

KARYA AKHIR

**EFEK KOMBINASI STROMAL VASCULAR FRACTION (SVF)
DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP)
TERHADAP BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR (bFGF) SERUM
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

*The Effect of Stromal Vascular Fraction (SVF)
And Platelet Rich Plasma (PRP) Combination
On Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) Serum Level
During Anal Trauma Healing in A Wistar Rat Model*

Ricko Sadli Sujana
C104216111

Pembimbing:
dr. Sulmiati, Sp.BA
Dr. dr. Nita Mariana, Sp.BA, M.Kes
Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM, Ph.D



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

KARYA AKHIR

**EFEK KOMBINASI STROMAL VASCULAR FRACTION (SVF)
DAN PLATELET-RICH PLASMA (PRP)
TERHADAP BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR (bFGF) SERUM
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

***The Effect of Stromal Vascular Fraction (SVF)
And Platelet-Rich Plasma (PRP) Combination
On Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) Serum Level
During Anal Trauma Healing in A Wistar Rat Model***

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Bedah

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan diajukan oleh

RICKO SADLI SUJANA

C104216111

Kepada

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

Pernyataan Keaslian Karya Akhir

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ricko Sadli Sujana

Nomor Induk Mahasiswa : C104216111

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Desember 2021
Yang Menyatakan,



Ricko Sadli Sujana

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

**EFEK KOMBINASI *STROMAL VASCULAR FRACTION (SVF)*
DAN *PLATELET-RICH PLASMA (PRP)* TERHADAP
KADAR *BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR (bFGF)* SERUM
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

Ricko Sadli Sujana
C104216111

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 19 November 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



dr. Sulmiati, Sp.BA
NIP. 19731206 200604 2 007


Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM
NIP. 19830727 200912 1 005

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran


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


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

KATA PENGANTAR

Saya panjatkan segala puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini, sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi selama menyusun karya akhir ini. Namun, saya bisa menyelesaikan karya akhir ini berkat motivasi, dukungan, dan masukan yang diberikan pembimbing saya, dr. Sulmiati, Sp.BA, Dr. dr. Nita Mariana, Sp.BA, M.Kes, dan Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM serta penguji saya Dr. dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K)B.Mikro dan Dr. dr. Sachraswaty R. Laididing, Sp.B, Sp.BP-RE(K).

Pada kesempatan kali ini, saya menyampaikan ungkapan terima kasih sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin, dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D selaku Manajer Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin, Prof. dr. Budu, Ph.D, SP.M(K), M.MedEd sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes. sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) saat menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD selaku Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, dan Dr. dr. William Hamdani, SpB(K)Onk saat menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, serta seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan ilmu, ketrampilan, rasa percaya diri, dan profesionalisme dalam diri saya sejak saya mulai pendidikan ini pada bulan Juli 2016. Saya tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, terutama Kak Marlina Rajab (Lina) dan Kak Nunung Mujiwiyanti, yang selalu memberikan uluran tangan dan menyemangati tanpa henti selama masa pendidikan saya.

Terima kasih kepada saudara seperjuangan 13ersaudara Residen Bedah Periode Juli 2016 yang tanpa henti memotivasi dan mengingatkan untuk pantang menyerah dalam menyusun dan menyelesaikan karya akhir ini. Terima kasih saudara-saudaraku! Terima kasih untuk Ce Ivanna, Bang Ades, Ibnul, Yul, Darwin, Oka, Steven, Erwin, dan Hendry, yang sudah berkerja sama dan memberikan dukungan dalam penelitian ini, sehingga

penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Terima kasih atas dukungan dan bantuan dari segenap Residen Bedah Universitas Hasanuddin.

Saya mengucapkan terima kasih secara khusus untuk Istriku Novia Winni, Ibunda Lily, Anak-anakku Clarissa Evelyn Sujana dan Audrey Sujana, serta keluarga besar Tangerang dan Sekadau yang senantiasa mendoakan saya, memberikan motivasi untuk menyelesaikan karya akhir ini, serta mencerahkan hari-hari jemu selama penelitian dan penyusunan karya akhir ini. I love you all!

Penulis menyampaikan terima kasih dan permohonan maaf kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang telah membantu dalam menyelesaikan karya akhir ini.

Saya senantiasa berdoa kepada Tuhan Yang Maha Esa untuk melimpahkan karunia dan kemurahan-Nya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan selama pendidikan, penelitian dan penyusunan karya akhir ini.

Makassar, 20 Desember 2021
Yang Menyatakan,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ricko Sadli Sujana', with a large, stylized flourish at the top.

Ricko Sadli Sujana

ABSTRAK

RICKO SADLI SUJANA. *Efek Kombinasi Stromal Vascular Fraction dan Platelet-Rich Plasma terhadap Basic Fibroblast Growth Factor Serum dalam Penyembuhan Trauma Anus pada Model Tikus Wistar (dibimbing oleh Sulmiati, Nita Mariana, dan Andi Alfian Zainuddin).*

Penelitian ini bertujuan menilai efektivitas kombinasi injeksi SVF dan PRP terhadap kadar bFGF serum pada model trauma anus tikus wistar.

Sebanyak 28 tikus wistar dewasa dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu: kelompok A dan B diberikan perlakuan trauma anus dan perbaikan; kelompok A mendapatkan terapi kombinasi SVF dan PRP; kelompok B hanya diberikan perawatan cairan natrium klorida 0,9%. Pada kelompok A dan B kadar bFGF serum diukur pada hari pertama, ketujuh, dan keempat belas. Kelompok C adalah kelompok kontrol sehat yang dikorbakan pada hari nol untuk data dasar kadar BFGF serum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar bFGF serum kelompok A lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok B pada setiap hari penelitian. Hasil uji *repeated measures* menunjukkan peningkatan signifikan kadar bFGF serum kelompok A dibandingkan dengan kelompok B pada hari pertama ($p=0,000$), hari ketujuh ($p=0,000$), dan hari keempat belas ($p=0,000$). Uji ini juga menunjukkan bahwa injeksi lokal kombinasi SVF dan PRP meningkatkan kadar bFGF serum sebesar 96,2% dibandingkan dengan kelompok plasebo. Kombinasi SVF dan PRP meningkatkan kadar bFGF serum selama penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar. Basic FGF adalah faktor penting selama proses penyembuhan trauma anus.

Kata kunci: SVF, PRP, bFGF, trauma anus, penyembuhan luka



ABSTRACT

RICKO SADLI SUJANA. *The Effect of Stromal Vascular Fraction and Platelet-Rich Plasma Combination on Basic Fibroblast Growth Factor Level during Anal Trauma Healing in Wistar Rat Model* (supervised by **Sulmiati, Nita Mariana, and Andi Alfian Zainuddin**)

The aim of this study is to assess the effect of combined SVF and PRP local injection on bFGF level using an anal trauma model in Wistar rats.

Twenty-eight adult Wistar rats were divided into three groups. Groups A and B underwent modified surgical anal trauma and repair; Group A was treated with the SVF and PRP combination local injection, while Group B was treated with only normal saline. Subsequently, bFGF level of Group A and B on days 1, 7, and 14 was examined. Group C consisted of healthy control sacrificed on day 0 to obtain baseline data on BFGF level.

The results indicate that BFGF level is higher in Group A than in Group B on every experimental day. The Repeated Measures test shows a significant increase in bFGF level on day 1 ($p=0.000$), day 7 ($p=0.000$), and day 14 ($p=0.000$). This test also indicates that the local injection combination of SVF and PRP increase the bFGF level, i.e. 96.2% compared to placebo group. The combination of SVF and PRP can increase bFGF level during anal trauma healing in the Wistar rat model. Basic FGF is an important factor throughout the process of anal trauma healing.

