

# **TESIS**

## **EFEK PEMBERIAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) TERHADAP KADAR VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) SERUM PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR**

**Disusun dan diajukan oleh**

**Sartian Battung**

**C104215105**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1  
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

# **TESIS**

***EFEK PEMBERIAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) TERHADAP KADAR VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) SERUM PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR***

***The Effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVFs) addition to Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Serum Level On Deep Dermal Burn Healing Of Wistar Rats***

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis – 1

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

**SARTIAN BATTUNG**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

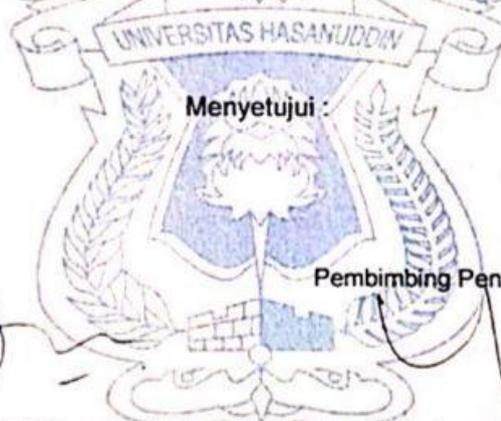
## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**EFEK PEMBERIAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) TERHADAP KADAR VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) SERUM PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh :

**Sartian Battung**  
C104215105

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 07 Mei 2020 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Menyetujui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

dr. Sachraswaty R. Laidding, Sp.B, Sp.BP-RE  
NIP. 19760112 200604 2 001

Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS  
NIP. 19491015 198601 1 001

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk.M.Kes  
NIP. 19740629 200812 1 001

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.MedEd  
NIP. 19661231 199503 1 009



## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sartian Battung  
NIM : C104215105  
Program Studi : Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran  
Jenjang : Spesialis-I

Menyatakan dengan ini bahwa Tesis dengan judul " Efek Pemberian Platelet-Rich Plasma (PRP) Dan Stromal Vascular Fraction (SVFs) Terhadap Kadar Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Serum Pada Penyembuhan Luka Bakar Deep Dermal Tikus Wistar " adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari Tesis saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 15 Desember 2020

Yang Menyatakan



Sartian Battung

## KATA PENGANTAR

Segala Puji dan Syukur Penulis panjatkan kehadirat Allah Swt, karena atas berkat dan limpahan karunia-Nya karya akhir ini dapat diselesaikan sebagai syarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari banyak hambatan dan tantangan yang kami hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas bantuan yang tulus serta semangat yang diberikan pembimbing kami, **dr. Sachraswaty R. Laidding SpB, SpBP-RE** , **DR dr.Fonny Josh, SpBP-RE(K)**, **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** sehingga penulisan karya ini dapat selesai.

Pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin; **dr. Uleg Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D** selaku Manajer Program Pasca Sarjana Unhas; serta **Prof. dr. Budu, PhD, SP.M (K)** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas ; **Dr. dr Irfan Idris, M.Kes.**, sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi, yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada **Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD** selaku Ketua Departemen Ilmu Bedah, dan **Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk** selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri yang kuat dalam diri kami. Dan kepada **dr. M. Nasser Mustari, Sp.OT** selaku dosen pembimbing akademik.

Para Guru kami dan Staf Dosen Bagian Ilmu Bedah yang telah mendidik dan membimbing kami dengan sabar dalam meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri kami. Terima kasih juga kepada para teman sejawat Residen Bedah atas bantuan dan dorongan moril selama pendidikan, khususnya dalam penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan hasil penelitian ini.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang besar kepada orang tua tercinta ayahanda **Ir. Basir Battung** dan ibunda **Alfrida Embong** atas dukungan dan doa yang diberikan. Terima kasih kepada Kakak **Lutfi battung SE, Ak** beserta istri dan keponakan saya. Saudara-saudaraku dan seluruh keluarga besar atas doa dan dukungannya baik moril maupun materil yang tak ternilai selama penulis menjalani proses pendidikan. Terima kasih juga kepada **dr. Della Fergina** dukungan dan semangat yang diberikan selama menjalani proses pendidikan.

Terima kasih kepada seluruh pegawai dan karyawan Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang tak dapat disebutkan satu per satu dan semua pihak yang telah banyak membantu tanpa mengenal waktu. Semoga Allah Swt yang akan membalas kebaikan kalian semua hingga penyelesaian karya akhir ini.

Akhir kata saya menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya akhir ini dan tidak menutup kemungkinan penulis mempunyai khilaf dan salah. Untuk itu saya mengucapkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya. Semoga Allah Swt memberikan rahmat dan kesehatan serta berkah yang melimpah sehingga kita dapat dipertemukan kembali dalam suasana bahagia. Semoga tesis ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 15 Desember 2020



**Sartian Battung**

## ABSTRAK

### EFEK PENAMBAHAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS) TERHADAP KADAR VEGF SERUM PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS ALBINO GALUR WISTAR (*Rattus Novergicus*)

Sartian Battung<sup>a</sup>, Sachraswaty R.Laidding<sup>b</sup>, burhanudin bahar<sup>c</sup>, Fonny Josh<sup>d</sup>, Sulmiati<sup>e</sup> Mulawardi<sup>f</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

<sup>2</sup>Division of Plastic Surgery, Department of Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar

<sup>3</sup>Faculty of Public Health, Hasanuddin University, Makassar

\*E-mail : sar.battung88@gmail.com

Mobile No.: +6281355832820

Address for Postal Correspondance: <sup>1</sup>Department of Surgery, Makassar, Indonesia, 90245

---

#### ABSTRACT

**Latar Belakang:** Penyembuhan luka bakar meliputi fase koagulasi, inflamasi, dan remodelling. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) terlibat dalam seluruh proses penyembuhan luka. Kombinasi *stromal vascular fraction* (SVFs) dan *platelet rich plasma* (PRP) efektif dalam meningkatkan konsentrasi faktor pertumbuhan termasuk VEGF. Peningkatan faktor pertumbuhan ini diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka bakar. **Objektif :** mengetahui efek pemberian kombinasi SVFs dan PRP terhadap kadar VEGF dalam proses penyembuhan luka bakar deep dermal. **Metode Penelitian :** penelitian ini bersifat eksperimental pada tikus wistar dengan menggunakan rancang *post-test control group* design yang terdiri dari 1 grup perlakuan injeksi SVFs dan PRP, 1 grup pemberian topical SVFs dan PRP, 1 grup pemberian Vaseline, serta 1 grup control. **Hasil :** Terdapat perbedaan kadar VEGF yang signifikan antara kelompok luka bakar deep dermal yang diberikan kombinasi SVF dan PRP injeksi dan topical, kelompok pemberian Vaseline dan kelompok kontrol dengan nilai  $p < 0.05$ . **Kesimpulan :** Pemberian kombinasi PRP+SVF secara injeksi maupun topikal dinilai mampu meningkatkan kadar dari VEGF dalam proses penyembuhan luka bakar deep dermal.

**Keywords:** vascular endothelial growth factor, stromal vascular fraction, platelet rich plasma, luka bakar deep dermal

---

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA (PRP) AND STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS) ADDITION TO VEGF SERUM LEVEL ON DEEP DERMAL BURN HEALING OF WISTAR RATS (*Rattus Novergicus*)

Sartian Battung <sup>a</sup>, Sachraswaty R.Laidding <sup>b</sup>, Arifin Seweng <sup>c</sup>, Fonny Josh <sup>d</sup>, Sulmiati <sup>e</sup> Mulawardi <sup>f</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

<sup>2</sup>Division of Plastic Surgery, Department of Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar

<sup>3</sup>Faculty of Public Health, Hasanuddin University, Makassar

\*E-mail : sar.battung88@gmail.com

Mobile No.: +6281355832820

Address for Postal Correspondance: <sup>1</sup>Department of Surgery, Makassar, Indonesia, 90245

---

#### ABSTRACT

**Background :** Healing process of burns include coagulation, inflammation, and remodeling phase. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) takes part in all healing process of burns. The combination of stromal vascular fraction (SVFs) and platelet rich plasma (PRP) are effective in increasing growth factor concentration including VEGF. The increase of this growth factor is expected to accelerate burns healing. **Objective:** to know the effect of SVFs and PRP combination to the level of VEGF in deep dermal burns healing process. **Research method:** this research is an experimental research on wistar mice by using post-test control group design which consists of 1 group with SVFs and PRP injection, 1 group with topical SVFs and PRP, 1 group with Vaseline, and 1 control group. **Result:** Comparison result between group B and A shows that VEGF serum level on group B has significant differences to group A (p value<0.05) means Vaseline application can increase serum VEGF compare to control. Next, comparison result between group A and C shows that level of VEGF on group C are significant than group A (p value<0.05) means that topical stem cell application is better to increase serum VEGF compare to control. Next, comparison result between group A and D shows that VEGF level on group D has significant differences to group A (p value<0.05) means that injection stem cell route is better to increase serum VEGF compare to control. Next, comparison result between group B and C shows that level of VEGF on group C are significant to group B (p value<0.05) means that topical stem cell application is better to increase serum VEGF compare to vaseline application. Next, comparison result between group B and D shows that level of VEGF on group D are significant to group B (p value<0.05) means that injection stem cell route has better effect to increase serum VEGF compare to vaseline application. And the last, comparison result between group C and D shows that level of VEGF on group D are significant to group C (p value<0.05) means that stem cell injection route is better compare to topical stem cell application to increase VEGF serum level. **Conclusion:** PRP and SVF combination, either by injection and topical are able to increase the level of VEGF in deep dermal burns healing process.

---

**Keywords:** *vascular endothelial growth factor, stromal vascular fraction, platelet rich plasma, deep dermal burn.*

---

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.3.1 Tujuan Umum .....	8
1.3.2 Tujuan Khusus .....	8
1.4 Manfaat Penelitian .....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka.....	10
2.1.1 Definisi Luka Bakar .....	10
2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar .....	12
2.1.3 Penyembuhan Luka .....	17
2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi	
PRP + SVFs.....	31
2.2.1 PRP.....	31
2.2.2 SVFs.....	35
2.2.3 Vaseline.....	39
2.2.4 Kombinasi PRP + SVFs.....	40
2.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) .....	41
2.3.1 Definisi VEGF .....	41
2.3.2 Klasifikasi VEGF .....	42
2.3.3 Mekanisme Kerja VEGF .....	45

2.3.4 Peran VEGF dalam Angiogenesis .....	49
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL</b>	
3.1 Kerangka Teori .....	53
3.2 Kerangka Konsep .....	55
3.3 Variabel.....	55
3.4 Hipotesis.....	56
3.5 Definisi Operasional.....	56
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian.....	57
4.2 Populasi dan Sampel .....	57
4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	57
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	66
4.5 Cara Pengumpulan Data .....	67
4.6 Analisa Data .....	67
4.7 Prosedur Penelitian .....	67
4.8 Etika Penelitian .....	71
4.9 Alur Penelitian.....	80
<b>BAB V HASIL PENELITIAN</b> .....	81
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b> .....	95
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1 Kesimpulan .....	110
7.2 Saran .....	110
<b>REFERENSI</b> .....	111

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Diagnosis Kedalaman Luka Bakar.....	16
-----------	-------------------------------------	----

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kedalaman Luka Bakar .....	16
Gambar 2.2	Fase penyembuhan luka.....	18
Gambar 2.3	Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka.....	21
Gambar 2.4	Angiogenesis: formasi pembuluh darah baru.....	26
Gambar 2.5	Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka .....	28
Gambar 2.6	Hubungan antara waktu munculnya sel yang berbeda - beda pada proses penyembuhan luka.....	31
Gambar 2.7	Molekul VEGF.....	43
Gambar 2.8	Reseptor transmembran VEGF dan ligand .....	46
Gambar 2.9	Sinyal transduksi dari VEGF pada reseptor VEGFR .....	48
Gambar 2.10	Variasi ikatan VEGF dan reseptornya serta manifestasi klinisnya .....	49

## DAFTAR SINGKATAN

PRP	: <i>Platelet Rich Plasma</i>
SVFs	: <i>Stromal Vascular Fraction cells</i>
ASCs	: <i>Adipose-derived Stem Cells</i>
PMN	: <i>Polimorfonuclear</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor-<math>\beta</math></i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
TNF- $\alpha/\beta$	: <i>Tumor Necrosis Factor- <math>\alpha/\beta</math></i>
ECM	: <i>Extracellular Matriks</i>
aFGF	: <i>acidic Fibroblast Growth Factor</i>
bFGF	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
eFGF	: <i>epidermal Fibroblast Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
H.E	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
DMEM	: <i>Dulbecco Modified Eagle Media</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
DSLR	: <i>Digital Single Lens Refle</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka bakar didefinisikan sebagai kerusakan pada kulit dan jaringan di bawahnya yang disebabkan oleh panas, bahan kimia, atau listrik. Setiap tahun di Amerika Serikat 450.000 orang mendapat perawatan medis untuk luka bakar. Diperkirakan 4.000 orang meninggal setiap tahun karena kebakaran dan luka bakar. Tujuan dari penanganan luka adalah penyembuhan luka dengan cepat dan memuaskan secara fungsi dan estetik. (Sjamsuhidajat, de Jong., 2016; Barret J, Herndon D., 2005)

Berbagai macam penelitian telah dan terus dilaksanakan untuk mengatasi dan mendapatkan metode yang terbaik dalam menangani masalah luka bakar dan bagaimana mendapatkan suatu metode yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar. Salah satunya adalah terapi sel punca (Ghieh, F., 2015). Sel punca merupakan sel primitif yang belum berdiferensiasi namun memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi mulai dari hanya menjadi satu jenis sel (*unipoten*), atau menjadi beberapa jenis sel (*multipoten*) bahkan dapat menjadi berbagai jenis sel (*totipotent*). Kemampuan ini lah yang dapat digunakan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak akibat penyakit atau trauma (Singh, V. K., 2016). Tentunya hasil yang diharapkan adalah metode ini dapat mempercepat penyembuhan yang nantinya akan memberikan hasil penyembuhan luka bakar deep

dermal yang bagus dengan masa perawatan menjadi lebih singkat sehingga biaya perawatan dapat lebih rendah (Ghieh, F., 2015).

