

KARYA AKHIR

**EFEK PENAMBAHAN *PLATELET-RICH PLASMA (PRP)*
DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs)
TERHADAP KADAR SERUM *EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF)*
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR FULL THICKNESS TIKUS**

THE EFFECT OF ADDITION OF *PLATELET-RICH PLASMA (PRP)*
AND *STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs)*
ON *SERUM EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF)* LEVEL
ON THE HEALING OF RATS WITH FULL THICKNESS BURN

Jefri Wijaya
C104216107

PEMBIMBING

Dr . dr. Fony Josh, Sp.BP-RE(K)B.Mikro
dr. Joko Hendarto, M.Biomed, Ph.D



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**EFEK PENAMBAHAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN
STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) TERHADAP KADAR
SERUM EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) PADA
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR FULL THICKNESS TIKUS**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis Bedah

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. Jefri Wijaya

C104216107

KARYA AKHIR

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.-1)
PROGRAM ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**EFEK PENAMBAHAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP) DAN
STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS) TERHADAP
KADAR SERUM EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF)
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR FULL THICKNESS
TIKUS**

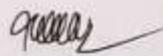
Disusun dan diajukan oleh

Jefri Wijaya
C104216107

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 25 Oktober 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama



Dr. dr. Fanny Josh, Sp.BP-RE(K)B.Mikro
NIP. 19700512 199903 2 004

Pembimbing Pendamping



dr. Joko Hendarto, Ph.D, M.Biomed
NIP. 19801127 200604 1 002

Ketua Program Studi



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



Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. dr. Hary Ph.D, Sp.M (K), M.MedEd
NIP. 196112311995031009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : dr. Jefri Wijaya

NIM : C104216107

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 Oktober 2021

Yang Menyatakan,



dr. Jefri Wijaya

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing yaitu Dr. dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K)Bedah Mikro dan dr. Joko Hendarto, Ph.D, M.Biomed atas segala kesabaran, waktu, bantuan, bimbingan, nasihat, dan arahan yang diberikan selama ini kepada penulis.

Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pula kepada dosen-dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan demi perbaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Kedokteran, Ketua Departemen Ilmu Bedah, Ketua Program Studi Ilmu Bedah, Sekertaris Program Studi Ilmu Bedah, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terimakasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada ayahanda Piter Wijaya dan ibunda Tho Sioe Doan dan keluarga besar lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah mengerti, mendoakan, mendukung dan mencurahkan perhatian yang besar selama penulis menjalani pendidikan ini.

Terimakasih penulis ucapkan untuk rekan angkatan “13 Bersaudara” Juli 2016 atas segala saran, dukungan dan bantuannya selama pendidikan. Terimakasih juga kepada seluruh staf pegawai bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terutama

kepada ibu Andi Esse Tenri Uleng, kak Marlina Rajab, mbak Nunung Mujiwiyanti, rekan-rekan sejawat dan perawat serta staf kamar operasi bedah yang telah banyak membantu selama proses pendidikan penulis.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para Guru Besar dan seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Bedah atas segala bimbingan dan arahnya selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis bedah. Semoga ilmu yang penulis dapatkan selama pendidikan ini dapat diamalkan dan dimanfaatkan sebaik baiknya untuk kepentingan masyarakat luas.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya akhir ini dan tidak menutup kemungkinan penulis mempunyai khilaf dan salah terhadap saudara - saudara yang turut serta dalam penyusunan karya akhir ini, untuk itu penulis mengucapkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya.

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada semua pihak yang turut berperan serta dalam penyelesaian karya akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan rahmat, kesehatan, dan berkat yang melimpah serta semoga karya ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 25 Oktober 2021

Yang Menyatakan,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jeiri Wijaya', with a stylized flourish at the end.

dr. Jeiri Wijaya

ABSTRAK

JEFRI WIJAYA. *Efek Penambahan Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs) terhadap Kadar Serum Epidermal Growth Factor (EGF) pada Penyembuhan Luka Bakar Full Thickness Tikus (dibimbing oleh Fonny Josh dan Joka Hendarto).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian kombinasi PRP dan SVFs terhadap kadar EGF pada penyembuhan luka bakar *full thickness* tikus wistar.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental hewan. Subjek penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mendapat perlakuan luka bakar *full thickness* dan diterapi dengan pemberian kombinasi PRP dan SVFs injeksi, vaselin topikal dan tanpa terapi dengan jumlah 48 ekor periode Mei 2021 sampai dengan Oktober 2021 di laboratorium hewan Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia dan laboratorium HUM-RC Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar EGF secara umum meningkat pada semua kelompok dengan kelompok kombinasi PRP dan SVFs injeksi yang mengalami peningkatan tinggi. Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan peningkatan kadar EGF secara signifikan pada semua hari ($p = 0.006$). Berdasarkan hasil uji regresi linier, kami menemukan bahwa injeksi lokal PRP dan SVFs setelah terjadi luka bakar *full thickness* dapat meningkatkan kadar EGF pada kelompok kombinasi PRP dan SVFs injeksi sebesar 27.3% lebih tinggi daripada kelompok lainnya. Hasil penelitian ini menunjukkan kombinasi PRP dan SVFs dapat meningkatkan kadar EGF dalam proses penyembuhan luka bakar *full thickness*.

Kata kunci: PRP, EGF, SVFs, Penyembuhan Luka, Luka Bakar *Full Thickness*



ABSTRACT

JEFRI WIJAYA *The Effect of Addition of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVFs) on Serum Epidermal Growth Factor (EGF) Level on the Healing of Rats with Full Thickness Burn (supervised by Fanny Josh and Joko Hendarto)*

The aim of this study is to determine the effect of combination of PRP and SVFs on EGF level on the healing of full thickness burn of wistar rats.

This research was an experimental animal study. The subjects were wistar rats (*rattus norvegicus*) receiving full thickness burns and treated with a combination of PRP and SVFs injection, topical Vaseline, and without therapy with a total of 48 animals. This research was conducted in animal laboratory of the Faculty of Medicine, Muslim University of Indonesia and the HUM-RC laboratory, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar from May 2021 to October 2021.

The results show that EGF level generally increase in all groups with a combination of PRP and SVFs injection group experiencing a high increase. The result of One-Way ANOVA test indicates a significant increase in EGF level on all days ($p = 0.006$). Based on the result of linear regression test, it is indicated that local injection of PRP and SVFs after a full thickness burn could increase EGF level in the combination of PRP and SVFs injection group by 27.3% higher than in the other groups. The results of this study indicate that the combination of PRP and SVFs can increase EGF level in the healing process of full thickness burns.

Keywords: PRP, EGF, SVFs, wound healing, full thickness burn



DAFTAR ISI

SAMPUL	I
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL DAN GRAFIK	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
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	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Luka Bakar Dan Penyembuhan Luka	10
2.1.1 Defenisi Luka Bakar	10
2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar	12
2.1.3 Penyembuhan Luka Bakar	16
2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP+SVFs	26
2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP)	26
2.2.2 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)	30
2.2.3 Vaseline	34
2.2.4 Kombinasi PRP+SVFs	35
2.3 Sel Punca (Stem Cell)	35
2.4 Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)	42
2.4.1 Defenisi	42
2.4.2 Klasifikasi	42
2.4.3 Mekanisme Kerja	43
2.4.4 Ekspresi Dan Aktifitas Biologis	46
2.5 Epidermal Growth Factor (EGF)	50
2.5.1 Definisi	50
2.5.2 Klasifikasi	50
2.5.3 Mekanisme Kerja	50
2.5.4 Ekspresi Dan Aktifitas Biologis	51
BAB III KERANGKA PENELITIAN	54
3.1 Kerangka Teori	56
3.2 Kerangka Konsep	57
3.3 Variabel	57

3.4 Hipotesis	58
3.5. Definisi Operasional	58
BAB IV METODE PENELITIAN	59
4.1 Desain Penelitian	59
4.2 Populasi Dan Sampel	59
4.2.1 Metode Penarikan Sampel	59
4.2.2 Jalannya Penelitian	61
4.2.3 Preparasi Platelet Rich Plasma (PRP)	62
4.2.4 Preparasi SVFs	62
4.2.5 Preparasi PRP + SVFs	63
4.2.6 Vaseline	63
4.2.7 Pemodelan Luka Bakar Full Thickness Pada Tikus Wistar	63
4.2.8 Cara Pemberian Injeksi SC Dan Vaseline	64
4.2.9 Cara Sacrifice	65
4.3 Kriteria Inklusi Dan Eksklusi	65
4.3.1 Kriteria Inklusi	65
4.3.2 Kriteria Eksklusi	66
4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian	66
4.5 Cara Pengumpulan Data	66
4.6 Analisis Data	66
4.7 Prosedur Penelitian	67
4.7.1 Pemilihan Alat dan Bahan	67
4.7.2 Preparasi Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)	67
4.7.3 Bahan dan Alat Untuk Pemeriksaan ELISA	67
4.7.4 Prosedur Pemeriksaan ELISA	67
4.8 Etika Penelitian	69
4.9 Alur Penelitian	70
BAB V HASIL PENELITIAN	71
5.1 Analisis Univariat	71
5.2 Analisis Bivariat	73
5.3 Regresi Linier	75
BAB VI PEMBAHASAN	78
6.1 Kadar EGF	79
6.2 Pengaruh Pemberian Terapi Stem Cell (PRP dan SVFs) Terhadap Luka Bakar	82
6.3 Perbedaan Efektivitas Pemberian Terapi Terhadap Luka Bakar	85
BAB VII PENUTUP	87
7.1 Kesimpulan	87
7.2 Saran	87
Daftar Pustaka	88