Keywords: SVF, PRP, DFGF, Anal Trauma, Wound Healing



DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Pernyataan Keaslian Karya Akhir	ii
Lembar Pengesahan Tesis	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Bab I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
Bab II Tinjauan Pustaka	7
2.1 Telaah Pustaka	7
2.1.1 Trauma Anus	7
2.1.2 Penyembuhan Luka	10
2.1.2.1 Hemostasis dan Inflamasi	12
2.1.2.2 Proliferasi	13
2.1.2.3 <i>Remodeling</i> atau Maturasi	14
2.1.3 Penyembuhan Luka Saluran Cerna	14
2.1.4 Faktor Pertumbuhan dan bFGF	18
2.1.5 Sel Punca atau Stem cell	22
2.1.6 SVF dan ASC	24
2.1.7 PRP	26
2.1.8 Kombinasi SVF dan PRP	26
2.2 Kerangka Teori	28
2.3 Kerangka Konsep	29
2.4 Variabel Penelitian	29
2.5 Hipotesis Penelitian	29
Bab III Metode Penelitian	30
3.1 Rancangan Penelitian	30
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	30
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	30
3.3.1 Metode Penarikan Sampel	31
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	32
3.4.1 Kriteria Inklusi	32
3.4.2 Kriteria Eksklusi	32
3.5 Definisi Operasional	33
3.6 Instrumen Pengambilan Sampel	34
3.7 Metode Penelitian	34

3.8	Alur Penelitian	35
3.8.1	Persiapan	36
3.8.2	Preparasi SVF dan ASC	37
3.8.3	Preparasi PRP	38
3.8.4	Preparasi Kombinasi SVF and PRP	39
3.8.5	Model Trauma Anus Pada Tikus Wistar	39
3.8.6	Pengorbanan/Sacrifice Tikus	40
3.8.7	Pemeriksaan ELISA	41
3.9	Analisis Data	44
3.10	Etika Penelitian	44
Bab IV	Hasil dan Pembahasan	45
4.1	Hasil	45
4.2	Pembahasan	49
4.3	Kekuatan dan Kelemahan	54
4.3.1	Kekuatan	54
4.3.2	Kelemahan	54
Bab V	Kesimpulan dan Saran	55
5.1	Kesimpulan	55
5.2	Saran	55
	Daftar Pustaka	56
	Daftar Tabel	x
	Daftar Gambar	xi
	Daftar Lampiran	xii
	Daftar Singkatan	xiii

Daftar Tabel

Tabel 1.	Kadar bFGF serum dengan metode ELISA	45
Tabel 2.	Karakteristik kadar bFGF serum berdasarkan analisis univariat	46
Tabel 3.	Analisis kadar bFGF serum harian dalam kelompok dan antar kelompok	48

Daftar Gambar

Gambar 1.	Skala trauma anorektal menurut AAST	8
Gambar 2.	Algoritma tata laksana trauma anorektal	9
Gambar 3.	Tahapan proses penyembuhan luka	12
Gambar 4.	Perbedaan proses penyembuhan luka saluran cerna dan kulit	15
Gambar 5.	Gambaran penyembuhan luka saluran cerna	18
Gambar 6.	Faktor pertumbuhan pada fase-fase penyembuhan luka	19
Gambar 7.	Jalur aktivasi bFGF dalam penyembuhan luka	22
Gambar 8.	Kategori sel punca	24
Gambar 9.	Kerangka teori	28
Gambar 10.	Kerangka konsep	29
Gambar 11.	Alur penelitian	35
Gambar 12.	Tikus Wistar jantan	37
Gambar 13.	Proses persiapan SVF dan PRP	37
Gambar 14.	Proses pengolahan PRP	38
Gambar 15.	Model trauma anus dan pengorbanan Tikus Wistar	41
Gambar 16.	Kelengkapan ELISA Kit bFGF	43
Gambar 17.	Diagram batang dan hasil analisis signifikansi rerata kadar bFGF serum harian	46
Gambar 18.	<i>Profile plot</i> rerata kadar bFGF serum	49

Daftar Lampiran

Lampiran 1	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Pembimbing Karya Akhir Bagi Mahasiswa	63
Lampiran 2	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Penilai Seminar Usul Dan Hasil Penelitian	64
Lampiran 3	Rekomendasi Persetujuan Etik	65
Lampiran 4	Surat Keterangan Abstrak	66
Lampiran 5	Analisis Data dengan SPSS	67

Daftar Singkatan

AAST = American Association for The Surgery of Trauma
AJC = Apical Junctional Complex
ARRIVE = Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments
ASC = Adipose-derived Stem Cell
ATLS = Advanced Trauma Life Support
bFGF = Basic Fibroblast Growth Factor
BM-MSC = Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell
COX = Cyclooxygenase
CT scan = Computed-tomography scan
DAG = Diacylglycerol
DMEM = Dulbecco's Modified Eagle Media
E-MSC = Epidermally-derived Mesenchymal Stem Cell
ECM = Extracellular Matrix
EDTA = Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EFT = Extra Fetal Tissue
EGF = Epidermal Growth Factor
ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ERK = Extracellular Signal-regulated Kinase
ESC = Embryonic Stem Cell
FBS = Fetal Bovine Serum
FGF-2 = Fibroblast Growth Factor 2
FGFR = Fibroblast Growth Factor Receptor
GF = Growth Factor
GM-CSF = Granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor
HB-EGF = Heparin-binding Epidermal Growth Factor
HGF = Hepatocyte Growth Factor
HIF = Hypoxia-inducible Factor
HRP = Horseradish Peroxidase
HSC = Hematopoietic Stem Cell
IEC = Intestinal Epithelial Cell
IGF = Insulin-like Growth Factor
IL = Interleukin
iPSC = Induced Pluripotent Stem Cell
JAK = Janus-family Tyrosine Kinase
KGF = Keratinocyte Growth Factor
MAPK = Mitogen-activated Protein Kinase
MAPKK = Mitogen-activated Protein Kinase Kinase
MAPKKK = Mitogen-activated Protein Kinase Kinase Kinase
MEK = MAPK-ERK Kinase
MMP = Matrix Metalloproteinase
MSC = Mesenchymal Stem Cell
NF = Nuclear Factor

PDGF = Platelet-derived Growth Factor
PI3K = Phosphatidylinositol 3-kinase
PLC- γ = Phospholipase C- γ
PGF = Platelet-rich Growth Factor
PRF = Platelet-rich Fibrin
PRP = Platelet-rich Plasma
SB = Simpang Baku
STAT = Signal Transducer and Activator of Transcription
SVF = Stromal Vascular Fraction
TGF = Transforming Growth Factor
TNF = Tumor Necrosis Factor
TIMP = Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TLR = Toll-like Receptor
UCB = Umbilical Cord Blood
VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Trauma anorektal jarang ditemukan, baik pada dewasa maupun anak-anak, karena letak anatominya. Letak anus yang lebih superfisial, membuat trauma anus lebih sering ditemukan (Altomare, 2017). Prevalensi cedera anorektal pada anak di *Primary Children's Medical Center*, Utah adalah 0,2% dalam periode 10 tahun (tahun 2003-2012), median umur 9 tahun, dan lebih banyak pada anak laki-laki (52%). Empat puluh tiga persen kasus mengenai anus, 38% mengenai rektum, dan 19% mengenai anorektal (Russell *et al.*, 2014). Clemens, Peace dan Yi (2018) menuliskan insidensi trauma rektal pada pusat trauma umum adalah 1-3% dan pada data perang terbaru 5,1%. Trauma pada masyarakat umum disebabkan oleh luka tembak (71-85%), trauma tumpul ((5-10%), dan trauma tusuk (3-5%). Trauma selama perang didominasi oleh ledakan (23%). Di dalam bukunya, Stylianos (2012) menyebutkan trauma anorektal pada anak secara umum disebabkan kecelakaan atau pelecehan seksual.

Penanganan trauma anorektal membutuhkan evaluasi dan tata laksana yang berfokus pada survei primer dan sekunder, serta lokasi dan ekstensi trauma tersebut (Lee and McKendy, 2018). Beberapa peneliti menggunakan prinsip tata laksana debridemen, diversifikasi proksimal, drainase, bilas rectum (*distal washout*), dan operasi (Russell *et al.*, 2014; Clemens, Peace and Yi, 2018; Lee and McKendy, 2018).

Gangguan dalam proses penyembuhan trauma anus menyebabkan komplikasi inkontinesia fekal sebanyak 19% (Russell *et al.*, 2014). Clemens dkk. menyebutkan inkontinesia fekal ini ditemukan pada 18-21% kasus dengan angka mortalitas 3-10% (Clemens, Peace and Yi, 2018). Inkontinensia fekal ini disebabkan adanya cedera pada sfingter ani pada saat trauma dan paska operasi. Komplikasi lain yang sering ditemukan pada kasus trauma anorektal adalah stenosis anus, yang sering muncul akibat gangguan penyembuhan paska operasi. Stenosis anus ini disebabkan oleh terbentuknya jaringan sikatriks yang non-elastis sehingga menyebabkan penyempitan lumen anus (Tahamtan *et al.*, 2017). Penggunaan sel punca dalam penanganan komplikasi ini memberikan hasil yang cukup menjanjikan (Kuismanen *et al.*, 2018).

Penyembuhan luka adalah proses yang dinamik dengan fase kompleks yang multipel (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019), yang melibatkan interaksi antara sel spesifik dengan matriks ekstraseluler yang dikoordinasikan oleh faktor pertumbuhan (*growth factor*), sitokin, dan kemokin (Goldberg and Diegelmann, 2017). Fase penyembuhan luka meliputi inflamasi, proliferasi dan *remodeling* (Park, Hwang and Yoon, 2017).