Jaringan adiposa visceral dan subkutan telah menunjukkan bahwa ia mengandung progenitor cells yang mampu membelah diri menjadi beberapa sel yang berbeda. Setelah jaringan adiposa ini disentrifugasi, didapatkan sel heterogen bernama *stromal vascular fraction* (SVFs) (Darinskas, A., 2017; Cervelli, V. 2011; Choi, J., Dkk. 2012).

SVFs merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak. Lipoaspirat mengandung sejumlah besar stem sel yang disebut *Adipose derived stem cell* (ASCs). SVFs dari jaringan lemak diketahui mengandung sel T regulator, sel precursor endothelial, pre-adiposit yang diketahui sebagai anti inflamasi makrofag, *superoxide dismutase* (SOD), IGF, TGF, FGF, *hepatocyte growth factor* (HGF) dan *interleukin* (IL), selain itu didalam SVFs juga terdapat adipose tissue-derived stromal cells (ASCs), hematopoietic stem dan sel progenitor, sel endothelial, eritrosit, fibroblasts, limfosit, monosit/*macrophages* dan *pericytes*. SVFs diketahui dapat memperbaiki penyembuhan luka bakar melalui peningkatan proliferasi sel dan vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblast (Tantuway V., dkk., 2017; Darinkas A., 2017; Comella, K., 2017; Gentile P. dkk., 2016; Cardoso, A. L., 2016; Bourin P., 2013; Kim-Serk W., dkk., 2007; Baglioni S., dkk., 2009; Rigotti G, 2009; Choi, J. dkk. 2012).

SVFs dapat diisolasi dari jaringan lemak kurang lebih 30-90 menit di klinik menggunakan teknik mini-lipoaspirate. SVFs berisi campuran sel-sel yang

termasuk ASCs dan faktor pertumbuhan dan sudah tidak mengandung sel *adiposit* (Comella, K., dkk., 2017). SVFs Pertama kali digunakan oleh Matsumoto dkk untuk memperkaya graft lemak pada tikus untuk meningkatkan viabilitas *graft* lemak pada tikus (Karagergou E., 2018)

Ketika SVFs ditumbuhkan ke dalam kultur, sebagian sel mulai menempel pada plastik kultur jaringan. Sel-sel ini dapat dimurnikan lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi langkah pencucian dan ekspansi kultur dengan media yang serupa dengan yang digunakan untuk mesenchymal stem cells (MSC) sumsum tulang untuk menghabiskan sebagian besar populasi sel hematopoietik dari SVFs. Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang homogen disebut ASCs. (Ferraro G, Mizuno H., 2016).

ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts. ASCs menunjukkan sifat yang serupa dengan MSCs sumsum tulang yang menyebabkan beberapa peneliti menyatakan bahwa kedua populasi itu identik. Namun banyak fitur membedakan kedua populasi sel ini. Sebagai contoh, ASCs tampaknya lebih rentan untuk berdiferensiasi menjadi sel otot atau bahkan menjadi kardiomyosit dibandingkan dengan MSCs sumsum tulang, sementara kurang kuat pada sifat chondrogenik dan osteogenik menurut beberapa laporan. Variabilitas antara ASCs dan MSCs sumsum tulang mungkin mencerminkan sebagian lingkungan mikro yang berbeda atau dimana sel-sel ini berada di jaringan asal masing-masing dan perbedaan dalam protokol perluasan *ex vivo*. (Ferraro G, Mizuno H., 2016)

Platelet-rich plasma (PRP) adalah trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, yang berisi setidaknya enam faktor pertumbuhan yang utama, termasuk diturunkan platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), dan transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) yang di lepaskan setelah aktivasi trombosit (Raposio E, dkk., 2016; Borrione, P., 2010; Asli Duran, 2018; Gentile P. dkk., 2016; Choi J., dkk., 2012; Stessuk, T., dkk., 2016; Tohidnezhad, M.,2011; Martins, R. P., 2016; El-Sharkawy, H., 2007).

Efek positif dari PRP dalam merangsang proses angiogenesis dan proliferasi *undifferentiated stem cells* telah ditunjukkan secara eksperimental. Dalam kaitannya dengan angiogenesis, Eppley dkk melaporkan bahwa PRP merangsang sel-sel endotel dekat daerah luka, merangsang proliferasi dan pembentukan pembuluh darah kapiler baru (Eppley BL., dkk. 2006). Selain itu, dalam studi in vitro, Hu dkk. menyimpulkan bahwa PRP merupakan sel-sel penyumbang yang potensial dalam memulai proses angiogenesis, yang merekrut endotel pembuluh darah daerah tersebut, dan mulai inisiasi regenerasi tulang (Hu Z., dkk. 2009). Hal ini karena ekspresi mRNA VEGF dan PDGF pada diferensiasi stroma sel sumsum tulang tikus di induksi oleh PRP. PRP mampu merangsang proliferasi *stem cell undifferentiated* dan diferensiasi sel untuk regenerasi jaringan (Horwitz EM., dkk. 2005; Hausman GJ, Richardson RL. 2004). Stem cells undifferentiated bermigrasi

ke lokasi konsentrasi faktor pertumbuhan PRP, dan faktor pertumbuhan memicu proliferasi sel-sel ini ke daerah luka (Kevy S., 2001; Choi J., dkk. 2012).

VEGF adalah sinyal kunci yang digunakan oleh sel yang kekurangan oksigen (*oxygen-hungry cells*) untuk memicu pertumbuhan pembuluh darah. VEGF adalah regulator utama angiogenesis fisiologis dan patofisiologis yang bekerja dengan menstimulasi mitogenesis dari sel endotel dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah. Ekspresi VEGF berpotensi pada respon terhadap hipoksia dan aktifasi oleh onkogen. VEGF, yang juga disebut *vascular permeability factor* (VPF), termasuk kedalam keluarga supergene *VEGF-platelet-derived growth factor* (PDGF). Anggota keluarga yang lain adalah VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan VEGF-E. VEGF juga bertindak sebagai mediator sekresi dan aktivasi enzim-enzim dalam proses degradasi matriks ekstra-seluler (Takahashi, H., 2005; Arsic N, 2004; Germani A, 2003).

VEGF ini diproduksi dalam jumlah besar oleh keratinosit, makrofag, sel endotel, trombosit, dan fibroblast selama penyembuhan luka. Gangguan sel dan hipoksia, tanda-tanda cedera jaringan menjadi penginduksi awal yang kuat dari faktor-faktor angiogenik di daerah luka, seperti VEGF dan reseptornya. VEGF-A mempromosikan tahap awal angiogenesis dan sangat penting untuk penyembuhan luka. Ia mengikat reseptor permukaan tirosin kinase Flt-1 (reseptor VEGF-1, atau VEGFR-1) dan KDR (reseptor VEGF-2, atau VEGFR-2). Flt-1 diperlukan untuk organisasi pembuluh darah, sedangkan KDR penting untuk kemositaksis, proliferasi,

dan diferensiasi sel endotel (Takahashi, H., 2005; Leong M., 2016; Melincovici, CS dkk., 2018; Bosch, J.,2010)

Oleh karena adanya peningkatan jumlah faktor pertumbuhan dan protein pada kombinasi antara PRP dan SVFs sehingga diharapkan lebih mempercepat penyembuhan luka bakar *deep dermal*. Hal ini lah yang mendasari penelitian sebelumnya untuk membandingkan tiga macam produk dari sel punca yaitu PRP, SVFs serta kombinasi antara PRP dan SVFs.

Pada penelitian awal dibandingkan efek injeksi intradermal antara kelompok PRP, SVFs, kombinasi antara PRP + SVFs dan kontrol yang diaplikasikan secara intra dermal pada model luka bakar deep dermal tikus wistar. Kelompok kontrol menggunakan perawatan luka bakar standar (vaselin). Kemudian di nilai secara mikroskopik dan makroskopis dimana hasilnya didapatkan bahwa kombinasi antara PRP dan SVFs memiliki laju percepatan penyembuhan yang paling tinggi. Penilaian mikroskopis, yaitu:

1. Percepatan epitelisasi dan penutupan luka,
2. Ketebalan kolagen,
3. Rata-rata *Capillary Density/angiogenesis* lebih banyak dan memuncak pada hari ke 14 perlakuan,
4. Sel Polimorfonuklear (PMN), pada fase akut inflamasi hari ke 7 perlakuan infiltrasi sel PMN lebih banyak dan pada hari ke 14 jumlah PMN mulai menurun disertai mulai tampak adanya makrofag.
5. Jumlah fibroblast dan ketebalan granulasi

Penilaian makroskopik:

1. Warna luka bakar,
2. Adanya bula,
3. Tanda-tanda edema,
4. Adanya krusta pada hari ke 4 perlakuan
5. Timbulnya *scar* pada hari ke 14 perlakuan

Saat ini di Indonesia, belum ada data yang membuktikan efek penyembuhan luka bakar deep dermal yang diberikan suntikan intradermal kombinasi PRP+SVFs dibandingkan dengan perawatan luka moist standar (vaselin).

Hal ini yang melatarbelakangi untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menilai kuantitas penyembuhan luka bakar baik secara mikroskopis maupun secara makroskopis serta kadar protein VEGF dalam serum. Dengan tujuan melihat pengaruh VEGF terhadap kuantitas penyembuhan luka bakar deep dermal pada model tikus wistar yang di terapi dengan kombinasi PRP + SVFs.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut:

1. Apakah kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* secara injeksi dapat meningkatkan kadar dari VEGF daripada kelompok dengan pemberian vaseline pada tikus yang diinduksi luka bakar deep dermal?

2. Apakah kombinasi *Platelet rich plasma* (**PRP**) dan *Stromal vascular fraction* (**SVFs**) secara topikal dapat meningkatkan ekspresi dari VEGF daripada kelompok dengan pemberian vaseline pada tikus yang diinduksi luka bakar deep dermal?
3. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian PRP+SVF secara injeksi dengan pemberian secara topikal?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar dan kadar protein VEGF dalam serum

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk membuktikan bahwa kombinasi *Platelet rich plasma* (**PRP**) dan *Stromal vascular fraction* (**SVFs**) secara injeksi dapat meningkatkan kadar dari VEGF daripada kelompok dengan pemberian vaseline pada tikus yang diinduksi luka bakar deep dermal?
2. Untuk membuktikan bahwa kombinasi *Platelet rich plasma* (**PRP**) dan *Stromal vascular fraction* (**SVFs**) secara topikal dapat meningkatkan ekspresi dari VEGF daripada kelompok dengan pemberian vaseline pada tikus yang diinduksi luka bakar deep dermal?

3. Untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian PRP+SVF secara injeksi dengan pemberian secara topical.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP + SVFs untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar.
2. Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan luka bakar.
3. Sebagai alternatif dalam pengobatan luka bakar.

## BAB II TINJAUAN

### PUSTAKA

#### 2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka

##### 2.1.1 Definisi Luka bakar

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. Luka bakar merupakan suatu jenis trauma dengan morbiditas dan mortalitas tinggi yang memerlukan penatalaksanaan khusus sejak awal hingga fase lanjut. Luka bakar dapat disebabkan oleh paparan api, baik secara langsung maupun tidak langsung, misalnya akibat tersiram air panas yang banyak terjadi pada kecelakaan rumah tangga. Selain itu, pajanan suhu tinggi dari matahari, listrik maupun bahan kimia juga dapat menyebabkan luka bakar. Secara garis besar penyebab terjadinya luka bakar dapat dibagi menjadi: (Sjamsuhidajat, de Jong., 2016; Moenadjat Y, dkk., 2011; EMSB course., 2017; Barret J, Herndon D., 2005):

- Paparan api
- *Scalds* (air panas)

Terjadi akibat kontak dengan air panas. Semakin kental cairan dan semakin lama waktu kontak, semakin besar kerusakan yang akan ditimbulkan. Luka yang disengaja atau akibat kecelakaan dapat dibedakan berdasarkan pola luka bakarnya. Pada kasus kecelakaan, luka umumnya menunjukkan pola percikan, yang satu sama lain dipisahkan oleh kulit sehat. Sedangkan

pada kasus yang disengaja, luka umumnya melibatkan keseluruhan ekstremitas dalam pola sirkumferensial dengan garis yang menandai permukaan cairan.

- Uap panas

Terutama ditemukan di daerah industri atau akibat kecelakaan radiator mobil.

Uap panas menimbulkan cedera luas akibat kapasitas panas yang tinggi dari uap serta dispersi oleh uap bertekanan tinggi. Apabila terjadi inhalasi, uap panas dapat menyebabkan cedera hingga ke saluran napas distal di paru.

- Gas panas

Inhalasi menyebabkan cedera thermal pada saluran nafas bagian atas dan oklusi jalan nafas akibat edema jaringan.

- Aliran listrik

Cedera timbul akibat aliran listrik yang lewat menembus jaringan tubuh. Umumnya luka bakar mencapai kulit bagian dalam. Listrik yang menyebabkan percikan api dan membakar pakaian dapat menyebabkan luka bakar tambahan.