DAFTAR TABEL DAN GRAFIK

Tabel 1.	Diagnosis Kedalaman Luka Bakar	16
Tabel 2.	Fungsi <i>Fibroblast Growth Factor</i> (FGF)	49
Tabel 3.	Kadar EGF Pada Setiap Kelompok Perlakuan	72
Tabel 4.	Perbandingan Kadar EGF Secara Umum	73
Tabel 5.	Perbandingan Kadar EGF Per Hari	75
Tabel 6.	Hasil Uji Regresi Linier Pemberian PRP+SVFs	76
Tabel 7.	Hasil Uji Regresi Linier Pemberian Vaseline	76
Grafik 1.	Perbandingan Rerata Kadar EGF	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Kedalaman Luka Bakar	15
Gambar 2.	Fase Penyembuhan Luka	17
Gambar 3.	Sitokin Yang Berpengaruh Pada Penyembuhan Luka	20
Gambar 4.	Faktor Pertumbuhan Yang Berpengaruh Pada Penyembuhan Luka	23
Gambar 5.	Hubungan Antara Waktu Munculnya Sel Yang Berbeda-Beda Pada Proses Penyembuhan Luka	26
Gambar 6.	Jenis Sel Punca	39
Gambar 7.	Aktivitas FGF Dalam Penyembuhan Luka	49
Gambar 8.	Ligan EGF Berikatan Pada Reseptor EGF Dan Jalur Aktivasinya	52
Gambar 9.	Sampel Tikus Wistar	61
Gambar 10.	Bahan dan Proses Pemeriksaan	69
Gambar 11.	Alur Penelitian	70
Gambar 12.	Tahap Penyembuhan Luka Dan Molekul Yang Terlibat	81

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- β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
TNF- α/β	: <i>Tumor Necrosis Factor- α/β</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>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
DMEM	: <i>Dulbecco Modified Eagle Media</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</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 (Gillenwater and Garner, 2020). 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 (Toussaint and Singer, 2014). Tujuan dari penanganan luka adalah penyembuhan luka dengan cepat dan memuaskan secara fungsi dan estetik (Barret-Nerin, 2004).

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 *et al.*, 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 inilah yang dapat digunakan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak akibat penyakit atau trauma (Singh *et al.*, 2016). Tentunya hasil yang diharapkan adalah metode ini dapat mempercepat penyembuhan yang nantinya akan memberikan hasil penyembuhan luka bakar full thickness yang bagus dengan masa perawatan menjadi lebih singkat sehingga biaya perawatan dapat lebih rendah (Ghieh *et al.*, 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) (Choi, Minn and Chang, 2012; Darinkas *et al.*, 2017).

SVFs merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak (Comella, Silbert and Parlo, 2017; Darinkas *et al.*, 2017; Gentile *et al.*, 2017). 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* (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Bourin *et al.*, 2013; Gentile *et al.*, 2017). SVFs diketahui dapat memperbaiki penyembuhan luka bakar melalui peningkatan proliferasi sel dan vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblast (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Tantuway *et al.*, 2016; Darinkas *et al.*, 2017).

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, Silbert and Parlo, 2017). SVFs Pertama kali digunakan oleh Matsumoto dkk untuk memperkaya graft lemak pada tikus untuk meningkatkan viabilitas *graft* lemak pada tikus (Karagergou *et al.*, 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, Mizuno and Pallua, 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 (Motamed *et al.*, 2017). 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, Mizuno and Pallua, 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* (V), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *transforming growth factor-b* (TGF-b) yang dilepaskan setelah aktivasi trombosit (El-Sharkawy *et al.*, 2007; Borrione *et al.*, 2010; Choi, Minn and Chang, 2012; Rapisio *et al.*, 2016)

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, Pietrzak and Blanton, 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 *et al.*, 2009). PRP mampu merangsang proliferasi *stem cell undifferentiated* dan diferensiasi sel untuk regenerasi jaringan (Horwitz *et al.*, 2005). Stem cells undifferentiated bermigrasi ke lokasi konsentrasi faktor pertumbuhan PRP, dan faktor pertumbuhan memicu proliferasi sel-sel ini ke daerah luka (Kevy, Jacobson and Benoit, 2001).

Penyembuhan luka secara normal diatur dan urutan prosesnya tumpang tindih: koagulasi, inflamasi, fibroplasia, dan remodelling (Nazzal et

al., 2019). Sitokin adalah para *mesenger* yang memediasi semua peristiwa dari proses penyembuhan dari saat cedera sampai akhir perbaikan jaringan.

Sitokin dari proses

koagulasi dan seluruh proses inflamasi [platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), dan banyak sitokin lain] yang faktor utama dalam penyembuhan luka (McGee et al., 1988).

Epidermal growth factor (EGF) adalah growth factor pertama yang karakter biokimia dan namanya sesuai dengan kemampuannya untuk menstimulasi mitosis dan hipertrofi epidermis kulit (Tarnuzzer et al., 1997). EGF mempunyai kemampuan yang poten mitogenesis untuk sel epidermis, fibroblast dan sel vascular endotelial secara *in vitro*, yang mana ketiga sel tersebut terlibat pada penyembuhan luka. EGF dan TGF- α promote migrasi dari keratinosit manusia (Ju et al., 1993; Rohovsky and D'Amore, 1997) dan EGF adalah faktor kemotaksis sel kornea (Grant et al., 1992; Tarnuzzer et al., 1997) dan sel vascular endothelial serta menstimulasi angiogenesis pada binatang percobaan (Rohovsky and D'Amore, 1997). EGF meningkatkan jumlah deposit ekstraseluler matriks pada jaringan subcutan pada luka di hewan coba dengan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler dan meningkatkan jumlah sel (Tarnuzzer et al., 1997). Pada percobaan klinik dengan pemberian EGF topikal meningkatkan epitelisasi dan memperpendek waktu penyembuhan luka pada skin graft, venous ulcers, dan ulkus kaki diabetik (Bodnar, 2013). Olehnya itu setelah pemberian kombinasi antara PRP

dan SVFs sehingga diharapkan lebih mempercepat penyembuhan luka bakar *full thickness*. 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 untuk menilai efek injeksi intradermal antara kelompok PRP, SVFs, kombinasi antara PRP + SVFs dan kontrol yang diaplikasikan secara intra dermal pada model luka bakar full thickness tikus wistar (kelompok kontrol menggunakan perawatan luka bakar standar vaselin). Kemudian di nilai secara mikroskopik dan makroskopik dimana hasilnya didapatkan bahwa kombinasi antara PRP dan SVFs memiliki laju percepatan penyembuhan yang paling tinggi. Penilaian mikroskopik, 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, masih sedikit data yang membuktikan efek penyembuhan luka bakar full thickness yang diberikan stem cell kombinasi PRP + SVFs dibandingkan dengan perawatan luka moist standar (vaselin).

Hal ini yang melatarbelakangi untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menilai kuantitas penyembuhan luka bakar full thickness baik secara mikroskopis maupun secara makroskopis dan menilai kadar EGF pada model tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP + SVF injeksi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbandingan efektivitas kombinasi *Platelet rich plasma* (PRP) dan *Stromal vascular fraction* (SVFs) injeksi dengan perawatan vasetopikal dalam mempercepat penyembuhan luka bakar *full thickness* pada model tikus wistar?
2. Bagaimana perbandingan kadar serum *epidermal growth factor* (EGF) pada model tikus wistar dengan luka bakar *full thickness* yang diberikan kombinasi *Platelet rich plasma* (PRP) dan *Stromal vascular fraction* (SVFs) injeksi dan perbandingan dengan perawatan vasetopikal?

3. Bagaimana hubungan antara kadar serum *epidermal growth factor* (EGF) dengan kuantitas penyembuhan luka bakar *full thickness* tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas pemberian kombinasi PRP dan SVFs dalam mempercepat proses penyembuhan luka bakar dan hubungannya dengan peningkatan kadar EGF dalam serum.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan efektivitas kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVFs) injeksi dengan perawatan vaselintopikal dalam mempercepat penyembuhan luka bakar *full thickness* pada model tikus wistar.
2. Untuk membuktikan perbedaan kadar serum *epidermal growth factor* (EGF) pada model tikus wistar dengan luka bakar *full thickness* yang diberikan kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVFs) injeksi dibandingkan dengan pemberian vaselintopikal.
3. Untuk membuktikan bahwa kadar serum *epidermal growth factor* (EGF) ada hubungan dengan kuantitas penyembuhan luka bakar *full thickness* tikus wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan referensi penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP + SVF injeksi 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 (Anderson, Mandell and Gibran, 2019; Gillenwater and Garner, 2020). 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 (ANZBA, 2016; Gillenwater and Garner, 2020). Secara garis besar penyebab terjadinya luka bakar dapat dibagi menjadi (Barret-Nerin, 2004; Moenadjat *et al.*, 2013; ANZBA, 2016; Gillenwater and Garner, 2020):

- 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 cedera 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 resusitasidan adanya infeksi pada luka. Selain api yang langsung menjilat tubuh, baju yang ikut terbakar juga memperdalam luka bakar (Benson, Dickson and Boyce, 2006; ANZBA, 2016; Gillenwater and Garner, 2020). 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*, *full thickness* atau *full thickness*(ANZBA, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

A. *Luka Bakar Superficial Dermal*

Adalah luka bakar yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan diri sendiri secara spontan dengan cara proses epithelialisasi (ANZBA, 2016).

1. *Epidermal Burns*

Epidermal burns hanya terkena bagian epidermis. Penyebab umum dari luka bakar ini adalah sinar matahari dan luka kecil akibat ledakan. 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. Luka bakar ini menyembuh secara cepat (dalam tujuh hari), tanpa meninggalkan jejas berakibat ke kosmetik (ANZBA, 2016).

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. 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. 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 (ANZBA, 2016).

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-sel epitel yang bertahan hidup mampu re-epitelisasi 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*(ANZBA, 2016).

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 full thickness dan luka bakar full thickness (ANZBA, 2016).

