepasan selaput ketuban kadang tidak diikuti kebocoran cairan ketuban dari vagina, yang mana dalam kasus ini kemungkinan dapat diterapi dengan amniopatch mengingat kemungkinan terjadi kebocoran yang komplis sangat tinggi risikonya. Amniopatch khususnya ditawarkan pada beberapa pasien dengan kriteria; umur kehamilan lebih atau sama dengan 16 minggu, serta pada KPD iatrogenik atau pelepasan membran yang tidak menutup spontan. Amniopatch sendiri tidak ditawarkan pada pasien; yang sudah mengalami inpartu atau ada HIS, serta bila ada tanda-tanda infeksi

intrauterin seperti demam, nyeri tekan uterus, ketuban bau, dan fetal takikardi. (Contino B, 2004)

Pasien kemudian diberi antibiotik intravena dan tirah baring selama seminggu untuk memberi kesempatan membran menutup secara spontan. Bila penyembuhan spontan tidak terjadi (tindakan konservatif gagal), setelah dilakukan informed consent, maka amniopatch mulai dikerjakan. Prosedur selanjutnya adalah sebagai berikut: (Contino B, 2004)

- a. Melakukan pengambilan 350-400 ml darah dalam 4 kantong sesuai protokol autotransfusi yang diikuti dengan penyisihan platelet autolog (30 ml/Plt volume tot. 81.4×10^9) dan cryoprecipitate (20 ml), yang disimpan dalam suhu -80°C .
- b. Pembersihan lapangan operasi dengan antiseptik betadin pada perut sekitar umbilikus.
- c. Dilakukan evaluasi pre-prosedur dengan USG dan penentuan target pungsi, jika tidak ada kantong (jumlah cairan sedikit) akan sulit dilakukan amniopatch.
- d. Dilakukan pungsi dengan jarum amniosentesis ukuran 22 (dengan panduan USG), kemudian dihubungkan dengan satu set tabung intravena dengan three way stopcock.
- e. Dilakukan pembilasan (flushing) dengan NaCl 0,9% sebanyak 5 cc untuk membuat space antara dinding uterus dengan tubuh janin. Kemudian akan tampak free space melewati three way stopcock.
- f. Dilanjutkan memasukkan trombosit konsentrat autolog 30 ml/g. Memasukkan cryoprecipitate 20 ml.

- g. Pembilasan (Flushing) kembali dengan NaCl 0,9 % sebanyak 3ml.
- h. Jeda masing-masing suntikan $\pm$ 15 menit.
- i. Jarum dicabut.
- j. Tempat tusukan jarum ditutup dengan gas betadine. l. Evaluasi janin dengan USG.

Evaluasi post prosedur: (Quintero R et al, 1998)

- a. Bed Rest selama 7 hari
- b. Evaluasi tanda vital sign, dan tanda infeksi
- c. Lanjutkan Antibiotik seperti, Amoxicillin 3x500 mg tab p.o
- d. Jika ada tanda-tanda kontraksi uterus, diberikan tokolitik seperti; Nifedipine 3x20 mg tab p.o
- e. Dua belas jam post tindakan jika tidak ada keluhan, pasien boleh pindah ruangan
- f. Evaluasi USG kembali dilakukan pada hari ke-3 dan hari ke-7 post prosedur, untuk melihat kesejahteraan janin, keberhasilan terapi (apakahmasih ada air ketuban yang keluar), tanda-tanda inpartu, ataupun infeksi. Bila kondisi memungkinkan, amniopatch dapat diulangi lagi, tetapi bila tidak (kesejahteraan janin terganggu, KPD bertambah berat, ataupun adanya tanda-tanda infeksi), mungkin diperlukan suatu terminasikehamilan.

Komplikasi Amniopatch

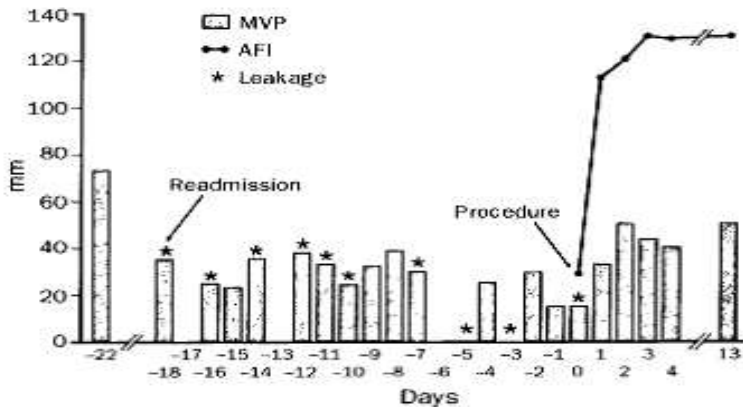
Amniopatch sebagai suatu pilihan terapi pada KPD bukanlah tanpa risiko. Bagaimanapun juga Amniopatch adalah suatu tindakan

intervensi yang dapat mengakibatkan beberapa komplikasi diantaranya : (Quintero R et al, 1998)

- a. Jarum dapat menembus usus, blass, pembuluh darah pelvic atau melukai fetus. Hal ini dicegah dengan menusukkan jarum dibawah panduan USG.
- b. Potensi infeksi. Dicegah dengan amniosentesis dengan tehnik yang steril.
- c. Infeksi sendiri sering kali diakibatkan ataupun mengakibatkan PPRM, bila infeksi intra uterin terdeteksi, kehamilan sebaiknya diterminasi.
- d. Kadang-kadang pasien inpartu setelah amniosentesis. Persalinan dapat dicetuskan dari KPD ataupun infeksi.
- e. Dalam jumlah yang sangat kecil (1:2000-225000) dapat terjadi infeksi setelah tranfusi platelet dan faktor pembekuan. Hal ini dicegah dengan prosedur standar saat perlakuan darah di bank darah.
- f. Terdapat kematian fetus setelah prosedur amniopatch. Kematian ini akibat pemberian platelet yang terlalu banyak, yang mengakibatkan perubahantekanan darah dan denyut jantung. Jumlah platelet yang disuntikkan kemudian dimodifikasi menjadi tidak lebih dari 35 cc. Bagaimanapun belum diketahui berapa kadar platelet yang aman dan efektif.

Pengalaman Menggunakan Amniopatch Intra-amniotic infuse konsentrat trombosit (platelet), berhasil dilakukan pertama kali pada tahun 1996 oleh Quintero, dkk (Quintero R, 1996) Mereka meneliti

seorang wanita, 23 tahun (G4P2) yang telah berhasil dilakukan fetoscopy untuk mengikat ari-ari dari janin acardiac dalam kehamilan kembar monoamniotik dalam usia kehamilan 18 minggu.