- Zat kimia (asam atau basa)

Luka bakar kimia biasanya disebabkan oleh asam kuat atau alkali yang biasa digunakan dalam bidang industri militer ataupun bahan pembersih yang sering digunakan untuk keperluan rumah tangga.

- Radiasi

Luka bakar radiasi disebabkan karena terpapar dengan sumber radio aktif. Tipe injuri ini sering disebabkan oleh penggunaan radio aktif untuk keperluan terapeutik dalam dunia kedokteran dan industri. Akibat terpapar sinar matahari yang terlalu lama juga dapat menyebabkan luka bakar radiasi.

- *Sunburn* sinar matahari.

### **2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar**

Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tinggi suhu, lamanya pajanan suhu tinggi, adekuasi resusitasi dan adanya infeksi pada luka. Selain api yang langsung menjilat tubuh, baju yang ikut terbakar juga memperdalam luka bakar. (Sjamsuhidajat, de Jong., 2016; Brunicardi C, et al., 2015; Moenadjat Y., 2005; Williams N, et al., 2013) Luka bakar dapat dikelompokkan dalam 3 klasifikasi utama bergantung pada kedalaman kerusakan jaringan yaitu *superficial*, *mid* dan *deep burns*. Klasifikasi ini kemudian lebih lanjut didefinisikan sebagai *epidermal*, *superficial dermal*, *middermal*, *deep dermal* atau *full thickness*. (EMSB 2013, Williams C. 2011, Moss LS., 2010. Hettiaratchy S, 2004).

#### *A. Superficial Burns*

*Superficial burns* adalah luka bakar yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan diri sendiri secara spontan dengan cara proses epithelialisasi. (EMSB 2013).

##### *1. Epidermal Burns*

*Epidermal burns* hanya terkena bagian epidermis. Penyebab umum dari luka bakar ini adalah sinar matahari dan luka kecil akibat ledakan [EMSB 2013]. Bagian lapisan epidermis yang terkena luka bakar sembuh melalui proses regenerasi epidermis dari lapisan basal. Karena produksi mediator inflamasi, hiperaemia terjadi sehingga luka bakar ini berwarna merah dan menimbulkan nyeri (EMSB 2013, Benson A, dkk 2006). Luka bakar ini menyembuh secara cepat (dalam tujuh hari), tanpa meninggalkan jejas berakibat ke kosmetik (EMSB 2013, Harris PNS, 2010).

## 2. *Superficial Dermal Burns*

*Superficial dermal burns* termasuk jaringan epidermis dan bagian *superficial dermis – papillary dermis*. Ciri khas dari luka bakar ini adalah adanya bula (EMSB 2013). Lapisan kulit yang menutupi bula ini sudah mati dan dipisahkan dari bagian dasar yang masih viabel dengan bagian inflamasi-edema. Edema ini akan mengangkat bagian atas jaringan nekrotik membentuk bula. Bula ini mungkin pecah sehingga mengekspos bagian dermis yang, setelah paparan, mungkin mengalami *desiccate* dan mati. Hal ini menyebabkan peningkatan kedalaman jaringan yang hilang. Bagian *papillary dermis* yang terkena berwarna kemerahan. Karena saraf sensorik terkena, maka luka bakar ini biasanya sangat nyeri (EMSB 2013, Moss LS., 2010). Luka bakar *superficial dermal* akan sembuh secara spontan oleh karena proses epitelisasi dalam waktu 14 hari, hanya meninggalkan jejas

perubahan warna tanpa menimbulkan *scar* pada jejas luka bakar ini (EMSB 2013).

### *B. Mid-dermal Burns*

Luka bakar mid-dermal adalah luka bakar yang terletak di antara luka bakar dermal yang akan menyembuhkan relatif cepat, dan luka bakar deep-dermal yang tidak menyembuh secara cepat. Pada luka bakar mid-dermal, jumlah sel epitel yang bertahan hidup mampu reepithelialisation lebih kurang daripada luka bakar yang lebih dalam dan penyembuhan luka bakar secara cepat dan spontan tidak selalu terjadi. Secara klinis, penampilan luka bakar ini ditentukan oleh kerusakan pleksus vaskular dermal yang bervariasi. *Capillary refill time* mungkin lamban, dan edema pada jaringan dan bula akan ada. Area yang terbakar ini biasanya berwarna merah muda gelap daripada luka bakar *superficial dermal* (EMSB 2013, Benson A., dkk 2006).

### *C. Deep Burns*

Luka bakar yang lebih dalam tampak lebih parah dan tidak sembuh secara spontan dengan epithelialisation, atau hanya sembuh setelah jangka waktu yang lama dengan jaringan parut yang signifikan. Luka bakar ini terbagi menjadi luka bakar deep dermal dan luka bakar full thickness (EMSB 2013).

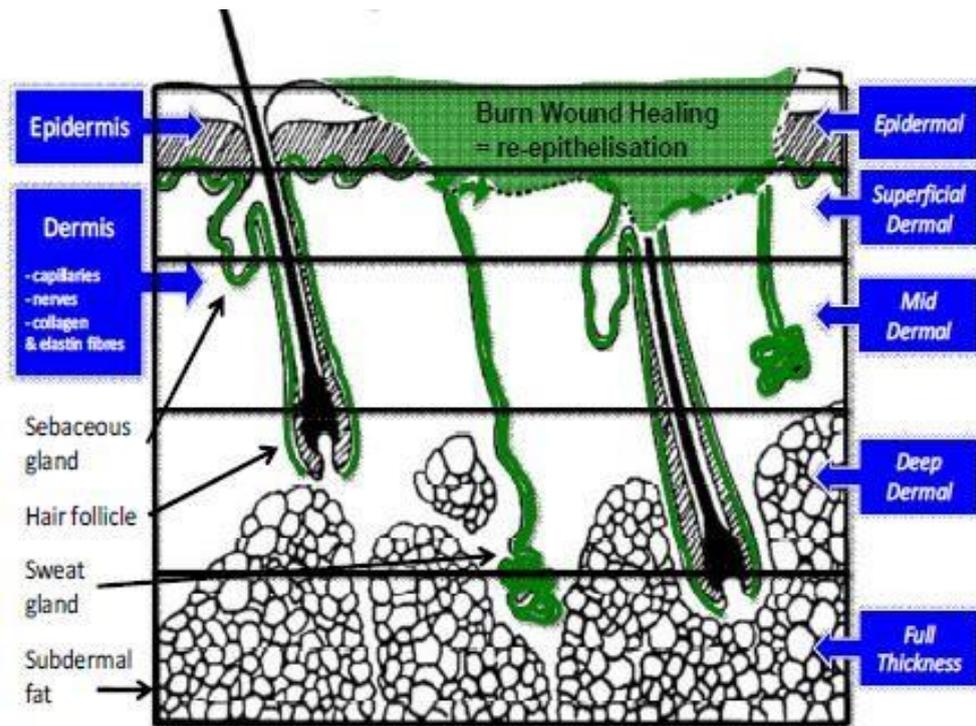
#### *1. Deep Dermal Burns*

Pada luka bakar deep dermal terdapat bula, tapi dasar bula menunjukkan bagian dermis yang dalam dan bagian retikuler dermis sering tampak bintik-bintik warna merah (EMSB 2013, Herndon DN. 2007, Benson A., dkk

2006). Bintik warna merah ini karena ekstrasvasasi hemoglobin dari sel-sel merah yang rusak dan keluar dari pembuluh darah yang pecah. Ciri penting luka bakar jenis ini adalah hilangnya fenomena *capillary refill*. Ini menunjukkan bahwa luka bakar *deep dermal* telah merusak pleksus vaskular dermal. Ujung saraf dermal juga terletak pada bagian ini sehingga tes pinprick akan hilang pada luka bakar *deep dermal* (EMSB 2013).

## 2. *Full Thickness Burns*

Luka bakar *full thickness* merusak kedua lapisan kulit (epidermis dan dermis), dan dapat menembus lebih dalam ke dasar struktur kulit (Herndon DN. 2007). Kulit pasien pada luka bakar ini berwarna putih padat, seperti lilin, atau bahkan tampak hangus. Saraf sensorik dalam dermis rusak dan jadi sensasi untuk tes pinprick hilang (Herndon DN. 2007, Benson A., dkk 2006). Kulit mati yang mengalami koagulasi tampak kasar yang disebut Eschar (EMSB 2013).



Gambar 2.1 Kedalaman Luka Bakar

Sumber: EMSB Course 2013

Kedalaman	Warna	Bula	Capillary Refill	Sensasi	Penyembuhan
Epidermal	Merah	Tidak ada	Ada	Ada	Ya
Superficial Dermal	Merah muda	Kecil	Ada	Nyeri	Ya
Mid Dermal	Merah muda gelap	Ada	Lambat	±	Pada umumnya

Deep Dermal	Merah berbintik-bintik	±	Tidak ada	Tidak ada	Tidak
Full Thickness	Putih	Tidak	Tidak ada	Tidak ada	Tidak

**Tabel 2.1 Diagnosis Kedalaman Luka Bakar**

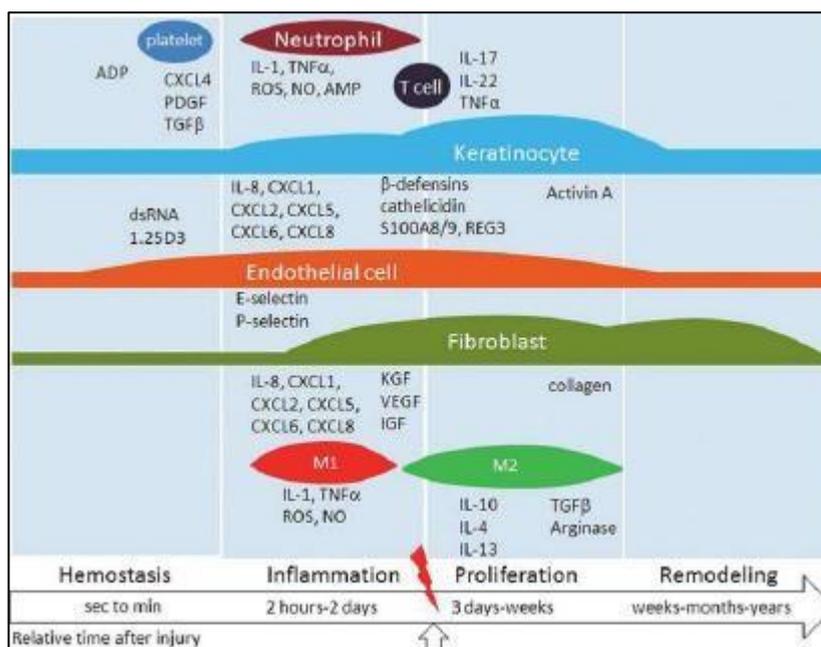
Sumber: EMSB Course 2013

### 2.1.3 Penyembuhan Luka

Definisi penyembuhan luka termasuk perbaikan dari kerusakan pada organ atau jaringan, umumnya kulit. Bagaimanapun, telah jelas bahwa proses sistemik pada luka yang mengubah jauh melebihi batas dari kerusakan itu sendiri. Lebih jauh lagi, riset sebelumnya melibatkan stem sel dan sel progenitor dalam proses penyembuhan luka membutuhkan perspektif yang luas daripada yang satu semata-mata fokus pada kerusakan organ itu sendiri. Penyembuhan luka paling baik dipahami secara menyeluruh sebagai respon organisme terhadap cedera, tanpa melihat apakah lokasinya pada kulit, hati atau jantung. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Sjamsuhidajat, de Jong., 2016)

Terdapat dua proses yang penting yang dengan hal ini pembentukan ulang proses homeostasis dapat terjadi. Pertama adalah penggantian selular matriks yang berbeda sebagai tambalan untuk kembali menyusun kelanjutan baik fisik dan psikologis terhadap organ yang cedera. Hal tersebut merupakan

proses terbentuknya *scar*. Proses yang kedua adalah rekapitulasi proses pembentukan yang awalnya tercipta dari organ yang cedera. Arsitektur organ asal dibentuk kembali, dengan mengaktifkan kembali jalur pembangunan. Ini merupakan proses regenerasi. Penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling. (Leong M. 2016; McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Moenadjat Y, dkk., 2011)



Gambar 2.2 Fase penyembuhan luka

Sumber: McLeod, Mansbridge., 2015

### ▲ Fase Inflamasi (Hemostasis dan Inflamasi)

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke tiga. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena

trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat dan bersama jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblast lokal dan sel endotel serta vasokonstriktor. Hemostasis memicu inflamasi dengan terjadinya pelepasan faktor kemotaktik dari luka. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014)

Paparan kolagen subendotelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi menghasilkan bekuan fibrin. Granul-granul *platelet- $\alpha$*  melepaskan sejumlah zat kimia seperti platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), platelet-activating factor (PAF), fibronectin dan serotonin. Sebagai tambahan untuk mencapai hemostasis, bekuan fibrin memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi menuju luka seperti *polymorphonuclear leucocytes* (PMNs, neutrofil) dan monosit. PMN adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah pelepasan prostaglandin dan adanya komponen kemotaktik seperti faktor komplemen, interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), TNF- $\beta$ , factor platelet-4 atau produk bakteri kesemuanya merangsang migrasi netrofil. Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang

bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007)

Makrofag muncul pertama 48-96 jam setelah terjadi luka. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Makrofag seperti halnya neutrofil, memfagositosis dan mencerna organism-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga memainkan peranan penting dalam regulasi angiogenesis dan terkumpulnya ekstraseluler matriks (ECM) oleh fibroblast dan proliferasi dari otot polos dan sel endothelial yang dihasilkan dalam angiogenesis. Sesudah makrofag akan muncul Limfosit T dan jumlahnya mencapai puncak pada hari ketujuh. Jumlahnya lebih sedikit dibandingkan makrofag dan sebagai jembatan transisi dari fase inflamasi ke proliferasi. Fase ini juga disebut fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Nauta A, et al., 2012)