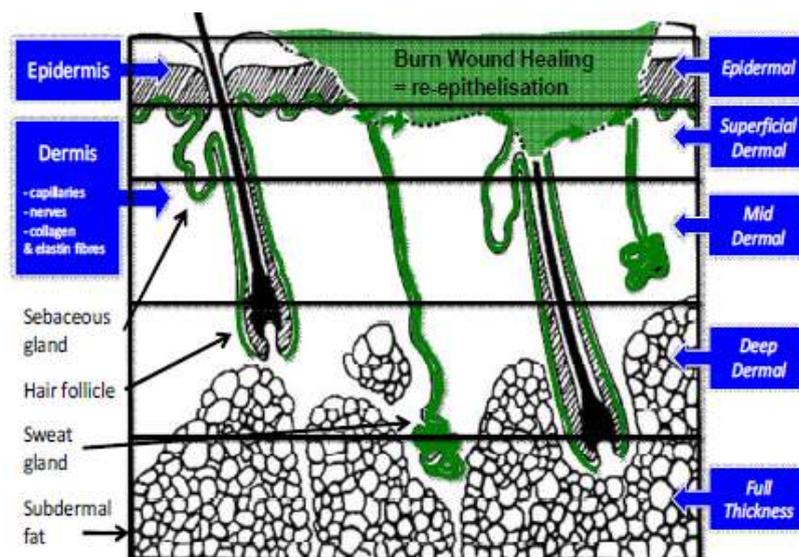
1. Deep Dermal Burns

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. Bintik warna merah ini karena ekstrasvasi 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* (ANZBA, 2016).

2. Full Thickness Burns

Luka bakar *full thickness* merusak kedua lapisan kulit (epidermis dan dermis), dan dapat menembus lebih dalam ke dasar struktur kulit. 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. Kulit mati yang mengalami koagulasi tampak kasar yang disebut Eschar (ANZBA, 2016).



Gambar 1. Kedalaman Luka Bakar (ANZBA, 2016)

Tabel 1.Diagnosis Kedalaman Luka Bakar (ANZBA, 2016)

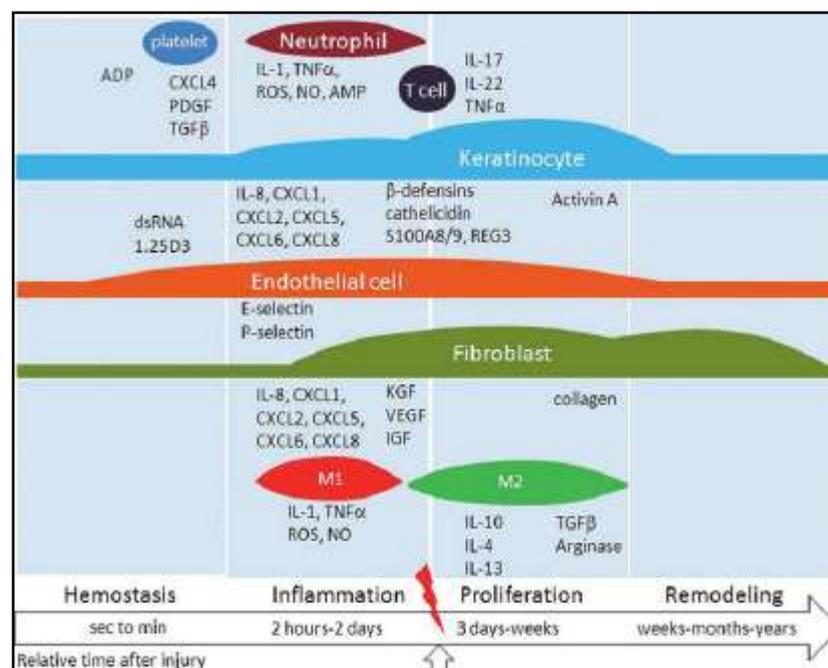
Kedalaman	Warna	Bula	Capillary Refill	Sensasi	Penyembuhan
Epidermal	Merah	Tidak ada	Cepat	Nyeri	Ya
Superficial Dermal	Merah muda pucat	Ada	Cepat	Nyeri	Ya
Mid Dermal	Merah muda gelap	Ada	Lambat	±	Pada umumnya
Full thickness	Merah berbintik-bintik	±	Tidak ada	Tidak ada	Tidak
Full Thickness	Putih	Tidak	Tidak ada	Tidak ada	Tidak

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 (Nazzal *et al.*, 2019). 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 (Patel *et al.*, 2015; Shpichka *et al.*, 2019). Penyembuhan luka paling baik dipahami secara menyeluruh sebagai respon organisme terhadap cedera, tanpa melihat apakah lokasinya pada kulit, hati atau jantung (Rohovsky and D'Amore, 1997; Cervelli *et al.*, 2010; Nazzal *et al.*, 2019).

Terdapat dua proses yang penting dalam terjadinya proses homeostasis. 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

terbentuknyascar. Proses yang kedua adalah rekapitulasi proses awal pembentukan organ yang cedera. Arsitektur organ asal dibentuk kembali, dengan mengaktifkan kembali jalur pembangunan. Ini merupakan proses regenerasi (Nazzal *et al.*, 2019). Penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling (MacLeod and Mansbridge, 2016; Oryan, Alemzadeh and Moshiri, 2017; Nazzal *et al.*, 2019).



Gambar 2.Fase penyembuhan luka(MacLeod and Mansbridge, 2016)

➤ 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 (MacLeod and Mansbridge, 2016; Nazzal *et al.*, 2019).

Paparan kolagen subendothelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi menghasilkan bekuan fibrin. Granul-granul *platelet- α* melepaskan sejumlah zat kimia seperti platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), 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- α (TNF- α), TNF- β , 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 (MacLeod and Mansbridge, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

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 netrofil, 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 (MacLeod and Mansbridge, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

CYTOKINE	CELL SOURCE	FUNCTION	Type of Wound	
			ACUTE	CHRONIC
Proinflammatory Cytokines				
TNF- α	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- γ	T lymphocytes, macrophages	Activates macrophages and PMNs, retards collagen synthesis and cross-linking, stimulates collagenase activity		
Anti-inflammatory Cytokines				
IL-4	T lymphocytes, basophils, mast cells	Inhibition of TNF- α , IL-1, IL-6 production; fibroblast proliferation, collagen synthesis		
IL-10	T lymphocytes, macrophages, keratinocytes	Inhibition of TNF- α , IL-1, IL-6 production, inhibition of macrophage and PMN activation		

Gambar 3. Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka (Rumalla and Borah, 2001)

➤ 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 (Nauta *et al.*, 2013; MacLeod and Mansbridge, 2016).

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 fibronectin, 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 kontraktif miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal (MacLeod and Mansbridge, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk basic fibroblast growth faktor(bFGF), asidic FGF (aFGF), transforminggrowth factor α - β (TGF α - β) 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(Gillenwater and Garner, 2020).

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- β (including isoforms β_1 , β_2 , and β_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- β 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- α	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 4. Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka (Nazzal *et al.*, 2019) HA: Hyaluronic acid

➤ Fase Remodeling

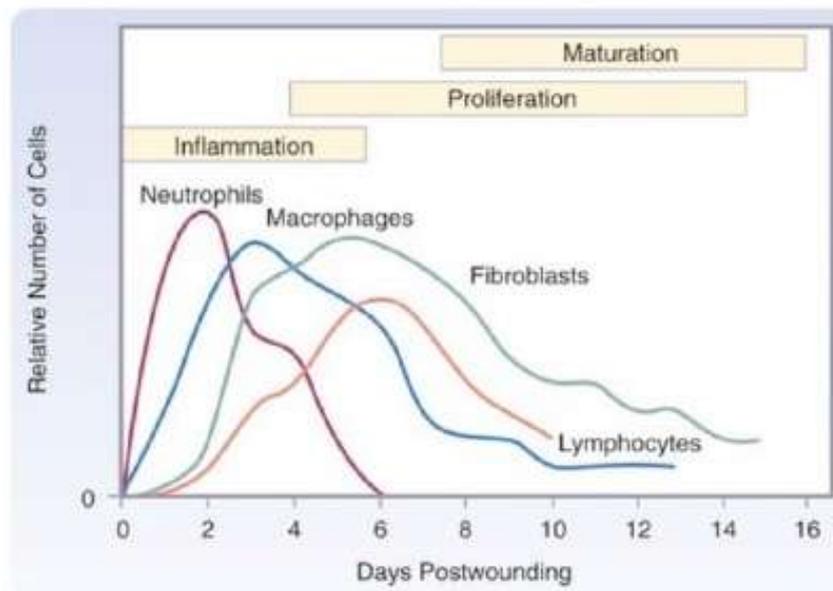
Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang 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 perupa 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. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangannya yang ada (Rohovsky and D'Amore, 1997; Moenadjat *et al.*, 2013).

Pada manusia, remodeling ditandai oleh dua proses yaitu kontraksi luka dan remodeling kolagen. Proses kontraksi luka dihasilkan oleh miofibroblast, yang miofibroblast dengan intraseluler aktin mikrofilamen mampu mendorong pembentukan dan kontraksi matriks. Miofibroblast menghubungkan luka melalui interaksi spesifik secara langsung dengan matriks kolagen (Lawrence, 1998; Nazzari *et al.*, 2019). 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 sebagai 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 sinovial, dan beberapa sel epitel. Sekresinya dipicu oleh growth factor (PDGF, FGF), sitokin (IL-1, TNF), dan fagositosis dalam makrofag dan di hambat oleh TGF- β

dan steroid (Herndon *et al.*, 1997). 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 mesenkim, 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 (Witte and Barbul, 1997; Lawrence, 1998; MacLeod and Mansbridge, 2016).

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 (McGee *et al.*, 1988; Lawrence, 1998).