Gambar Kondisi Air Ketuban Sebelum dan Pasca Amniopatch

Pada hari keempat pasca tindakan, pasien mengalami KPD yang menetap dengan penurunan volume cairan ketuban secara bermakna. Setelah tindakan konservatif, dilakukan informed consent dan pasien menyetujui untuk terapi amnioinfusion yang diikuti dengan amniopatch. Hari pertama setelah terapi air ketuban sudah tidak keluar lagi, dan pada hari kedua air ketuban sudah kembali normal, sampai dua minggu waktu pengawasan. (Gambar Kondisi Air Ketuban Sebelum dan Pasca Amniopatch).

Sementara Contino, dkk., 20 mengajukan penelitian yang terdiri dari 5 kasus, dimana 3 pasien dengan KPD iatrogenic, sedangkan 2 pasien dengan KPD spontan (usia kehamilan antara 17 sampai dengan 23 minggu), yang kemudian diberikan terapi

amniopatch, ditemukan penutupan sempurna pada selaput ketuban dan air ketuban kembali pulih setelah 7 hari pasca tindakan pada 2 kasus yang kemudian berakhir dengan partus spontan saat umur kehamilan 41 minggu dan SC pada 27 minggu. Pada 3 kasus dengan penutupan ketuban yang tidak sempurna, 1 kasus masih keluar air saat umur kehamilan 32 minggu yang kemudian dilakukan SC dengan gagal konservatif. Kasus lain perlu ditambahkan dua kali amniopatch lagi yang kemudian di SC pada umur kehamilan 26 minggu. Kasus terakhir pasien melahirkan di rumah sakit lain setelah 3 minggu dilakukan prosedur pada umur kehamilan 22 minggu. Outcome neonatus berhasil dengan baik pada 3 pasien (41, 32, dan 27 minggu). Yang lainnya, 1 pasien yang dilakukan SC pada umur kehamilan 26 minggu mengalami komplikasi perdarahan intrakranial, sedangkan yang terakhir dengan abortus spontan pada umur kehamilan 22 minggu. Rata-rata periode waktu saat pemberian amniopatch dan persalinan antara KPD iatrogenic dengan yang spontan menunjukkan perpanjangan umur kehamilan yang lebih lama pada KPD iatrogenik (13,6 minggu berbanding 3 minggu) seperti yang ditunjukkan pada tabel (Palacio M, 2008)

Tabel Hasil Akhir Dilakukan Amniopatch

Case	Gestational Age	PROM	N.patch	Delivery	Outcome
ME	19	Iatrogenic	1	Ces.sec.32 w	Good
VD	17	Iatrogenic	1	Sp.deliv.41 w	Good
GM	23	Spontaneous	1	Ces.sec.27 w	Good
LA	21	Iatrogenic	3	Ces.sec.26 w	Brain hemorrhagik
BS	19	Spontaneous	1	Sp.abort.22 w	Miscarriage

Ming Chen, dkk., dalam penelitiannya di Taiwan melaporkan sebuah pengalaman menggunakan amniopatch, dimana 40 wanita hamil dengan oligohydramnion dilibatkan dalam penelitian ini. Sebelas wanita dijadikan kasus dengan intervensi amniotomifusi dan amniopatch, sementara 29 wanita dijadikan kontrol. Hasilnya adalah terdapat pemanjangan rata-rata usia kehamilan 3 minggu lebih lama pada kelompok kasus dibandingkan kelompok kontrol setelah dilakukan prosedur (Chen M et al, 2005).

Hingga saat ini cukup banyak penelitian yang dilakukan berkaitan dengan amniopatch dalam penatalaksanaan KPD preterm, yang sebagian besar berhasil dalam memperpanjang masa kehamilan. Namun bagaimanapun juga teknik amniopatch dalam menyumbat kebocoran selaput ketuban masih banyak memiliki kelemahan terutama dalam penanganan KPD preterm yang terjadi secara spontan, sehingga penelitian lanjutan dalam penyempurnaan teknik ini masih sangat diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alenzi, F. Q., Alotaibi, A. Q., Almotiri, G. M., Alanazi, A. M., Alanazi, F. M., Alenazi, M. S. 2014. Role of Apoptosis in Microbial Infection. *Open Journal of Apoptosis*.
2. Arnoult, D., Gaume, B., Karbowski, M., Sharpe, J. C., Cecconi, F., & Youle, R. J. 2003. Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax / Bak-mediated permeabilization. *The EMBO Journal*, 22(17), 4385-4399.
3. Brentnall, M., Rodriguez-Menocal, L., De Guevara, R. L., Cepero, E., & Boise, L. H. 2013. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC cell biology*, 14(1), 32.
4. Candé, C., Cohen, I., Daugas, E., Ravagnan, L., Larochette, N., Zamzami, N., & Kroemer, G. 2002. Apoptosis-inducing factor (AIF): a novel caspase-independent death effector released from mitochondria. *Biochimie*, 84(2), 215-222.
5. Casanueva, E., Ripoll, C., Tolentino, M., Morales, R. M., Pfeffer, F., Vilchis, P., & Vadillo-Ortega, F. 2005. Vitamin C supplementation to prevent premature rupture of the chorioamniotic membranes: a randomized trial. *The American journal of clinical nutrition*, 81(4), 859-863.
6. Chai, M., Walker, S. P., Riley, C., Rice, G. E., Permezel, M., & Lappas, M. 2013. Effect of supracervical apposition and spontaneous labour on apoptosis and matrix metalloproteinases in human fetal membranes. *BioMed research international*, 2013.
7. Chipuk, J. E., Kuwana, T., Bouchier-Hayes, L., Droin, N. M., Newmeyer, D. D., Schuler, M., & Green, D. R. 2004. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science*, 303 (5660), 1010-1014.
8. Combs, C. A., Gravett, M., Garite, T. J., Hickok, D. E., Lapidus, J., Porreco, R., ...& Heyborne, K. 2014. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 210(2), 125-e1.