CYTOKINE	CELL SOURCE	FUNCTION	Type of Wound	
			ACUTE	CHRONIC
<b>Proinflammatory Cytokines</b>				
TNF- $\alpha$	PMNs, macrophages	Inflammation, reepithelialization, PMN margination and cytotoxicity, with or without collagen synthesis; provides metabolic substrate	Increased levels	Increased levels
IL-1	PMNs, monocytes, macrophages, keratinocytes	Inflammation, reepithelialization, fibroblast and keratinocyte chemotaxis, collagen synthesis	Increased levels	Increased levels
IL-2	T lymphocytes	Increases fibroblast infiltration and metabolism		
IL-6	PMNs, macrophages, fibroblasts	Inflammation, reepithelialization, fibroblast proliferation, hepatic acute-phase protein synthesis	Increased levels	Increased levels
IL-8	Macrophages, fibroblasts	Inflammation, macrophage and PMN chemotaxis; reepithelialization, keratinocyte maturation and proliferation	Increased levels	Increased levels
IFN- $\gamma$	T lymphocytes, macrophages	Activates macrophages and PMNs, retards collagen synthesis and cross-linking, stimulates collagenase activity		
<b>Anti-inflammatory Cytokines</b>				
IL-4	T lymphocytes, basophils, mast cells	Inhibition of TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 production; fibroblast proliferation, collagen synthesis		
IL-10	T lymphocytes, macrophages, keratinocytes	Inhibition of TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 production, inhibition of macrophage and PMN activation		

Gambar 2.3 Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka

Sumber: Rumalia VK, 2001; dan Barientos S, 2008

### ▲ Fase Proliferasi

Ketika respons akut hemostasis dan inflamasi mulai pulih, perancah diletakkan untuk memperbaiki luka melalui angiogenesis, fibroplasia, dan epitelisasi. Tahap ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, yang terdiri dari lapisan kapiler, fibroblast, makrofag, dan susunan kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat yang longgar. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblast. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke tiga. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi dibentuk dari tiga tipe sel yang memainkan peranan yang penting dalam

pembentukan jaringan granulasi, yaitu fibroblast, makrofag dan sel endothelial. Sel-sel ini membentuk ekstraseluler matrik (ECM) dan pembuluh darah baru, yang secara histologis merupakan bahan untuk jaringan granulasi. Fibroblast muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblast pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Nauta A, et al., 2012)

Fibroblast berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam amino glisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblast juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Fibroblast juga menyebabkan matriks fibronektin, asam hialuronik dan glikosaminoglikan. Pada fase ini, serat-serat dibentuk dan dihancurkan untuk penyesuaian diri dengan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini bersama dengan sifat kontraktil miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Halim D, dkk., 2010)

Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk basic fibroblast growth faktor (bFGF), asidic FGF (aFGF), transforming growth factor  $\alpha$ - $\beta$  (TGF $\alpha$ - $\beta$ ) dan epidermal fibroblast growth factor (eFGF). FGF pada percobaan *invivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi. Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses migrasi hanya terjadi kearah yang lebih rendah atau datar. Proses ini baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka. Dengan tertutupnya permukaan luka, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan berhenti dan mulailah proses pematangan dalam fase penyudahan. Proses reepitelisasi sempurna kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Halim D, et al., 2010)

Angiogenesis adalah tahap dasar pada proses penyembuhan luka yang mana pembuluh darah baru terbentuk dari pembuluh darah yang sebelumnya ada. Pembuluh darah baru terlibat dalam pembentukan jaringan granulasi menyediakan jaringan yang tumbuh dengan oksigen dan nutrien. Angiogenesis pada pembuluh darah yang sebelumnya ada. Pada angiogenesis tipe ini terdapat proses vasodilatasi dan kenaikan permeabilitas dari pembuluh darah yang ada,

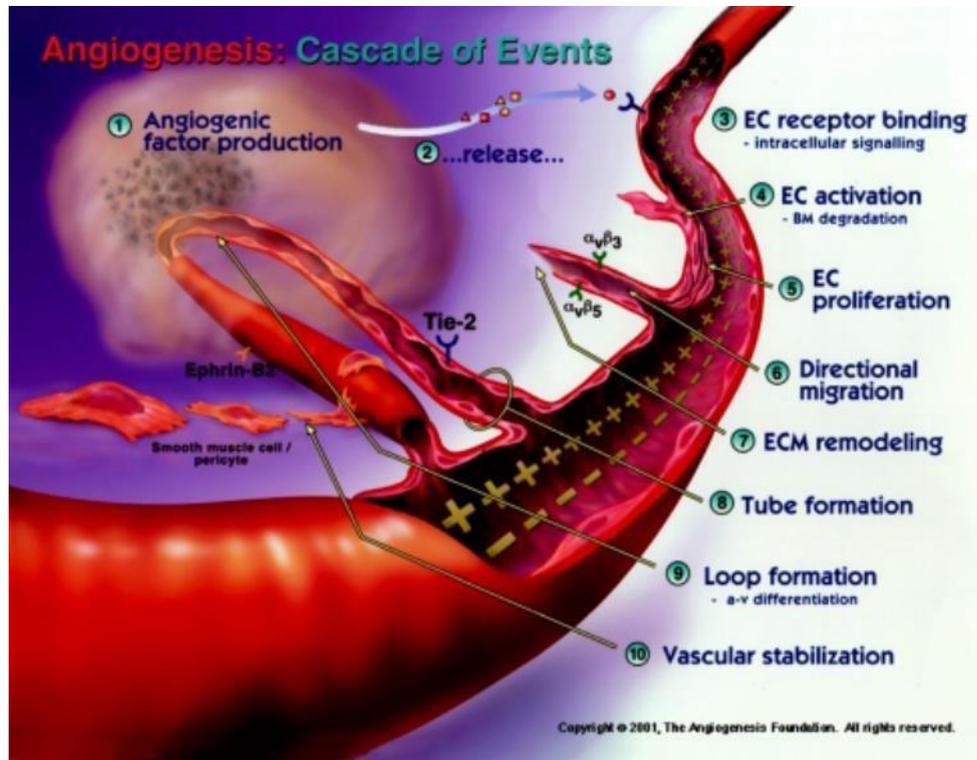
degradasi ECM dan migrasi sel endothelial (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Halim D, et al., 2010).

Tahap-tahap utamanya seperti di bawah ini:

1. Jaringan yang rusak memproduksi dan melepaskan faktor pertumbuhan (growth factor) yang berdifusi ke jaringan sekitarnya.
2. Faktor pertumbuhan angiogenik berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada sel endotel vaskuler terdekat.
3. Setelah growth factor berikatan dengan reseptornya sel endotel menjadi aktif. Sinyal pertumbuhan diteruskan dari permukaan sel ke nukleus. Sel endotel mulai membentuk endotel molekul baru termasuk berbagai enzim.
4. Enzim melarutkan protein yang membentuk lubang kecil pada membran basal.
5. Sel endotel mulai berproliferasi dan bermigrasi melalui lubang-lubang tersebut menuju ke jaringan yang rusak di induksi oleh fibroblast growth factor (FGF), PDGF, dan TGF- $\beta$  dan dipandu oleh SDF-1 $\alpha$  yang bertindak sebagai homing signal utama
6. Molekul adhesi atau integrin berfungsi sebagai kait untuk membantu pembuluh darah baru untuk maju.
7. Enzim yang lain misalnya Matrix Metalloproteinase (MMP) diproduksi untuk menghancurkan jaringan di depan ujung pembuluh darah baru.
8. Sel endotel yang baru menggulung untuk membentuk pipa/pembuluh darah baru.

9. Setiap pembuluh darah berhubungan satu dengan yang lain supaya darah dapat bersirkulasi.
10. Pembuluh darah baru mengalami stabilisasi dengan bantuan sel-sel otot yang menunjang struktur pembuluh darah.

Induksi angiogenesis awalnya dihubungkan dengan *basic-FGF*. Berikutnya banyak molekul lain telah diidentifikasi sebagai *angiogenic*, termasuk VEGF, TGF- $\beta$ , angiogenin, angiotropin dan angiopoetin-1. Tekanan oksigen yang rendah dan laktat level tinggi dan amin bioaktif juga bisa merangsang *angiogenesis*. Kebanyakan dari molekul tersebut adalah protein yang memicu *angiogenesis* secara tidak langsung oleh merangsang produksi kadar asam atau dasar FGF dan VEGF oleh makrofag dan sel endothelial, yang secara langsung memicu *angiogenesis* (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Halim D, et al., 2010).



Gambar 2.4. Angiogenesis : Formasi pembuluh darah baru

Sumber: Rosen P, 2009

*Acidic* dan *basic FGF* (FGF-1 dan FGF-2) dilepaskan dari sel parenkim yang terganggu dan merupakan stimulan awal angiogenesis. FGF-2 memberikan stimulus angiogenik fase awal dalam 3 hari pertama perbaikan luka, diikuti oleh stimulus berkepanjangan berikutnya dimediasi oleh VEGF dari hari 4 hingga hari ke 7 (Leong M., 2016).

Faktor utama penyebab angiogenesis adalah hipoksia. Hipoksia meningkatkan ekspresi VEGF melalui peningkatan transkripsi dan stabilisasi mRNA. Tekanan oksigen yang rendah menstimulus Hypoxia-Inducible Factor  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ) dan memicu sekresi faktor proangiogenik, utamanya Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) yang menstimulasi pembentukan

pembuluh darah baru untuk mensuplai kebutuhan. Dalam kondisi hipoksia HIF-1 $\alpha$  akan berdimerisasi dengan HIF-1 $\beta$  dan kompleks ini bertranslokasi ke nukleus dan berikatan dengan promotor VEGF. Jika tekanan oksigen dipulihkan, produksi faktor proangiogenik dihambat, pembuluh darah matur bertahan dan berbagai regresi pembuluh darah immatur terjadi (Lester SC, 2010).

Sejumlah faktor pertumbuhan, sitokin dan mediator lipid dapat meningkatkan ekspresi VEGF, termasuk epidermal growth factor, transforming growth factor (TGF $\alpha$  dan TGF $\beta$ ), FGF-2, Keratinocyte growth factor, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, Insulin like growth factor 1, hepatocyte growth factor, prostaglandin E1 dan E2 (Prosnitz LR, 2001).

VEGF diekspresikan oleh berbagai sel yang memproduksi hormon steroid (korteks adrenal, korpus luteum, sel leydig) dan sel yang dipengaruhi oleh hormon regulasi (ovarium dan uterus). Ekspresi VEGF berkorelasi dengan pasien karsinoma payudara dengan estrogen reseptor positif (Prosnitz LR, 2001).

GROWTH FACTOR	CELL SOURCE	FUNCTION	Type of Wound	
			ACUTE	CHRONIC
PDGF	Platelets, macrophages, endothelial cells, keratinocytes, fibroblasts	Inflammation; granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for PMNs, macrophages, fibroblasts, and smooth muscle cells, activates PMNs, macrophages and fibroblasts; mitogenic for fibroblasts, endothelial cells; stimulates production of MMPs, fibronectin, and HA; stimulates angiogenesis and wound contraction	Increased levels	Decreased levels
TGF- $\beta$ (including isoforms $\beta_1$ , $\beta_2$ , and $\beta_3$ )	Platelets, T lymphocytes, macrophages, endothelial cells, keratinocytes, fibroblasts	Inflammation; granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for PMNs, macrophages, lymphocytes, fibroblasts; stimulates TIMP synthesis, keratinocyte migration, angiogenesis, and fibroplasia; inhibits production of MMPs and keratinocyte proliferation; induces TGF- $\beta$ production	Increased levels	Decreased levels
EGF	Platelets, macrophages, fibroblasts	Mitogenic for keratinocytes and fibroblasts; stimulates keratinocyte migration	Increased levels	Decreased levels
FGF-1 and FGF-2 family	Macrophages, mast cells, T lymphocytes, endothelial cells, fibroblasts, keratinocytes, smooth muscle cells, chondrocytes	Granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for fibroblasts, mitogenic for fibroblasts and keratinocytes; stimulates keratinocyte migration; angiogenesis; wound contraction and matrix deposition	Increased levels	Decreased levels
KGF (also called FGF-7)	Fibroblasts, keratinocytes, smooth muscle cells, chondrocytes, endothelial cells, mast cells	Stimulate proliferation and migration of keratinocytes, increase transcription of factors involved in detoxification of ROS, potent mitogen for vascular endothelial cells; upregulates VEGF, stimulates endothelial cell production of UPA	Increased levels	Decreased levels
VEGF	Keratinocytes, platelets, PMNs, macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells, fibroblasts	Granulation tissue formation; increases vasopermeability; mitogenic for endothelial cells	Increased levels	Decreased levels
TGF- $\alpha$	Macrophages, T lymphocytes, keratinocytes, platelets, fibroblasts, lymphocytes	Reepithelialization; increase keratinocyte migration and proliferation		
IGF-1	Macrophages, fibroblasts	Stimulates elastin production and collagen synthesis, fibroblast proliferation		

Gambar 2.5 Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka

Sumber: Schwartz SI (ed),2008.