Gambar 5. 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 (Witte and Barbul, 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/ μ l dengan volume 5 ml plasma (Li *et al.*, 2009; Tohidnezhad *et al.*, 2011). PRP diketahui mengandung 7 macam faktor pertumbuhan yaitu: TGF- β , bFGF, PDGFa, PDGFb, EGF, VEGF (Gentile *et al.*, 2017; Rah *et al.*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran *growth factor* dalam meningkatkan proses regenerasi jaringan luka dengan memeriksa epitelisasi, fibroblast dan neovaskular jaringan menggunakan pemeriksaan histologi (Tohidnezhad *et al.*, 2011; Kim *et*

al., 2014; Tajima *et al.*, 2014). 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 (Borrione *et al.*, 2010; Gentile *et al.*, 2017). TGF- β 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 *et al.*, 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 (Bakacak *et al.*, 2016). 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 (Nikolidakis and Jansen, 2008). 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. (Kim *et al.*, 2014; Raposio *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 (Zuk *et al.*, 2002). Sejak saat itu PRP telah berkembang dan dipakai untuk mengobati berbagai cedera akibat olahraga (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *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, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *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 (Raposio *et al.*, 2016). 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 (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009). Banyak ahli ingin mendapatkan berbagai manfaat faktor pertumbuhan dan menggunakan beberapa metode untuk mengekstraksi faktor pertumbuhan tersebut, salah satunya dengan membuat PRP (Kim *et al.*, 2014; Raposio *et al.*, 2016).

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 (Kim *et al.*, 2014). 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 (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *et al.*, 2014). Meskipun demikian, terdapat beberapa laporan mengenai efektivitas PRP untuk luka bakar. Melaporkan bahwa pemberian PRP pada 10 pasien dengan luka bakar pada mata mempercepat re-epitelisasi pada kelopak mata dan kornea(Choi, Minn and Chang, 2012; Ghieh *et al.*, 2015; Raposio *et al.*, 2016).

Namun PRP menginduksi respons inflamasi hebat pada luka bakar dan dikhawatirkan akan menstimulasi pembentukan jaringan granulasi berlebihan atau parut hipertrofik (Shpichka *et al.*, 2019). 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, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *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, subtype leukosit, sel

limfatik, pericytes, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular (Zuk *et al.*, 2002; Choi, Minn and Chang, 2012; Bourin *et al.*, 2013; Darinkas *et al.*, 2017). SVFs diproses sedemikian rupa sehingga mengandung komposisi sel heterogen konsisten yang dapat diproduksi 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 (Zuk *et al.*, 2002; Han *et al.*, 2010; Darinkas *et al.*, 2017).

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 *et al.*, 2002). Sejak laporan awal pada akhir 1960-an, beberapa laboratorium telah menetapkan bahwa sel stroma yang serupa dengan yang teridentifikasi dalam sumsum tulang dapat diisolasi dengan cara yang dapat direproduksi dari jaringan adiposa yang dapat direseksi sebagai jaringan utuh atau disedot dengan *liposuction* (Gimble and Guilak, 2003; Gimble, Katz and Bunnell, 2007). Umumnya jaringan adiposa dicerna oleh suatu kolagenase, tripsin atau enzim terkait (Bourin *et al.*, 2013).

Setelah netralisasi enzim, unsur yang dilepaskan didefinisikan sebagai SVFs, dipisahkan dari adiposit matang dengan sentrifugasi.

SVFsterdiri 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 (Josh *et al.*, 2012). Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang sejenis disebut ASCs. ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts (Josh *et al.*, 2012; Bourin *et al.*, 2013). 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* (Ferraro, Mizuno and Pallua, 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 (Gimble, Katz and Bunnell, 2007; Bourin *et al.*, 2013). Metode untuk mengisolasi SVFs menggunakan teknik mekanis dan nonenzimatik 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 *et al.*, 2012; Ferraro, Mizuno and Pallua, 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 (Baglioni *et al.*, 2009). 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 (Cerqueira, Pirraco and Marques, 2016). 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 (Foubert *et al.*, 2016).

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 (Petry *et al.*, 2017). 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 (Ghadially, Halkier-Sorensen and Elias, 1992). Pada dasarnya Vaseline petroleum jelly berfungsi untuk memperbaiki fungsi sel-sel pada kulit, dari fungsi inilah banyak sekali manfaat yg bisa kita dapat dari vaseline petroleum jelly. Vaseline mengandung 100% Petroleum Jelly yang berfungsi (Sethi *et al.*, 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, menunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada berbagai faktor pertumbuhan yang penting, seperti bFGF, dan PDGF, yang merangsang proliferasi sel induk (Chieregato *et al.*, 2011; Said *et al.*, 2019).

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 (Zhang *et al.*, 2011; Van Pham *et al.*, 2013).

2.3 Sel Punca (Stem Cell)

Perkembangan penelitian sel punca dimulai sejak tahun 1961, pada saat itu terapi pengobatan menggunakan sel punca pertama kali berhasil dilakukan transplantasi sumsum tulang pada tahun 1968. Pada tahun 1980-an berhasil dibuat sel punca embrio dari tikus di laboratorium, di tahun 1988 berhasil di isolasi sel punca embrio dari hamster, di tahun 1998 pertama kali berhasil di isolasi sel dari massa sel embrio dini dan dikembangkan sel punca embrio serta berhasil di isoalsi sel germinal berasal dari sel dalam jaringan gonad janin (manusia), dan pada tahun 1995 ditemukan sumber sel punca pluripoten (Fu *et al.*, 2006). Penelitian sel punca terus dikembangkan untuk berbagai jenis terapi penyakit khususnya penyakit degeneratif, hingga kini banyak negara di dunia antara lain Eropa, Amerika, Jepang, Korea dan Singapura

telah memakai sel punca sebagai terapi pilihan bagi penyakit kelainan hematologi maupun penyakit degeneratif (Rosenstrauch *et al.*, 2005).

Sesuai dengan kata yang menyusunnya (*stem*: batang; *cell*: sel), stem cell adalah sel yang menjadi awal mula dari pertumbuhan sel lain yang menyusun keseluruhan tubuh makhluk hidup, termasuk manusia. Seperti batang pohon yang menjadi tumpuan bagi pertumbuhan ranting dan daunnya, *stem cell* juga merupakan awal dari pembentukan berbagai jenis sel penyusun tubuh (Kirschstein, 2001; Shpichka *et al.*, 2019). Sel Punca merupakan sel dari embrio, fetus, atau sel dewasa yang berkemampuan untuk memperbanyak diri sendiri dalam jangka waktu yang lama, belum memiliki fungsi spesifik, dan mampu berdiferensiasi menjadi tipe sel tertentu yang membangun sistem jaringan dan organ dalam tubuh (Tsien, 2006).

Karakteristik Sel Punca

Untuk dapat digolongkan sebagai sel punca, harus memiliki beberapa karakteristik (Chiericato *et al.*, 2011): belum berdiferensiasi (*undifferentiated*), mampu memperbanyak diri sendiri (*self renewal*) dan dapat berdiferensiasi menjadi lebih dari 1 jenis sel (*multipoten/pluripoten*).

Belum Berdiferensiasi (*undifferentiated*)

Sel Punca yang belum memiliki bentuk dan fungsi spesifik seperti sel-sel lain di tubuh manusia. Sel-sel spesifik contohnya sel otot jantung (berdenyut), neuron (menghantarkan impuls), sel β pancreas (mengeluarkan hormon). Terdapat bukti ilmiah yang menunjukkan bahwa populasi sel punca dalam

suatu jaringan matur, tampak sebagai suatu populasi sel inaktif, yang fungsinya baru terlihat dalam waktu dan kondisi tertentu (Tsien, 2006).

Mampu memperbanyak diri (*self renewal*)

Sel Punca dapat melakukan replikasi dan menghasilkan sel berkarakteristik sama dengan sel induknya. Kemampuan memperbanyak diri dan menghasilkan sel-sel yang sama seperti induknya ini tidak dimiliki oleh sel-sel tubuh lainnya seperti sel jantung, otak maupun sel pankreas. Kemampuan ini tidak dipunyai oleh sel-sel jantung, neuron dan pankreas. Itulah sebabnya apabila jaringan dalam jantung, otak, maupun pankreas mengalami kerusakan, maka pada umumnya kerusakan tersebut bersifat irreversible (Cerqueira, Pirraco and Marques, 2016).

Dapat berdiferensiasi menjadi > 1 jenis sel (*Multipoten/Pluripoten*)

Keberadaan sel punca yang belum berdiferensiasi dimaksudkan untuk menjaga kontinuitas regenerasi populasi sel yang menyusun dan organ tubuh. Dibanding sel matur lainnya, sel punca mampu untuk berdiferensiasi menjadi > 1 jenis sel tubuh (Kirschstein, 2001). Sel punca bersifat *pluripoten, multipoten* atau *oligopoten* bergantung pada jenis dari sel punca tersebut (Schöler, 2016).

Stem cell merupakan sel yang paling berharga untuk pengobatan regeneratif. Penelitian tentang sel punca memberikan pengetahuan lanjut tentang bagaimana suatu organisme berkembang dari satu sel, dan bagaimana kualitas sel yang menggantikan sel lain yang rusak pada organ dewasa

(Raposio *et al.*, 2016). Sel punca memiliki kemampuan untuk secara berkesinambungan membelah baik untuk replikasi dirinya sendiri atau menghasilkan sel-sel khusus yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel atau jaringan (*multilineage differentiation*) (Chiericato *et al.*, 2011).

Jenis sel punca yaitu sel embrionik dan sel punca dewasa yang banyak terdapat dalam sumsum tulang, namun pada penelitian lebih lanjut ditemukan juga bahwa ternyata sel punca dapat pula diisolasi dari darah tali pusat, darah perifer hepar, kulit, maupun pulpa dari gigi, dan bahkan dari jaringan lemak yang pada umumnya merupakan limbah buangan sisa operasi *liposuction* serta dari *human embryonic stem cell* (hESC) (Aleckovic and Simon, 2008).