Fase inflamasi terjadi segera setelah terjadi luka, berlangsung 1-2 hari pada luka tanpa komplikasi, dengan tujuan untuk mencegah infeksi. Proses ini terdiri dari respon vaskular (hemostasis) dan respon seluler (inflamasi) (Park, Hwang and Yoon, 2017). Proses inflamasi ini ditandai dengan adanya edema jaringan (Karina *et al.*, 2019). Fase proliferasi dimulai pada hari 2-10 paska terjadi luka. Proses ini ditandai dengan munculnya jaringan granulasi dan proses angiogenesis (Park, Hwang and Yoon, 2017). Fase terakhir adalah *remodeling*, yang dimulai pada minggu 2-3 hingga

2 tahun paska luka (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Pada kondisi normal, pada luka akan terjadi proses penyembuhan luka, dan hasil akhirnya adalah jaringan parut avaskular (Enoch and John Leaper, 2007).

Saluran cerna memiliki proses penyembuhan luka yang berbeda dari jaringan kulit karena epitel saluran cerna adalah epitel kuboid (Iizuka and Konno, 2011), memiliki 3 jenis kolagen yang diproduksi oleh fibroblas dan sel otot polos dengan aktivitas kolagenase yang tinggi, lingkungan luka yang aerob dan anaerob, serta harus adekuatnya perfusi jaringan dalam proses penyembuhan luka (Lyra Junior *et al.*, 2018).

Proses penyembuhan luka melibatkan faktor pertumbuhan. Salah satu faktor pertumbuhan yang berperan pada penyembuhan luka saluran cerna adalah *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2), atau lebih dikenal dengan *basic FGF* (bFGF), yang banyak ditemukan pada reseptor FGF (*FGF receptor - FGFR*) di saluran cerna dibanding anggota FGF lainnya (Mossahebi-Mohammadi *et al.*, 2020). bFGF adalah faktor pertumbuhan polipeptida yang berfungsi untuk perbaikan dan regenerasi jaringan (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). bFGF berperan pada tahap inflamasi dan proliferasi selama penyembuhan luka (Aronson, Laageide and Powers, 2018).

Aplikasi sel punca atau *stem cell* dalam penyembuhan luka menunjukkan percepatan dalam tahapan-tahapan penyembuhan luka (Zakrzewski *et al.*, 2019). *Stromal vascular fraction* (SVF) yang diisolasi dari adiposa, mengandung sel punca mesenkimal *adipose-derived stem cell* (ASC). SVF memiliki potensi regenerasi dan anti-inflamasi pada penyembuhan luka karena kemampuannya untuk sekresi bFGF (Stefanis *et al.*, 2019). *Platelet-rich plasma* (PRP) yang mengandung konsentrat

platelet berperan dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi sekresi faktor pertumbuhan, salah satunya bFGF, yang berperan dalam aktivasi fibroblas dan deposisi kolagen baru (Alves and Grimalt, 2018). Kombinasi SVF dengan PRP memberikan efek sinergis yang menunjang penyembuhan osteoarthritis (Zhang *et al.*, 2020), luka bakar pada tikus (Karina *et al.*, 2019) dan alopesia pada manusia (Stevens, Donners and De Bruijn, 2018). Sebelumnya, Sirowanto, Josh dan Alfian (2021) menemukan bahwa injeksi lokal kombinasi SVF dan PRP pada model trauma anus meningkatkan kadar *epidermal growth factor* (EGF) serum dalam penyembuhan luka trauma anus. Pada kesempatan ini, peneliti akan menilai efek pemberian SVF dan PRP terhadap kadar bFGF serum pada dalam penyembuhan luka trauma anus.

Peneliti mencoba mengevaluasi kadar bFGF dalam proses penyembuhan dengan mengaplikasikan kombinasi SVF dan PRP pada trauma anus pada tikus Wistar. Apakah pemberian kombinasi SVF dan PRP dapat meningkatkan kadar bFGF pada penyembuhan trauma anus atau tidak sama sekali? Penelitian ini akan dapat menjawab pertanyaan tersebut. Peneliti berharap bahwa kombinasi SVF dan PRP dapat meningkatkan kadar bFGF dalam proses penyembuhan trauma anus, sehingga penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan untuk kemajuan dalam terapi penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: “apakah terdapat efek pemberian SVF dan PRP terhadap kadar bFGF serum dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar”.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dalam penelitian ini adalah untuk membuktikan efektivitas pemberian injeksi SVF dan PRP dalam meningkatkan kadar bFGF serum selama proses penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk membuktikan bahwa injeksi kombinasi SVF dan PRP dapat meningkatkan kadar bFGF serum selama penyembuhan trauma anus pada tikus Wistar
2. Untuk membuktikan bahwa kadar bFGF serum pada kelompok yang mendapatkan *treatment* (injeksi kombinasi SVF dan PRP) lebih tinggi dibanding dengan kelompok plasebo.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang ini adalah sebagai berikut:

1. Manfaat teoretik:

- Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menambah wawasan mengenai penggunaan injeksi SVF dan PRP dalam penyembuhan trauma anus pada Tikus Wistar.

2. Manfaat metodologi:

- Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi pada penelitian lebih lanjut tentang penggunaan injeksi SVF dan PRP dalam penyembuhan luka lainnya, baik pada hewan percobaan ataupun pada manusia.

3. Manfaat aplikatif:

- Sebagai informasi untuk klinisi dan masyarakat umum bahwa injeksi SVF dan PRP dapat membantu penyembuhan trauma anus pada tikus Wistar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Trauma Anus

Trauma anorektal jarang ditemukan, baik pada dewasa maupun anak (Russell *et al.*, 2014; Altomare, 2017), karena letak anatomi anorektal. Kompleks anorektal dilindungi oleh pelvis, sakrum, dan otot-otot panggul. Letak anus yang lebih superfisial, membuat trauma anus lebih sering ditemukan. Trauma anorektal bisa disebabkan oleh trauma tumpul akibat kecelakaan, proses melahirkan, benda asing (baik yang tertelan atau yang sengaja dimasukkan ke anus), serangan seksual, iatrogenik, trauma tusuk/ tembak (Altomare, 2017). Stylianos (2012) menyebutkan trauma anorektal pada anak secara umum disebabkan kecelakaan atau pelecehan seksual.

Prevalensi cedera anorektal pada anak di *Primary Children's Medical Center*, Utah adalah 0,2% dalam periode 10 tahun (tahun 2003-2012), dengan median umur 9 tahun, dan lebih banyak ditemukan pada anak laki-laki (52%). Empat puluh tiga persen kasus mengenai anus, 38% mengenai rectum, dan 19% mengenai anorektal. Penyebab tersering trauma anorektal trauma tembus (48%), trauma tumpul (33%), dan *straddle injury* (19%) (Russell *et al.*, 2014).

Clemens dkk. (2018) menuliskan insidensi trauma rektal pada pusat trauma umum adalah 1-3% dan pada data perang terbaru 5,1%. Trauma pada masyarakat umum disebabkan oleh luka tembak (71-85%), trauma tumpul ((5-10%), dan trauma

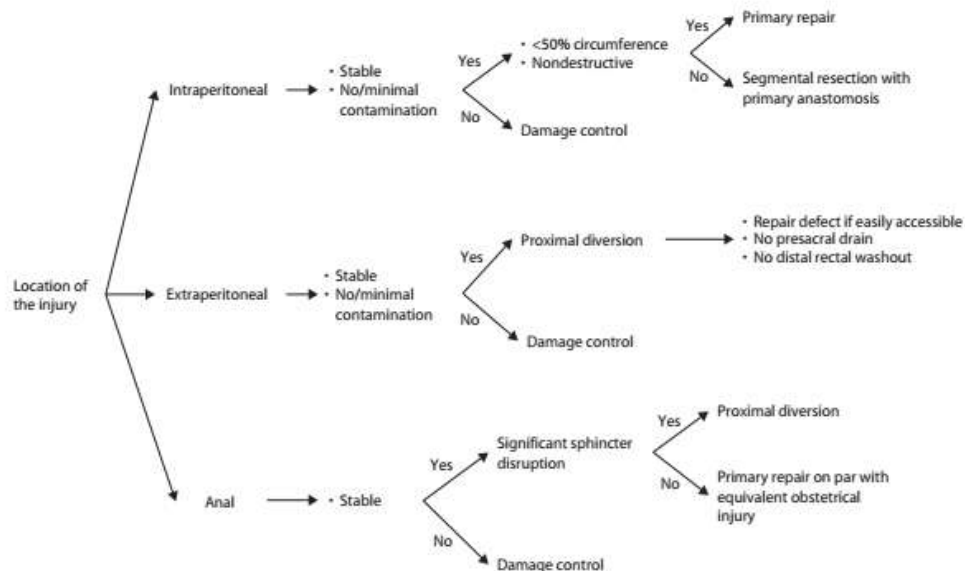
tusuk (3-5%). Trauma selama perang didominasi oleh ledakan (23%) (Clemens, Peace and Yi, 2018).

