

KARYA AKHIR

PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA MODEL TIKUS WISTAR BERDASARKAN PENGUKURAN TGF- β SETELAH PEMBERIAN KOMBINASI *PLATELET RICH PLASMA* (PRP) DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVF)

**Wound Remodelling Anal Trauma in Wistar Rat Based on
TGF- β Level After Application of Combination Platelet Rich
Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction Cells (SVFs)**



ADES SANTA SATRIA

C1042162015

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS (SP.1)
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

EFEK KOMBINASI *PLATELET RICH PLASMA* (PRP) DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVF) TERHADAP KADAR TGF-B DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA MODEL TIKUS WISTAR

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis Bedah

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. Ades Santa Satria
C1042162015

KARYA AKHIR

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS**EFEK KOMBINASI PLATELET RICH PLASMA (PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVF) TERHADAP KADAR TGF-B DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS PADA MODEL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

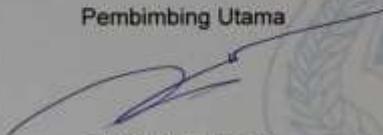
Ades Santa Satria
C104216205

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 12 November 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

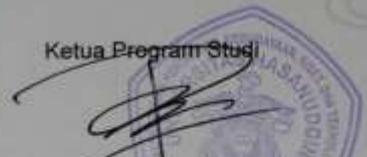
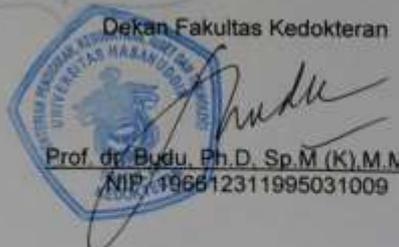
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


dr. Sulmiati, SpBA
NIP. 19731206 200604 2 007
Dr. dr. Alfian Zainuddin, MKM
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. 196612311995031009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ades Santa Satria
NIM : C1042162015
Program studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan 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, 18 Oktober 2021

atakan,

METSRAJ
3FAAJX918807883

Ades Santa Satria

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa berkat karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan 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 dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas kerja keras, bantuan yang tulus, serta semangat dan dukungan yang diberikan pembimbing saya, dr. Sulmiati, SpBA, Dr. dr. Nita Mariana, Sp.BA , M.Kes dan Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM serta Dr. dr. Fonny Josh SpBP-RE (K) B. Mikro sehingga penulisan karya ini dapat selesai sesuai dengan waktunya.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin; dr. Uleng Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D selaku Manajer Program Pasca Sarjana Unhas; serta Prof. dr. Budu, PhD, SP.M (K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas; Dr. dr Irfan Idris, M.Kes. sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi; dan Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) sewaktu menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Juga kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD, Dr. dr. William Hamdani, SpB(K)Onk dan Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk sebagai Ketua Bagian Ilmu Bedah, saat menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah dan sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri dan profesionalisme yang kuat dalam diri saya.

Terima kasih penulis juga ucapkan kepada para Guru Besar dan seluruh Staf Dosen Departemen Ilmu Bedah yang telah mendidik dan membimbing kami dengan sabar dalam meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri kami.

Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada teman seperjuangan dan saudara Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Januari 2017, terima kasih untuk dukungan dan semua bantuan yang telah diberikan.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya akhir ini namun tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Ungkapan teristimewa saya haturkan kepada Ayahanda Naharta, ibu saya Zumrotul ai'ni dan taklupa pula istri saya tercinta dr. Mira Mariana Ulfah, Sp.A yang senantiasa memberi doa, dukungan dan semangat untuk menyelesaikan penelitian saya.

Sebagai penutup, penulis selalu mendoakan semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan karunia-Nya kepada semua pihak yang mencurahkan budi baik, pengorbanan dan bantuan kepada saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

Makassar, 18 Oktober 2021

Yang menyatakan,

Ades Santa Satria

ABSTRAK

ADES SANTA SATRIA. *Efek Kombinasi Platelet Rich Plasma (Prp) dan Stromal Vascular Fraction (Svf) terhadap Kadar Tgf-B dalam Penyembuhan Trauma Anus pada Model Tikus Wistar (Pembimbing Sulmiati, Nita Mariana, Andi Alfian Zainuddin).*

Penelitian ini bertujuan membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs untuk mempercepat proses penyembuhan trauma anal dan kadar protein TGF serum. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen laboratorium pada tikus wistar jantan dengan menggunakan desain *post test control group design* yang terdiri dari satu kelompok dengan perlakuan PRP+SVF dan tanpa PRP+SVF (pengorbanan pada hari ke 1,7 dan M post test), satu kelompok kontrol (pengorbanan pada hari 0), dan satu kelompok donor sel fraksi *vaskular stromal* (SVFs) dan *platelet rich plasma* (PRP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar TGF pada kelompok intervensi terhadap kelompok kontrol pada hari 1 ($31,07 \pm 1,65$ vs $25,6 \pm 1,02$, $p < 0,01$) dan hari 14 ($31,47 \pm 0,51$ vs $27,42 \pm 1,17$, $p = 0,01$). Sedangkan pada hari ke-7 tidak ada perbedaan yang signifikan ($29,37 \pm 2,27$ vs $26,44 \pm 2,61$, $p = 0,18$).

Kata kunci: *Trauma Anus, Transforming Growth Factor (TGF), Platelet Rich Plasma (PRP), Stromal Vascular Factors (SVFs)*



ABSTRACT

ADES SANTA SATRIA. The effect of platelet rich plasma (PRP) and stromal vascular fraction (SVF) combination on TGF- β content in anal trauma healing in wistar rat model (supervised by Sulmiati, Nita Mariana and Andi Alfian Zainuddin).

The research aims to prove the effectiveness of the use SVF and PRP combination to accelerate the anal trauma healing process and TGF serum protein content. The research was conducted by the laboratory experimental method on the male wistar rats using the post-test control group design comprising one group with PRP-SVF treatment and one group without PRP-SVF treatment (the sacrifices on first, seventh, fourteenth days of the post-test), one control group (the sacrifice on Zero day), and one donor group of SVF and PRP cells. The research result indicates that there is the significant difference of the mean of TGF content in the intervention group and control group on the first day (31.07 ± 1.65 vs 25.6 ± 1.02 , $p=0.01$), fourteenth day (31.47 ± 0.51 vs 27.42 ± 1.17 , $p=0.01$). While on the seventh day, there is no significant difference (29.37 ± 2.27 vs 26.44 ± 2.61 , $p=0.18$).

Key words: Anal trauma, transforming growth factor (TGF), platelet rich factor (PRP), stromal vascular fraction (SVF)



DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR BAGAN	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Telaah Pustaka	7
2.1.1 Trauma Anus	7
2.1.2 Proses Penyembuhan Luka Mukosa Anus	15
2.1.3 Platelet Rich Plasma	18
2.1.4 Stromal Vascular Factors (SVFs)	21
2.1.5 Transforming Growth Factor (TGF)	25
2.2 Kerangka Teori	37

2.3 Kerangka Konsep	38
2.4 Hipotesis	38
BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Rancangan Penelitian	39
3.2 Lokasi dan Waktu	39
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	39
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	41
3.4.1 Kriteria Inklusi	41
3.4.2 Kriteria Eksklusi	41
3.5 Kriteria Obyektif	42
3.6 Instrumen Pengumpul Data	42
3.7 Metode Pemeriksaan	44
3.8 Alur Penelitian	46
3.9 Analisis Data	55
3.10 Ethical Clearance	57
BAB IV HASIL PENELITIAN	58
4.1 Hasil Penelitian	58
4.2 Pembahasan	62
4.3 Kelemahan dan Kekuatan Penelitian	67
BAB V PENUTUP	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	76

DAFTAR BAGAN

1. Bagan 1. Kerangka Teori	37
2. Bagan 2. Kerangka Konsep.....	38

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1. Anatomi Rektum	8
2. Gambar 2.2. Proses Pembentukan PRP	19
3. Gambar 2.3. Diferensiasi AD-MSD	24
4. Gambar 2.4. Peran TGFB dalam Proses Penyembuhan Luka.....	28
5. Gambar 2.5. Proses Autoinduksi TGFB dalam Penyembuhan Luka	35
6. Gambar 3.1. Persiapan Sampel	47
7. Gambar 3.2. Proses Pemodelan Tikus Wistar	50
8. Gambar 3.3. Injeksi Kombinasi PRP+SVF	52
9. Gambar 3.4. Alur Penelitian.....	55
10. Gambar 4.1. Rerata Kadar TGF pada tikus percobaan hari 1,7, dan 14	59

DAFTAR TABEL

1. Tabel 3.1. Kriteria Obyektif 42
2. Tabel 4.1. Rerata Kadar TGF Selama Masa Pengamatan..... 58
3. Tabel 4.2. Perbandingan kadar TGF pada kelompok kontrol, tanpa
terapi dan dengan terapi berdasarkan hari pengamatan..... 60
4. Tabel 4.3. Post Hoc Test Bonferonni H1 dan H14 62

DAFTAR SINGKATAN

PRP	<i>Platelet Rich Plasma</i>
SVF	<i>Stromal Vascular Factor</i>
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TGF- β R	<i>Transforming Growth Factor Beta Receptore</i>
OASI	<i>Obstetric Anal Sphincter Injury</i>
AD-MSC	<i>Adipose derivate mesynchemal cell</i>
ASC	<i>adiposa derivate stem cell</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Trauma anus merupakan suatu kondisi yang sangat jarang terjadi. Hal ini disebabkan oleh struktur anus yang dilindungi oleh jaringan lunak ischiorectal dan egluteal dari cedera traumatis. Selain itu, suplai darah yang melimpah ke wilayah tersebut meningkatkan proses penyembuhan dan mengurangi risiko nekrosis jaringan. Namun, apabila terjadi kekuatan traumatis cukup kuat, cedera perineum mungkin terjadi sangat luas sehingga anus dapat terpisah dari jaringan di sekitarnya(Hellinger, 2002).