HA: Hyaluronic acid

### ▲ Fase Remodeling

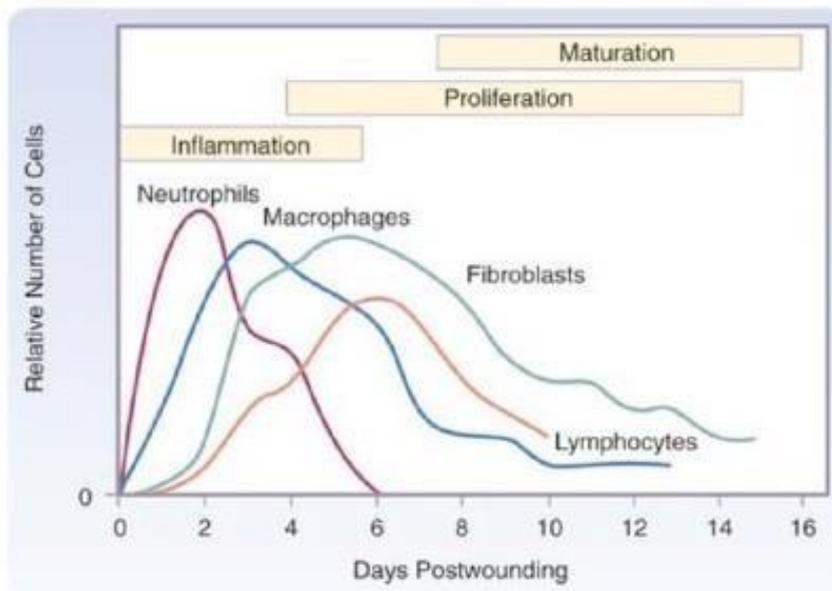
Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang lama dan hubungannya yang jelas sangat tampak, fase ini masih jauh dari pemahaman tentang penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini dapat berlangsung berbulan-

bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang sudah lenyap. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Udem dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada. (Barret J, Herndon D., 2005; Moenadjat Y, dkk., 2011)

Pada manusia, remodeling ditandai oleh dua proses yaitu kontraksi luka dan remodeling kolagen. Proses kontraksi luka dihasilkan oleh miofibroblast, yang mana fibroblast dengan intraseluler aktin mikrofilamen mampu mendorong pembentukan dan kontraksi matriks. Miofibroblast menghubungkan luka melalui interaksi spesifik secara utuh dengan matriks kolagen. Beberapa growth factor yang menstimulasi sintesis kolagen dan molekul jaringan ikat yang lain juga merangsang sintesis dan aktivasi dari metalloproteinase, enzim yang mendegradasi komponen ECM ini. Matriks metalloproteinase termasuk interstitial collagenases (MMP-1,-2 dan -3) yang membelah menjadi kolagen tipe I, II dan III; gelatinases (MMP-2 dan 9), yang merubah kolagen tidak berbentuk sebaik fibronectin; stromelysin (MMP-3, 10, dan 11), yang beraksi pada berbagai komponen ECM, termasuk proteoglycans, laminin, fibronectin dan kolagen tak berbentuk; dan keluarga ikatan membran MMPs. MMPs diproduksi oleh fibroblast, makrofag, neutrofil, sel synovial, dan beberapa sel epithel. Sekresinya dipicu oleh growth factor (PDGF, FGF), sitokin (IL-1, TNF), dan fagositosis dalam makrofag dan di hambat oleh TGF-

$\beta$  dan steroid. Enzim kolagen membelah kolagen di bawah kondisi fisiologis. Mereka disintesis secara tersembunyi (procollagenase) yang diaktivasi secara kimiawi, seperti radikal bebas diproduksi selama oksidasi leukosit, dan enzim proteinase (plasmin). Sekali dibentuk, enzim kolagen yang diaktivasi secepatnya dihambat oleh golongan jaringan spesifik penghambat enzim metalloproteinase, yang diproduksi oleh hampir seluruh sel mesenkimal, hal ini mencegah aksi enzim protease yang tidak terkontrol. Serat kolagen membentuk bagian utama dari jaringan ikat dalam perbaikan dan penting untuk membangun kekuatan penyembuhan luka. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)

Akumulasi jaringan kolagen tergantung tidak hanya peningkatan sintesis kolagen namun juga penurunan degradasi. Ketika jahitan diangkat dari luka, biasanya di akhir minggu pertama, kekuatan luka  $\pm$  10% dari kulit normal. Kekuatan luka segera meningkat hingga 4 minggu kemudian, melambat hingga kira-kira tiga bulan setelah dilakukan luka insisi dan tensile strength mencapai kira-kira 70% – 80% dari kulit normal. Tensile strength pada luka yang lebih rendah mungkin berlangsung seumur hidup. Pemulihan tensile strength merupakan hasil dari sintesis kolagen lebih dari degradasi kolagen selama 2 bulan pertama penyembuhan dan selanjutnya dari modifikasi struktur serat kolagen setelah sintesis kolagen berakhir. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)



Gambar 2.6 Hubungan antara waktu munculnya sel yang berbeda-beda pada proses penyembuhan luka. Makrofag dan neutrofil yang dominan selama fase inflamasi (puncak masing-masing pada hari ke 3 dan 2). Limfosit muncul kemudian dan fase puncak pada hari ke 7. Fibroblast adalah sel dominan selama fase proliferasi.

Sumber: Witte MB, Barbul A; 1997

## 2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP + SVFs

### 2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP)

*Platelet Rich Plasma* (PRP) adalah suatu autologous dari trombosit manusia dalam volume yang kecil dalam plasma yang mengandung 1.000.000 trombosit/ $\mu$ l dengan volume 5 ml plasma. PRP diketahui mengandung 7 macam faktor pertumbuhan yaitu: TGF- $\beta$ , bFGF, PDGFa, PDGFb, EGF, VEGF, CTGF. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran *growth factor* dalam meningkatkan proses regenerasi jaringan luka dengan memeriksa epitelisasi,

fibroblast dan neovaskular jaringan menggunakan pemeriksaan histologi (Gentile P., dkk., 2016; Tajima, S., 2015; Kim Yeol dkk., 2014; Rah, D. K., 2017; Tohidnezhad, M., 2011). FGF-1 dan FGF-2 adalah promotor proliferasi sel endotel dan organisasi fisik dari sel-sel endotel untuk pembentukan struktur tubuler. Fungsi utama FGF adalah stimulasi proliferasi fibroblast yang menimbulkan granulasi jaringan dan *remodeling* jaringan (Gentile P., dkk., 2016; Borrione P, 2010). TGF- $\beta$  merangsang proliferasi sel-sel mesenchymal yang *undifferentiated*; mengatur mitogenesis sel-sel endotel, fibroblast dan osteoblast; meningkatkan produksi matriks ekstraseluler; meningkatkan aktivitas proliferasi fibroblast; merangsang biosintesis tipe I kolagen dan fibronectin; mendukung GFs (growth factors) lain (Borrione P, 2010). EGF adalah faktor *mitogenic* umum yang merangsang proliferasi berbagai jenis sel, terutama fibroblas dan sel-sel epitel melalui jalur reseptor EGF (EGFR) – RAS – MAPK (Kuwada SK, 2000). EGF juga mempengaruhi sintesis dan perubahan protein dari matriks ekstraseluler, termasuk fibronectin, collagens, laminin, dan glycosaminoglycans (Borrione P, 2010).

Darah terdiri dari 93% sel darah merah, 6% sel darah putih, platelet 1% dan plasma. Trombosit paling dikenal karena fungsi pembekuan darah untuk menghentikan perdarahan. Trombosit, bagaimanapun, jauh lebih penting daripada ini, karena trombosit manusia juga merupakan komponen penting dalam penyembuhan cedera. Trombosit secara alami sangat kaya akan faktor pertumbuhan untuk penyembuhan luka. Respon tubuh pertama terhadap cedera

jaringan adalah mengantarkan trombosit ke daerah tersebut. Trombosit memulai perbaikan dan menarik sel punca pada luka. Menyuntikkan faktor pertumbuhan ini ke dalam ligamen, tendon, sendi dan spinal yang rusak akan merangsang proses perbaikan alami. Untuk memaksimalkan proses penyembuhan, platelet harus terkonsentrasi dan terpisah dari sel darah merah. Tujuan PRP adalah untuk memaksimalkan jumlah trombosit sambil meminimalkan jumlah sel darah merah dalam larutan yang disuntikkan ke daerah yang terluka atau sakit. Singkatnya, PRP menciptakan, merangsang, dan mempercepat proses penyembuhan alami tubuh. (Bakacak, M., 2015; Nikolidakis, D., 2008; Kim Yeol et al., 2014; Raposio E, et al., 2016)

PRP merupakan metode pengobatan mutakhir yang memanfaatkan plasma darah yang kaya akan faktor pertumbuhan dari darah kita sendiri untuk penyembuhan berbagai masalah pada tubuh. PRP ditemukan pertama kali pada tahun 1970-an dan digunakan pertama kali pada pembedahan jantung pada tahun 1987. Sejak saat itu PRP telah berkembang dan dipakai untuk mengobati berbagai cedera akibat olahraga. Atlet terkenal seperti Tiger Woods, Donovan Bailey, Alex Rodriguez, Tracy McGrady, Cliff Lee dan Fred Couples telah menggunakan pengobatan dengan metode ini. (Zuk PA., 2012; Rigotti G, Marchi A., 2009; Kim Yeol et al., 2014)

Penggunaan PRP kini telah makin meluas di bidang kedokteran lainnya, misalnya untuk terapi pada kebotakan alopesia, peremajaan kulit, penyembuhan luka, perbaikan lubang-lubang bekas jerawat serta

menghaluskan garis-garis pada kulit akibat kehamilan. Data klinis dan riset yang ada menunjukkan bahwa penggunaan terapi ini sangat aman, memiliki resiko minimal akan terjadinya efek samping, alergi, maupun reaksi penolakan karena diambil dari darah pasien sendiri (autologue) (Rigotti G, Marchi A., 2009; Kim Yeol et al., 2014).

Luka yang berat seperti luka bakar atau ulkus diabetes merupakan jenis luka yang cukup sulit disembuhkan dan biasanya memberikan hasil yang kurang memuaskan. Dengan PRP sel-sel akan dipacu oleh faktor pertumbuhan untuk diperbaiki lebih cepat sehingga hasilnya akan lebih memuaskan. Peran trombosit pada pembekuan darah telah lama diketahui. Selain fungsi tersebut, trombosit juga merupakan sumber berbagai faktor pertumbuhan yang berperan penting pada proses penyembuhan luka, respons akut jaringan terhadap trauma, dan terlibat pada beberapa proses fisiologis selular, misalnya pertumbuhan, diferensiasi dan replikasi sel. Banyak ahli ingin mendapatkan berbagai manfaat faktor pertumbuhan dan menggunakan beberapa metode untuk mengekstraksi faktor pertumbuhan tersebut, salah satunya dengan membuat PRP (Raposio E, et al., 2016; Rigotti G, Marchi A., 2009; Kim Yeol et al., 2014).

Kepustakaan lain menyebutkan konsentrasi trombosit dalam PRP 2-8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan nilai normal. Tingginya konsentrasi trombosit dan berbagai faktor pertumbuhan di dalamnya, telah membuat PRP dimanfaatkan pada banyak cabang ilmu kedokteran, yaitu bedah mulut, bedah plastik, bedah kraniofasial, bedah jantung, ortopedi, neurologi, kedokteran olah

raga, dan dermatologi. Pada makalah ini akan dibahas lebih lanjut mengenai penggunaan PRP pada luka bakar. Manfaat PRP pada luka bakar belum pasti karena terbatasnya uji klinis PRP pada kasus luka bakar. Pembuatan PRP biasanya dilakukan sebelum operasi atau tindakan medis lain, tetapi hal tersebut sulit dilakukan pada pasien luka bakar, mengingat kondisi hemodinamik yang mungkin terganggu. PRP hanya meningkatkan persentase relatif trombosit dalam plasma, sedangkan jumlah absolut trombosit dalam plasma pasien luka bakar mungkin jauh lebih rendah, sehingga efektivitas PRP pada pasien luka bakar tidak dapat disamakan dengan pasien lain. Meskipun demikian, terdapat beberapa laporan mengenai efektivitas PRP untuk luka bakar. Melaporkan bahwa pemberian PRP pada 10 pasien dengan luka bakar pada mata mempercepat reepitelisasi pada kelopak mata dan kornea. (Kim Yeol et al., 2014; Raposio E, et al., 2016; Rigotti G, Marchi A., 2009)

Namun PRP menginduksi respons inflamasi hebat pada luka bakar dan dikhawatirkan akan menstimulasi pembentukan jaringan granulasi berlebihan atau parut hipertrofik. Jaringan granulasi berlebihan tidak diharapkan terjadi pada luka bakar dengan defek superfisial atau parsial, tetapi jaringan granulasi tersebut dapat berguna pada luka bakar dengan defek dalam. (Rigotti G, Marchi A., 2009; Kim Yeol et al., 2014)

### **2.2.2 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)**

*Stromal vascular fraction cell* (SVFs) berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVFs diperoleh

melalui sedot lemak dan mengandung beberapa jenis sel, termasuk sel induk yang diturunkan dari adiposa derivate stem cell (ASCs), sel mesenchymal dan sel progenitor endotel, sub tipe leukosit, sel limfatik, pericytes, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular. SVFs diproses sedemikian rupa sehingga mengandung komposisi sel heterogen konsisten yang dapat di produksi kembali. Setelah proses produksi dan pencatatan, SVFs yang berasal dari adiposa dapat berdiferensiasi menjadi jenis jaringan yang berbeda, mendukung neovaskularisasi, mengganti sel dan memperbaiki jaringan yang cedera. (Comella, K., 2017; Darinkas A., 2017; Bourin P., 2013; Choi, J., 2012; Zuk PA., 2012; Han J., 2010)

Persepsi masyarakat umum tentang jaringan adiposa sebagai organ telah berubah secara dramatis selama 4 dekade terakhir. Meskipun jaringan adiposa telah secara rutin dibuang sebagai limbah medis, ahli bedah plastik dan peneliti lainnya telah mendokumentasikan penggunaan jaringan adiposa sebagai sumber sel stroma multipoten yang melimpah dan dapat diakses untuk pengobatan regeneratif (Zuk PA. 2002). Sejak laporan awal pada akhir 1960-an (Hollenberg CH, 1969), beberapa laboratorium telah menetapkan bahwa sel stroma yang serupa dengan yang teridentifikasi dalam sum sum tulang (Friedenstein AJ, 1966) dapat diisolasi dengan cara yang dapat direproduksi dari jaringan adiposa yang dapat direseksi sebagai jaringan utuh atau disedot dengan *liposuction* (Gimble J., 2003; Gimble JM.,2007). Umumnya jaringan

adiposa dicerna oleh suatu kolagenase, tripsin atau enzim terkait (Bourin, P., 2013).