Penanganan trauma anorektal membutuhkan evaluasi dan tata laksana yang berfokus pada survei primer dan sekunder, serta lokasi dan ekstensi trauma tersebut (Russell *et al.*, 2014; Lee and McKendy, 2018). Evaluasi pertama pada trauma anorektal bertujuan untuk evaluasi cedera yang mengancam nyawa berdasarkan prinsip *Advanced Trauma Life Support* (ATLS). Pada pemeriksaan sekunder, dilakukan inspeksi seksama dan palpasi, bila perlu dilakukan di dalam kamar operasi (Russell *et al.*, 2014). Ekstensi trauma anorektal dinilai dengan menggunakan skala yang diterbitkan oleh *American Association for The Surgery of Trauma* (AAST) (Lee and McKendy, 2018). Lee dkk. (2018) serta Russel dkk. (2014) menyebutkan pemeriksaan penunjang yang direkomendasikan untuk identifikasi trauma anorektal adalah *computed-tomography (CT) scan* dengan kontras tripel (intravena, oral, dan rektal). Tata laksana trauma anorektal meliputi debridemen, diversifikasi proksimal, drainase, bilas rektum, dan operasi bila memungkinkan (Russell *et al.*, 2014; Clemens, Peace and Yi, 2018; Lee and McKendy, 2018)

Grade ^a	Type of injury	Description of injury
Ia	Hematoma	Contusion or hematoma without devascularization
Ib	Laceration	Partial-thickness laceration
II	Laceration	Laceration <50% circumference
III	Laceration	Laceration ≥50% circumference
IV	Laceration	Full-thickness laceration with extension into the perineum
V	Vascular	Devascularized segment

Gambar 1. Skala trauma anorektal menurut AAST. (Modifikasi dari Lee and McKendy, 2018)

Algoritma tata laksana trauma anorektal ini disederhanakan oleh Lee dkk. (2018). Algoritma ini dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Algoritma tata laksana trauma anorektal (Modifikasi dari Lee and McKendy, 2018)

Komplikasi yang sering ditemui pada trauma anorektal adalah inkontinesia fekal, dengan insidensi 19% (Russell *et al.*, 2014). Clemens dkk. menyebutkan inkontinesia fekal ini ditemukan pada 18-21% kasus dengan angka mortalitas 3-10% (Clemens, Peace and Yi, 2018). Inkontinensia fekal ini disebabkan adanya cedera pada sfingter ani pada saat trauma dan paska operasi. Komplikasi lain yang sering ditemukan pada kasus trauma anorektal adalah stenosis anus, yang sering muncul akibat gangguan penyembuhan paska operasi. Stenosis anus ini disebabkan oleh terbentuknya jaringan sikatriks yang non-elastis sehingga menyebabkan penyempitan lumen anus (Tahamtan *et al.*, 2017).

Proses penyembuhan yang terganggu akibat multifaktor menyebabkan insidensi komplikasi ini semakin meningkat. Penggunaan sel punca dalam

penanganan komplikasi ini memberikan hasil yang cukup menjanjikan (Kuismanen *et al.*, 2018).

2.1.2 Penyembuhan Luka

Luka adalah rusaknya struktur jaringan normal sehingga fungsi jaringan tersebut berkurang (Goldberg and Diegelmann, 2017). Luka menyebabkan putusnya integrasi epitel jaringan. Pada kondisi normal, pada luka akan terjadi proses penyembuhan luka, dan hasil akhirnya adalah jaringan parut avaskular (Enoch and John Leaper, 2007). Waktu yang diperlukan untuk penyembuhan tergantung pada jenis luka, mekanisme terjadinya luka, penyakit penyerta, dan faktor lokal (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019).

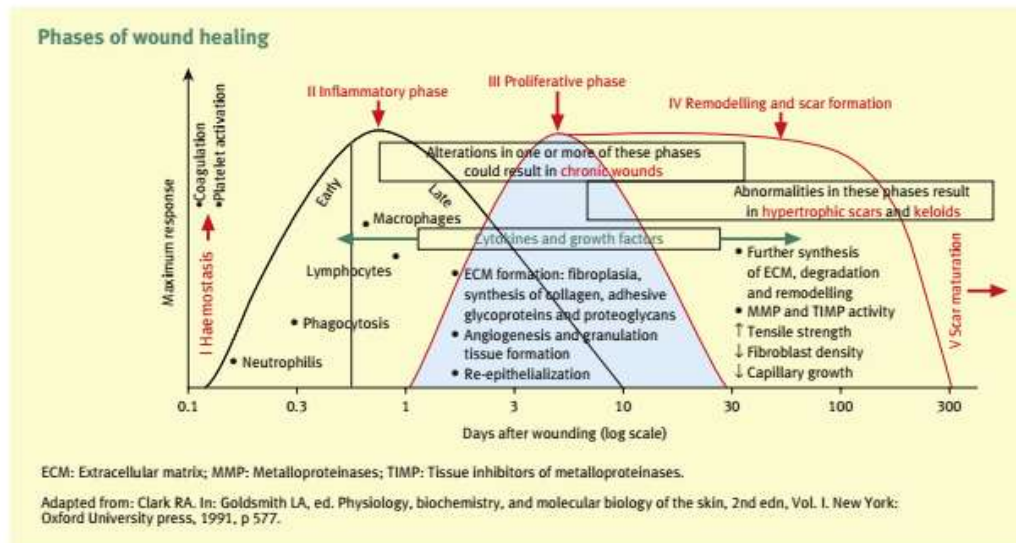
Banyak faktor yang berpengaruh pada proses penyembuhan luka, namun Enoch dkk. mengelompokkan menjadi faktor lokal dan sistemik. Faktor lokal meliputi tidak adekuatnya aliran darah, kulit yang terlalu tegang, drainase vena yang buruk, benda asing dan reaksinya, adanya *slough* dan jaringan non-viabel, infeksi, mobilitas ekstensif, osteomyelitis, dan keganasan (ulkus Marjolin). Faktor sistemik meliputi umur tua, imobilisasi, obesitas, malnutrisi, defisiensi protein-vitamin-mineral, keganasan, renjatan, kemoterapi-radioterapi, kondisi immunosupresi, dan penyakit sistemik (Enoch and John Leaper, 2007).

Gangguan pada proses penyembuhan menyebabkan terjadinya luka kronis, pembentukan jaringan keloid atau hipertrofi (Goldberg and Diegelmann, 2017). Jaringan hipertrofi dan keloid terbentuk akibat produksi berlebihan komponen penyembuhan luka, yaitu fibroblas, kolagen, elastin dan proteoglikan. Jaringan ini

ditemukan pada 5-15% luka, dan lebih tinggi pada populasi kulit putih. Jaringan hipertrofi memiliki proses sintesis kolagen 7x lebih tinggi dan aktivitas kolagenase 4x lebih tinggi dibanding jaringan normal. Pada jaringan keloid ditemukan proses sintesis kolagen 20x lebih tinggi dan aktivitas kolagenase 14x lebih tinggi dibanding jaringan parut normal (Enoch and John Leaper, 2007).

Penyembuhan luka adalah proses fisiologis biologi yang dinamik dengan fase kompleks yang multipel (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019), yang melibatkan interaksi antara sel spesifik dengan matriks ekstraseluler yang dikoordinasikan oleh faktor pertumbuhan (*growth factor - GF*), sitokin, dan kemokin (Goldberg and Diegelmann, 2017). Proses penyembuhan luka dibantu oleh banyak mediator seperti platelet, sel inflamasi, sitokin dan faktor pertumbuhan, serta enzim-enzim protease (Enoch and John Leaper, 2007).

Fase penyembuhan luka meliputi hemostasis, inflamasi, proliferasi dan *remodeling*. Fase-fase ini terjadi berurutan dan saling tumpang tindih apabila dilihat dari waktu kejadiannya (Enoch and John Leaper, 2007; Park, Hwang and Yoon, 2017). Deskripsi fase-fase penyembuhan ini dapat dilihat pada gambar 7 di bawah ini.



Gambar 3. Tahapan proses penyembuhan luka. ECM = *extracellular matrix*, MMP = *matrix metalloproteinase*, TIMP = *tissue inhibitor of metalloproteinase*. (Modifikasi dari Enoch and John Leaper, 2007)

2.1.2.1 Hemostasis dan Inflamasi

Fase hemostasis dan inflamasi terjadi segera setelah terjadi luka dengan tujuan untuk mencegah infeksi. Proses ini terdiri dari respon vaskular (hemostasis) dan respon seluler (inflamasi). Kedua respon ini terjadi bersamaan dan saling berhubungan. Pada respon vaskular, terjadi aktivasi platelet oleh trombin yang menyebabkan terbentuknya bekuan fibrin. Bekuan fibrin ini sebagai penampungan untuk monosit, neutrofil, fibroblas, dan sel endotel bekerja. Saat yang bersamaan respon inflamasi merangsang pelepasan sitokin seperti *transforming growth factor* (TGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), EGF, FGF, dan interleukin 8 (IL-8) dari bekuan fibrin dan jaringan luka (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Bekuan fibrin dan sitokin ini merekrut neutrofil dan monosit pada luka (Park, Hwang and Yoon, 2017). Neutrofil membuang bakteri, benda asing, dan jaringan rusak dengan fagositosis, degranulasi protein, serta melepaskan substansi toksin (Varkey, Ding and

Tredget, 2013; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag, sebagai mediator proses selanjutnya. Fase inflamasi ini berlangsung 1-2 hari pada luka tanpa komplikasi (Park, Hwang and Yoon, 2017). Proses inflamasi ini ditandai dengan adanya jaringan eritem dan edema (Aronson, Laageide and Powers, 2018; Karina *et al.*, 2019).