9. Dima, M.A., Ionita, N., Iacob, D., Manea, A., Chiru, D., Ilie, C. 2014. The Impact of Preterm Premature Rupture of Membranes on Neonatal Outcome. *Jurnalul Pediatriului*, 17(65):46-49.
10. El Khwad, M., Stetzer, B., Moore, R. M., Kumar, D., Mercer, B., Arikat, S., ...& Moore, J. J. 2005. Term human fetal membranes have a weak zone overlying the lower uterine pole and cervix before onset of labor. *Biology of reproduction*, 72(3), 720-726.
11. El Khwad, M., Pandey, V., Stetzer, B., Mercer, B. M., Kumar, D., Moore, R. M., ...& Moore, J. J. 2006. Fetal membranes from term vaginal deliveries have a zone of weakness exhibiting characteristics of apoptosis and remodeling. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 13(3), 191-195.
12. Galluzzi, L., Vitale, I., Abrams, J. M., Alnemri, E. S., Baehrecke, E. H., Blagosklonny, M. V., ... & Gottlieb, E. 2012. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death & Differentiation*, 19(1), 107-120.
13. Garrido, C., Galluzzi, L., Brunet, M., Puig, P. E., Didelot, C., & Kroemer, G. 2006. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death & Differentiation*, 13(9), 1423-1433.
14. Getahun, D., Stricland, D., Ananth, C., Fasseth, M., Kirby, S., Jacobsen, S., 2010. Recurrent Of Preterm Rupture Of Membranes In Relation To Interval Between Pregnancies, *American Journal of Obstetrics And Gynaecology*, United State of America, Vol.220, pp. 570.e1-6.
15. Giorgi, C., Baldassari, F., Bononi, A., Bonora, M., De Marchi, E., Marchi, S., ...& Pinton, P. 2012. Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis. *Cell calcium*, 52(1), 36-43.
16. Gomez-Lopez, N., Vadillo-Perez, L., Hernandez-Carbajal, A., Godines-Enriquez, M., Olson, D. M., & Vadillo-Ortega, F. 2011. Specific inflammatory microenvironments in the zones of the fetal membranes at term delivery. *American journal of obstetrics and gynecology*, 205(3), 235-e15.
17. Harirah, H. M., Borahay, M. A., Zaman, W., Ahmed, M. S., & Hankins, G. D. 2012. Increased Apoptosis in Chorionic Trophoblasts of Human Fetal Membranes with Labor at Term. *International journal of clinical medicine*, 3(2), 136.

18. Hauth, J. C., Clifton, R. G., Roberts, J. M., Spong, C. Y., Myatt, L., Leveno, K. J., ... & Peaceman, A. M. 2010. Vitamin C and E supplementation to prevent spontaneous preterm birth. *Obstetrics and gynecology*, 116(3), 653.
19. Hoang, M., Potter, J. A., Gysler, S. M., Han, C. S., Guller, S., Norwitz, E. R., & Abrahams, V. M. 2014. Human fetal membranes generate distinct cytokine profiles in response to bacterial Toll-like receptor and nod-like receptor agonists. *Biology of reproduction*, 90(2), 39.
20. Hsu, C. D., Meaddough, E., Basherra, H., Harirah, H., & Lu, L. C. 2000. Increased apoptosis in human amnion is associated with labor at term. *American Journal of Reproductive Immunology*, 43(5), 255-258.
21. Joza, N., Susin, S. A., Daugas, E., Stanford, W. L., Cho, S. K., Li, C. Y., ... & Penninger, J. M. 2001. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 410(6828), 549-554.
22. Kataoka, S., Furuta, I., Yamada, H., Kato, E. H., Ebina, Y., Kishida, T., ...& Fujimoto, S. 2002. Increased apoptosis of human fetal membranes in rupture of the membranes and chorioamnionitis. *Placenta*, 23(2), 224-231.
23. Kumagai, K., Otsuki, Y., Ito, Y., Shibata, M. A., Abe, H., & Ueki, M. 2001. Apoptosis in the normal human amnion at term, independent of Bcl-2 regulation and onset of labour. *Molecular human reproduction*, 7(7), 681-689.
24. Kumar, D., Fung, W., Moore, R. M., Pandey, V., Fox, J., Stetzer, B., ...& Moore, J. J. 2006. Proinflammatory cytokines found in amniotic fluid induce collagen remodeling, apoptosis, and biophysical weakening of cultured human fetal membranes. *Biology of reproduction*, 74(1), 29-34.
25. Kuwana, T., & Newmeyer, D. D. 2003. Bcl-2-family proteins and the role of mitochondria in apoptosis. *Current opinion in cell biology*, 15(6), 691-699.
26. Lee, J. W., Jeong, E. G., Soung, Y. H., Kim, S. Y., Nam, S. W., Kim, S. H., ... & Lee, S. H. 2006. Immunohistochemical analysis of apoptosis-inducing factor (AIF) expression in gastric carcinomas. *Pathology-Research and Practice*, 202(7), 497-501.

27. Linehan, L. A., Walsh, J., Morris, A., Kenny, L., O'Donoghue, K., Dempsey, E., & Russell, N. 2016. Neonatal and maternal outcomes following midtrimester preterm premature rupture of the membranes: a retrospective cohort study. *BMC pregnancy and childbirth*, 16(1), 1.
28. Mamede, A. C., Carvalho, M. J., Abrantes, A. M., Laranjo, M., Maia, C. J., & Botelho, M. F. 2012. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell and tissue research*, 349(2), 447-458.
29. Marzban, H., Del Bigio, M. R., Alizadeh, J., Ghavami, S., Zachariah, R. M., & Rastegar, M. 2013. Cellular commitment in the developing cerebellum. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8.
30. Menon, R., Fortunato, S. J., Yu, J., Milne, G. L., Sanchez, S., Drobek, C. O., ...& Taylor, R. N. 2011. Cigarette smoke induces oxidative stress and apoptosis in normal term fetal membranes. *Placenta*, 32(4), 317-322.
31. Moore, R. M., Mansour, J., Redline, R., Mercer, B., & Moore, J. J. 2006. The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta*, 27(11), 1037-1051.
32. Okeke, T.C., Enwereji, J.O., Okoro, O.S., Adiri, C.O., Ezugwu, E.C., Agu, P.U. 2014. The Incidence and Management Outcome of Preterm Premature Rupture of Membranes (PPROM) in a Tertiary Hospital in Nigeria. *American Journal of Clinical Medicine Research*, 2(1):14-17.
33. Weber G, Merz E. Amniotic Fluid. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2005:409-414
34. Perfettini, J.L., Reed, J.C., Israel, N., Martinou, J.C., Varsat, A.D., Ojcius, D.M. 2002. Role of Bcl-2 family members in caspase-independent apoptosis during Chlamydia infection. *Infection and immunity*. 70. 55-61.
35. Perfettini, J. L., Hospital, V., Stahl, L., Jungas, T., Verbeke, P., & Ojcius, D. M. 2003. Cell death and inflammation during infection with the obligate intracellular pathogen, Chlamydia. *Biochimie*, 85(8), 763-769.
36. Prabantoro, B. T. R., Prabowo, P., Mertaniasih, N. M., & Rantam, F. A. 2011. Peran Endonuclease-G sebagai

Biomarker Penentu Apoptosis Sel Amnion pada Kehamilan dengan Ketuban Pecah Dini.