Setelah netralisasi enzim, unsur yang dilepaskan didefinisikan sebagai SVFs, dipisahkan dari adiposit matang dengan sentrifugasi. SVFs terdiri dari populasi sel mesenkim heterogen yang tidak hanya mencakup sel stroma dan sel hematopoietik serta sel progenitor adiposa tetapi juga sel endotel, eritrosit, fibroblast, limfosit, monosit dan pericytes. Ketika SVFs ditumbuhkan ke dalam kultur, sebagian sel mulai menempel pada plastik kultur jaringan. Sel-sel ini dapat dimurnikan lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi langkah pencucian dan ekspansi kultur dengan media yang serupa dengan yang digunakan untuk MSC sumsum tulang untuk menghabiskan sebagian besar populasi sel hematopoietik dari SVFs. Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang sejenis disebut ASCs. ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts. Dalam hal ini, ASCs menunjukkan sifat yang serupa dengan MSCs sumsum tulang yang menyebabkan beberapa peneliti menyarankan bahwa kedua populasi itu identik. Namun banyak fitur membedakan kedua populasi sel ini. Sebagai contoh, ASCs tampaknya lebih rentan untuk berdiferensiasi menjadi sel otot atau bahkan menjadi kardiomyosit dibandingkan dengan MSCs sumsum tulang, sementara kurang kuat pada sifat chondrogenik dan osteogenik menurut beberapa laporan. Variabilitas antara ASCs dan MSCs sumsum tulang mungkin mencerminkan sebagian lingkungan mikro yang berbeda atau dimana

sel-sel ini berada di jaringan asal masing-masing dan perbedaan dalam protokol perluasan *ex vivo*. (Josh F, et al., 2012; Ferraro G, Mizuno H., 2016)

Penelitian klinis pada populasi sel stromal dewasa ini telah meningkat dan beberapa penyelidikan klinis sedang dilakukan untuk memeriksa penggunaan ASCs, SVFs dan MSCs sumsum tulang untuk rekayasa jaringan dan aplikasi medis regeneratif. Metode untuk mengisolasi SVFs menggunakan teknik mekanis dan non enzimatis sedang dikembangkan dan beberapa telah diterapkan dalam praktik klinis. Untuk alasan ini, sekarang saatnya untuk mengembangkan sebuah pernyataan ringkas yang mendefinisikan karakteristik dan sifat unik dari sel SVFs dan ASCs. (Josh F, et al., 2012; Ferraro G, Mizuno H., 2016)

Jaringan adiposa seperti sumsum tulang berasal dari mesenkim dan terdiri dari stroma yang terpisah secara efektif. Mengingat hal ini, jaringan adiposa dapat mewakili sumber sel punca/stem cell yang memiliki keuntungan luas. Reaksi seluler terhadap luka terutama difasilitasi oleh sel induk mesenchymal yang menghasilkan indikator atau sinyal parakrin dan menginduksi sel induk hematopoietik terdahulu, sel induk folikel dan jaringan epitel untuk berdiferensiasi ke dalam jaringan. Jenis sel ini memiliki peran spesifik dalam setiap tahap perbaikan dan mereka mempercepat proses peradangan. Dalam penelitian ini, penggunaan fraksinasi vaskular stroma untuk mengobati luka akibat luka bakar diselidiki. Uji *in vivo* dan *in vitro* digunakan

untuk mengkonfirmasi keefektifan sel stroma dalam penyembuhan luka bakar (Halim D, dkk., 2010; Baglioni S., dkk. 2009).

### **2.2.3 Vaseline**

Vaseline (*White Petrolatum*) adalah campuran dari mineral oil, paraffin dan lilin micro crystalline yang dilebur menjadi satu dalam bentuk gel halus yang biasanya berwarna off white bening. Saat dioleskan ke kulit, gel ini meresap sempurna ke pori-pori kulit dan dengan cepat akan mengganti sel kulit mati dengan sel kulit baru yang sehat. Setelah meresap ke kulit, petroleum jelly juga dapat langsung masuk ke dalam celah-celah sel kulit untuk menghalangi hilangnya air alami yang diproduksi kulit kita. Sehingga kelembapan kulit tetap terjaga secara natural. Pada dasarnya Vaseline petroleum jelly berfungsi untuk memperbaiki fungsi sel-sel pada kulit, dari fungsi ini lah banyak sekali manfaat yg bisa kita dapat dari vaseline petroleum jelly. Mengandung 100% Petroleum Jelly yang berfungsi (Sethi A., 2016):

- Sebagai tabir surya
- Penyembuhan luka (*hyaluronic acid*)
- Melembabkan dan menghaluskan kulit
- Antimikroba
- Anti inflamasi

### **2.2.4 Kombinasi PRP dan SVFs**

PRP merangsang proliferasi ASCs, hal ini ditunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada banyak faktor pertumbuhan penting, bFGF, EGF dan trombosit yang diturunkan faktor pertumbuhan, yang merangsang proliferasi sel induk (Van Pham, P., dkk. 2013). Konsentrasi TGF- $\beta$ 1, VEGF, IGF-1, dan HGF secara signifikan lebih tinggi di kultur supernatants ASC yang mengandung 5% PRP daripada yang mengandung 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS). Hal ini menunjukkan bahwa PRP menginduksi pelepasan faktor pertumbuhan dari ASCs. Selain itu, secara statistik terdapat peningkatan yang signifikan dalam VEGF (1.1 kali lipat) didapatkan bila ASCs dikultur dengan 5% PRP daripada dengan 10% FBS (Tajima, S., 2015).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa VEGF mempromosikan neovaskularisasi selama pembentukan tulang dan remodelling. Selain itu, VEGF melindungi MSCs dari kultur yang menginduksi stres tingkat seluler dan meningkatkan viabilitas MSC. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi VEGF di ASCs hanya meningkat 1,1 kali lipat, tapi secara fungsional terdapat kenaikan yang signifikan dan kontribusi VEGF untuk regenerasi tulang (Tajima, S., 2015)

PRP merangsang proliferasi ASCs, menunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada berbagai faktor pertumbuhan yang penting, seperti bFGF, EGF dan PDGF, yang merangsang proliferasi sel induk (Chierigato K, dkk. 2011).

PRP tidak hanya merangsang proliferasi ASCs tetapi juga menjaga potensi diferensiasi ASCs secara *in vitro* seperti diferensiasi sel-sel chondrogenic. ASCs yang dikombinasi PRP didapatkan peningkatan ekspresi gen terkait chondrogenesis col-II, Sox9 dan aggrecan (Van Pham, P., dkk. 2013; Zhang YS., dkk. 2011; Li H., dkk.2009).

## **2.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**

### **2.3.1 Definisi**

*Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) awalnya dikenal sebagai *Vascular Permeability Factor* (VPF) adalah sinyal protein yang dihasilkan oleh sel-sel yang merangsang *vaskulogenesis* dan *angiogenesis* (Senger DR, dkk.,1983). VEGF merupakan glikoprotein proangiogenik yang berfungsi meningkatkan proliferasi, migrasi, survival pada sel endotel serta meningkatkan permeabilitas kapiler. Perkembangan pembuluh darah adalah kebutuhan utama dalam perkembangan dan diferensiasi organ selama embriogenesis, demikian juga pada penyembuhan luka serta fungsi reproduksi pada manusia dewasa. Angiogenesis juga terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit seperti preeklampsia, iskemia miokard, retinopati diabetik, arthtitis rheumatoid, termasuk pertumbuhan tumor dan metastasis (Rosen LS. 2002; Yamazaki Y, 2006; Olsson AK., 2006; Risau W. 1997; Folkman J. 1995; Miron L, 2010; Qiu Y., 2009; Maharaj AS, 2006; Ferrara N. 2004).

### **2.3.2 Klasifikasi VEGF**

Saat ini, yang termasuk dalam keluarga VEGF adalah VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E (*viral VEGF*, pada *parapoxvirus 1*), *snake venom VEGF* (VEGF-F) dan *placenta growth factor* (PlGF). Fungsi molekuler dan biologis setiap ligan belum secara baik diketahui (Melincovici, CS., dkk. 2018; Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005; Yamazaki Y, 2006; Tjwa M, 2003; Duffy AM,. 2000).

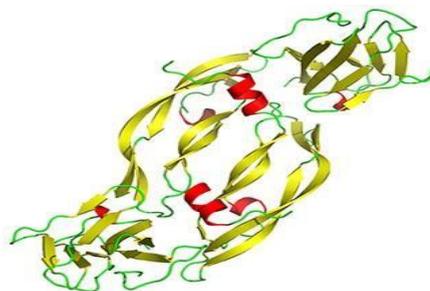
Aktifitas VEGF-A adalah nama yang dimplikasikan pada sel endotel vaskular, meskipun ini memberikan efek pada beberapa tipe sel (seperti pemindahan Stimulasi monocyte/macrophage, astrosit, sel kanker, epitel sel ginjal) (Rosen LS. 2002; Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005 Duffy AM,. 2000). VEGF-A menunjukkan adanya mitogenesis dan migrasi sel endotel. VEGF-A juga merupakan vasodilator dan meningkatkan permeabilitas microvaskular yang merupakan dasar faktor permeabilitas vaskular (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005 Duffy AM,. 2000; Neufeld G, 1999; Koch S, 2012).

VEGF-A, juga disebut sebagai VPF (*vascular permeability factor*), regulator penting fisiologi sel endotel, diidentifikasi sekitar 15 tahun yang lalu dan telah diakui sebagai faktor pertumbuhan utama yang relatif spesifik untuk endotel sel (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005). VEGF-A adalah sebuah glikoprotein dimeric yang penting untuk banyak proses angiogenik dalam kondisi yang normal dan abnormal, seperti tumor pembuluh darah, terutama dengan berinteraksi dengan dua reseptor tirosin kinase, VEGFR-1 [juga dikenal sebagai Flt-1 (*Fms-like tyrosine kinase-1*)] dan VEGFR-2 [juga dikenal sebagai Flk-1

(*fetal liver kinase-1*) dan, pada manusia, dikenal sebagai KDR (*kinase insert domain containing receptor*) (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005; Matthews, W., dkk. 1991; Terman, B. I., dkk. 1991; Shibuya, M., 1990).

VEGF-A berperan pada dua kegiatan biologis utama: satu adalah kemampuan untuk merangsang proliferasi sel endotel vaskular dan yang lainnya adalah kemampuan untuk meningkatkan permeabilitas vaskuler. VEGF-A juga mempromosikan migrasi sel-sel endotel dan kelangsungan hidup (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005).

VEGF adalah sebuah basa, 34-46-kDa homodimeric, yang berisi motif *cystine-knot*, ditandai dengan disposisi jembatan bisulfidic tertentu dalam struktur proteinnya dan gen VEGF manusia berada di kromosom 6p21.3. VEGF, yang juga disebut VEGF-A atau vascular permeability factor (VPF), termasuk kedalam keluarga supergene VEGF-platelet-derived growth factor (PDGF), juga disebut *cystine-knot superfamily of growth factors*. (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005; Yamazaki Y, 2006; Niu G, 2010; Melincovici, CS., dkk. 2018).



Gambar 2.7 Molekul VEGF

Sumber: Sidhu, 2007

Pada tahun 1983, Senger et al. menjelaskan protein yang disebut *vascular permeability factor* (VPF), yang dikeluarkan oleh sel-sel tumor hewan (hamster, guinea, babi), yang bertanggung jawab untuk peningkatan permeabilitas pembuluh darah tumor dan bertanggung jawab terhadap ascites pada tumor perut jenis tertentu (Senger DR, dkk.,1983). Pada tahun 1989, Ferrara et al., dari Genentech, secara independen dan terisolasi bisa menggambarkan protein VEGF, dan menunjukkan perannya dalam angiogenesis (Ferrara N., dkk. 2011). Kemudian, dua protein, VPF dan VEGF, ternyata memiliki struktur serupa (Melincovici, CS., dkk. 2018).