Berdasarkan potensi atau kemampuan berdiferensiasi, sel punca digolongkan menjadi (Schöler, 2016):

- ***Totipoten***

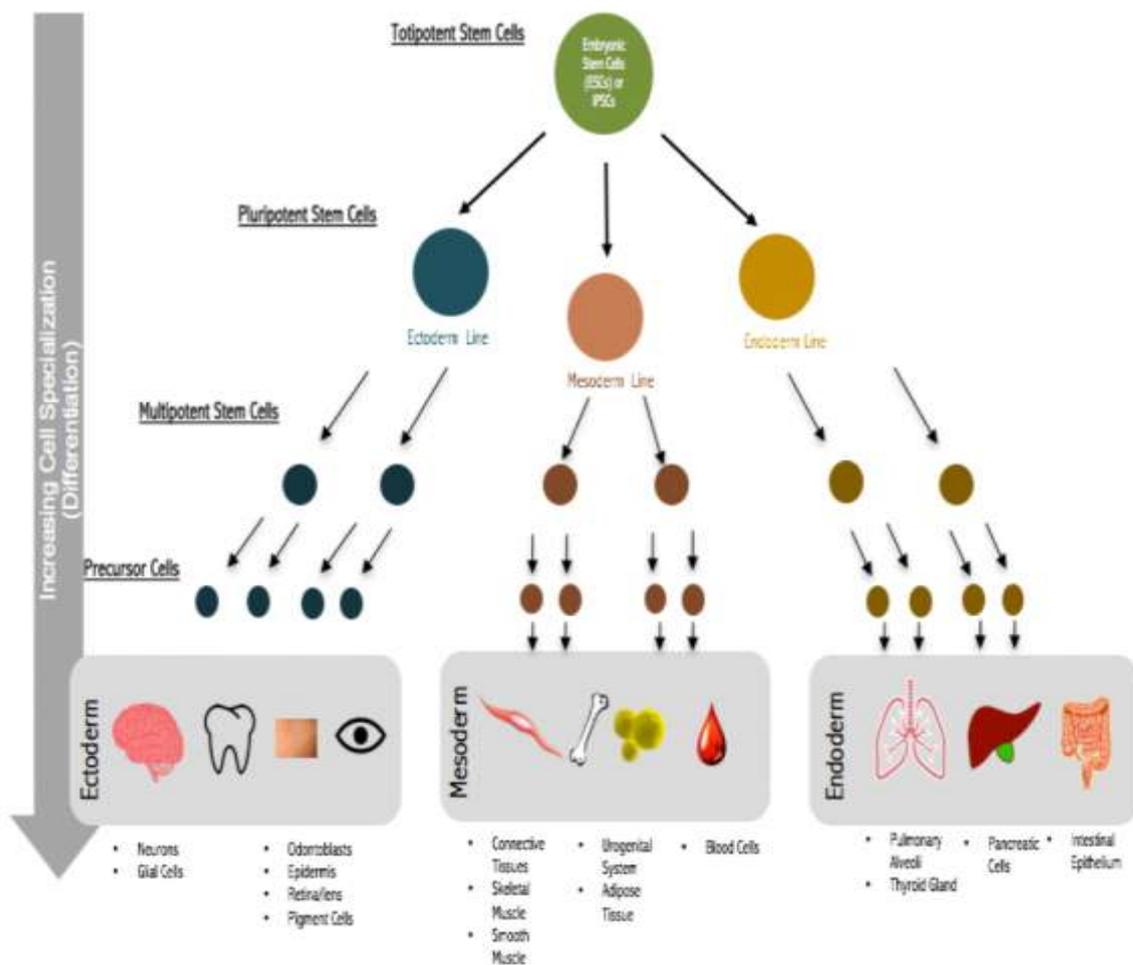
yaitu sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi organ hidup yang lengkap, termasuk dalam golongan ini adalah zigot (telur yang telah dibuahi).

- ***Pluripoten***

yaitu sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi tiga lapisan germinal: ektoderm, mesoderm, dan endoderm, tapi tidak dapat menjadi jaringan ekstra embryonik seperti plasenta dan tali pusat, termasuk golongan ini adalah sel punca embryonik.

- **Multipoten**

yaitu sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi banyak jenis sel, misalnya: sel punca hematopoietik. *Unipoten*, yaitu sel punca yang hanya dapat menghasilkan satu jenis sel, tapi berbeda dengan non sel punca, jenis *unipoten* ini hanya mempunyai sifat dapat memperbaharui atau meregenerasi diri.



Gambar 6.Jenis Sel Punca (Hayes *et al.*, 2012)

Sedangkan berdasarkan sumber asal *stem cell* diperoleh di berbagai jaringan tubuh, *stem cell* dibagi menjadi: *zygote*, yaitu pada tahap sesaat setelah sperma bertemu dengan sel telur, *stem cell embryonik* yang diperoleh dari *inner cell mass* dari suatu *blastocyst* (embrio yang terdiri dari 50-15 sel, kira-kira hari ke-5 pasca pembuahan) (Wobus and Boheler, 2005). *Stem cell embryonik* umumnya diperoleh dari sisa embrio yang tidak dipakai pada IVF (*in vitro fertilization*) (Wobus and Boheler, 2005). Tapi saat ini telah dikembangkan teknik pengambilan *stem cell embryonik* yang tidak membahayakan embrio tersebut, sehingga dapat bertahan hidup dan bertumbuh. Untuk masa depan hal ini mungkin dapat mengurangi kontroversi etik terhadap sel punca *embryonik* (Lo and Parham, 2009).

Sel punca dewasa merupakan sel-sel yang tidak berdiferensiasi dan ditemukan pada jaringan yang telah mengalami diferensiasi, serta mampu memperbaharui dirinya sendiri selama seumur hidup mikroorganisme tersebut (Zakrzewski *et al.*, 2019). Peran sel punca dewasa adalah untuk mempertahankan dan memperbaiki jaringan tubuh di tempat sel punca ditemukan. Secara umum, *stem cell* dewasa dianggap memiliki potensi terbatas untuk menjadi jenis sel apapun dalam tubuh, dengan kata lain hanya dapat menghasilkan varietas tipe sel dalam garis keturunan atau jenisnya sendiri dan dianggap multipotensial. Terdapat dua karakteristik yang dimiliki oleh *stem cell* diantaranya adalah dapat menghasilkan sel yang serupa dengan dirinya dalam periode waktu yang panjang, kemampuan tersebut dikenal sebagai pembaharuan diri jangka panjang. Selain itu, sel tersebut dapat menghasilkan jenis sel dewasa mampu membentuk sel-sel yang

berdiferensiasi sempurna dengan fenotip yang matang, mempunyai integrasi sempurna dengan jaringan dan mampu menjalankan fungsi khusus sesuai dengan jaringan tersebut (Schöler, 2016). Umumnya peneliti mengidentifikasi sel punca dewasa dengan cara mengandalkan dua karakteristik yaitu morfologi sel dan identifikasi penanda permukaan (Widowati and Widyanto, 2013).

Beberapa sel punca dewasa memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel jaringan lain selain jaringan asalnya atau disebut sebagai plastisitas atau transdiferensiasi (Hombach-Klonisch *et al.*, 2008). Untuk menunjukkan bahwa sel punca dewasa mempunyai sifat plastisitas, harus diidentifikasi terlebih dahulu bahwa pada populasi sel jaringan awal terdapat sel punca, kemudian dibuktikan bahwa sel punca dewasa mampu menghasilkan jenis sel normal jaringan lain, dan potensi ini dapat dideteksi pada lingkungan yang baru. Sel ini harus dapat berintegrasi dengan lingkungan barunya, bertahan dan berfungsi seperti sel dewasa yang lain pada jaringan tersebut. Sel punca dewasa merupakan sel multipotensial karena dapat menghasilkan seluruh jenis sel yang memiliki hubungan dengan jaringan asalnya (Widowati and Widyanto, 2013).

Sel Punca yang digunakan pada penelitian ini, adalah PRP dan SVFs yang di isolasi dan kultur dari darah serta lemak tikus wistar. Diproduksi oleh HUM-RC RSPTN Universitas Hasanuddin, Makassar. Sel punca PRP dan SVFs ini diambil dari darah dan lemak tikus wistar umur antara 10 minggu. Standar operasional prosedur sesuai Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.4 Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)

2.4.1 Definisi

Adalah anggota dari keluarga *fibroblast growth factor* (FGF). FGF anggota keluarga heparin mengikat faktor pertumbuhan yang berfungsi sebagai mediator penting dalam penyembuhan luka. FGF sebagai polipeptida tunggal dengan berat molekul yang berbeda dan memiliki efek mitogenic dan angiogenesis (Baird, 1997; Holland and Varmus, 1998; Powers, McLeskey and Wellstein, 2000; Komi-Kuramochi *et al.*, 2005).

2.4.2 Klasifikasi

Gen FGF manusia / tikus terdiri dari 22 anggota keluarga. Pada tikus (FGF1–18, 20–23) dan pada manusia (FGF1–14, 16–23) (Itoh and Ornitz, 2008; Yun *et al.*, 2010; Patel, Duttaroy and Kacheriwala, 2014). Kebanyakan FGFs menengahi respon biologis mereka melalui protein ekstraseluler yang mengikat dan mengaktifkan reseptor sel permukaan tirosin kinase FGF (FGFRs) (Itoh and Ornitz, 2004, 2008; Thisse and Thisse, 2005). Namun, FGFs 11 – 14 berfungsi sebagai protein intraseluler, selanjutnya disebut sebagai iFGFs, dan bertindak dalam reseptor FGF (FGFR)-secara independen (Goldfarb, 2005).

Berat molekul FGFs pada vertebrata bervariasi dari 17 hingga 34 kDa. Semua anggota keluarga mempunyai urutan 120 asam amino yang menunjukkan 16%-65% urutan identitas (Eswarakumar, Lax and Schlessinger, 2005; Yun *et al.*, 2010).