Menurut data epidemiologis, trauma anus sebagian besar dilaporkan dalam pengaturan militer. Trauma anus merupakan cedera yang biasanya berenergi rendah dan bersifat tembus pada keadaan bukan kasus militer(Ahern *et al.*, 2017). Terdapat beberapa keadaan yang berpotensi menyebabkan trauma anus, termasuk melahirkan, hubungan seksual, iatrogenik, benda asing yang tertelan, penajaman dan semua jenis baik trauma tumpul maupun trauma penetrasi lainnya pada anus(Gencdal *et al.*, 2018).

Menurut literatur, kasus trauma anus saja (terisolasi) jarang terjadi. Beberapa laporan kasus yang ada melaporkan trauma anus yang disertai dengan trauma pada rektal dan perineum(Karateke *et al.*, 2013; Assenza *et al.*, 2020). Di Indonesia, kasus ini banyak ditemukan pada ibu hamil

yang melahirkan, yang lebih dikenal dengan *obstetrics anal sphincter injuries* (OASI) dan pada anak dengan kasus kekerasan seksual (Noviana, 2015). Prevalensi OASI mencapai 12% secara keseluruhan dan mencapai 19% pada primipara dengan episiotomi mediana (Pangastuti *et al.*, 2018). Kasus kekerasan seksual pada anak, terdapat 21.869.797 kasus sejak tahun 2010 hingga 2014 yang tersebar di 34 provinsi dan 179 kabupaten dan kota dimana sebagian besar kasus menunjukkan adanya trauma anus (Humaira B *et al.*, 2015).

Meskipun jarang terjadi, trauma anus berpotensi untuk menyebabkan stenosis anus, ektropion, maupun inkontinensia yang dapat mengganggu kualitas hidup seorang manusia. Masalah ini pun justru dapat ditimbulkan juga setelah melakukan pembedahan pada anus, yang merupakan modalitas utama kasus ini. Komplikasi yang lebih parah dapat berupa peritonitis, sepsis, hingga kematian (Beck, Wexner and Rafferty, 2019). Oleh sebab itu, saat ini sangat diperlukan terapi alternatif non-invasif yang efektif dalam penyembuhan trauma anus.

Saat ini, terapi stem cell (sel punca) merupakan modalitas terapi yang banyak diteliti untuk regenerasi epitel mukosa. Sebuah meta-analisis yang dilakukan oleh Trebol dkk pun menunjukkan banyaknya literatur mengenai perkembangan penggunaan modalitas terapi ini pada pasien-pasien dengan trauma anus yang mengalami inkontinensia (Trébol *et al.*, 2018). 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, V. K.,2016).

Salah satu jenis stem cell yang sering digunakan untuk penyembuhan luka mukosa ialah *Platelet Rich Plasma* (PRP). Platelet-rich plasma (PRP) merupakan trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, yang berisi setidaknya enam faktor pertumbuhan yang utama, termasuk platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), dan transforming growth factor-b (TGF-b) yang dilepaskan setelah aktivasi trombosit (Raposio E, dkk., 2016; Borrione, P., 2010; Asli Duran, 2018; Gentile P. dkk., 2016; Choi J., dkk., 2012; Stessuk, T., dkk., 2016; Tohidnezhad, M.,2011; Martins, R. P., 2016; El-Sharkawy, H., 2007).

Efek positif dari PRP dalam merangsang proses angiogenesis dan proliferasi *undifferentiated stem cells* telah ditunjukkan secara eksperimental. Dalam kaitannya dengan angiogenesis, Eppley dkk melaporkan bahwa PRP merangsang sel-sel endotel dekat daerah luka, merangsang proliferasi dan pembentukan pembuluh darah kapiler baru (Eppley BL., dkk. 2006). Selain itu, dalam studi in vitro, Hu dkk. menyimpulkan bahwa PRP merupakan sel-sel penyumbang yang potensial dalam memulai proses angiogenesis, yang merekrut endotel pembuluh darah daerah tersebut, dan mulai inisiasi regenerasi tulang (Hu Z., dkk. 2009). PRP mampu merangsang proliferasi *stem cell undifferentiated* dan diferensiasi sel untuk regenerasi jaringan

(Horwitz EM., dkk. 2005; Hausman GJ, Richardson RL. 2004). Stem cells undifferentiated bermigrasi ke lokasi konsentrasi faktor pertumbuhan PRP, dan faktor pertumbuhan memicu proliferasi sel-sel ini ke daerah luka (Kevy S., 2001; Choi J., dkk. 2012).

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

Hingga saat ini belum ada data penelitian yang memaparkan secara langsung bagaimana dampak atau efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs pada kasus trauma anus, baik di Indonesia maupun di dunia. Namun, Lorenzo-Zuniga dkk melakukan penelitian pada enam belas ekor tikus jantan untuk menilai efektivitas penggunaan PRP pada penyembuhan

mukosa usus dan menunjukkan hasil yang memuaskan(Lorenzo-Zúñiga *et al.*, 2016). Selain itu, Gottipamula dkk menuliskan dalam sebuah artikel ilmiah bahwa ADSC (dimana SVF merupakan salah satu turunannya) dapat berperan dalam menurunkan apoptosis sel yang trauma, menurunkan permeabilitas intestinal, meningkatkan pemulihan mukosa usus, dan meningkatkan neovaskularisasi pada kondisi hipoksia(Gottipamula, Chokalingam and Sridhar, 2018).

Melihat besarnya potensi yang diberikan oleh PRP dan SVF pada penyembuhan mukosa gastrointestinal, penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk melihat efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs pada kasus trauma anus dengan menggunakan *Tumor Growth Factor* (TGF) sebagai indikator perbaikan mukosa anus.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* mempercepat penyembuhan luka trauma anus pada model tikus wistar?
2. Apakah ada hubungan antara kadar TGF serum dengan kualitas penyembuhan trauma anus tikus wistar?
3. Apakah ada perbedaan kadar TGF serum antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* dengan plasebo pada penyembuhan trauma anus tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs dapat mempercepat proses penyembuhan trauma anus dan kadar protein TGF dalam serum.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk membuktikan bahwa kombinasi PRP + SVFs efektif dalam penyembuhan trauma anus tikus wistar.
- b. Untuk membuktikan bahwa kadar TGF serum memiliki hubungan dengan kuantitas penyembuhan trauma anus tikus wistar.
- c. Untuk membuktikan bahwa kadar TGF setelah pemberian kombinasi PRP + SVFs memiliki perbedaan yang signifikan dengan plasebo.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP + SVFs untuk mempercepat proses penyembuhan trauma anus.
- b. Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan trauma anus.
- c. Sebagai alternatif dalam pengobatan trauma anus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

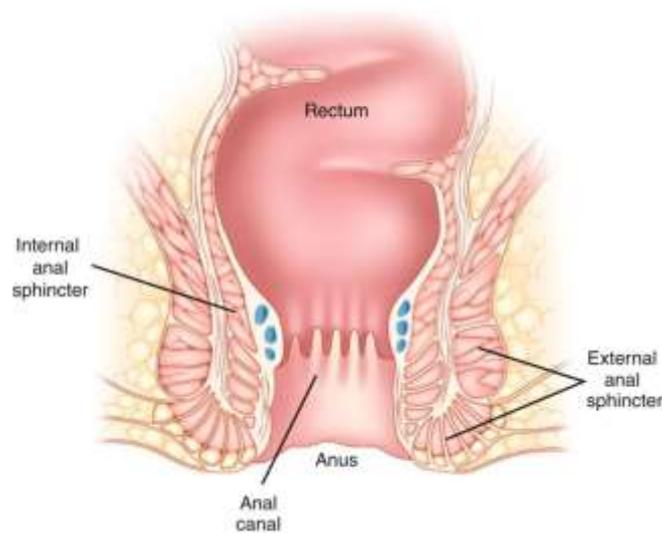
2.1.1 Trauma anus

Kasus trauma anus jarang ditemukan. Trauma anus didefinisikan sebagai disrupsi anus yang disebabkan oleh trauma tumpul ataupun trauma penetrasi pada perineum. Trauma anus pada umumnya melibatkan cedera pada otot sfingter anus (Herzig, 2012). Posisi anatomi anorektum yang dilindungi oleh tulang panggul, sakrum, dan otot-otot dasar panggul menyebabkan kasus ini jarang terjadi, kecuali bila terjadi kerusakan akibat iatrogenik. Posisi anus yang lebih rendah dibandingkan rectum menyebabkan anus lebih sering mengalami trauma dibandingkan rectum. Namun, bila terjadi trauma yang melibatkan rektum ekstrapéritoneal biasanya akan lebih parah dan meluas ke organ sekitarnya (Altomare, 2017).