37. Rangaswamy, N., Mercer, B. M., Kumar, D., Moore, J. J., Mansour, J. M., Redline, R., & Moore, R. M. 2012. *Weakening and Rupture of Human Fetal Membranes-Biochemistry and Biomechanics*. INTECH Open Access Publisher.
38. Reti, N. G., Lappas, M., Riley, C., Wlodek, M. E., Permezel, M., Walker, S., & Rice, G. E. 2007. Why do membranes rupture at term? Evidence of increased cellular apoptosis in the supracervical fetal membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 196(5), 484-e1.
39. Romero, R., Chaiworapongsa, T., Espinoza, J., Gomez, R., Yoon, B. H., Edwin, S., ...& Berry, S. 2002. Fetal plasma MMP-9 concentrations are elevated in preterm premature rupture of the membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 187(5), 1125-1130.
40. Saglam, A., Ozgur, C., Derwig, I., Unlu, B. S., Gode, F., & Mungan, T. 2013. The role of apoptosis in preterm premature rupture of the human fetal membranes. *Archives of gynecology and obstetrics*, 288(3), 501-505.
41. Sengupta, P. S., McGown, A. T., Bajaj, V., Blackhall, F., Swindell, R., Bromley, M., ...& Slade, R. J. 2000. p53 and related proteins in epithelial ovarian cancer. *European Journal of cancer*, 36(18), 2317-2328.
42. Shim, S. S., Romero, R., Hong, J. S., Park, C. W., Jun, J. K., Kim, B. I., & Yoon, B. H. (2004). Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 191(4), 1339-1345.
43. Sukhikh, G. T., Kan, N. E., Tyutyunnik, V. L., Sannikova, M. V., Dubova, E. A., Pavlov, K. A., ... & Dolgushina, N. V. 2015. The role of extracellular inducer of matrix metalloproteinases in premature rupture of membranes. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, (0), 1-5.
44. Sundrani, D., Chavan-Gautam, P., Pisal, H., Mehendale, S., & Joshi, S. 2013. Matrix metalloproteinases-2,-3 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1,-2 in placentas from preterm pregnancies and their association with one-carbon metabolites. *Reproduction*, 145(4), 401-410.

45. Susin, S. A., Daugas, E., Ravagnan, L., Samejima, K., Zamzami, N., Loeffler, M., ...& Kroemer, G. 2000. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *The Journal of experimental medicine*, 192(4), 571-580.
46. Suzuki, Y., Imai, Y., Nakayama, H., Takahashi, K., Takio, K., & Takahashi, R. 2001. A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Molecular cell*, 8(3), 613-621.
47. Tanir, H. M., Sener, T., Artan, S., Kaytaz, B., Sahin-Mutlu, F., & Ozen, M. E. 2005. Programmed cell death (apoptosis) in placentas from normal pregnancy and pregnancy complicated by term (t) and preterm (p) premature rupture of membranes (PROM). *Archives of gynecology and obstetrics*, 273(2), 98-103.
48. Tejero, E., Perichart, O., Pfeffer, F., Casanueva, E., & Vadillo-Ortega, F. 2003. Collagen synthesis during pregnancy, vitamin C availability, and risk of premature rupture of fetal membranes. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 81(1), 29-34.
49. Tency, I., Verstraelen, H., Kroes, I., Holtappels, G., Verhasselt, B., Vaneechoutte, M. 2012. Imbalances between matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in maternal serum during preterm labor.
50. Tirapelli, L. F., Bolini, P. H. N. A., Tirapelli, D. P. D. C., Peria, F. M., Becker, A. N. P., Saggioro, F. P., & Carlotti Júnior, C. G. 2010. Caspase-3 and Bcl-2 expression in glioblastoma: an immunohistochemical study. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 68(4), 603-607.
51. Tsiartas, P., Kacerovsky, M., Musilova, I., Hornychova, H., Cobo, T., Sävman, K., & Jacobsson, B. 2013. The association between histological chorioamnionitis, funisitis and neonatal outcome in women with preterm prelabor rupture of membranes. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 26(13), 1332-1336.
52. Van Loo, G., Schotte, P., Van Gurp, M., Demol, H., Hoorelbeke, B., Gevaert, K., ...& Vandenabeele, P. 2001. Endonuclease G: a mitochondrial protein released in

- apoptosis and involved in caspase-independent DNA degradation. *Cell death and differentiation*, 8(12), 1136-1142.
53. Vanderhoeven, J. P., Bierle, C. J., Kapur, R. P., McAdams, R. M., Beyer, R. P., Bammler, T. K., ... & Waldorf, K. A. 2014. Group B streptococcal infection of the choriodecidua induces dysfunction of the cyokeratin network in amniotic epithelium: a pathway to membrane weakening. *PLoS Pathog*, 10(3), e1003920.
 54. Vaseva, A. V., Marchenko, N. D., Ji, K., Tsirka, S. E., Holzmann, S., & Moll, U. M. 2012. p53 opens the mitochondrial permeability transition pore to trigger necrosis. *Cell*, 149(7), 1536-1548.
 55. Vrachnis, N., Karavolos, S., Iliodromiti, Z., Sifakis, S., Siristatidis, C., Mastorakos, G., & Creatsas, G. 2012. Impact of mediators present in amniotic fluid on preterm labour. *in vivo*, 26(5), 799-812.
 56. Yoo, N. J., Jeong, E. G., Kim, M. S., Ahn, C. H., Kim, S. S., & Lee, S. H. 2008. Increased expression of endonuclease G in gastric and colorectal carcinomas. *Tumori*, 94(3), 351.
 57. Yudin, M. H., Van Schalkwyk, J., Van Eyk, N., Boucher, M., Castillo, E., Cormier, B. 2009. Antibiotic therapy in preterm premature rupture of the membranes. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC= Journal d'obstétrique et gynécologie du Canada: JOGC*, 31(9), 863-7.
 58. Zeng, X., & Zhou, C. 2004. Study on the Relationship Between MMP-9 and TIMP-1 in Premature Rupture of Membranes [J]. *Journal of Practical Obstetrics and Gynecology*, 4, 017.
 59. Weber G, Merz E. Amniotic Fluid. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2005:409-414
 60. Carnaghan KH, Harrison MR. Presealing of the chorioamniotic membranes prior to fetoscopic surgery: Preliminary study with unfertilised chicken egg models. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 144S (2009) S142–S145
 61. Kalangi, S.J.R. Peran Kolagen Pada Penyembuhan Luka. *Dexa Media*. 2004. 17(4): 168-74.
 62. Contino B, Armellino F, Brokaj L, Patroncini S. Amniopatch, a Repairing Technique for Premature Rupture of Amniotic