2.4.3 Mekanisme Kerja

FGFs secara fisiologis berperan melalui ikatan pada *FGF receptors* (FGFR) dan mengatur jalur perkembangan, mengendalikan pola perubahan mesoderm pada awal masa embrio melalui pengembangan beberapa sistem organ. Pada mamalia yang termasuk keluarga FGF terdiri dari 18 ligan yang efek tindakan mereka melalui empat transmembran tirosin kinase reseptor (FGFR1, FGFR2, FGFR3, dan FGFR4) (Turner and Grose, 2010; Yun *et al.*, 2010). Empat FGFRs telah diidentifikasi pada manusia dan tikus dan encode reseptor tirosin siklin (ca. 800 asam amino) yang berisi mengikat ligan domain ekstraseluler dengan tiga domain immunoglobulin (I, II, dan III), domain transmembran, dan split intraseluler tirosin kinase domain (Yun *et al.*, 2010). FGFRs di ekspresikan oleh banyak jenis sel yang berbeda dan sebagai kunci pengatur perilaku sel, seperti proliferasi, differensiasi, dan survival sel, yang membuat signaling FGF rentan subversi oleh sel-sel kanker. Tidak seperti faktor pertumbuhan lain, FGFs berfungsi bila berikatan dengan heparin atau heparan sulfat proteoglycan (HSPG) untuk mengaktifkan FGFRs dan menginduksi respon pleiotropic yang mengarah ke berbagai respons selular yang diinduksi oleh faktor pertumbuhan lain (Eswarakumar, Lax and Schlessinger, 2005; Yun *et al.*, 2010).

FGFs bertindak sebagai molekul sinyal yang berikatan dan mengaktifkan FGFRs. FGFRs yang teraktivasi sebagai sinyal mediator dengan merekrut molekul spesifik yang mengikat tirosin phosphorilase pada bagian reseptor

sitosol, memicu sejumlah jalur signaling yang mengarah ke respon selular yang spesifik (Yun *et al.*, 2010):

- Jalur RAS/MAP Kinase adalah Serin/Treonina-specific protein kinase yang menanggapi rangsangan ekstraseluler (mitogen) dan mengatur aktivitas selular seperti ekspresi gen, mitosis, differentiation, dan sel survival/apoptosis (Pearson *et al.*, 2001; Yun *et al.*, 2010). Jalur utama sinyal FGF adalah jalur RAS/MAP kinase, yang berisi banyak signaling protein. Kunci penting jalur FGF adalah fosforilasi residu tirosin, faktor pertumbuhan fibroblast reseptor substrat 2 α (FRS2 α), yang menyediakan tempat-tempat pengikatan protein yang baru baik secara langsung atau tidak langsung bertanggung jawab untuk aktivasi dan inhibisi sinyal (Wong *et al.*, 2002; Yun *et al.*, 2010). FRS2 α merekrut struktur yang kompleks terdiri dari protein adaptor, guanine nucleotide exchange factor 2 (GRB2), the son of sevenless (SOS), tirosin fosfatase (SHP2), dan protein docking, GRB2-associated binding protein 1 (GAB1). Pembentukan FRS2 sinyal kompleks mengakibatkan aktivasi RAS/MAP kinase (Dailey *et al.*, 2005; Yun *et al.*, 2010).
- Jalur PI3 Kinase/AKT. Mirip dengan jalur kinase RAS/MAP, jalur phosphoinositide 3 (PI3) kinase/AKT dimulai dengan membentuk FRS2 sinyal kompleks. Selanjutnya, protein link GAB1 diaktifkan FGF reseptor dengan PI3 kinase. GAB1 terdiri dari domain

Homologi pleckstrin, daerah kaya prolin dan beberapa situs fosforilasi tirosin yang berfungsi sebagai situs pengikatan untuk domain SH2. Subunit katalis p110 dari PI3 kinase berada di dalam kompleks dengan protein adaptor (p85) yang memiliki dua SH2 domain; dengan demikian p85 berikatan dengan residu phosphorylated tirosin GAB1 adaptor protein. Jalur kinase AKT PI3 terlibat dalam kelangsungan hidup sel (*survival*) dan kematian sel (Yun *et al.*, 2010).

- Jalur PLC γ . Salah satu molekul target untuk diaktifkan FGFR adalah phospholipase C gamma (PLC γ), yang mengikat reseptor Tyr-766 phosphorylated dan kemudian menjadi tirosin fosforilasi PLC γ , mengakibatkan aktivasi PLC γ . Aktivasi PLC γ menghidrolisis phosphatidylinositol, menghasilkan inositol trifosfat (IP3) dan diacylglycerol (DAG) (Yun *et al.*, 2010). IP3 adalah messenger seluler kedua yang memfasilitasi pelepasan kalsium dari endoplasma. Peningkatan bersama kadar kalsium dan sitosol DAG mengaktifkan protein kinase C (PKC). Relevansi fisiologis jalur ini adalah untuk adhesi dan migrasi beberapa jenis sel (Kolkova *et al.*, 2000; Yun *et al.*, 2010).
- Jalur Janus kinase/*signal transducers and activators of transcription* (JAK/STAT). JAK/STAT cascade adalah jalur yang paling sederhana. Pengikatan ligan ekstraseluler ke jalur aktivasi melalui perubahan reseptor mengakibatkan intraselular JAKs yang

berkaitan dengan mereka untuk terjadi fosforilasi satu sama lain. Transfosforilasi JAKs kemudian terjadi fosforilasi substrat ke hilir, termasuk reseptor JAKs dan STATs. STATs yang teraktivasi masuk ke nukleus dan mengikat sebagai dimers atau kompleks oligomer penambah tertentu dalam gen target dan mengatur transkripsi mereka. Tanggapan ini termasuk proliferasi, diferensiasi, migrasi, apoptosis, dan kelangsungan hidup sel, tergantung pada sinyal, Jaringan, dan konteks selular (Harrison, 2012).

2.4.4 Ekspresi dan Aktifitas Biologis

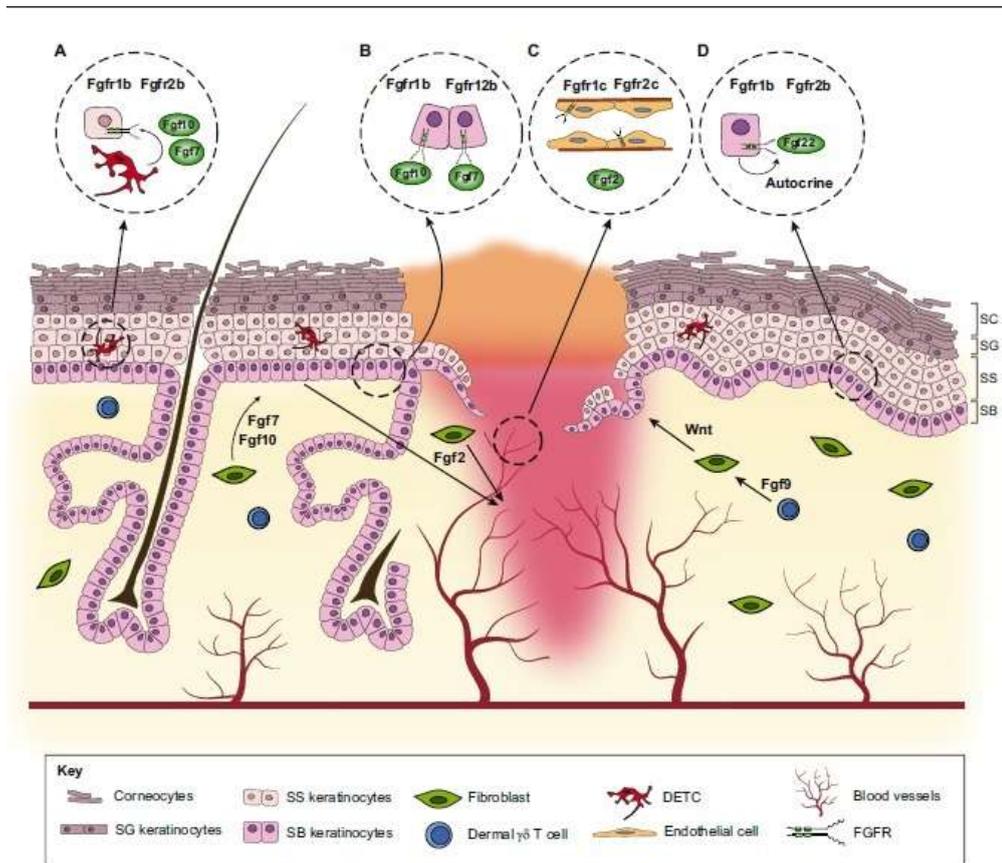
FGFs berperan secara fisiologis dengan mengikat tirosin kinase FGFRs afinitas secara tinggi pada permukaan sel target. Oleh karena itu, fungsi FGFs tergantung pada jalur sinyal FGF antara keluarga FGF dan FGFRs. Banyak penelitian melaporkan bahwa FGFs memiliki fungsi untuk proliferasi sel, migrasi, differentiation, dan angiogenesis di berbagai sel dan jaringan. Tabel 2 meringkas fungsi FGFs (Yun *et al.*, 2010).

- Proliferasi sel. Proliferasi sel oleh FGFs telah dilaporkan di berbagai jenis sel, termasuk sel-sel endotel, stem sel, dan sel-sel epitel. FGF2 menginduksi proliferasi sel setelah transfer gen flia-specific pada tikus (Holland and Varmus, 1998) dan merangsang proliferasi dan survival sel-sel neuroepithelial yang terisolasi dari telencephalon dan mesencephalon tikus (Yun *et al.*, 2010). FGF7 (sering disebut KGF manusia) berhubungan dengan pertumbuhan sel epithelial (Finch *et al.*, 1989).