2.1.2.2 Proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari 2-10 paska luka. Proses ini diawali dengan munculnya keratinosit pada luka (pembentukan jaringan granulasi) dilanjutkan proses angiogenesis (Park, Hwang and Yoon, 2017; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Pada angiogenesis muncul kapiler baru disertai datangnya fibroblas dan makrofag, yang menggantikan bekuan fibrin (Varkey, Ding and Tredget, 2013; Park, Hwang and Yoon, 2017; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Makrofag menstimulasi munculnya faktor pertumbuhan, salah satunya FGF, yang menginduksi proliferasi fibroblas (Park, Hwang and Yoon, 2017). Angiogenesis dan proliferasi fibroblas terjadi bersamaan, yang banyak diatur oleh FGF dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Pada fase akhir, fibroblas di sekitar luka diubah menjadi myofibroblas, sel kontraktil yang berperan pada penutupan luka. Myofibroblas mensintesis kolagen, yang kemudian membentuk jaringan parut (Fransiscus *et al.*, 2019; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Karakter proses proliferasi ini adalah terbentuknya jaringan granulasi (Park, Hwang and Yoon, 2017).

2.1.2.3 Remodeling atau Maturasi

Fase terakhir adalah *remodeling*, yang dimulai pada minggu 2-3 hingga 2 tahun paska luka, dengan tujuan memperluas epitel baru dan apoptosis jaringan yang tumbuh berlebihan (Varkey, Ding and Tredget, 2013; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Epitel baru disintesis oleh keratinosit (Varkey, Ding and Tredget, 2013). Fibroblas mulai berkurang seiring dengan peningkatan deposit kolagen (Park, Hwang and Yoon, 2017). Selama fase ini, komposisi matriks berubah, kolagen III yang banyak pada jaringan granulasi digantikan oleh kolagen I, untuk memperkuat jaringan parut. Sel-sel yang tidak dipakai lagi dieliminasi secara apoptosis (Varkey, Ding and Tredget, 2013; Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). Pada kondisi normal, pada luka akan terjadi proses penyembuhan luka, dan hasil akhirnya adalah jaringan parut avaskular (Enoch and John Leaper, 2007).

2.1.3 Penyembuhan Luka Saluran Cerna

Penyembuhan luka saluran cerna merupakan proses yang kompleks dan multifaktorial yang dipengaruhi oleh faktor lokal dan sistemik. Lyra Junior dkk. (2018) dalam jurnalnya menyebutkan beberapa perbedaan antara struktur saluran cerna dan kulit yang membuat perbedaan dalam penyembuhan luka masing-masing, yaitu sub tipe kolagen, sel yang sekresi kolagen, aktivitas kolagenase, lingkungan luka, serta status perfusi jaringan. Penyembuhan luka saluran cerna berbeda dari kulit karena memiliki struktur anatomi yang berbeda dari kulit, dimana sel epitel pada saluran cerna adalah sel kolumnar satu lapis, yang diperbaharui setiap 2-5 hari. Sel

epitel ini merupakan gerbang permeabel, yang menjaga isi lumen supaya tidak memasuki tubuh (Iizuka and Konno, 2011).

	GI tract	Skin
Collagen (subtypes)	1,3,5	1,3
Producing collagen cells	Fibroblasts / Smooth muscle	Fibroblasts
Wound environment	Aerobic / Anaerobic	Aerobic
Collagenase activity	High	Low
Tissue perfusion status	Significant	Not significant

Gambar 4. Perbedaan proses penyembuhan luka saluran cerna dan kulit (Modifikasi dari Lyra Junior et al., 2018). Keterangan: GI = gastro-intestinal.

Dalam mempertahankan fungsinya, sel epitel saluran cerna (*intestinal epithelial cell* - IEC) dibantu oleh jaringan ikat dan mukus. Jaringan ikat saluran cerna terdiri dari jaringan ikat ketat (*tight junction*) dan adheren (*adherens junction*). Jaringan ikat ketat berfungsi sebagai gerbang semipermeabel yang meregulasi gerakan pasif cairan lumen melalui jalur paraseluler dan membatasi difusi pasif protein dan lemak. Jaringan ikat adheren meregulasi adhesi interseluler. Jaringan ikat ketat dan adheren berada pada ujung apikal dari membran plasma lateral dan terhubung satu sama lain untuk membantu regulasi dan menjalankan fungsinya. Kedua jaringan ikat ini disebut juga *apical junctional complex* (AJC) (Iizuka and Konno, 2011).

Luka pada epitel saluran cerna bisa diakibatkan oleh toksin, makanan, inflamasi, mikroba, stress oksidatif, dan obat. Luka ini menyebabkan proses penyembuhan luka yang dipengaruhi oleh banyak faktor seperti faktor pertumbuhan, sitokin, *toll-like receptor* (TLR), makanan, dan agen gastroprotektor (Iizuka and Konno, 2011).

Tahapan penyembuhan luka saluran cerna terdiri dari restitusi, proliferasi, dan diferensiasi yang dibantu oleh faktor pertumbuhan dan sitokin. Penyembuhan luka saluran cerna membutuhkan keseimbangan pada proses restitusi, proliferasi, dan diferensiasi sel epitel saluran cerna (Iizuka and Konno, 2011).

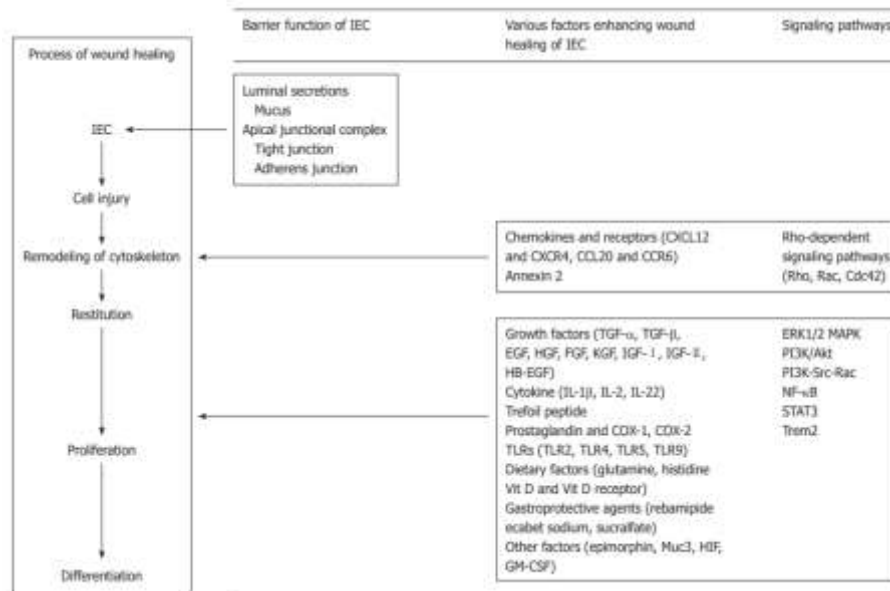
Pada saat terjadi luka, sel epitel pada luka kehilangan polaritasnya, mengalami perubahan morfologi, dan migrasi dengan cepat ke area denudasi untuk memperbaiki integritas pembatasnya, proses ini disebut restitusi epitel. Restitusi epitel dimulai dalam beberapa menit hingga beberapa jam paska luka, dan tidak tergantung proliferasi. Proliferasi epitel mukosa dimulai pada beberapa jam hingga beberapa hari paska luka, dimana terjadi peningkatan cadangan enterosit untuk menutup luka. Proses maturasi dan diferensiasi sel epitel terjadi untuk mempertahankan fungsi barier mukosa (Iizuka and Konno, 2011). Lyra Junior dkk. (2018) menyebutkan proses restitusi dimulai pada saat terjadi luka hingga hari ketiga paska luka, proliferasi dimulai pada hari keempat paska luka, dan diferensiasi terjadi pada hari ke-14 paska luka.