- Membranes in Second Trimester. 27-30. 2004. In <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15301286>
63. Quintero R, Morales W, Kalter C, Allen M, Mendoza G, Angel J, et. al.
 64. Transabdominal intra-amniotic endoscopic assessment of previable premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:71-6
 65. Palacio M, Cobo T, Figueras F, Go'mez O, Coll O. Previa Rupture of Membranes: Effect of Amniotic Fluid on Pregnancy Outcome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 138 (2008)
 66. Chen M, Hsieh CY, Cameron AD, Shih JC, Lee CN, Hoz HN, et. al.
 67. Management of Oligohydramnios with Antepartum Amnioinfusion, Amniopatch and Cerclage. *Taiwanese J Obstet Gynecol*. December 2005.Vol 44. No. 4.
 68. Dai, H., Meng, X. W., & Kaufmann, S. H. (2016). BCL2 Family, Mitochondrial Apoptosis, and Beyond. *Cancer Translational Medicine*, 2(1), 7.
 69. Estaquier, J., Vallette, F., Vayssiere, J. L., & Mignotte, B. 2012. The mitochondrial pathways of apoptosis. In *Advances in Mitochondrial Medicine*(pp. 157-183). Springer Netherlands.
 70. 158–163
 71. Kowaltowski, AJ., Vercesi, AE. 2000. Bcl-2 prevents mitochondrial permeability transition and cytochrome c release via maintenance of reduced pyridine nucleotides. *Cell Death and Differentiation*, 7, 903 – 910.
 72. Parry, S., & Strauss, J. F. 1998. Premature rupture of the fetal membranes. *New England Journal of Medicine*, 338(10), 663-670.
 73. Moss, J. E., Aliprantis, A. O., & Zychlinsky, A. 1999. The regulation of apoptosis by microbial pathogens. *International review of cytology*, 187, 203-259.
 74. Bryant-Greenwood, G. D., & Millar, L. K. 2000. Human fetal membranes: their preterm premature rupture. *Biology of reproduction*, 63(6), 1575-1579.
 75. Desagher, S., & Martinou, J. C. 2000. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends in cell biology*, 10(9), 369-377.

76. Furman,B., Shoham-Vardi, I., Bashiri,A. 2000. Clinical Significance and Outcome of Preterm Prelabor Rupture of Membranes: Population-based study. *Eur J Obstet and Gynecol*, 192:209-216.
77. Gao, L. Y., & Kwaik, Y. A. 2000. The modulation of host cell apoptosis by intracellular bacterial pathogens. *Trends in microbiology*, 8(7), 306-313.
78. McLaren, J., Taylor, D. J., & Bell, S. C. 2000. Increased concentration of pro-matrix metalloproteinase 9 in term fetal membranes overlying the cervix before labor: Implications for membrane remodeling and rupture. *American journal of obstetrics and gynecology*, 182(2), 409-416.
79. Asrat, T. 2001. Intra-amniotic infection in patients with preterm prelabor rupture of membranes: pathophysiology, detection, and management. *Clinics in perinatology*, 28(4), 735-751.
80. Fortunato, S. J., Menon, R., Lombardi, S. J., & LaFleur, B. 2001. Interleukin-10 Inhibition of Gelatinases in Fetal Membranes: Therapeutic Implications in Preterm Premature Rupture of Membranes. *Obstetrics & Gynecology*, 98(2), 284-288.
81. Fortunato, S. J., Menon, R., & Lombardi, S. J. 2001. Support for an infection-induced apoptotic pathway in human fetal membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 184(7), 1392-1398.
82. Grassme, H., Jendrossek, V., & Gulbins, E. 2001. Molecular mechanisms of bacteria induced apoptosis. *Apoptosis*, 6(6), 441-445.
83. Lee, T., Silver, H. 2001. Etiology and epidemiology of Preterm Premature Rupture of the Membranes. *Clin in Perinatol*, 28(4): 721-734.
84. Kogel, D and Prehn, JHM. 2002. Caspase-independent cell death mechanism in caspases – their role in cell death and cell survival (Malek Los and Henning Walczak eds). Landes series: *Molecular Biology Intelligence Unit 24*. Plenum Publishers, New York.
85. Menon, R., Lombardi, S. J., & Fortunato, S. J. 2002. TNF- α promotes caspase activation and apoptosis in human fetal membranes. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 19(4), 201-204.

86. Murtha, A. P., Auten, R., & Herbert, W. N. P. 2002. Apoptosis in the chorion laeve of term patients with histologic chorioamnionitis. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 10(2), 93-96.
87. Sagol, S., Sagol, O., Ozkal, S., & Asena, U. 2002. Role of apoptosis, Bcl-2 and Bax protein expression in premature rupture of fetal membranes. *The Journal of reproductive medicine*, 47(10), 809-815.
88. Yuan, CQ, Ding ZH. 2002. Structure and function of caspases. *Guowai Yixue Fenz.i Shengwuxue Fence* 24: 146-51.
89. Araoye, M.O. 2003. Sample Size in: Research Methodology with Statistic for Health and Social Sciences. Ilorin: *Nathadex Publishers*. P. 115-122.
90. Brian, M., Mercer, MD. 2003. Preterm Premature Rupture of the Membranes. *The American College of Obstetricians and Gynecologists*, Vol. 101, No. 1, January 2003.
91. Damien, A., Brigitte, G. 2003. Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax/Bak-mediated permeabilization, *The EMBO Journal* Vol. 22 No. 17 pp. 4385±4399, 2003.
92. Gelse, K., Pöschl, E., & Aigner, T. 2003. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced drug delivery reviews*, 55(12), 1531-1546.
93. Haupt, S., Berger, M., Goldberg, Z., Haupt, Y. 2003. Apoptosis-the p53 network. *J Cell Sci* 116: 4077-85.
94. McParland, P. C., Taylor, D. J., & Bell, S. C. 2003. Mapping of zones of altered morphology and chorionic connective tissue cellular phenotype in human fetal membranes (amniochorion and decidua) overlying the lower uterine pole and cervix before labor at term. *American journal of obstetrics and gynecology*, 189(5), 1481-1488.
95. Zhang, JH., Dong M, Li L., Fan, YX., Pathre, P., Dong, J. 2003. Endonuclease-G is required for early embryogenesis and normal apoptosis in mice. *The National Academy of Sciences of the USA*. Vol. 100, 26: 15782–15787.
96. Cregan, S. P., Dawson, V. L., & Slack, R. S. 2004. Role of AIF in caspase-dependent and caspase-independent cell death. *Oncogene*, 23(16), 2785-2796.