- Migrasi sel. Migrasi sel adalah proses utama dalam perkembangan dan pemeliharaan organisme multisel. Pembentukan jaringan selama perkembangan embrio, penyembuhan luka, dan respon imun semua memerlukan pengaturan gerakan sel khususnya petunjuk arah ke lokasi spesifik. Sel sering bermigrasi sebagai respon untuk dan terhadap sinyal eksternal spesifik yang dikenal sebagai *chemotaxis*. Migrasi sel antar famili FGFs bervariasi. FGF1 dan FGF2 memainkan peran penting dalam migrasi neuron koklea ganglion pada tikus (Yun *et al.*, 2010). FGF2 menginduksi migrasi sel setelah transfer gen *flia* khusus pada tikus (Holland and Varmus, 1998). FGF7 diketahui merangsang aktivitas migrasi dan aktivitas plasminogen keratinosit normal pada manusia (Yun *et al.*, 2010).
- Diferensiasi sel. Pada perkembangan biologi, diferensiasi seluler adalah proses dimana sel yang kurang khusus menjadi jenis sel yang lebih khusus. Diferensiasi terjadi berkali-kali selama perkembangan organisme multisel ketika mereka berubah dari satu zigot untuk jaringan dan jenis sistem sel yang lebih kompleks. Khususnya, stem sel dewasa membagi dan membuat sel anak yang sepenuhnya berbeda selama perbaikan jaringan dan pergantian sel normal. Secara dramatis diferensiasinya yaitu perubahan ukuran, bentuk, potensi membran, aktivitas metabolik, dan responsifitas sel terhadap sinyal. Diferensiasi sel terhadap FGFs juga bervariasi antar subfamili. FGF1 dan FGF2 memainkan peran penting dalam awal diferensiasi koklea ganglion neuron pada tikus. Selain itu, FGF2

merangsang diferensiasi sel-sel neuroepithelial ke neuron matang dan sel glia. FGF7 sangat penting untuk morphogenesis keratinosit suprabasal dan pembentukan program normal diferensiasi keratinosit (Yun *et al.*, 2010).

- **Angiogenesis.** Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada. Proses ini memainkan peran kunci dalam berbagai kondisi fisiologis dan patologis seperti perkembangan embrio, luka, inflamasi, dan pertumbuhan tumor. Angiogenesis adalah proses multi-langkah yang dimulai dengan degradasi membran dasar yang diaktifkan oleh sel-sel endotel yang bermigrasi dan proliferasi, menyebabkan pembentukan sel endotel padat yang menyebar ke ruang stroma. Berikutnya, loop vaskular dibentuk dan terjadi perkembangan tabung kapiler dengan pembentukan *tight junctions* dan pengendapan membran dasar baru. Sifat angiogenik FGF1 dan FGF2 sudah banyak diketahui. Secara khusus, FGF1 dan FGF2 menginduksi promosi proliferasi sel endotel dan organisasi fisik sel-sel endotel ke struktur seperti tabung. Dengan cara demikian, mereka mempromosikan angiogenesis. FGF1 dan FGF2 adalah faktor angiogenik yang lebih kuat daripada *vascular endothelial growth factor (V) platelet-derived growth factor (PDGF)* (Yun *et al.*, 2010).



Gambar 7. Aktivitas FGF dalam penyembuhan luka (Maddaluno, Urwyler and Werner, 2017).

Tabel 2. Fungsi fibroblast growth factors (FGF) (Yun et al., 2010).

Fungsi	Subfamili dihubungkan dengan fungsi	Sel Target
Cell proliferation	FGF1, FGF2	Preadipocyte Endothelial cell, epithelial cell, fibroblast cell, neural stem cell
	FGF4	Trophoblast stem cell
	FGF7, FGF10	Epithelial cell
Cell migration	FGF18	Osteoblast, chondrocytes, osteoclast
	FGF2	Astrocyte, myogenic cell
	FGF4	Myogenic cell
	FGF7 FGF8	Epithelial cell, keratinocyte Neural crest cell
Cell differentiation	FGF1, FGF2	Neuroepithelial
	FGF7	Keratinocyte
Angiogenesis	FGF20	Monkey stem cell
	FGF1, FGF2	Endothelial cell

2.5 Epidermal Growth Factor (EGF)

2.5.1 Definisi

Adalah polipeptida terdiri dari 53 asam amino yang pertama kali diisolasi dari kelenjar submaksila tikus oleh Stanley Cohen pada tahun 1962 (Hardwicke et al., 2008). Berat molekul EGF pada manusia sekitar 6 kDa. EGF terkandung dalam trombosit, makrofag dan cairan tubuh seperti urin, air liur, susu dan plasma (Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015; Nexø et al., 1992).

2.5.2 Klasifikasi

Keluarga EGF terdiri dari empat protein: EGF, *TGF-alpha*, *heparin-binding EGF*, dan *amphiregulin*. Semuanya mirip dalam struktur, bekerja berdasarkan reseptor permukaan sel yang sama (EGF reseptor) dan memiliki efek biologis yang sama (Hardwicke et al., 2008; Rohovsky and D'Amore, 1997; Tarnuzzer et al., 1997).

2.5.3 Mekanisme Kerja

EGF memiliki reseptor ligan afinitas tinggi untuk membran sel EGFR; mengaktifkan reseptor kompleks ligan yang diaktifkan tirosin kinase dengan memulai perubahan selular biokimia secara berturut-turut: meningkat kalsium intraseluler, glikolisis, sintesis protein dan ekspresi gen tertentu (seperti EGFR gen), mengarah ke sintesis DNA, pertumbuhan sel dan proliferasi, mengakibatkan proliferasi keratinosit, meningkatkan adhesi dan motilitas keratinosit, dan merangsang fosforilasi ganda spesifik yang

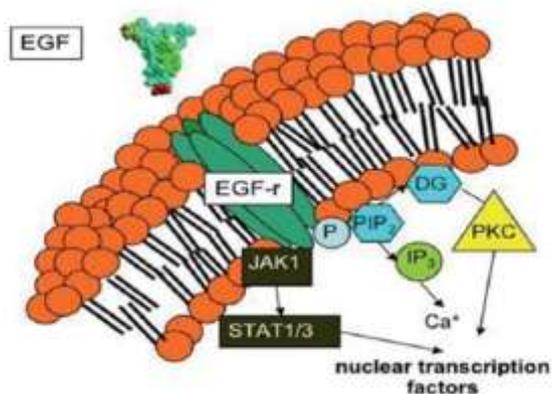
mengurangi sinyal mereka sendiri, menghambat aktivitas EGF (Chieragato et al., 2011; Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015; Harris et al., 2003).

2.5.4 Ekspresi dan Aktifitas Biologis

EGF awalnya dimurnikan dari kelenjar submandibula dan parotis (tikus dan manusia), yang berfungsi untuk pemeliharaan dan keutuhan epitel orofaringeal, esophagus dan lambung, dengan penyembuhan ulkus dan luka di epitel mulut dan gastro-esofagus, inhibisi produksi asam lambung, stimulasi sintesis DNA dan perlindungan mukosa dari kerusakan yang disebabkan oleh faktor-faktor intraluminal (asam lambung, asam empedu, pepsin, tripsin, trauma secara fisik, kimia dan bakteri) (Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015; Venturi and Venturi, 2009). EGF juga mengatur pemeliharaan, kelengkapan dan regenerasi kulit dan selaput lendir, seperti epitel kornea, konjungtiva mata dan perkembangan embrio dari saluran bronkus (Desai and Cardoso, 2002; Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015).

EGF memfasilitasi regenerasi sel epidermis dan memainkan peran penting dalam proses penyembuhan melalui stimulasi proliferasi dan migrasi keratinocytes. EGF juga mempromosikan pembentukan jaringan granulasi dan merangsang motilitas fibroblast. Sebagai aktivator proses mitogenesis, EGF pertama berikatan afinitas yang tinggi dan sel reseptor permukaan yang spesifik dan kemudian mendorong dimerisasi mereka, yang penting untuk mengaktifkan tirosin kinase pada domain reseptor sitoplasma, sehingga

memulai sinyal transduksi yang mengakibatkan sintesis DNA dan proliferasi sel (gambar 8) (Hardwicke et al., 2008; Tarnuzzer et al., 1997).



Gambar 8.Ligan EGF berikatan pada reseptor EGF dan jalur aktivasi-nya (Hardwicke et al., 2008)

Pada hewan percobaan, pengaplikasian kombinasi faktor pertumbuhan rekombinan menyebabkan peningkatan proliferasi, migrasi sel dan sintesis fibers kolagen tipe I pada *fibroblasts* kulit, mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan rata-rata re-epithelisasi dan mengurangi infiltrasi inflamasi (Falanga et al., 1992). Respon mitogenik secara *in vitro* ditanggapi sel bila adanya EGF secara kontinyu selama 3-4 hari (onset efek terapeutik), dan ketiadaan EGF menurunkan aktivitas reseptor dalam waktu 4 jam (Hardwicke et al., 2008).

EGFR sebagai faktor kunci inflamasi kulit, fungsi *barier* kulit dan pertahanan melawan infeksi. Ini tampak signifikan dalam ekspresi dan aktivasi sistem komplemen pada epidermis dan keratinocytes manusia (Abu-Humaidan et al., 2014; Esquirol Causa and Herrero Vila,

2015), yang menanggapi lesi jaringan akut adalah proses yang menguntungkan, hal ini tampaknya untuk mencegah lesi kronik dari penyembuhan luka (Park et al., 2017). Pada daerah lesi keratinosit (secara in vivo dan in-vitro), beberapa komponen komplemen diaktifkan hanya jika dirangsang dengan adanya monosit, tetapi tidak terjadi bila monosit tidak ada: sel-sel inflamasi penting untuk penyembuhan luka (Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015).

BAB III

KERANGKA PENELITIAN

Pada kondisi luka bakar terbentuk *thrombin formation* dan degranulasi platelets pada subendothelial (Park, Hwang and Yoon, 2017). Trombosit teraktivasi oleh trombin melepaskan beberapa faktor pertumbuhan yang membentuk sebuah plug hemostatik (Schaffer and Nanney, 1996). Faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh trombosit seperti, IGF 1, TGF-alpha dan TGF-beta (Lawrence, 1998; Braund, Hook and Medlicott, 2007; Mansoub *et al.*, 2018).