Anatomi

Anus merupakan bagian terminal usus besar setelah rektum. Rektum memiliki panjang 15 cm dan merupakan lanjutan dari colon pelvis, dimulai dari persimpangan rektum-sigmoid pada level S3 hingga ambang anus (recto-anal verge). Secara anatomis rektum terdiri dari dua bagian yang dipisahkan oleh insersi otot levator ani ke dalam dinding rektum: ampula rektum terletak di panggul kecil dan anus terletak di perineum belakang (La Torre *et al.*, 2017).

Lubang anus terletak kira-kira 3 cm di anterior os coccygeus dan di posterior perineum. Dalam keadaan istirahat, lubang anus memiliki bibir-bibir yang berada disebelah kanan dan kiri, pada bagian anterior dan posterior terdapat komisura. Namun, ketika diperluas struktur ini menghilang dan membentuk garis melingkar(La Torre *et al.*, 2017).



Gambar 2. 1. Anatomi rektum

Dikutip dari (La Torre *et al.*, 2017)

Etiopatogenesis

Menurut literatur, beberapa hal dibawah ini dapat menyebabkan trauma anus, yaitu:

a. Trauma tumpul (tertutup)

Trauma tumpul merupakan penyebab yang jarang ditemukan tanpa adanya keterlibatan tulang panggul. Keadaan ini biasanya akibat kecelakaan lalu lintas pada pengendara bermotor atau jatuh dari tangga/gedung tinggi(Altomare, 2017).

b. Melahirkan

Trauma anus biasanya disebabkan oleh kasus disproporsi sefalopelvis selama proses kehamilan. Keadaan ini tidak hanya menyebabkan kerusakan pada anus, tetapi juga dapat merusak vagina dan perineum. Pada beberapa keadaan, dokter kebidanan melakukan tindakan episiotomi garis tengah untuk memfasilitasi kemajuan persalinan, namun sayangnya hal ini dapat menyebabkan laserasi pada sfingter ani, saluran anal, dan rektum. Beberapa kasus yang ditemukan di daerah pedesaan, dapat terjadi robekan spontan vagina posterior yang dapat sampai hingga ke anus akibat persalinan normal (LaCross, Groff and Smaldone, 2015; Altomare, 2017).

c. Benda asing yang tertelan

Beberapa partikel kecil dan tajam yang tertelan dapat mencapai anus dan terperangkap di dinding anus atau otot sfingter ani, yang kemudian dapat menyebabkan perforasi atau abses. Keadaan ini dapat ditemukan pada pasien-pasien psikiatri akibat secara sengaja menelan kuku atau benda-benda tajam lainnya. Namun, tidak menutup kemungkinan dapat terjadi secara tidak sengaja, misalnya menelan tulang ikan atau ayam, sekam kenari, pecahan kaca, tusuk gigi, gigi palsu (Altomare, 2017).

d. Benda asing yang dimasukkan ke dalam anus

Benda-benda yang sering ditemukan pada kasus ini biasanya merupakan benda berbentuk lonjong (seperti lingga). Benda tersebut

dimasukkan ke dalam rektum dan tetap terperangkap di atas sphincter ani dan biasanya disebabkan oleh upaya autoerotisme maupun kekerasan seksual. Benda-benda tersebut dapat berupa botol, dildo plastik dan vibrator, sayuran, bola lampu listrik, pena, dan kaca. Selain akibat tindakan seksual, termometer bisa hilang pada anus saat mengukur suhu pada anak-anak dan dapat pecah, menyebabkan luka tembus ke dinding dubur(Larsen, Hilden and Lidegaard, 2015; Altomare, 2017).

e. Kekerasan seksual melalui anus

Pada pria dan wanita, trauma mungkin disebabkan oleh tindakan seks anal yang terlalu keras yang diterima secara sukarela oleh kedua pasangan atau mungkin tindakan kriminal yang kadang-kadang dilakukan pada anak-anak (terutama anak laki-laki) (Larsen, Hilden and Lidegaard, 2015; Altomare, 2017).

f. Cidera pneumatik

Pada beberapa kasus, cidera pneumatik dapat terjadi akibat tekanan udara yang tinggi disuntikkan melalui anus, yang kemudian akan meningkatkan tekanan intra-rektal secara tiba-tiba, yang akan menyebabkan ledakan usus hingga ke anus. Cidera pneumatik biasanya ditemukan pada kasus kriminalitas(Sy *et al.*, 2015; Altomare, 2017).

g. Cidera iatrogenik pada saat melakukan diagnosis/terapi

Cidera iatrogenik dapat disebabkan oleh:

1. Enema (nozzle enema dapat menyebabkan laserasi mukosa dan fistula rektovaginal, atau menggunakan air yang terlalu panas dapat sangat membakar mukosa) (Altomare, 2017)
2. Barium enema (Altomare, 2017)
3. Biopsi dubur, yang dapat menyebabkan perdarahan dan perforasi polipektomi diatermi, yang dapat menyebabkan gas kolon (metana, hidrogen sulfida, hidrogen) meledak(Altomare, 2017)
4. Rectoskopi, sigmoidoskopi(Altomare, 2017)
5. Pembedahan untuk celah anal, wasir, fistula, dan abses(Altomare, 2017)
6. Operasi untuk penyakit prostat, kandung kemih, dan rahim(Altomare, 2017)

h. Cidera penetrasi

Cidera penetrasi anus akibat luka tusuk atau tembak diklasifikasikan sebagai luka intraperitoneal dan ekstraperitoneal. Luka intraperitoneal lebih sering ditemukan dibandingkan dengan yang luka ekstraperitoneal(Altomare, 2017).

1. Luka tusuk yang melibatkan anus atau rektum ekstraperitoneal jarang terjadi tetapi dapat timbul sebagai bagian dari trauma anoperineal yang kompleks dalam kecelakaan mobil atau motor. Luka tusuk tembus yang melibatkan rektum intraperitoneal dapat

disebabkan oleh pisau atau belati dan perlu diperlakukan seperti cedera kolon(Altomare, 2017).

2. Luka tembak relatif sering terjadi pada masa perang karena posisi tengkurap yang diasumsikan oleh tentara saat menembak, dan tingkat kerusakan dubur tergantung pada sifat balistik proyektil. Peluru berkecepatan tinggi (militer) menghasilkan lubang masuk yang kecil tetapi kerusakan jaringan yang luas, perforasi berlipat ganda, dan luka keluar yang besar, sedangkan peluru berkecepatan rendah (penggunaan sipil) sering tertahan di dalam jaringan(Altomare, 2017).

- i. Penajaman dubur (*rectal impalement*)

Penajaman atau penyulaan dubur merupakan sebuah teknik penghukuman yang digunakan untuk menyiksa dan membunuh musuh di zaman kuno, tetapi hari ini masih bisa terjadi apabila pasien jatuh dan tertancap pada benda runcing. Kasus ini pada umumnya ditemukan pada pekerja pertanian yang secara tidak sengaja jatuh ke alat atau tiang pagar dengan kaki mengangkang, atau jatuh secara tidak sengaja oleh mereka yang berpartisipasi dalam olahraga yang melibatkan panjat atau lompat. Trauma tembus dapat melibatkan anus, sfingter anal, dan dinding rektum dan dapat meluas ke sakrum dan tulang ekor, perineum, prostat, uretra, dan kandung kemih, serta organ intraperitoneal, terutama usus kecil dan besar. Trauma yang parah juga telah digambarkan sebagai hasil dari tindakan kriminal(Altomare, 2017).