#### 📌 Isoforms

Ada banyak isoform dari VEGF-A yang menyebabkan membelahnya mRNA dari gen 8-exon VEGF-A. Ini dibagi menjadi 2 bagian yaitu menurut dari terminal exon mereka (exon 8) situs sambatan: Proximal situs sambatan (denoted VEGF<sub>xxx</sub>) atau distal situs sambatan (VEGF<sub>xxx</sub>b). Sebagai tambahan alternatif sambatan dari exon 6 dan 7 adalah umur ikatan heparin dan angka asam amino (pada manusia VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>121b</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>165b</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>) (Yamazaki Y, 2006; Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005; Tjwa M, 2003, Neufeld G, 1999; Medford ARL., 2009). Dominasi ini mempunyai fungsi untuk variasi *splice site* VEGF, seperti *splice site* terminal (exon 8) yang protein pro-angiogenic (proximal *splice site*, yang keluar selama angiogenesis) atau anti-angiogenic

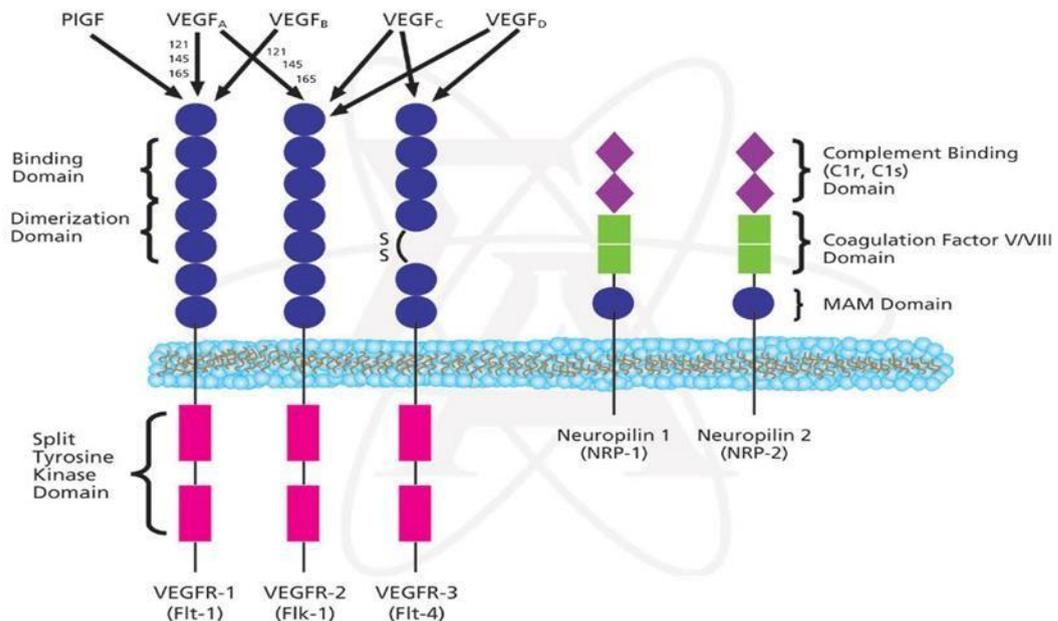
(distal *splice site*, yang dikeluarkan pada jaringan normal). Sebagai tambahan melibatkan atau mengeluarkan exon 6 dan 7 adalah mediasi antara heparin sulfate proteoglycans (HSPGs) dan Neuropilin co-reseptor pada permukaan sel, merubah kemampuan untuk mengikat dan mengaktifkan VEGF receptor (VEGFRs) (Cébe Suarez, S; 2006; Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005). VEGF-C dalam penelitian sangat penting pada neurogenesis daerah subventrikular tikus, tanpa melalui efek angiogenik (Shin, Y. J., dkk. 2010; Melincovici, CS., dkk. 2018).

### **2.3.3 Mekanisme Kerja VEGF**

Sinyal kunci yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel, juga regenerasi dan remodeling jaringan dewasa, dilakukan melalui reseptor transmembran, dimana sebagian besar adalah reseptor tirosin kinase. Reseptor VEGF, VEGFR adalah suatu reseptor kelompok tirosin kinase (Yancopoulos GD, 2000).

Ligand VEGF menghantarkan efek angiogenik melalui ikatan yang spesifik dengan VEGF reseptor (VEGFR). Ikatan tersebut mengakibatkan perubahan konformasional pada reseptor berupa dimerisasi dan berlanjut dengan sinyal transduksi melalui domain tirosin kinase. Ada 3 reseptor primer dan 2 buah ko-reseptor yang akan mengikat VEGF dan keluarganya, yaitu VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 dan ko-reseptor Neuropilin-1 dan Neuropilin-2 yang tidak mempunyai domain/area intraselluler dan diduga meningkatkan afinitas VEGF

pada reseptor primer (Soker, S., 1998). Beberapa afinitas ligan pada reseptor dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2.8 Reseptor transmembran VEGF dan ligand meliputi : VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk1) dan VEGFR-3 (Flt-4), Neuropilin-1 dan Neuropilin-2

Sumber: Yancopoulos GD, 2000; Pajusola dkk., 1993

Ekspresi reseptor VEGF pada sel endotel berbeda diantara 3 jenis reseptor VEGFR-1, VEGFR-2 dan VEGF-3. VEGFR-2 diekspresikan hampir pada semua sel endotel, sedangkan VEGFR-1 dan VEGFR-3 hanya diekspresikan pada pembuluh darah tertentu (Yancopoulos GD, 2000; Karkkainen, M.J.; Petrova, T.V. 2000).

- o *VEGFR-1* : adalah glikoprotein transmembran berukuran 180 kDa, dan dapat terdeteksi ekspresinya pada hampir semua sel endotel. VEGFR-1

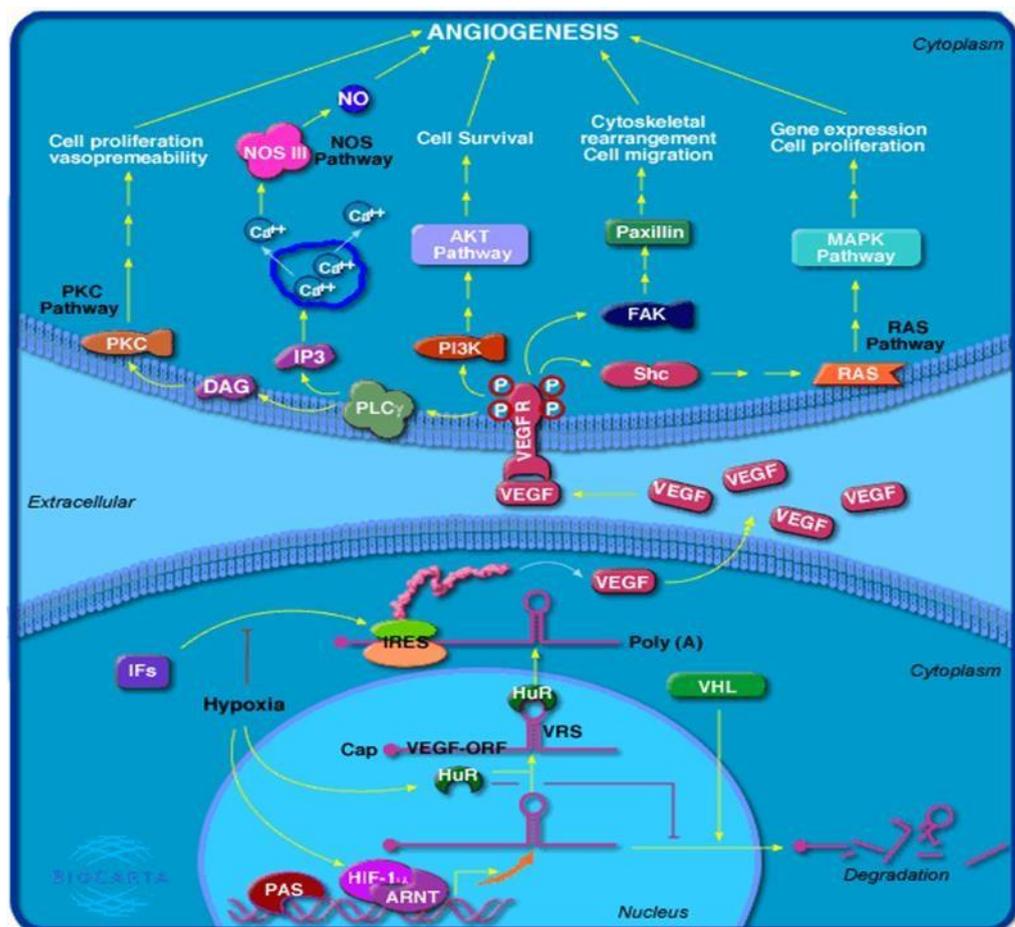
berperan sebagai reseptor dari VEGF, PlGF dan VEGF-B. VEGFR-1 adalah sinyal kunci untuk angiogenesis, terutama pada fase embriogenesis, tapi tidak banyak berperan pada angiogenesis patologis, misalnya pada pertumbuhan tumor (Karkkainen, M.J.; Petrova, T.V. 2000)

- *VEGFR-2* : VEGFR-2 sebelumnya dinamakan KDR (kinase insert-domain containing receptor) atau flk-1 (fetal liver kinase-1), disandi oleh gen yang berlokasi pada *region 4q11-q13* , sebuah protein berukuran 230 kDa. Selama masa embrio, ekspresi mRNA VEGFR-2 terdistribusi pada kapiler, pembuluh darah dan endokardium. VEGFR-2 meningkat ekspresinya dengan rangsangan hipoksia, dan berperan utama pada regulasi permeabilitas vaskuler (Yancopoulos, 2000). VEGFR-2 menghantarkan sinyal efek angiogenik meliputi : (Karkkainen, M.J.; Petrova, T.V. 2000)

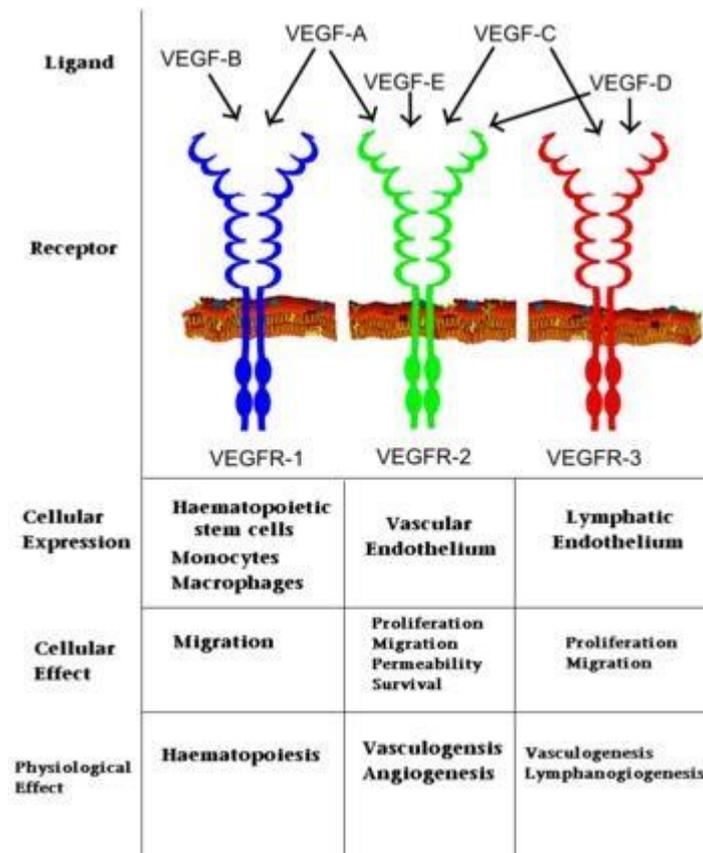
1. Permeabilitas vaskuler mikro
2. Proliferasi sel endotel
3. Invasi
4. Migrasi
5. *Survival*

- *VEGFR-3* : Protein VEGFR-3 (FLT4) mengikat VEGF-C dan VEGF-D. VEGFR-3 merangsang limfangiogenesis dan hanya ditemukan pada sel endotel saluran limfe dewasa. Didapatkan peran VEGFR-3 dalam menjaga integritas vaskuler dengan memodulasi aktifitas VEGFR-2 (Karkkainen, M.J.; Petrova, T.V. 2000).

- o *Neuropilin* : NRP-1 dan NRP-2 adalah suatu glikoprotein transmembran, tereksresi pada sel endotel pembuluh darah ataupun pembuluh darah pada tumor. Ikatan pada VEGF akan menyebabkan peningkatan migrasi sel endotel. NRP-1 dan NRP-2 keduanya berhubungan dengan regulasi proses angiogenesis. Reseptor neuropilin akan mengikat beberapa isoform dari VEGF meliputi : VEGF, VEGF-E, PIGF-2 dan VEGF-B. Penelitian terakhir mendapatkan bahwa reseptor NRP-2 juga berikatan dengan VEGF-C dan diekspresikan bersamaan dengan VEGFR-3 dan berperan dalam perkembangan saluran limfe (Karkkainen, M.J.; Petrova, T.V. 2000).



Gambar 2.9  
Sinyal transduksi dari VEGF pada reseptor VEGFR  
Sumber: Yancopoulos GD, 2000



Gambar 2.10 Variasi ikatan VEGF dan reseptornya serta manifestasi klinisnya

Sumber: Holmes, K., dkk. 2007

### 2.3.4 Peran VEGF dalam Angiogenesis

VEGF adalah suatu faktor pertumbuhan yang berperan dalam regulasi vaskulogenesis, angiogenesis fisiologis dan angiogenesis patologis (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005)

## **Vaskulogenesis dan Angiogenesis**

Langkah pertama dalam rangkaian proses sistem pembuluh darah masa embrio adalah rangsangan pada ventro-lateral mesoderm oleh fibroblast growth factor (FGF) dan transforming growth factor-beta (TGF). Vaskulogenesis bermula dengan diferensiasi dari hemangioblast dari mesoderm dan pembentukan agregat sel atau pulau pulau darah yang saling berhubungan. Proses vaskulogenesis tahap kedua dimana sel endotel menginvasi, melebur, dan membentuk pleksus kapiler primitif. VEGFR-1 sejak awal berperan dalam perkembangan hemangioblast (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005).