97. Donovan, M., & Cotter, T. G. 2004. Control of mitochondrial integrity by Bcl-2 family members and caspase-independent cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1644(2), 133-147.
98. Hemann, MT., Lowe, SW. 2006. The p53-Bcl-2 Connection. *Cell Death and Differentiation* ; 13 : 1256-59
99. Mac Farlane, M., & Williams, A. C. 2004. Apoptosis and disease: a life or death decision. *EMBO reports*, 5(7), 674-678.
100. Menon, R., & Fortunato, S. J. 2004. The role of matrix degrading enzymes and apoptosis in reapture of membranes. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(7), 427-437.
101. Oyen, M. L., Cook, R. F., & Calvin, S. E. 2004. Mechanical failure of human fetal membrane tissues. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15(6), 651-658.
102. Riedl, S. J., & Shi, Y. 2004. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 5(11), 897-907.
103. Shiozaki, E.N., and Shi, Y. 2004. Caspases, IAPs and Smac/DIABLO: mechanisms from structural biology. *Trends Biochem Sci* 29, pp. 486.
104. Van Delft, M. F., & Huang, D. C. 2006. How the Bcl-2 family of proteins interact to regulate apoptosis. *Cell research*, 16(2), 203-213.
105. Broker, L. E., Kruyt, F. A., & Giaccone, G. 2005. Cell death independent of caspases: a review. *Clinical Cancer Research*, 11(9), 3155-3162.
106. Burlacu, A. 2003. Regulation of apoptosis by Bcl-2 family proteins. *Journal of cellular and molecular medicine*, 7(3), 249-257.
107. Challis, J.R.G. 2005. Undernutrition, Preterm Birth, And The Prostaglandin Pathway, Preterm Birth : Mechanisms, Mediators, Prediction, Prevention, And Intervention, *Informa Health Care*, United Kingdom, pp. 51-55.
108. Fan, TJ, Han, LH., Chong, RS. 2005. Caspase Family Proteases and Apoptosis, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 37(11): 719-727.

109. Gibbs, RS. 2005. Premature rupture of the membranes..In: Karlan Beth Y. Haney Arthur F, Nygaard Ingrid, editors. *Danforth's obstetrics and gynecology*. 10th ed. Baltimore: Lippincot Williams and Wilkins.186-96.
110. Goldsmith, L.T., Sordelli, M.S., Ribeiro, M., 2005. Relaxin-Related Preterm Birth, Preterm Birth : Mechanisms, Mediators, Prediction, Prevention, And Intervention, *Informa Health Care*, United Kingdom, pp. 103-111.
111. Heaps, B.R., House, M., Socrate, S., Leppert, P. 2005. Matrix Biology And Preterm Birth, Preterm Birth : Mechanisms, Mediators, Prediction, Prevention, And Intervention. *Informa Health Care*. United Kingdom, pp. 70-93.
112. Herawati, S. 2005. Pola Mikroorganisme Pada Liang Vagina Ibu hamil di RSUD dr. Soetomo Surabaya. Penelitian Pendahuluan, Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
113. Hyagriv, N. S., Timothy, P. 2005. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies, *BJOG*, Vol. 112, Supplement 1, pp. 32–37.
114. Ting Jun Fan., Li Hui Han. 2005. Caspase Family Proteases and Apoptosis. *Journal Biochemisty and Cell Biology, SIBS, CAS, China*. 37 (11), 719-727.
115. Tsujimoto, Y. 2003. Cell death regulation by the Bcl-2 protein family in the mitochondria. *Journal of cellular physiology*, 195(2), 158-167.
116. Xu, J., & Wang, H. L. 2005. Role of Caspase and MMPs in Amniochorionic during PROM. *Journal of Reproduction & Contraception*, 16(4), 219-224.
117. Nagase, H., Visse, R., & Murphy, G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular research*, 69(3), 562-573.
118. Oyen, M. L., Calvin, S. E., & Landers, D. V. 2006. Premature rupture of the fetal membranes: is the amnion the major determinant?. *American journal of obstetrics and gynecology*, 195(2), 510-515.
119. Samuel, P., Jerome, F. 2006. Premature of The Fetal Membrane,Mechanism of Disease,*The New England Journal of Medicine*,Vol 338,No 10.

120. Suwiyoga , I.K., & Budayasa, A.A. 2006. Peran faktor resiko ketuban pecah dini terhadap insidens sepsis neonatorum dini pada kehamilan aterm. *Cermin Dunia Kedokteran*, No.151, p 14-17.
121. Ulett, G. C., & Adderson, E. E. 2006. Regulation of apoptosis by gram-positive bacteria: mechanistic diversity and consequences for immunity. *Current immunology reviews*, 2(2), 119.
122. Elmore, S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
123. Menon, R., & Fortunato, S. J. 2007. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 21(3), 467-478.
124. Noor, S., Nazar, A. F., Bashir, R., & Sultana, R. 2007. Prevalance of PPRM and its outcome. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 19(4), 14-7.
125. Toda, A., Okabe, M., Yoshida, T., Nikaido T. 2007. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci* 105:215–228.
126. Weiss, A., Goldman, S., & Shalev, E. 2007. The matrix metalloproteinases (MMPs) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci*, 12(1), 649-659.
127. Ahokas, R.A., McKinney, E.T., 2008. Development and Physiology of the Placenta and Membranes. *Glob.lib.r.women's med.*, (ISSN: 1756-2228)
128. George, R. B., Kalich, J., Yonish, B., & Murtha, A. P. 2008. Apoptosis in the chorion of fetal membranes in preterm premature rupture of membranes. *American journal of perinatology*, 25(1), 29-32.
129. Goldenberg, R.L., Culhane, F., Romero, R., 2008. Preterm Birth : Epidemiology And Causes Of Preterm Birth, *Lancet*, United State of America, Vol 371, pp. 75-84.
130. Pollard, TD., Earnshaw, WC., Schwartz, JL. 2008. Programmed cell death. In: *Cell biology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier. 833-50.
131. Creasy, R. K., Resnik, R. 2009. Maternal Fetal Medicine, Principle and Practice Sixth Edition, pp. 521-543.