Epidemiologi

Epidemiologi trauma anus mengalami perbedaan dalam beberapa dekade terakhir. Pada zaman perang dunia I dan II ditemukan sangat banyak kasus trauma anus yang disebabkan oleh luka tembak (46,9%), combat (24,6%), luka tusuk (0,49%), benda asing (2,47%), serta luka ledakan (35,76%)(Ahern *et al.*, 2017). Namun, dalam beberapa dekade terakhir, trauma anus didominasi oleh ibu hamil post partum atau yang disebut sebagai OASI (*Obstetric Anal Sphincter Injury*). OASI merupakan salah satu komplikasi berat obstetrik yang mencakup 5,9% pasien dengan persalinan normal(Santoso and Khusen, 2016; Joris *et al.*, 2019). Sedangkan pada anak-anak, kasus anal trauma paling banyak disebabkan oleh kekerasan seksual dengan insidens 21,4% dari seluruh kasus yang pernah dilaporkan(Adams, Farst and Kellogg, 2018).

Tatalaksana

Pada kasus trauma anus, operasi dapat dilakukan dengan tujuan untuk menyelamatkan hidup pasien, diikuti dengan mengendalikan infeksi dan, dalam kasus ini, menjaga kontinensia feces dan fungsi evakuasi(Altomare, 2017).

Penatalaksanaan trauma rektal berbasis bukti diformulasikan berdasarkan fisiologi dan anatomi pasien. Terdapat dua keadaan yang mungkin ditemukan yaitu: (1) pasien yang stabil secara hemodinamik dan (2) pasien yang tidak stabil dengan kehilangan banyak darah, asidosis, hipotermia, dan koagulopati. Pasien-pasien ini akan langsung pergi ke

ruang operasi dan menjalani operasi pengendalian kerusakan. Kondisi ini biasanya disebabkan oleh cedera pelvis dan intraabdomen(Herzig, 2012).

Tatalaksana awal pasien pada umumnya adalah evaluasi dan resusitasi bila ditemukan adanya tanda-tanda trauma pelvis yang menyertai. Setelahnya maka dilakukan *primary survey* untuk mengidentifikasi dan tatalaksana kondisi yang mengancam nyawa(Ahern *et al.*, 2017).

Apabila kondisi pasien sudah stabil, maka dilakukan pemeriksaan *secondary survey* untuk mengidentifikasi trauma anus yang dimiliki pasien. Debridemen jaringan nonviable penting untuk mencegah sepsis, dan beberapa penulis merekomendasikan lavage dan debridemen di ruang operasi selama 3 hari pertama(Herzig, 2012).

Bila luka kecil, perbaikan primer dapat dipertimbangkan setelah viabilitas jaringan bersih. Pada cedera yang lebih luas harus ditangani dengan penggantian balutan dan pencegahan komplikasi infeksi. Setelah perineum sembuh total, derajat cedera sfingter dapat dinilai dengan endosonografi, elektromiografi jarum konsentris, dan manometri(Herzig, 2012).

Terdapat beberapa teknik pembedahan yang menjadi pilihan tatalaksana(Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018):

- a. Sfingteroplasti; diseksi pada kompleks sfingter hingga ke cincin anorectal kemudian di tumpeng-tindihkan dan dilekatkan menggunakan jahitan benang absorbable.

- b. Gracioplasti/Gluteoplasti; digunakan otot gracilis atau otot gluteus untuk merekonstruksi anus.
- c. Sfingter buatan; berupa alat yang terdiri dari manset oklusif tiup yang ditempatkan di sekitar kanal anal dengan pompa yang ditempatkan di skrotum atau labia.
- d. Stimulasi Saraf Sakralis; neuromodulasi radix nervus S3.
- e. Augmentasi sfingter magnetif; perangkat kontinensia baru yang terdiri dari pita fleksibel dengan inti magnetik yang ditempatkan di sekitar saluran anus untuk meningkatkan tonus sfingter ani.

2.1.2 Proses Penyembuhan Luka Mukosa Anus

Permukaan saluran gastrointestinal ditutupi dengan sel epitel yang berfungsi dalam kondisi fisiologis sebagai *barrier* yang mencegah antigen luminal yang tidak diinginkan memasuki tubuh(Laukoetter, Bruewer and Nusrat, 2006). Setelah cedera, epitel usus mengalami proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka usus bergantung pada keseimbangan yang tepat dari migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel epitel yang berdekatan dengan area luka(Moyer *et al.*, 2007).

Fase I, fase lag, dimulai pada hari ke-1 dan berlangsung hingga hari ke-3 atau 4. Hal ini ditandai dengan inflamasi dan edema yang terlihat pada jaringan tubuh lainnya. Segera setelah luka, kontraksi otot vaskular, agregasi platelet, dan aktivasi mekanisme koagulasi menyebabkan pengendapan gumpalan fibrin, yang mengontrol perdarahan dan membantu menutup luka. Bekuan fibrin memberikan kekuatan luka

minimal pada hari pertama pasca operasi, tetapi penopang luka utama selama fase lag penyembuhan luka berasal dari jahitan. Regenerasi epitel dimulai segera setelah luka. Migrasi epitel melintasi mukosa muskularis yang rusak dapat terjadi hanya dalam 3 hari. Namun, epitel itu sendiri menawarkan sedikit sokongan biomekanik, oleh karena itu, jahitan fungsional dan fibrin seal harus ada untuk mencegah kebocoran mukosa (*mucosa leakage*). Fase lag merupakan periode paling kritis dari penyembuhan luka di saluran GI karena sebagian besar luka terjadi dalam 72 sampai 96 jam setelah luka dibuat (Ellison, 1989).

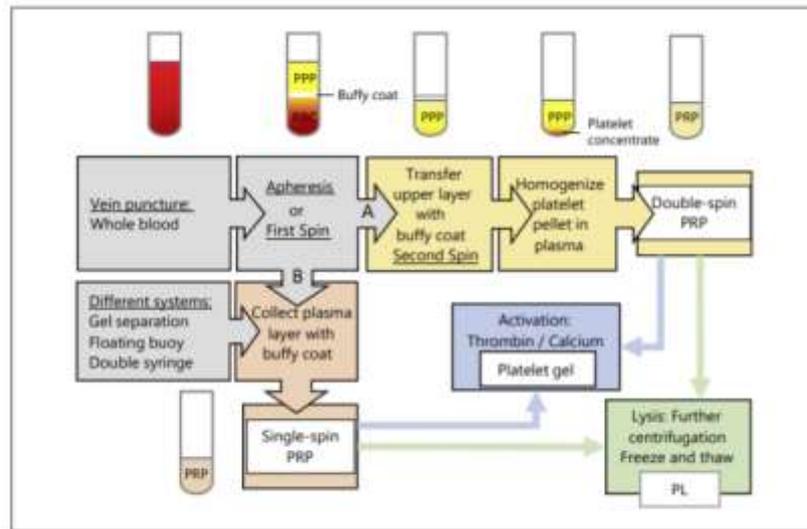
Fase II adalah fase proliferaatif atau logaritmik penyembuhan luka dan berlangsung dari hari ke-3 atau ke-4 hingga hari ke-14. Proliferasi fibroblast terjadi secara logaritmik selama periode ini, yang mengakibatkan sejumlah besar fibroblas menghasilkan kolagen yang belum matang dan kekuatan luka yang bertambah dengan cepat. Tingkat fibroplasia dan penguatan kekuatan tarik di usus jauh melebihi yang terlihat di kulit. Kekuatan anastomosis usus atau insisi gastrotomi dengan cepat mendekati jaringan normal dalam 10 hingga 17 hari pasca operasi. Faktanya, jika jaringan GI mengalami uji kegagalan kekuatan pecah setelah 14 hari, kegagalan biasanya terjadi di dekat lokasi luka awal daripada melalui luka asli.4 Fase proliferasi penyembuhan luka adalah proses dinamis dimana sintesis kolagen terjadi dengan adanya kolagenolisis. Di lambung dan usus kecil, aktivitas kolagenase di tepi luka minimal dan peningkatan kekuatan tarik dan pecah yang cepat terjadi

pada organ-organ ini. Namun, di usus besar, tingkat pergantian kolagen yang sangat tinggi terjadi. Selama 4 sampai 6 hari pertama pasca luka, diperkirakan bahwa 40% kolagen lama di luka kolon hilang akibat aktivitas kolagenase yang ditandai ini. Faktor lokal, seperti jahitan traumatis, bahan asing, dan kontaminasi bakteri, meningkat jumlah kolagenase lokal yang diproduksi di tepi luka (Moyer *et al.*, 2007).