Vaskularisasi terjadi setelah ada tonjolan sel endotel, diikuti migrasi, proliferasi dan remodeling membentuk pembuluh kapiler dari pleksus kapiler primitif. Proses ini dinamakan angiogenesis yang akhirnya membentuk pohon pembuluh darah, arteri dan vena. Angiogenesis dibedakan dengan vaskulogenesis pada tingkat seluler. Mekanisme molekuler yang mengendalikan kedua proses tersebut bisa tumpang tindih. Tidak seperti vaskulogenesis, angiogenesis juga terjadi pada masa dewasa, misalnya pada sistem reproduksi dewasa, penyembuhan luka, reparasi jaringan dan berbagai kondisi kondisi patologis (Takahashi, H., & Shibuya, M. 2005). Pertumbuhan dari suatu pembuluh darah dibagi menjadi dua, yaitu vaskulogenesis dan angiogenesis. *Vaskulogenesis* adalah pertumbuhan pembuluh darah baru yang prekursoranya berasal dari

angioblast, sedangkan *angiogenesis* merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru yang berasal dari pembuluh darah sebelumnya atau dengan kata lain merupakan perluasan dari pembuluh darah sebelumnya. Proses vaskulogenesis terbatas pada saat embriogenesis sedangkan proses angiogenesis dapat terjadi pada saat perkembangan (Holmes, K., 2007).

VEGF juga memainkan berbagai peran, mulai dari suatu peran pivotal dalam vaskulogenesis embriogenik sampai kepada peran dalam delesi satu alel yang dapat mengakibatkan kematian mudigah. Sebagaimana telah diterangkan di atas, angiogenesis adalah suatu proses multistep dan VEGF bekerja pada beberapa tingkatan proses, yaitu:

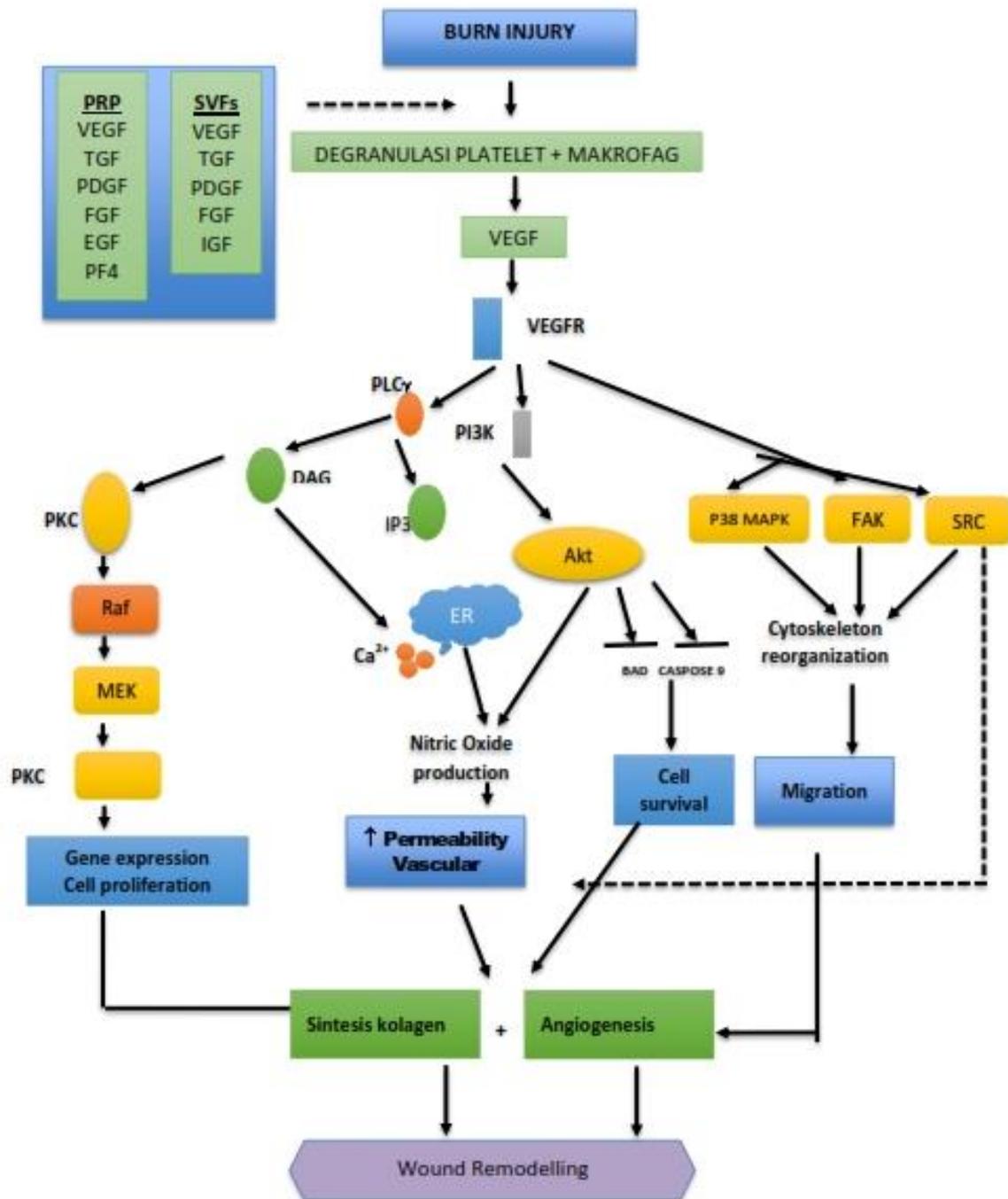
- ☛ VEGF adalah suatu mitogen yang poten bagi sel-sel vaskular endotelial namun dengan beberapa pengecualian, VEGF tidak bersifat mitogenik bagi sel-sel tipe lain.
- ☛ VEGF bertindak sebagai mediator sekresi dan aktivasi enzim-enzim dalam proses degradasi matriks ekstra-seluler. VEGF bekerja pada sel-sel endotelial, menginduksi ekspresi aktivator dan inhibitor plasminogen, ekspresi reseptor urokinase dan ekspresi matrix metalloproteinases kolagenase interstisial dan gelatinase A, juga pada saat yang bersamaan menurunkan kadar inhibitor jaringan metalloproteinases 1 dan 2.
- ☛ VEGF bertindak sebagai suatu survival factor bagi sel-sel endotelial melalui inhibisi proses apoptosis. Kerja ini dimediasikan melalui induksi ekspresi protein-protein anti-apoptotik Bcl-2 dan Bcl-A1, regulasi

phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway, meningkatkan fosforilasi adhesi focal kinase dan stimulasi produksi sel-sel endotelial NO dan prostaglandin-12.

- ✦ VEGF adalah faktor penting dalam mobilisasi prekursor-prekursor sel-sel endotelial sumsum tulang dalam proses promosi vaskularisasi.
- ✦ VEGF juga mempunyai peran penting dalam modulasi migrasi sel-sel endotelial kepada lokasi angiogenesis (Holmes, K., 2007).

Kerja VEGF lainnya termasuk meningkatkan permeabilitas vaskular, inhibisi diferensiasi sel-sel dendritik, regulasi transport heksosa ke dalam sel-sel endotelial, induksi faktor-faktor jaringan dan induksi migrasi monosit (Holmes, K.,2007).

### III. 1 Kerangka Teori

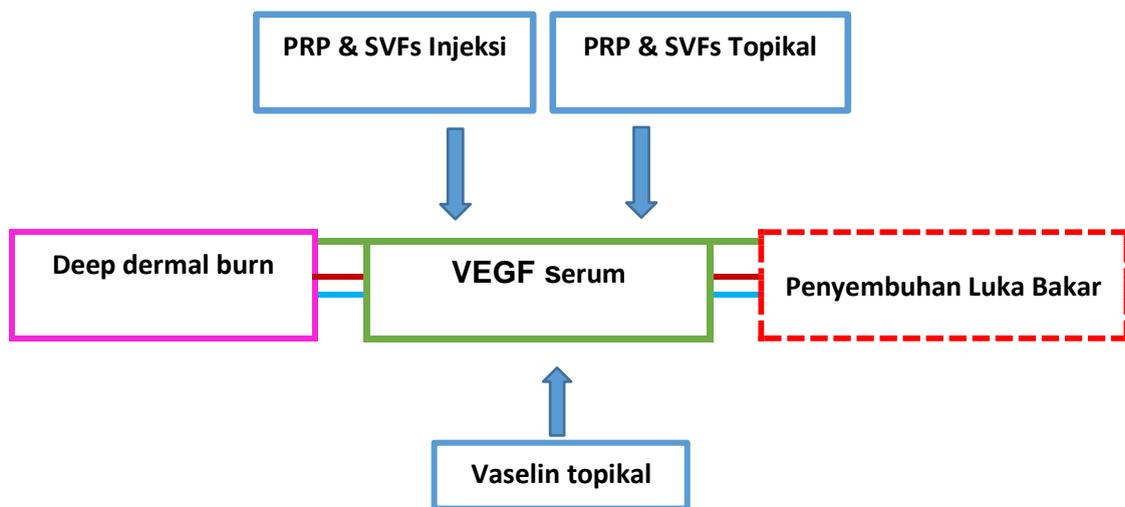


### **Keterangan:**

Pada Kondisi hipoksia karena luka bakar, maka akan terjadi kerusakan jaringan, kolagen dan vaskuler, sehingga akan memicu aktifnya kaskade koagulasi, yang memicu degranulasi platelet yang akan melepaskan sitokin-sitokin dan faktor pertumbuhan yang dipengaruhi juga oleh makrofag. Kemudian VEGF berikatan pada reseptor VEGFR2, mengaktifkan berbagai molekul transduksi, seperti *phospholipase C gamma* (PLC $\gamma$ ) dan *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K). Aktivasi PLC $\gamma$  yang berikatan dengan *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate* (PIP2) membentuk diacylglycerol (DAG) dan *D-myoinositol-1,4,5-trisphosphate* (IP3). DAG mengikat dan mengaktifasi protein kinase C (PKC), yang penting dalam sinyal mitogenik melalui jalur Raf-MEKERK (*mitogen activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase*). IP3 mengatur  $Ca^{2+}$  intracellular dengan melekat pada reseptor IP3 pada *reticulum endoplasmic* dan menstimulasi pelepasan  $Ca^{2+}$  dari *reticulum endoplasmic*.  $Ca^{2+}$  intracellular yang bebas dapat melekat pada calmodulin, dan kompleks  $Ca^{2+}$ -calmodulin mengaktifasi *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), yang akan meningkatkan sintesis nitrat oksida (NO). Melalui ikatan ligand VEGFR-2, PI3K yang aktif menyebabkan aktivasi protein kinase Akt, yang meningkatkan phosphorylates eNOS dan meningkatkan produksi NO. Aktivasi Akt juga dapat mempromosikan survival sel endotel dengan mengaktifkan jalur p38 MAPK yang melemahkan persimpangan interselular, menurunkan stabilitas sitoskeleton sel endotel dan menginduksi pembentukan fenestrae endotel. Dengan demikian, permeabilitas vaskuler meningkat, menyebabkan migrasi sel. Proliferasi, migrasi, cell survival dan peningkatan permeabilitas vaskuler akan memicu sintesis

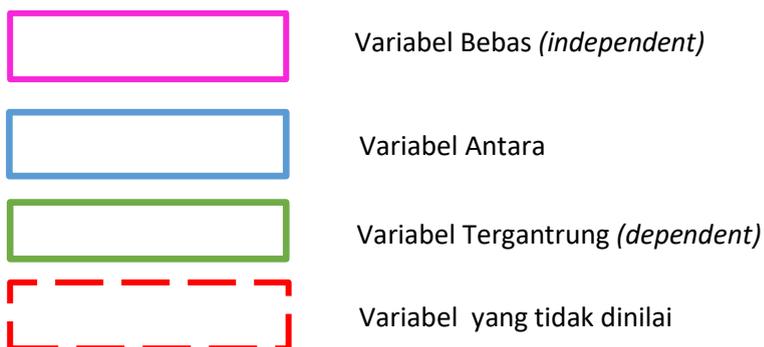
kolagen (proses reepitelisasi) dan angiogenesis sel endotel, yang akan mendukung terjadinya remodeling luka.

### 3.2 Kerangka Konsep



Luka bakar deep dermal diberi perlakuan: Vaseline dibandingkan dengan PRP dan SVFs injeksi dibandingkan dengan PRP & SVFs topikal, kemudian dilakukan pengukuran terhadap kadar VEGF serum.

### 3.3 Variabel



### 3.4 Hipotesis

- VEGF terlibat pada proses percepatan penyembuhan luka bakar.
- Kombinasi SVFs + PRP dapat mempercepat manifestasi klinis penyembuhan luka bakar.

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Luka bakar *deep dermal*

Luka bakar *deep dermal* terdapat bula, tapi dasar bula menunjukkan bagian dermis yang dalam dan bagian retikuler dermis sering tampak bintik-bintik warna merah karena ekstrasvasasi hemoglobin. Secara klinis adalah hilangnya fenomena capillary refill dan tes pinprick negatif.

#### 3.5.2 *Platelet Rich Plasma* (PRP)

Suatu produk darah yang berfungsi mempercepat regenerasi endotelial, epitelial dan epidermal, menstimuli angiogenesis, merangsang sintesa kolagen, mempercepat penyembuhan jaringan lunak, menurunkan jaringan parut pada kulit, mempercepat respon homeostasis pada cedera, dan melawan efek penghambatan penyembuhan luka.

#### 3.5.3 *Stromal Vascular Fraction cell* (SVFs) merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak.

#### 3.5.4 *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan teknik pengujian serologi yang didasarkan pada prinsip interaksi antara antibody dan antigen

#### 3.5.5 Kadar VEGF diperiksa dengan metode ELISA.