132. Dewson, G., & Kluck, R. M. 2009. Mechanisms by which Bak and Bax permeabilise mitochondria during apoptosis. *Journal of cell science*, 122(16), 2801-2808.
133. Joyce, E. M. 2009. Micromechanical mechanisms of fetal membrane failure (*Doctoral dissertation*), University of Pittsburgh.
134. Machin, D., Campbell, M.J., Tan, S.B., Tan, S.H. 2009. *Sample Size Tables for Clinical Studies*. Third Edition. A John Wiley & Sons. UK.
135. Rastogi, RP., Richa, Sinha, RP. 2009. Apoptosis: Molecular mechanisms and pathogenicity. *EXCLI Journal* 8: 155-81.
136. Vranic, A. 2012. Caspase-3 and survivin expression in primary atypical and malignant meningiomas. *ISRN neuroscience*, 2013.
137. Wang, C., & Youle, R. J. 2009. The role of mitochondria in apoptosis. *Annual review of genetics*, 43, 95.
138. Akematsu, T., & Endoh, H. 2010. Role of apoptosis-inducing factor (AIF) in programmed nuclear death during conjugation in *Tetrahymena thermophila*. *BMC cell biology*, 11(1), 1.
139. Parsons, M. J., & Green, D. R. 2010. Mitochondria in cell death. *Essays Biochem*, 47, 99-114.
140. Soewarto, S. 2010. Ketuban Pecah Dini. Dalam: Saifuddin, A.B., Rachimnadi, T., Winkjosastro G.H., editors. *Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo. Edisi ke-4*. Jakarta : PT. Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Hal. 677 – 682.
141. Tait, S. W., & Green, D. R. 2010. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nature reviews Molecular cell biology*, 11(9), 621-632.
142. Martinou, J. C., & Youle, R. J. 2011. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Developmental cell*, 21(1), 92-101.
143. Sabarudin, U., Mose, J. C., & Krisnadi, S. R. 2011. Polimorfisme gen MMP-9, ekspresi MMP-9, dan indeks apoptosis sel serviks pada kehamilan 21–36 minggu. *Majalah Kedokteran Bandung*, 43(4), 199-206.
144. Sadaf, J., Qayyum, B., Fatima, N. 2011. Preterm Prelabor Rupture of Membranes at 34-37 Weeks: Conservative versus Active Management. *Journal of Surgery Pakistan*, 16(1):6-9.

145. Shah, M., Sandesara, P. 2011. Fetomaternal outcome in cases of premature rupture of membrane (PROM) – A case control study. *Gujarat Medical Journal*, Vol.66 No.1.
146. Sevrioukova, I. F. 2011. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation. *Antioxidants & redox signaling*, 14(12), 2545-2579.
147. Vaux, D. L. 2011. Apoptogenic factors released from mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(4), 546-550.
148. Westphal, D., Dewson, G., Czabotar, P. E., & Kluck, R. M. 2011. Molecular biology of Bax and Bak activation and action. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(4), 521-531.
149. Agrawal, V., & Hirsch, E. 2012. Intrauterine infection and preterm labor. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 17, No. 1, pp. 12-19). WB Saunders.
150. Benirschke, K., Burton, G. J., & Baergen, R. N. 2012. Anatomy and pathology of the placental membranes. In *Pathology of the human placenta* (pp. 249-307). Springer Berlin Heidelberg.
151. Brenner, C. 2012. Mitochondrial Membrane Permeabilization in Apoptosis. In *Encyclopedia of Cancer* (pp. 2333-2335). Springer Berlin Heidelberg.
152. Galluzzi, L., Kepp, O., Trojel-Hansen, C., & Kroemer, G. 2012. Mitochondrial control of cellular life, stress, and death. *Circulation research*, 111(9), 1198-1207.
153. Hongmei, Z. 2012. Extrinsic and intrinsic apoptosis signal pathway review. *INTECH Open Access Publisher*.
154. Hoppins, S., & Nunnari, J. 2012. Mitochondrial dynamics and apoptosis—the ER connection. *Science*, 337(6098), 1052-1054.
155. Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. 2012. *Robbins basic pathology*. Elsevier Health Sciences.
156. Mercer, B. M. 2012. Preterm Premature Rupture of Membranes. *Queenan's Management of High-Risk Pregnancy*, 364.
157. Sohail, R. 2012. Etiology of Preterm Premature Rupture of Membranes. In: Desai S.V., Tank P., editors. *Hand Book On Preterm Prelabor Rupture of Membranes in a Low Resource*

Setting. 1stEd : New Delhi.Jaypee Brothers Medical Publisher.P 10-21.

158. Suhaimi, D. 2012. Protein P53 Sebagai Faktor Risiko Terjadinya Ketuban Pecah Dini, *JAS*, vol 2, pp 83-85.
159. Van Der Ham, D.P., Van der Heyden, J.L., Opmeer B.C. 2012. Management of late-preterm premature rupture of membranes: the PPROMEXIL-2 trial. *Am J Obstet Gynecol*, 207: 276.e1-10.
160. Adeniji, A.O., Atanda, O.O.A. 2013. Interventions and Neonatal Outcomes in Patients with Premature Rupture of Fetal Membranes at and Beyond 34 weeks Gestational Age at a Tertiary Health Facility in Nigeria. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 3(4): 1388-1397.
161. Sinha, K., Das, J., Pal, P. B., & Sil, P. C. 2013. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Archives of toxicology*, 87(7), 1157-1180.
162. Strauss, J. F. 2013. Extracellular matrix dynamics and fetal membrane rupture. *Reproductive Sciences*, 20(2), 140-153.
163. Surova, O., & Zhivotovsky, B. 2013. Various modes of cell death induced by DNA damage. *Oncogene*, 32(33), 3789-3797.
164. Wiradharma dan Kardana. 2013. Risiko asfiksia pada ketuban pecah dini di RSUP Sanglah. *Sari Pediatri* ;14:316-9.
165. Ashkenazi, A., & Salvesen, G. 2014. Regulated cell death: signaling and mechanisms. *Annual review of cell and developmental biology*, 30, 337-356.
166. Bayles, K. W. 2014. Bacterial programmed cell death: making sense of a paradox. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 63-69.
167. Dars, S., Malik, S., Samreen, I., & Kazi, R. A. 2014. Maternal morbidity and perinatal outcome in preterm premature rupture of membranes before 37 weeks gestation. *Pakistan journal of medical sciences*, 30(3), 626.
168. Elfayomy, A. K., & Almasry, S. M. 2014. Expression of tumor necrosis factor-alpha and vascular endothelial growth factor in different zones of fetal membranes: a possible relation to onset of labor. *Journal of molecular histology*, 45(3), 243-257.