Fase III, atau "fase pematangan", terjadi dari hari ke-14 hingga sekitar hari 180 pasca-luka. Selama periode ini, serat-serat kolagen mengatur ulang dan membentuk ulang. Ada peningkatan kekuatan luka usus yang lambat seperti dataran tinggi selama periode ini. Seperti halnya luka pada kulit, ukuran morfologis GAF} Y W. ELLISON dan ketebalan bekas luka berkurang selama waktu ini tanpa kehilangan kekuatan luka. Fase penyembuhan luka ini relatif tidak penting secara klinis karena nilai tensile dan burst strength yang dapat diterima telah ditetapkan pada akhir fase proliferasi penyembuhan luka. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa berbagai peptida regulator, termasuk faktor pertumbuhan dan sitokin yang memodulasi penyembuhan luka epitel usus (Sturm and Dignass, 2008). Studi terbaru telah mengungkapkan bahwa faktor-faktor baru, yang meliputi *toll-like receptors* (TLRs), peptida regulator, faktor makanan tertentu, dan beberapa agen gastroprotektif, juga memodulasi perbaikan luka epitel usus. Selain itu, telah ditunjukkan bahwa aktivasi jalur pensinyalan spesifik terlibat dalam penyembuhan luka epitel usus (Harris, KuoLee and Chen, 2006; Iizuka and Konno, 2011)

2.1.3 Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet Rich Plasma (PRP) merupakan suatu autologous dari trombosit manusia dalam volume yang kecil dalam plasma yang mengandung $> 1.000.000$ trombosit/ μl dengan volume 5 ml plasma atau 2-7 kali dibandingkan dengan konsentrasi plasma pada darah secara umum. Secara umum, terminologi PRP mengacu pada cairan yang diperkaya oleh fibrin (Lang, Loibl and Herrmann, 2018). PRP diketahui mengandung 7 macam faktor pertumbuhan yaitu: TGF- β , bFGF, PDGF α , PDGF β , EGF, VEGF. (Le *et al.*, 2018). 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. 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 (Giordano *et al.*, 2018).



Gambar 2. 2. Proses pembentukan PRP

Gambar dikutip dari (Lang, Loibl and Herrmann, 2018)

Trombosit merupakan komponen darah yang dikenal karena perannya dalam pembekuan darah untuk menghentikan perdarahan. Trombosit memainkan peran yang sangat penting dalam penyembuhan cedera. Trombosit secara alami sangat kaya akan faktor pertumbuhan untuk penyembuhan luka. Respon tubuh pertama terhadap cedera jaringan adalah mengantarkan trombosit ke daerah tersebut. Trombosit memulai perbaikan dan menarik sel punca pada luka. Menyuntikkan faktor pertumbuhan ini ke dalam ligamen, tendon, sendi dan spinal yang rusak akan merangsang proses perbaikan alami. Untuk memaksimalkan proses penyembuhan, platelet harus terkonsentrasi dan terpisah dari sel darah merah. Tujuan PRP adalah untuk memaksimalkan jumlah trombosit sambil meminimalkan jumlah sel darah merah dalam larutan yang disuntikkan ke daerah yang terluka atau sakit. Singkatnya, PRP menciptakan,

merangsang, dan mempercepat proses penyembuhan alami tubuh(Daradka, Alardah and Ismail, 2019; Zhang *et al.*, 2020).

PRP ditemukan pertama kali pada tahun 1970-an dan digunakan pertama kali pada pembedahan jantung pada tahun 1987. Sejak saat itu PRP telah berkembang dan dipakai untuk mengobati berbagai cedera akibat olahraga. Atlet terkenal seperti Tiger Woods, Donovan Bailey, Alex Rodriguez, Tracy McGrady, Cliff Lee dan Fred Couples telah menggunakan pengobatan dengan metode ini(Maria-Angeliki *et al.*, 2015). Penggunaan PRP kini telah makin meluas di bidang kedokteran, utamanya bedah plastik dan ortopedi, 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) (Bedi, Jain and Mittal, 2015; Rah *et al.*, 2017; Stevens and Khetarpal, 2019).

Sebuah penelitian terhadap ulkus dengan ukuran lebih dari 10 cm dengan dasar berupa serat sfingter anal internal, dan berlangsung lebih dari 60 hari, menunjukkan bahwa ulkus tersebut memiliki kemungkinan tinggi untuk sembuh dalam 20 minggu pada 22% pasien(Amaro, Pérez and Robaina, 2018) . Respons awal terhadap pengobatan merupakan faktor prediktif penyembuhan. Telah ditetapkan bahwa perawatan dapat

dilanjutkan bila terdapat perbaikan sekitar 15% permukaan lesi setelah satu atau dua minggu perawatan(Amaro, Pérez and Robaina, 2018).

2.1.4 Stromal Vascular Factors (SVFs)

Stromal vascular fraction cell (SVFs) berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVFs diperoleh melalui sedot lemak dan mengandung beberapa jenis sel, termasuk sel induk yang diturunkan dari adiposa derivate stem cell (ASCs), sel mesenchymal dan sel progenitor endotel, sub tipe leukosit, sel limfatik, pericytes, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular. SVFs diproses sedemikian rupa sehingga mengandung komposisi sel heterogen konsisten yang dapat di produksi kembali. Setelah proses produksi dan pencatatan, SVFs yang berasal dari adiposa dapat berdiferensiasi menjadi jenis jaringan yang berbeda, mendukung neovaskularisasi, mengganti sel dan memperbaiki jaringan yang cedera(Stefanis *et al.*, 2019).

SVF merupakan sel yang heterogen, yang tidak hanya terdiri dari sel perivaskular, leukosit, dan sel endotel, tetapi juga dari persentase sel stroma yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi berinti BM (yang mengandung BM-MSCs). SVF terdiri dari kurang dari 0,1% sel induk dan sel progenitor. Sel-sel minat tradisional ini (populasi stroma) memiliki sekelompok profil diferensiasi yang mencakup kepositifan untuk CD34 dan negatif untuk CD45 (antigen umum leukosit), CD235a (glikophorin A), atau CD31 (molekul adhesi sel platelet-endotel-1 [PECAM -1]); oleh karena itu, profil imunofenotipiknya dalam notasi umum adalah CD45⁻ CD235a⁻ CD31⁻

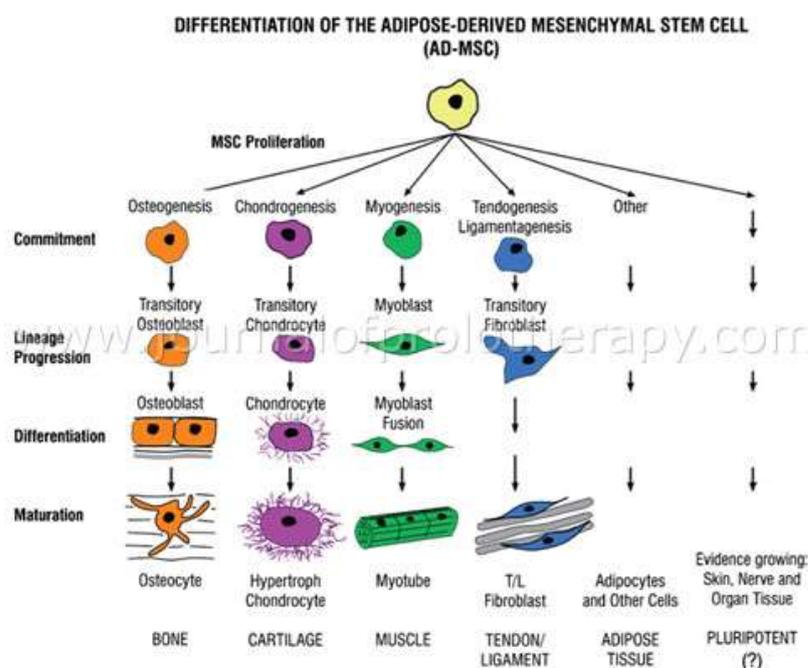
CD34p. CD34, kemungkinan karena variasi epitop yang dideteksi oleh antibodi kelas I / II / III-CD34, positif dengan intensitas variabel; untuk karakterisasi sel SVF, Bourin et al. merekomendasikan penggunaan antibodi CD34 kelas III untuk mendapatkan sinyal yang paling konsisten. Selain itu, antigen permukaan berikut dapat membantu dalam mengidentifikasi populasi stroma, terutama yang dikombinasikan dengan profil CD: CD13 (aminopeptidase N), CD73 (molekul adhesi limfosit-vaskular-2), CD90 (Thy-1), dan CD105 (endoglin)(Brown and Katz, 2019).

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. Sejak laporan awal pada akhir 1960-an, beberapa laboratorium telah menetapkan bahwa sel stroma yang serupa dengan yang teridentifikasi dalam sum sum tulang dapat diisolasi dengan cara yang dapat direproduksi dari jaringan adiposa yang dapat direseksi sebagai jaringan utuh atau disedot dengan liposuction. Umumnya jaringan adiposa dicerna oleh suatu kolagenase, tripsin atau enzim terkait. Di Indonesia, terapi SVF mulai digunakan pada tahun 2011 dan terus dikembangkan hingga saat ini(Karina, Muhammad F Samudra, *et al.*, 2019).

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

masing dan perbedaan dalam protokol perluasan *ex vivo* (Stefanis *et al.*, 2019; Karina *et al.*, 2020).