Selama proses restitusi, reorganisasi ekstensif aktin sitoskeleton sangat diperlukan. Reorganisasi aktin sitoskeleton dikontrol oleh famili Rho dari GTPase termasuk Rho, Rac, dan Cdc42. Rho-GTP diperlukan untuk protrusi membran pada lapisan sel intestinal. Lokalisasi dan aktivasi Rho yang dimediasi oleh reseptor kemokin homeostatik, CXCR4, pada epitel saluran cerna memfasilitasi pembentukan lamella yang diperlukan untuk penyembuhan luka. CXCR4 dan CXCL12 berfungsi sebagai jaringan sinyal otokrin dan parakrin yang meregulasi kompetensi barier epitel dari cedera dan memediasi penyembuhan luka paska cedera. Kemokin dan β -defensin berpartisipasi sebagai host pertahanan dalam membunuh mikroba, dengan merekrut sel

imun, membunuh mikroba, dan meningkatkan efisiensi penyembuhan luka pada usus. Annexin-2 yang merupakan protein terikat fosfolipid meregulasi migrasi IEC dan penutupan luka melalui jalur sinyal terkait Rho dan remodeling aktin sitoskeletal (Iizuka and Konno, 2011)

Penelitian sebelumnya menunjukkan peran berbagai *growth factor* [TGF- α , TGF- β , EGF, *hepatocyte growth factor* (HGF), FGF, *keratinocyte growth factor* (KGF), *insulin-like growth factor* (IGF-1, IGF-2)], sitokin (IL-1 β , IL-2), dan peptida trefoil meningkatkan restitusi dan proliferasi IEC. Sementara PDGF, IL-6, *tumor necrosis factor* (TNF)- α tidak memiliki efek pada migrasi sel. Di antara peptide lain, TGF- β merupakan faktor utama dalam proses restitusi IEC, walaupun menghambat proliferasi IEC. Sitokin dan EGF, FGF, HGF, dan TGF- α meningkatkan restitusi IEC dengan meningkatkan produksi bioaktif TGF- β melalui jalur dependen TGF- β . Di lain pihak, peptida trefoil meningkatkan restitusi IEC melalui jalur independen TGF- β . TGF- α meningkatkan proliferasi IEC melalui aktivasi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK)-1/ ERK 2 *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). *Heparin-binding* EGF (HB-EGF) meningkatkan restitusi melalui jalur *phosphatidylinositol-3-kinase/serine-threonine kinase* (PI3K/AKT) dan MAPK/ ERK kinase (MEK). Protein Rac dan jalur sinyal PI3K dan Src meningkatkan migrasi IEC akibat pengaruh EGF. Jalur sinyal Trem2 meningkatkan efisiensi penyembuhan luka dengan menghambat sitokin yang aktivasi makrofag M1 dan meningkatkan sitokin yang aktivasi makrofag M2. Prostaglandin (PG) E2 mukosa disintesa dari arakidonat oleh cyclooxygenase (COX)-1 atau COX-2. PGE2 ini berperan dalam pertahanan mukosa saluran cerna dengan transaktivasi reseptor EGF (*EGF receptor* - EGFR) dan meningkatkan aktivasi jalur Akt. Epimorfin berperan dalam morfogenesis dan restitusi IEC melalui aktivasi EGFR,

jalur sinyal MEK/ ERK. PI3K/Akt (Iizuka and Konno, 2011). Rangkuman proses penyembuhan luka saluran cerna dapat dilihat pada gambar 5 di bawah ini.



Gambar 5. Gambaran penyembuhan luka saluran cerna. IEC= *Intestinal epithelial cell*; TGF= *Transforming growth factor*; EGF= *Epidermal growth factor*; HGF= *Hepatocyte growth factor*; FGF= *Fibroblast growth factor*; KGF= *Keratinocyte growth factor*; IGF= *Insulin-like growth factor*; HB-EGF= *Heparin-binding epidermal growth factor*; IL= *Interleukin*; COX= *Cyclooxygenase*; TLR= *Toll-like receptor*; HIF= *Hypoxia-inducible factor*; GM-CSF= *Granulocyte-macrophage colony stimulating factor*; ERK= *Extracellular signal-regulated kinase*; MAPK= *Mitogen-activated protein kinase*; PI3K= *Phosphatidylinositol 3-kinase*; NF= *Nuclear factor*; STAT= *Signal transducer and activator of transcription*. (Modifikasi dari Iizuka and Konno, 2011)

2.1.4 Faktor Pertumbuhan dan bFGF

Untuk mencapai fase-fase penyembuhan luka, diperlukan beberapa faktor pertumbuhan, yang berfungsi menginduksi dan mempercepat proses penyembuhan luka. Faktor-faktor pertumbuhan tersebut adalah EGF, bFGF, IGF, PDGF, TGF- β , TNF- α dan VEGF, yang dapat ditemukan pada fase-fase penyembuhan luka. Faktor

pertumbuhan yang ditemukan pada masing-masing fase penyembuhan luka dapat dilihat pada gambar 7 di bawah ini.

Growth factors	Hemostasis	Inflammation (exudative phase)	Proliferation	Maturation (remodeling)
Epidermal growth factor (EGF)	X		X	X
Basic fibroblast growth factor (bFGF)		X	X	
Insulin-like growth factor (IGF)			X	
Interleukin (IL)-1A, -6		X		X
Platelet-derived growth factor (PDGF)	X			X
Transforming growth factor (TGF)-B	X		X	
Transforming growth factor (TGF)-A	X		X	
Tumor necrosis factor (TNF)-a		X		
Vascular endothelial growth factor (VEGF)		X		

Gambar 6. Faktor pertumbuhan pada fase-fase penyembuhan luka. (Modifikasi dari Aronson, Laageide and Powers, 2018)

FGF adalah sekelompok faktor pertumbuhan polipeptida yang berfungsi untuk perbaikan dan regenerasi jaringan (Nourian Dehkordi *et al.*, 2019). FGF ini diproduksi oleh sel mast, sel endotel, makrofag, dan fibroblas (Park, Hwang and Yoon, 2017; De Araújo *et al.*, 2019). Keluarga FGF terdiri dari 23 bentuk (Song *et al.*, 2016). FGF yang banyak ditemukan pada daerah saluran cerna dan terbukti berperan dalam penyembuhan luka saluran cerna adalah bFGF (Iizuka and Konno, 2011). bFGF adalah satu-satunya keluarga FGF yang banyak ditemukan terikat pada 4 FGFR dibanding anggota keluarga lainnya (Mossahebi-Mohammadi *et al.*, 2020).

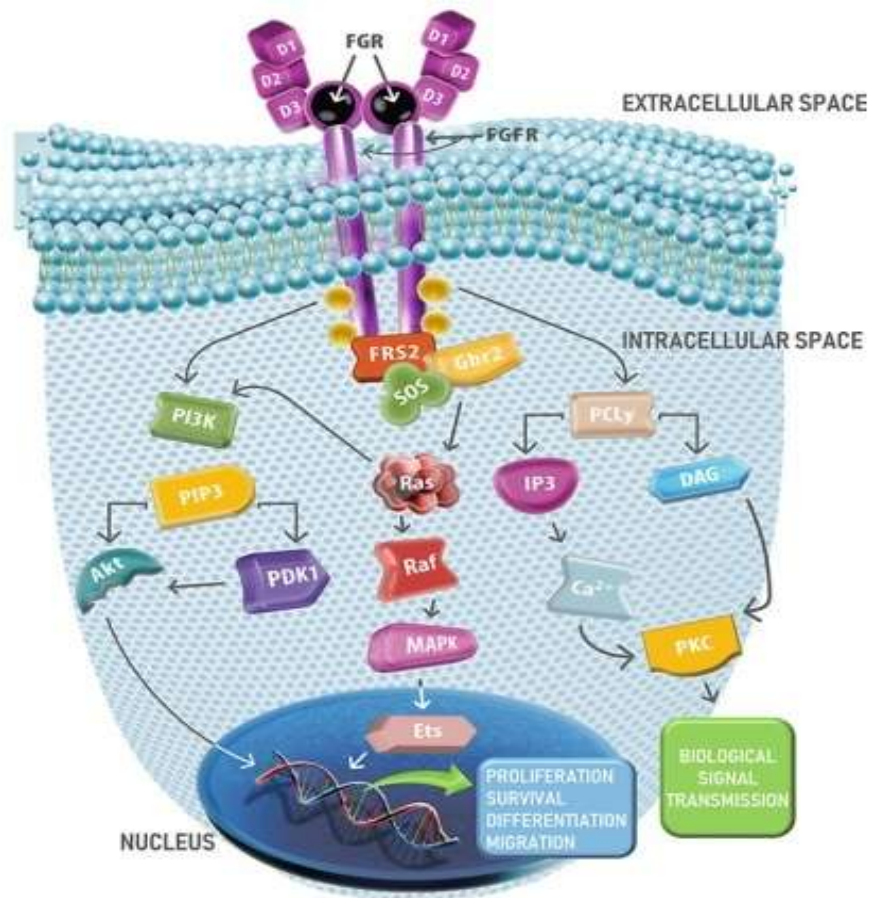
Aronson, Laageide, dan Powers (2018) menyebutkan bahwa bFGF berperan pada tahap inflamasi dan proliferasi selama penyembuhan luka; bFGF berperan untuk menstimuli terjadinya angiogenesis, anti-apoptosis dan anti-fibrotik. bFGF berfungsi menstimulasi proliferasi dan diferensiasi jaringan dermal (endo-meso-ektodermal), penggerak migrasi fibroblas, serta sintesis kolagen dari fibroblas (Song

et al., 2016; Park, Hwang and Yoon, 2017). Dalam tulisan Enoch and John Leaper, 2007, disebutkan bahwa peran bFGF adalah proliferasi sel fibroblas dan epitel, deposisi matriks ekstraseluler, kontraksi luka, angiogenesis, dan mempercepat pembentukan jaringan granulasi.