169. Equils, Ozlem, Calvin Hobel, and Charles F. Simmons. 2014. *Caspase inhibitors in the treatment of infection-associated preterm delivery*. U.S. Patent No. 8,828,950.
170. Hackenhaar, A. A., Albernaz, E. P., & da Fonseca, T. M. 2014. Preterm premature rupture of the fetal membranes: association with sociodemographic factors and maternal genitourinary infections. *Jornal de pediatria*, 90(2), 197-202.
171. Hasaneroğlu, Murat, B. 2014. Relationship between Premature Rupture of Membranes and Collagen Amount in Chorioamniotic Membranes in Term Pregnancy. *Global Journal of Medical research: E Gynecology and Obstetrics* .Volume 14 Issue 2 Version 1.0.
172. Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. 2014. *Robbins and cotran pathologic basis of disease, Professional Edition: Expert Consult-Online*. Elsevier Health Sciences.
173. Patil S., Patil V. 2014. Maternal and foetal outcome in premature rupture of membranes. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(12):56-83.
174. Rani, S., Mehra, R., Gupta, V., Huria, A., & Chander, J. 2014. Vaginal flora in preterm premature rupture of membranes and their sensitivity to commonly used antibiotics. *Asian Journal of Medical Sciences*, 5(4), 58-60.
175. Thombre. 2014. A Review Of The Etiology Epidemiology Prediction And Interventions Of Preterm Premature Rupture Of Membranes, Thesis.
176. Abrantes, A. M., Casalta-Lopes, J., & Botelho, M. F. 2015. Biophysical Properties of Amniotic Membrane. In *Amniotic Membrane* (pp. 41-56).Springer Netherlands.
177. Areia, A. L., & Moura, P. 2015. Amniotic Membrane in Health and Disease: An Obstetrical Perspective. In *Amniotic Membrane* (pp. 77-101). Springer Netherlands.
178. Cobanoglu, B., Ceyran, A. B., Simsek, M., & Şenol, S. 2015. Immunohistochemical analysis of Bax and AIF in colorectal tumors. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(9), 16071.
179. Emechebe, C.I., Njoku, C.O., Anachuna, K., Udofia, U. 2015. Determinants and Complications of Pre-Labour Rupture of Membranes (PROM) At the University of Calabar Teaching

- Hospital (UCTH), Calabar, Nigeria. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*, 3(5B):1912-1917.
180. Gahwagi, M.M., Busarira, M., Atia, M. 2015. Premature Rupture of Membranes Characteristics, Determinants, and Outcomes of in Benghazi, Libya. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 5: 494-504.
 181. Revathi, V., Sowjanya, R., Lavanya, S. 2015. Maternal and Perinatal Outcome in Premature Rupture of Membranes at Term. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(4):12-15.
 182. Runic, R., Charles, J.L. 2015. Apoptosis and Fas Expression in Human Fetal Membranes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. (83), 660-666.
 183. Singh, D., Usham, R., Kamel H. 2015. Preterm Prelabour Rupture of Membrane:1 Year Study. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 4(49):8495-8598.
 184. Vincent, Z. L., Mitchell, M. D., & Ponnampalam, A. P. 2015. Regulation of MT1-MMP/MMP-2/TIMP-2 axis in human placenta. *Journal of Inflammation Research*, 8, 193–200.
 185. Vishwakarma, K., Patel, S.K., Yadav, K., Pandey, A. 2015. Impact of premature rupture of membranes on maternal & neonatal health in Central India. *Journal of evidence based medicine and healthcare*, 2(49):8505-8508.
 186. Yu, H., Wang, X., Gao, H., You, Y., Xing, A. 2015. Perinatal outcomes of pregnancies complicated by preterm premature rupture of the membranes before 34 weeks of gestation in tertiary center in China: A retrospective review. *BioScience Trends*, 9(1):35-41.
 187. Budijaya & Surya Negara. 2016. Profil Persalinan Dengan Ketuban Pecah Dini Di RSUP Sanglah Denpasar Periode 1 Januari – 31 Desember 2015, Laporan Penelitian Deskriptif.
 188. Endale, T., Fentahun, N., Gemada, D., Hussen, M.A. 2016. Maternal and fetal outcomes in term premature rupture of membrane. *World J Emerg Med*, 7(2):147-152.
 189. Geng, J., Huang, C., & Jiang, S. 2016. Roles and regulation of the matrix metalloproteinase system in parturition. *Molecular reproduction and development*, 83(4), 276-286.
 190. Lorthe, E., Quere, M., & Kayem, G. 2016. Prolonged latency after preterm premature rupture of membranes: an

independent risk factor for neonatal sepsis?. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.

191. Rodrigo, M. R. R., & Kannamani, A. 2016. Perinatal And Maternal Outcome In Premature Rupture Of Membranes. *Proteus*, 2, 13-33.
192. Cunningham, F.G., 2010. Preterm Birth. *Obstetri Williams 23rd. The McGraw-Hill Company, New York*, 804-831.
193. Devlieger R, Millar LK, Bryant G, Lewi L, Deprest JA. Fetal Membrane Healing After Spontaneous and Iatrogenic Membrane Rupture: A Review of Current Evidence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* (2006) 195, 1512–20
194. Wiknyosastro H, Saiffudin AB, Rachimhadi T. Ilmu Kebidanan, Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta, 1999; 85-86
195. Carnaghan KH, Harrison MR. Presealing of the chorioamniotic membranes prior to fetoscopic surgery: Preliminary study with unfertilised chicken egg models. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 144S (2009) S142–S145

Daftar riwayat hidup penulis

dr. I Ketut Surya Negara, SpOG(K), MARS, lahir di Badung 3 September 1967, menyelesaikan pendidikan spesialis obstetri dan ginekologi di FK UNUD tahun 1993 dan melanjutkan pendidikan konsultan fetomaternal pada tahun 2011, Magister Administrasi Rumah Sakit, FKM UI pada tahun 2014. Saat ini merupakan staf pengajar di bagian obstetri dan ginekologi FK UNUD/RSUP Sanglah.

Dr. Ryan Saktika Mulyana, M.Biomed, SpOG, lahir di Denpasar tanggal 4 April 1983, menyelesaikan pendidikan spesialis obstetri dan ginekologi di FK UNUD tahun 2014 dan magister ilmu Biomedik pada tahun 2014. saat ini merupakan staf pengajar di bagian obstetri dan ginekologi FK UNUD/RSUP Sanglah.

Dr. Evert Solomon Pangkahila, M.Biomed, SpOG, lahir di Denpasar tanggal 4 April 1983, menyelesaikan pendidikan spesialis obstetri dan ginekologi di FK UNUD tahun 2014 dan magister ilmu Biomedik pada tahun 2014. saat ini merupakan staf pengajar di bagian obstetri dan ginekologi FK UNUD/RSUP Sanglah.

ISBN 978-602-5414-10-7