Penelitian klinis pada populasi sel stromal dewasa ini telah meningkat dan beberapa penyelidikan klinis sedang dilakukan untuk memeriksa penggunaan ASCs, SVFs dan MSCs sumsum tulang untuk rekayasa jaringan dan aplikasi medis regeneratif. Metode untuk mengisolasi SVFs menggunakan teknik mekanis dan non enzimatis sedang dikembangkan dan beberapa telah diterapkan dalam praktik klinis. Untuk alasan ini, sekarang saatnya untuk mengembangkan sebuah pernyataan ringkas yang mendefinisikan karakteristik dan sifat unik dari sel SVFs dan ASCs (Valentin *et al.*, 2016; Bi *et al.*, 2019; Stefanis *et al.*, 2019; Karina *et al.*, 2020).



Gambar 2. 3. Diferensiasi AD-MSC
Dikutip dari (Alexander, 2012)

Jaringan adiposa seperti sumsum tulang berasal dari mesenkim dan terdiri dari stroma yang terpisah secara efektif. Mengingat hal ini, jaringan adiposa dapat mewakili sumber sel punca/stem cell yang memiliki keuntungan luas. Reaksi seluler terhadap luka terutama difasilitasi oleh sel induk mesenchymal yang menghasilkan indikator atau sinyal parakrin dan menginduksi sel induk hematopoietik terdahulu, sel induk folikel dan jaringan epitel untuk berdiferensiasi ke dalam jaringan. Jenis sel ini memiliki peran spesifik dalam setiap tahap perbaikan dan mereka mempercepat proses peradangan. Dalam penelitian ini, penggunaan fraksinasi vaskular stroma untuk mengobati luka akibat luka bakar diselidiki. Uji in vivo dan in vitro digunakan untuk mengkonfirmasi keefektifan sel stroma dalam penyembuhan luka bakar (Senesi *et al.*, 2019).

2.1.5 Transforming Growth Factor (TGF)

TGF- β merupakan sebuah sitokin inflamasi yang memiliki peran dalam menstimulasi migrasi dan angiogenesis sel endotel (Wang *et al.*, 2017). Superfamili TGF- β terdiri dari 33 anggota, yang sebagian besar merupakan dimerik polipeptida yang disekresikan. Selain tiga prototipe TGF β isoform (TGF β 1, TGF β 2 dan TGF β 3), superfamili juga termasuk aktivin, inhibin, Bone Morphogenic Protein (BMPs), Growth and Differentiation Factors (GDFs), myostatin, nodal, leftys dan Mullerian Inhibiting Substance (MIS) (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016).

Tiga isoform TGF β prototipe, TGF β 1, TGF β 2 dan TGF β 3, secara struktural mirip sitokin yang dikodekan oleh gen terpisah yang bertindak dalam cara autokrin dan parakrin untuk mengatur perkembangan embrio awal, pemeliharaan dan regenerasi jaringan dewasa, serta berbagai proses penyakit. Ligan TGF β disekresikan sebagai prekursor tidak aktif yang terikat pada peptida terkait latensi dan langsung diaktifkan atau tertanam dalam matriks ekstraseluler (ECM) untuk diaktifkan di lain waktu. Di sebagian besar jaringan, sejumlah besar TGF β disimpan di ECM. Aktivasi ligan TGF β dilakukan dengan aksi litik protease termasuk elastase dan matrix metaloprotease (MMPs), atau melalui perubahan konformasi yang diinduksi oleh berbagai integrin (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Eshkolim and Langridge, 2017).

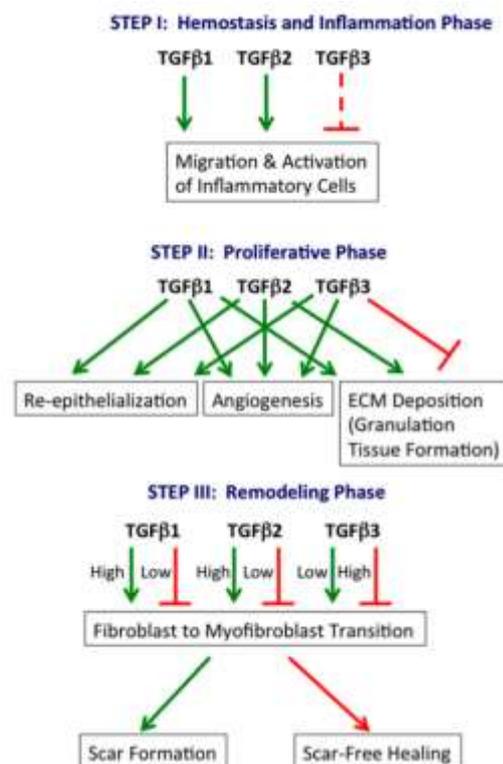
Setelah dikeluarkan, ligan TGF β membangkitkan efek selulernya pada sel target dengan mengikat reseptor spesifisitas ganda transmembran, yang memiliki aktivitas serin / treonin kinase yang kuat dan aktivitas tirosin kinase yang lemah. Reseptor TGF β adalah satu-satunya reseptor serin / treonin kinase permukaan sel yang dikenal pada manusia, dan dapat dibagi menjadi tiga kelas, yaitu (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016):

- a. tipe I (T β RI; juga dikenal sebagai kinase seperti aktivin, T β RI / ALK)
- b. tipe II (T β RII)
- c. tipe III (T β RIII).

Untuk mengaktifkan pensinyalan seluler, ligan pertama-tama mengikat ke dimer dari $T\beta RII$ yang aktif secara konstitutif, yang kemudian didekatkan dengan dimer $T\beta RI$ (ALK5 pada sebagian besar jenis sel; ALK5 atau ALK1 pada sel endotel), memungkinkan $T\beta RII$ untuk memfosforilasi $T\beta RI$. Setelah diaktifkan, kompleks reseptor tetramerik memulai kaskade intraseluler yang membangkitkan aktivasi jalur pensinyalan kanonik dan non-kanonik. Reseptor tipe III, termasuk co-reseptor endoglin dan betaglycan, memediasi pengikatan isoform $TGF\beta$ spesifik dan selanjutnya mengatur aktivitas reseptor (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Baranyi *et al.*, 2019).

Endoglin mengikat ke $TGF\beta$ terkait $T\beta RII$, tetapi tidak untuk membebaskan $TGF\beta$, dan paling dikenal dari perannya dalam angiogenesis. Ekspresi endoglin oleh sel endotel meningkatkan pensinyalan $TGF\beta$ melalui ALK1-Smad1 dan menghambat pensinyalan melalui ALK5-Smad3. Namun, penting untuk dicatat bahwa fungsi endoglin memiliki banyak aspek: ia ada dalam dua varian sambungan berbeda yang memiliki fungsi berlawanan, dan dapat berfungsi sebagai reseptor bersama untuk ligan famili $TGF\beta$ lainnya, termasuk BMP9 dan BMP10. Selain perannya dalam angiogenesis, data yang muncul menunjukkan bahwa endoglin juga terlibat (dalam cara yang bergantung pada konteks) dalam fibrosis dan skleroderma (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Baranyi *et al.*, 2019).

Di antara makhluk vertebrata (termasuk juga manusia), respons reparatif terhadap cedera mengikuti urutan kejadian stereotip yang dapat dibagi menjadi tiga fase utama yang saling tumpang tindih: hemostasis dan inflamasi; proliferasi; dan pematangan dan renovasi. Sepanjang peristiwa ini, TGF β memainkan sejumlah peran penting yang bervariasi dalam konteks dan cara yang bergantung pada tipe sel. Efek pleiotropik dari TGF β termasuk mengatur proliferasi sel, diferensiasi, migrasi, invasi dan kemotaksis dari kompartemen jaringan sel epitel, fibroblastik dan imun (yang terakhir terlibat dalam respon inflamasi), serta proliferasi sel endotel, migrasi dan invasi, dan sel mural pematangan (untuk menghasilkan pembuluh darah fungsional) selama angiogenesis (Gilbert, Vickaryous and Vitoria-Petit, 2016).



Gambar 2. 4. Peran TGF β dalam proses penyembuhan luka

Peran TGF dalam Fase Proliferatif

Fase proliferasi melibatkan tiga peristiwa utama yang dimediasi TGF β : re-epitelisasi; angiogenesis; dan sintesis matriks ekstraseluler (ECM). Sebagai respon terhadap cedera, sel epitel yang terletak di tepi luka menjadi aktif dan mengalami perubahan fenotipik yang ditandai dengan perubahan sitoskeleton dan pembubaran kontak sel-sel. Migrasi dan proliferasi sel epitel didorong oleh berbagai jalur pensinyalan autokrin dan parakrin di mana TGF β adalah salah satu yang memediasi. Sebelum cedera, TGF β 1 di epidermis berfungsi sebagai sitokin homeostatis, memblokir perkembangan siklus sel dan menekan hiperplasia epitel. Setelah cedera, ketiga isoform TGF β mempromosikan reepitelisasi, dan ketiadaannya (dengan penggunaan antibodi penetral) dapat mengganggu penutupan luka. Namun, TGF β 1 bertindak untuk mendorong migrasi keratinosit secara *in vitro*, TGF β 3 tidak (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Ong *et al.*, 2017).