Nunes dkk. (2016) merangkum penemuan bFGF dalam proses penyembuhan berbagai penyakit seperti luka bakar, luka insisi operasi, patah tulang, ulkus kronis, stomatitis, iskemia tungkai, dan diabetes. Pada semua penyakit ini ditemukan peningkatan kadar bFGF (Nunes *et al.*, 2016). FGF adalah salah satu faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses restitusi dan proliferasi sel epitel pada proses penyembuhan saluran cerna (Iizuka and Konno, 2011).

Peran bFGF dalam proses penyembuhan luka melalui beberapa jalur kompleks yang masih belum dapat dijelaskan dengan baik. bFGF berikatan dengan reseptor tirosin kinase, yang akan mengaktifasi jalur Ras/Raf/Mitogen-activated Protein Kinase (Ras-Raf-MAPK), PI3K/AKT, *phospholipase C- γ* (PLC- γ), dan *janus-family tyrosine kinase/signal transducer and activator of transcription* (JAK-STAT). Aktivasi jalur ini akan menyebabkan fosforilasi protein target, seperti Raf-1, ERK, dan MEK. Sinyal kaskade di atas akan mengaktifasi fosforilasi, yang menginduksi mitosis dan pembagian sel, menyebabkan perubahan fungsi sel. Aktivasi protein di atas oleh bFGF akan menstimulasi proliferasi sel fibroblas dan keratinosit yang menginduksi reepitelisasi dengan mengganti struktur kolagen dan elastin yang tidak teratur serta reposisi matriks ekstraseluler (De Araújo *et al.*, 2019). Rangkuman proses ini dideskripsikan pada gambar 7 di bawah.

PI3K-AKT adalah enzim yang bertindak sebagai transduksi sinyal intraseluler pada banyak proses. Aktivasi sinyal PI3K-AKT akan meregulasi proliferasi, migrasi, pembaharuan, dan metabolisme seluler serta regulasi ekspresi gen, perpindahan kalsium, respon inflamasi, dan pengaturan kembali sitoskeletal. PLC- γ adalah anggota PLC yang menghasilkan *inositol 1,4,5-triphosphate* dan *diacylglycerol* (DAG). *Inositol 1,4,5-triphosphate* merangsang meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} bebas pada intraseluler. DAG berperan mengaktifasi protein kinase C. JAK-STAT berkaitan dengan beberapa jalur sinyal kinase, terutama yang mengaktifasi reseptor gp130, yang meregulasi transkripsi gen. ERK merupakan anggota *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). MEK merupakan anggota *mitogen-activated protein kinase kinase* (MAPKK) yang menyebabkan fosforilasi dan aktivasi ERK-MAPK. Raf-1 merupakan anggota *mitogen-activated protein kinase kinase kinase* (MAPKKK) yang menyebabkan fosforilasi dan aktivasi MEK-MAPKK.



Gambar 7. Jalur aktivasi bFGF dalam penyembuhan luka (Modifikasi dari De Araújo *et al.*, 2019)

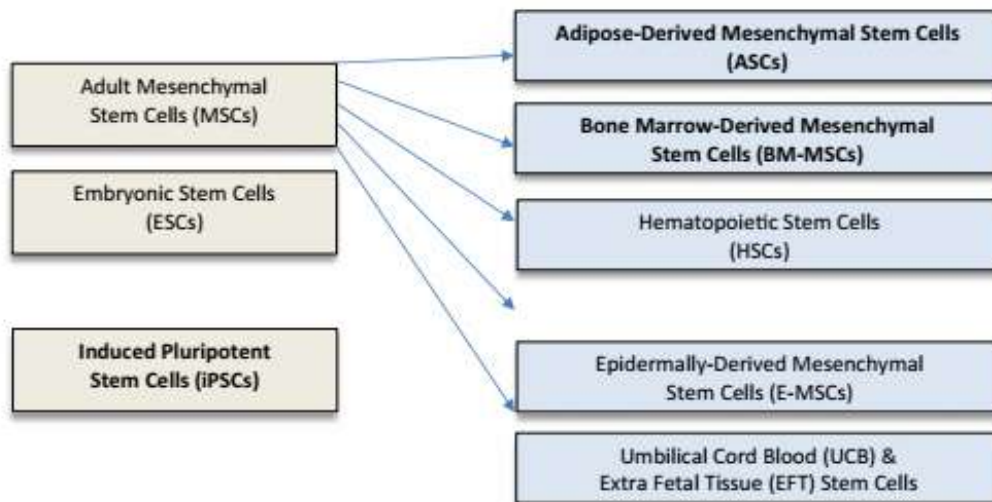
2.1.5 Sel Punca atau *Stem Cell*

Sel punca adalah sel tubuh yang tidak terspesialisasi, mampu berdiferensiasi menjadi sel lain, dan mampu memperbaharui diri. Sel punca didapat pada sel embrio dan dewasa. Sel punca embrionik bersifat pluripoten. Sel punca dewasa bersifat totipoten atau multipoten (Kalra and Tomar, 2014). Potensi perkembangan sel ini berkurang dengan tercapainya spesialisasi/ diferensiasi tertentu (Zakrzewski *et al.*, 2019).

Sel punca diklasifikasikan berdasarkan potensinya menjadi:

- a. Sel punca totipoten: sel yang bisa berubah menjadi seluruh jenis sel dalam organism tersebut (struktur embrio dan ekstra-embrio), contohnya sel zigot.
- b. Sel punca pluripoten: sel yang bisa berubah menjadi hampir semua sel dalam organism tersebut (jaringan endo-meso-ektodermal), contohnya sel punca embrional (*embryonic stem cell* - ESC).
- c. Sel punca multipoten: sel yang bisa berdiferensiasi menjadi sel yang masih satu kelompokan, contoh sel punca hematopoietik.
- d. Sel punca oligopoten: sel yang hanya dapat berdiferensiasi menjadi beberapa sel saja, contohnya sel punca myeloid yang hanya dapat berubah menjadi sel darah putih, tidak bisa menjadi sel darah merah.
- e. Sel punca unipoten: sel yang memiliki potensi diferensiasi menjadi 1 sel saja, contohnya dermatosit (Kalra and Tomar, 2014; Zakrzewski *et al.*, 2019).

Berdasarkan jenis sel, Aronson, Laageide, dan Powers (2018) mengkategorikan sel punca menjadi sel punca embrionik, sel punca mesenkimal dewasa, dan sel punca pluripoten hasil induksi. Jenis-jenis sel punca tersebut dideskripsikan pada gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8. Kategori sel punca (Modifikasi dari De Araújo *et al.*, 2019)

Sel punca menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam hal regenerasi/perbaikan jaringan yang rusak (Trébol *et al.*, 2018). Penggunaan sel punca bisa diaplikasikan untuk regenerasi rambut dan kulit, luka bakar, terapi diabetes mellitus, dan osteoarthritis (Aronson, Laageide and Powers, 2018; Dekoninck and Blanpain, 2019; Zakrzewski *et al.*, 2019).

2.1.6 SVF dan ASC

Jaringan lemak adalah jaringan ikat longgar yang terdiri dari sel-sel yang tersusun dalam matriks intraseluler, vaskuler, limfe, dan jaringan saraf. Sel dominan dalam jaringan lemak adalah sel adiposa beserta sel lain, yang dikenal sebagai SVF. SVF didapat dari lipoaspirat yang diolah secara enzimatik. SVF mengandung sel punca (mesenkim, hematopoietic, dan perisit), sel dewasa (fibroblas, makrofag, dan endotel), dan sel progenitor (preadiposa, endotel, dan vaskuler) (Stefanis *et al.*, 2019).

Adipose-derived stem cell (ASC) adalah salah satu jenis sel punca mesenkimal (Cherubino *et al.*, 2011). Sel punca mesenkimal bisa didapat dari sumsum tulang, plasenta, adiposa, otot, dan darah (Cherubino *et al.*, 2011). Keberadaan sel adiposa yang melimpah dan kemudahan pengolahan, menjadikan SVF menjadi sumber mudah ASC (Stefanis *et al.*, 2019). ASC ini bersifat multipoten dan otologus (Varkey, Ding and Tredget, 2013; Stefanis *et al.*, 2019). SVF hanya memiliki 2-10% sel punca mesenkimal (Karina *et al.*, 2019; Stefanis *et al.*, 2019).