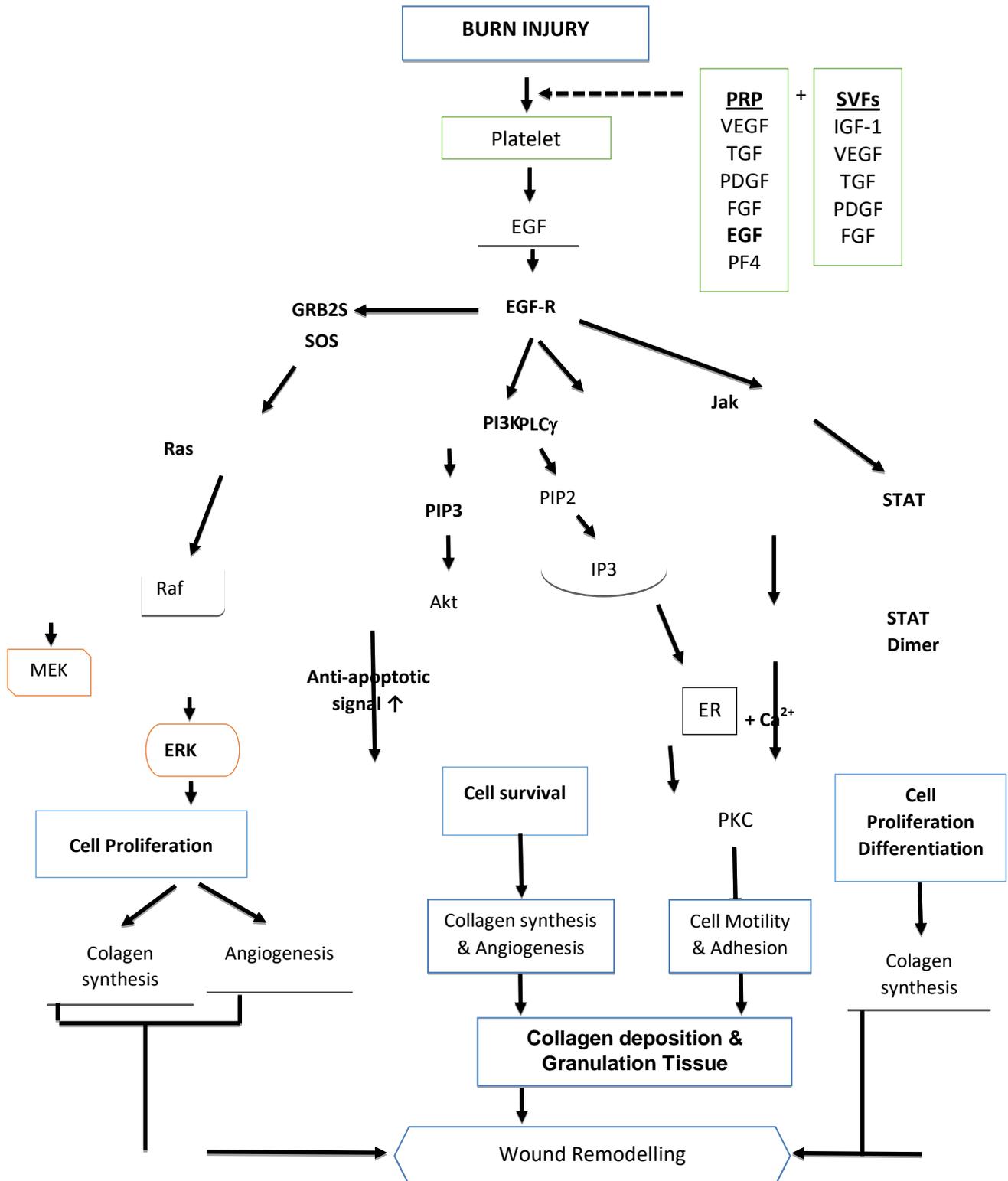
Faktor-faktor pertumbuhan ini menyebar ke jaringan sekitar luka dan secara kemotaksis menarik neutrofil dan monosit ke daerah itu (Kiritsy, C.P. 1993). Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan melepaskan substansi seperti *reactive oxygen specific* (ROS), prostaglandin, sitokin dan *Growth factor* seperti PDGF, bFGF, TGF- β . bFGF yang akan berikatan pada reseptornya di permukaan sel, sehingga terjadi (Rohovsky and D'Amore, 1997):

1. Faktor pertumbuhan fibroblast reseptor substrat 2 α (FRS2 α) merekrut struktur kompleks terdiri dari protein adaptor, *guanine nucleotide exchange factor 2* (GRB2), *the son of sevenless* (SOS), *tirosin fosfatase* (SHP2), dan protein docking, *GRB2-associated binding protein 1* (GAB1). Pembentukan FRS2 kompleks mengakibatkan aktivasi RAS/MAP kinase (Dailey *et al.*, 2005; Yun *et al.*, 2010).
2. Aktivasi PLC γ menghidrolisasi fosfatidylinositol, menghasilkan inositol trifosfat (IP3) dan diacylglycerol (DAG) (Yun *et al.*, 2010). IP3 adalah messenger seluler yang memfasilitasi pelepasan kalsium dari

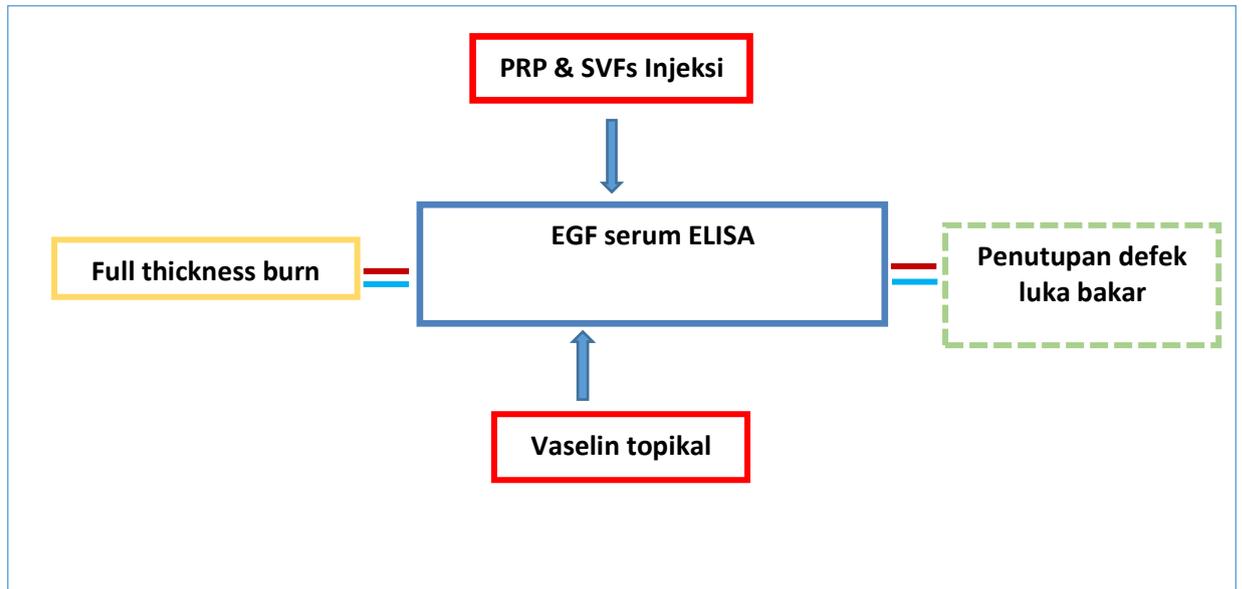
retikulum endoplasma. Peningkatan kadar kalsium dan DAG mengaktifkan protein kinase C (PKC). Jalur ini untuk adhesi dan migrasi sel keratinosit, fibroblast dan endotel(Kolkova *et al.*, 2000; Yun *et al.*, 2010).

3. PI3K teraktivasi menyebabkan aktivasi protein kinase Akt, yang meningkatkan survival sel (mencegah apoptosis)(Yun *et al.*, 2010).
4. Aktivasi *JAK-STAT cascade* mengakibatkan intraselular JAKs yang berkaitan dengan mereka terjadi transfosforilasi JAKs kemudian terjadi fosforilasi substrat ke hilir, termasuk reseptor JAKs dan STATs. STATs yang teraktivasi masuk ke nukleus dan mengikat sebagai dimers atau kompleks oligomer dalam gen target dan mengatur transkripsi mereka sehingga terjadi proliferasi, diferensiasi, migrasi, apoptosis, dan survival sel yang tergantung pada sinyal, jaringan, dan konteks seluler(Harrison, 2012).

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



Luka bakar *full thickness* diberi perlakuan: Vaselin dibandingkan PRP dan SVFs injeksi kemudian dilakukan pengukuran terhadap kadar serum EGF ELISA.

3.3 Variabel

1. Variabel Bebas (Independent)
 - Kombinasi PRP + SVFs injeksi
 - Vaselin topikal
2. Variabel Dependent
 - EGF
3. Variabel Antara: Full thickness Burn
4. Variabel yang tak dinilai
 - Penutupan defek luka bakar

3.4 Hipotesis

- EGFterlibat pada proses percepatan penyembuhan luka bakar.
- KombinasiSVFs + PRP injeksi dapat mempercepat manifestasi klinis penyembuhanluka bakar.
- Terdapat perbedaan kadar serum EGF pada penggunaan kombinasiSVFs + PRP injeksi dibandingkan dengan perawatan konservatif vaselin.

3.5 Definisi Operasional

1. Luka bakar *full thickness*

Luka bakar *full thickness* merusak kedua lapisan kulit (epidermis dan dermis), dan dapat menembus lebih dalam ke dasar struktur kulit. 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.

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

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

5. Kadar EGF diperiksa dengan metode ELISA.