Mekanisme kunci yang terlibat dalam re-epitelisasi adalah transisi epitel ke mesenkim (EMT). Peristiwa seluler utama selama EMT, termasuk hilangnya kontak sel-sel dan peningkatan motilitas, didorong oleh pensinyalan TGF β kanonik dan non-kanonik. Perubahan tingkat SMAD3 mungkin memainkan peran penting dalam peralihan fungsi TGF β dari sitokin penekan pertumbuhan di epitel utuh menjadi yang mempromosikan EMT di epitel yang terluka. SMAD3 memediasi efek penekan pertumbuhan TGF β , dan penurunan SMAD3 endogen terjadi secara

paralel dengan EMT dan menyebabkan hilangnya respons penghambatan pertumbuhan terhadap TGF β selama proses ini. Sesuai dengan temuan ini, tikus yang heterozigot atau nol untuk SMAD3 menunjukkan peningkatan reepitelisasi dan penutupan luka (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Ong *et al.*, 2017).

Cedera sel epitel, seperti yang melibatkan gangguan kompleks Crumbs yang berhubungan dengan *tight junction* (kontak sel-sel apikal), juga diketahui dapat membuat sel peka terhadap EMT yang dimediasi TGF β dengan meningkatkan translokasi inti SMAD2 / 3 melalui jalur Hippo mediator TAZ (ko-aktivator transkripsi dengan domain pengikatan PDZ) dan YAP (protein terkait-ya). Menariknya, pembungkaman TAZ mencegah ekspresi kuat dari aktin otot polos alfa (α SMA) oleh TGF β dan konversi epitel menjadi miofibroblas berikutnya pada epitel yang terluka, dan penghapusan khusus kulit TAZ dan YAP pada tikus dewasa mengganggu regenerasi kulit setelah luka. Kerusakan ini sebagian dikaitkan dengan peran TAZ / YAP dalam mempertahankan populasi sel punca dari lapisan basal kulit. Bersama-sama, pengamatan ini menunjukkan bahwa crosstalk pensinyalan TGF β dan Hippo menengahi sifat penyembuhan luka TGF β (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016).

Peristiwa penting lainnya selama fase proliferasi adalah angiogenesis. Angiogenesis melibatkan invasi dasar luka oleh kecambah kapiler untuk membuat jaringan mikrovaskuler *de novo*. Meskipun masih belum sepenuhnya dipahami, karena ketergantungan konteksnya, peran TGF β

sebagai modulator angiogenesis telah lama diakui. Kemampuan TGF β untuk menginduksi angiogenesis mungkin terkait, setidaknya sebagian, dengan kapasitasnya untuk meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) di lokasi cedera. VEGF memediasi aktivitas angiogenik selama fase proliferasi penyembuhan luka, dan TGF β diketahui merekrut sel efektor hematopoietik penghasil VEGF untuk mendorong angiogenesis in vivo. Ketiga isoform TGF β juga dapat menginduksi transisi endotel ke mesenkim (EndoMT), yang telah banyak terlibat dalam fibrosis patologis berbagai organ (termasuk kulit), serta fase tumbuh angiogenesis (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016).

Akhirnya, TGF β terlibat dalam sintesis ECM dan perekrutan fibroblas dari dermis yang berdekatan, serta dari sumber perivaskular (misalnya, pericytes) dan sumsum tulang (yaitu, fibrosit). Begitu mereka memasuki dasar luka, fibroblas berkembang biak dan mulai mensintesis ECM sementara (kebanyakan kolagen dan fibronektin) yang mendahului pembentukan jaringan granulasi yang tepat. Jaringan granulasi adalah organ reparatif yang bersifat sementara dan sangat vaskularisasi yang ditandai dengan matriks lepas kolagen, fibronektin dan asam hialuronat yang diselingi dengan fibroblas dan makrofag. Ligan TGF β memainkan peran fundamental dalam regulasi fibroblast dan produksi jaringan granulasi. TGF β 1 memediasi produksi kolagen fibroblast (khususnya tipe I dan III), serta dalam penghambatan MMP. Terkait dengan ini, pensinyalan yang dimediasi TGF β 1 telah terlibat dalam penyakit yang ditandai dengan

deposisi kolagen yang berlebihan termasuk keloid dan skleroderma. Yang penting, sementara TGF β 1 dan TGF β 2 meningkatkan deposisi kolagen dan pembentukan bekas luka, TGF β 3 tampaknya menjadi anti-fibrotik. Oleh karena itu, efek gabungan dari TGF β 3 dan TGF β 1 diinterpretasikan sebagai fine-tuning produksi kolagen. Saat fase proliferasi penyembuhan luka berlangsung, subset fibroblas akan berdiferensiasi menjadi miofibroblas dan subset lainnya akan mengalami apoptosis, dengan demikian menandai dimulainya tahap akhir penyembuhan luka, fase remodeling (Ellis, Lin and Tartar, 2018).

Peran TGFB dalam proses remodeling

Fase terakhir dari penyembuhan luka adalah remodeling, yang melibatkan apoptosis sel-sel penghuni (termasuk fibroblas dan sel endotel), serta kontraktur luka, dan penggantian fibronektin dan kolagen tipe III di dasar luka dengan kolagen tipe I. Akibatnya, massa jaringan granulasi yang dulu sangat seluler dan sangat vaskularisasi diubah menjadi sebagian besar jaringan parut avaskular dan aseluler. Kontraktur luka difasilitasi oleh myofibroblast, populasi fibroblas yang memperoleh fenotipe kontraktile, sebagaimana dibuktikan dengan ekspresi α SMA. Akuisisi ekspresi α SMA dikendalikan oleh TGF β 1, melalui aktivitas transkripsi yang bergantung pada SMAD dan independen pada promotor α SMA, serta dengan pembebanan mekanis dari lingkungan luka. Anehnya, myofibroblast tidak ada di dasar luka selama fase awal penyembuhan luka ketika level TGF β 1 berada pada level tertinggi. Salah

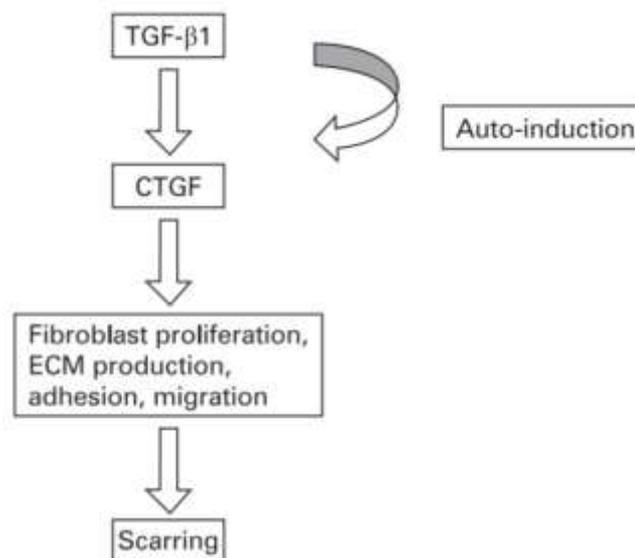
satu penjelasannya adalah bahwa untuk mengekspresikan α SMA, fibroblas memerlukan kombinasi lingkungan yang kaku / tekanan mekanis dan TGF β 1. Untuk mendukung prediksi ini, percobaan in vitro telah menunjukkan bahwa bahkan di hadapan tingkat TGF β 1 yang memadai, fibroblast gagal untuk transisi ke myofibroblast jika berlapis pada lingkungan dengan kekakuan rendah. Hal ini mungkin terkait dengan pengamatan bahwa ECM yang tahan mekanis / kaku memfasilitasi aktivasi TGF β 1 laten yang diasingkan oleh ECM oleh myofibroblast itu sendiri. Dalam studi ini, ECM kaku ditemukan diperlukan untuk aktivasi yang dimediasi integrin dari TGF β 1 yang diproduksi sendiri oleh myofibroblast, sebagai akibat dari kontraksi sitoskeletal mereka yang disebabkan oleh ketegangan ECM. Sesuai dengan temuan ini, luka yang dihuni myofibroblast menunjukkan tingkat aktivasi SMAD2 / 3 yang lebih tinggi pada stres dibandingkan dengan jaringan yang rileks, meskipun tingkat TGF β 1 dan T β RII yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa selama renovasi luka, aktivasi TGF β 1 (dan akibat pemeliharaan fenotipe myofibroblast) dibatasi pada area dengan ECM yang kaku, setara dengan yang ditemukan pada jaringan granulasi luka akhir. Meskipun mekanisme di mana fibroblas dan miofibroblas menafsirkan lingkungan mereka tidak sepenuhnya dipahami, anggota jalur pensinyalan Hippo, seperti TAZ, kemungkinan besar terlibat dalam mechano-sensing lingkungan jaringan dan memodulasi responsivitas TGF β 1. Sesuai dengan gagasan ini, TAZ terbukti memberikan sensitivitas SMAD3 ke promotor α SMA, dan