SVF memiliki potensi regenerasi dan anti-inflamasi pada penyembuhan luka karena kemampuannya untuk sekresi faktor pertumbuhan dan molekul anti-inflamasi. Faktor pertumbuhan yang bisa didapat dalam SVF adalah bFGF, PDGF, IGF, *keratinocyte growth factor* (KGF), dan VEGF (Stefanis *et al.*, 2019; Pathan *et al.*, 2020). ASC berperan dalam proses proliferasi dan angiogenesis selama proses penyembuhan (Trébol *et al.*, 2018). ASC dalam SVF memiliki kemampuan anti-apoptosis, anti-inflamasi, dan antiangiogenik, sehingga meningkatkan proses epitelisasi dan neovaskularisasi dalam penyembuhan luka (Pathan *et al.*, 2020).

Aplikasi SVF telah banyak digunakan dalam penyembuhan luka pada banyak area seperti penyakit dalam, ortopedi, bedah umum dan bedah plastik (Stefanis *et al.*, 2019). Pathan dkk. (2020) menyebutkan SVF bisa dipakai sebagai alternatif untuk penyembuhan infark miokard, bedah plastik, osteoarthritis, *inflammatory bowel disease*, dan luka kronis. SVF bisa dipakai dalam penyembuhan kaki diabetes (Bi *et al.*, 2019). Stefanis dkk. (2019) memberikan terapi SVF untuk menangani alopecia dan hasil penelitiannya memuaskan.

2.1.7 PRP

PRP dikenal juga sebagai *platelet-rich growth factor* (PGF), matriks *platelet-rich fibrin* (PRF) dan *platelet concentrate*. PRP adalah fraksi plasma dari darah otologus dengan kandungan konsentrat platelet di atas nilai dasar. (Alves and Grimalt, 2018). Smith RG dan Gassmann CJ (2007) mendefinisikan PRP sebagai produk darah otologus yang mengandung platelet jumlah besar dalam plasma yang sedikit. PRP diperoleh dari donor yang diproses dengan sentrifugasi ganda, dengan hasil akhir adalah plasma dengan konsentrat platelet tinggi (Zhang *et al.*, 2020).

PRP berperan dalam penyembuhan luka karena mengandung konsentrat platelet. Aktivasi platelet dalam PRP akan menstimulasi sekresi faktor pertumbuhan dan sitokin, yang menyebabkan augmentasi jaringan, aktivasi fibroblas, deposisi kolagen baru, dan menstimuli pembentukan vaskular dan adipose baru (Alves and Grimalt, 2018). Salah satu faktor pertumbuhan yang dilepaskan platelet dalam PRP adalah FGF (Alves and Grimalt, 2018; Mehranfar *et al.*, 2019).

Aplikasi PRP telah banyak digunakan dalam bidang medis berbeda, seperti penyakit kulit, cedera olahraga, bedah jantung, bedah anak, ginekologi, urologi, bedah plastik, dan penyakit mata (Alves and Grimalt, 2018).

2.1.8 Kombinasi SVF dan PRP

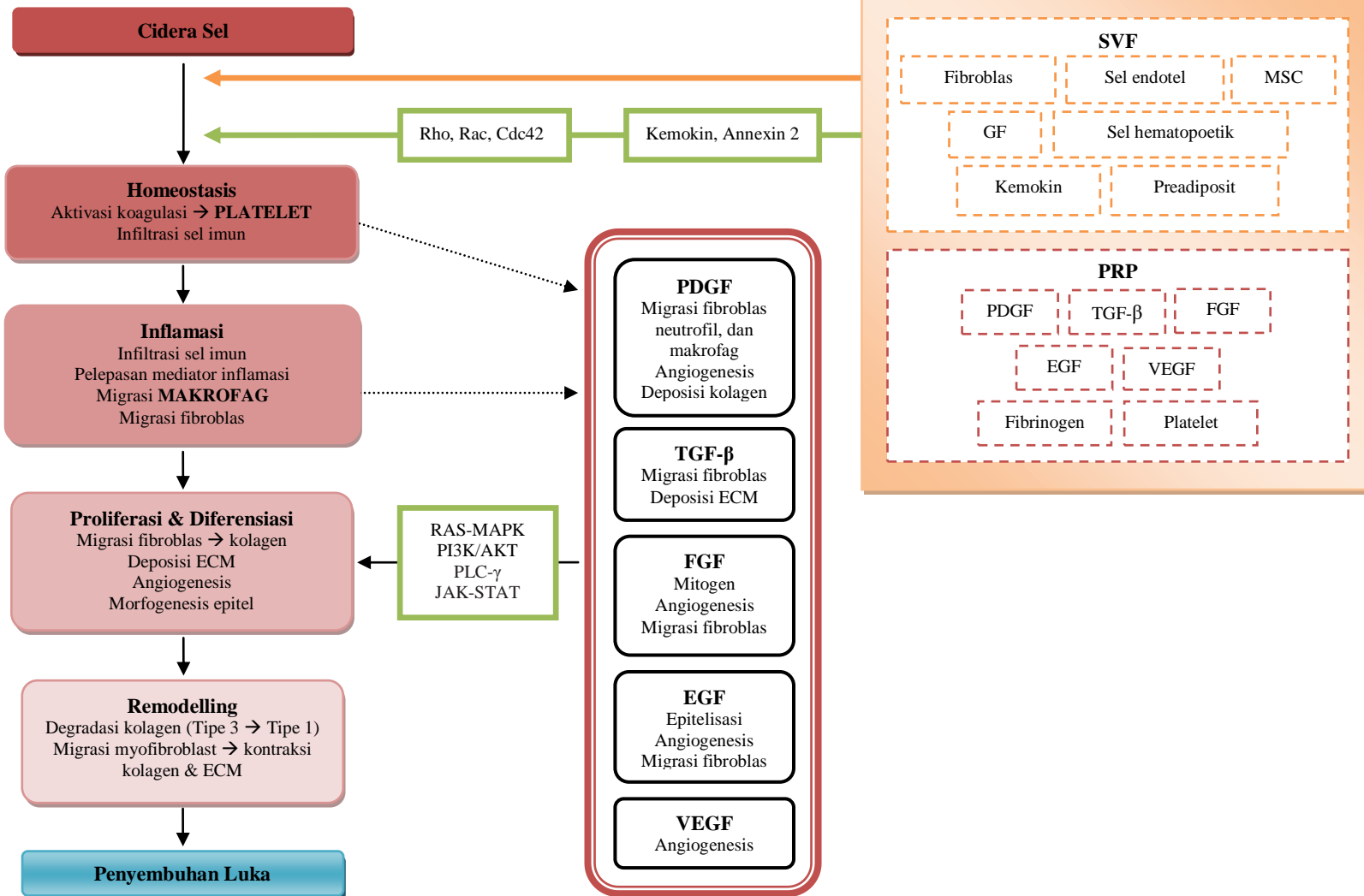
Kombinasi SVF dan PRP memberikan efek sinergis. SVF memiliki keterbatasan berupa jumlahnya sel punca mesenkimal yang sedikit, kurangnya faktor pertumbuhan dan kurangnya adhesi pada jaringan luka. Penambahan PRP sebagai

adjuvan bertujuan menambahkan faktor pertumbuhan yang menunjang ASC pada SVF serta membantu adhesi pada jaringan luka (Mehranfar *et al.*, 2019).

Kombinasi SVF dan PRP telah terbukti dapat mempercepat penyembuhan tendon dan tulang tikus (Zhang *et al.*, 2020). Mehranfar dkk. (2019) menggunakan kombinasi ini untuk perawatan osteoarthritis dan hasilnya adalah percepatan penyembuhan osteoarthritis pada tikus. Aplikasi SVF dan PRP juga mempercepat penyembuhan luka bakar pada model tikus dalam penelitian oleh Karina dkk. (2019). Penelitian yang dilakukan oleh Stevens, Donners dan De Bruijn (2018) menunjukkan bahwa kombinasi SVF dan PRP membantu mengatasi alopesia pada manusia. Dalam penelitian oleh Sirowanto dkk (2021) yang memberikan SVF dan PRP dalam trauma anus, kombinasi ini terbukti meningkatkan kadar EGF serum yang signifikan.

2.2 Kerangka Teori

Kerangka teori pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Kerangka teori penelitian

2.3 Kerangka Konsep

Kerangka konsep yang kami susun dalam penelitian ini dideskripsikan dalam gambar 10 di bawah ini.



Gambar 10. Kerangka konsep penelitian

2.4 Variabel Penelitian

Beberapa variabel dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi:

1. Variabel independen/ bebas: injeksi SVF dan PRP
2. Variabel dependen: penyembuhan trauma anus
3. Variabel antara: bFGF serum

2.5 Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini, kami memiliki beberapa sebagai berikut:

1. Pemberian injeksi kombinasi SVF dan PRP meningkatkan kadar bFGF dalam serum selama penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar.
2. Kadar bFGF kelompok *treatment* lebih tinggi dibandingkan kelompok plasebo.