memfasilitasi ekspresi α SMA dalam menanggapi TGF β 1 dalam kombinasi dengan regangan mekanis. Sebaliknya, ketika hanya ada regangan mekanis (tetapi tidak ada TGF β 1), ko-aktivator transkripsi mekanosensitif utama lainnya yang dikenal sebagai faktor transkripsi terkait myocardin (MRTF), berinteraksi dengan TAZ dan SMAD3 untuk menekan aktivasi yang dimediasi SMAD3-TAZ dari promotor α SMA. Bersama-sama, temuan ini mendukung model di mana peregangan saja meningkatkan respons kontraktile terbatas, kemungkinan mendorong penyembuhan, sementara regangan ditambah TGF β 1 mendukung pembentukan jaringan fibrotik. Mirip dengan TGF β 1, TGF β 2 juga merupakan penginduksi kuat dari fibroblast ke transisi myofibroblast (baik in vitro dan in vivo). Sebaliknya, peran TGF β 3 lebih kompleks. Sementara TGF β 3 tampaknya mempromosikan akuisisi fenotipe myofibroblast in vitro, in vivo menghambat pembentukan myofibroblast (Gilbert, Vickaryous and Vilorio-Petit, 2016; Ellis, Lin and Tartar, 2018).

Peran TGF β dalam proses penyembuhan luka

Reaksi terhadap cedera merupakan respon inheren yang menghasilkan pemulihan integritas jaringan. Penyembuhan luka sering digambarkan sebagai rangkaian peristiwa, di mana mediator yang larut dari satu sel memicu serangkaian peristiwa di sel lain, menghasilkan transkripsi gen dan penerjemahan protein, yang berpuncak pada fase utama penyembuhan luka (Hinz *et al.*, 2007). Singkatnya, pembuluh yang

rusak memungkinkan produksi bekuan fibrin, mencegah kehilangan darah lebih lanjut dan memungkinkan matriks sementara untuk migrasi sel. Berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin dilepaskan dari trombosit yang rusak termasuk TGF β 1. TGF β 1 diketahui menyebabkan transkripsinya sendiri, menghasilkan putaran umpan balik positif (gambar 2.5), dan telah terbukti secara konsisten hadir selama proses penyembuhan luka orang dewasa (Klass, Grobbelaar and Rolfe, 2009).

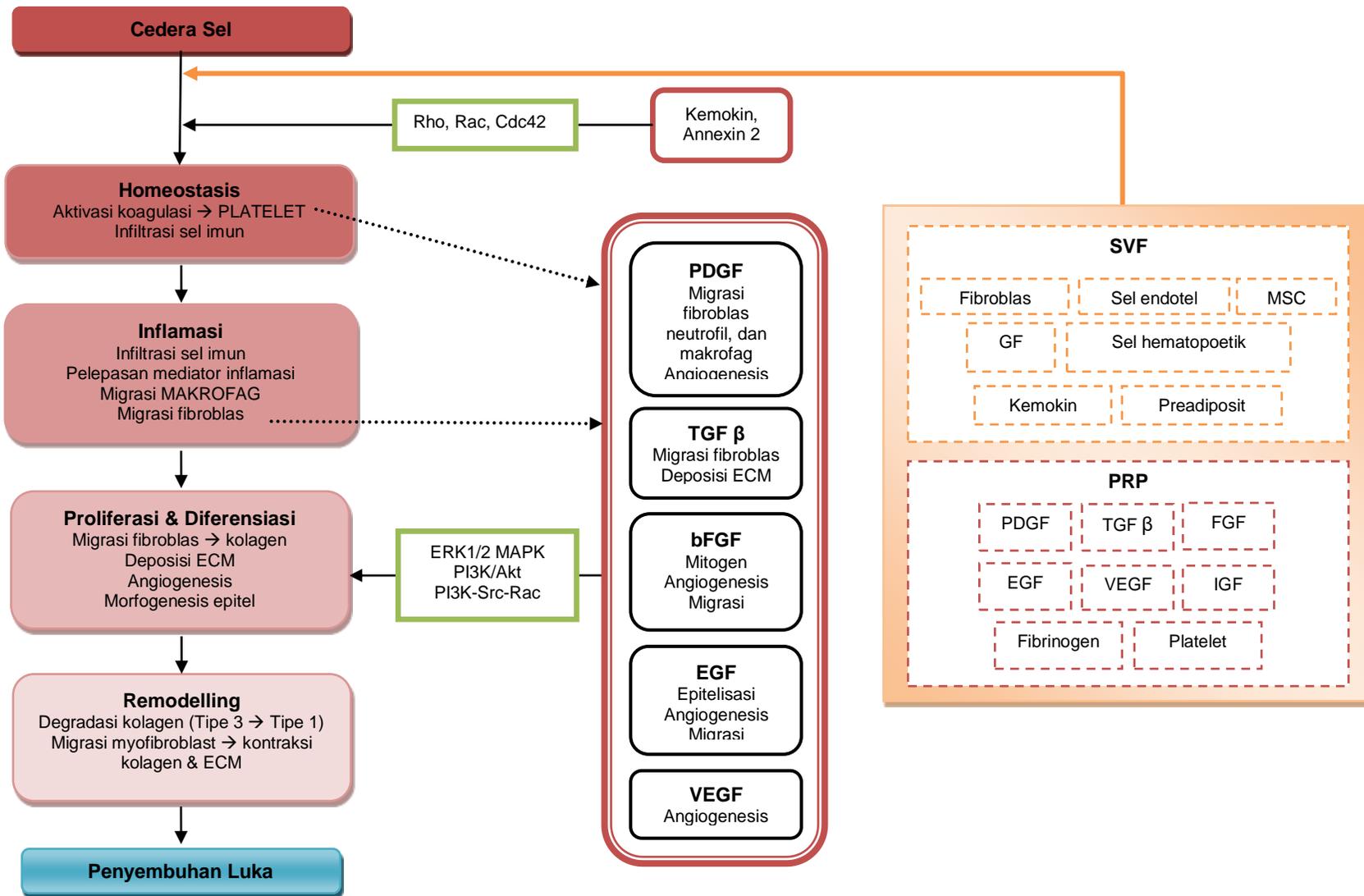


Gambar 2. 5 Proses autoindukasi TGF β dalam penyembuhan luka

TGF β 1 menarik neutrofil, makrofag, dan fibroblas ke dalam luka. Terjadi epitelisasi ulang, dengan keratinosit bergerak melintasi jaringan granulasi. Setelah keratinosit membentuk penghalang, penghambatan kontak membuat mereka mengganti fenotipe, dan mereka berdiferensiasi menjadi epidermis keratinisasi skuamosa bertingkat. Epitelisasi bertepatan dengan migrasi fibroblas dan sel endotel, bersamaan dengan

pembentukan jaringan granulasi. Angiogenesis dan fibroplasia terjadi, dengan fibroblas meletakkan kolagen dan ECM. Terjadi kontraksi luka, dengan fibroblas mengasumsikan fenotipe myofibroblast (ditandai dengan ekspresi α -aktin otot polos). Akhirnya, renovasi ECM terjadi dengan menggunakan MMP yang dihasilkan oleh makrofag, sel endotel, sel epidermis dan fibroblas. Selama fase-fase ini, ada perubahan pada nomor reseptor dan reseptor, yang memungkinkan sel untuk merespons mediator terlarut dan berinteraksi dengan ECM yang diubah. Myofibroblast (fibroblas yang menunjukkan otot polos α -aktin) diyakini berperan dalam penyembuhan luka, kontraksi dan jaringan parut. Awalnya diperkirakan bahwa miofibroblas berasal dari sel mesenkim yang menetap (fibroblas); Namun, sekarang tampaknya asal usulnya bergantung pada situasi dan lokasi luka. Myofibroblast berkontribusi untuk perbaikan dengan mensintesis dan mengatur ECM serta melalui kontraksi. Tampaknya lamanya waktu miofibroblas menetap di jaringan dapat menentukan apakah penyembuhan normal atau jaringan parut terjadi. Namun, persistensi TGF β 1 telah terbukti meningkatkan kelangsungan hidup myofibroblast dengan menginduksi jalur pensinyalan pro-survival. Oleh karena itu, tampaknya TGF β 1 dan stres mekanis dapat berperan dalam fibrosis, mungkin melalui aktivasi myofibroblast yang berkepanjangan (Hinz and Gabbiani, 2003; Klass, Grobbelaar and Rolfe, 2009).

2.2 Kerangka Teori



Bagan 1. Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konseptual



Bagan 2 Kerangka Konseptual

2.4 Hipotesis

- TGF- β terlibat pada proses percepatan penyembuhan luka bakar.
- Kombinasi SVFs + PRP dapat mempercepat manifestasi klinis penyembuhan fissure ani.