

KARYA AKHIR

**EFEK KOMBINASI *PLATELET RICH PLASMA* DAN
STROMAL VASCULAR FRACTION TERHADAP
KADAR *PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR B* SERUM
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

***THE EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA AND STROMAL
VASCULAR FRACTION COMBINATION ON PLATELET DERIVED
GROWTH FACTOR B SERUM LEVEL FOR ANAL TRAUMA HEALING
IN THE WISTAR RAT MODEL***

**ANDI YULKARDINANSYAH
C104216208**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS 1 (SP 1)
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

KARYA AKHIR

**EFEK KOMBINASI *PLATELET RICH PLASMA* DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* TERHADAP
KADAR *PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR B* SERUM
DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

THE EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA AND STROMAL VASCULAR FRACTION COMBINATION ON PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR B SERUM LEVEL FOR ANAL TRAUMA HEALING IN THE WISTAR RAT MODEL

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis Bedah

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

ANDI YULKARDINANSYAH

C104216208

Kepada

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

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

Disusun dan diajukan oleh

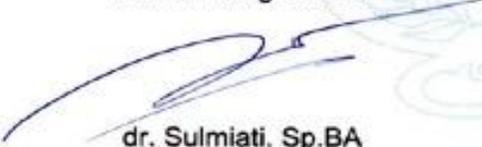
Andi Yulkardinansyah
C104216208

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 30 Desember 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

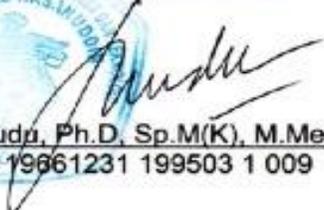

dr. Sulmiati, Sp.BA
NIP. 19731206 200604 2 007


dr. Firdaus Hamid, Sp. MK., Ph.D
NIP. 19771231 200212 1 002

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran


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


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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andi Yulkardinansyah
Nomor Induk mahasiswa : C104216208
Program studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenarnya 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, 27 Desember 2021

Yang menyatakan,



Andi Yulkardinansyah

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. Ahmadwirawan, Sp.BA(K)BA dan dr. Firdaus Hamid, Sp. MK., Ph.D 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. Ulung Bahrin, 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, dan Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk sebagai Ketua Bagian 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 terutama Marlina Rajab dan Nunung Mujiwiyanti 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 Alm Ir. A. Kaharuddin Adam, M.Sc dan Ibunda Dra. A. Maemuna, yang senantiasa memberi 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, 27 Desember 2021

Yang menyatakan,

Andi Yulkardinansyah

ABSTRAK

ANDI YULKARDINANSYAH. *Efek Kombinasi Kombinasi Stromal Vascular Fraction dan Platelet Rich Plasma terhadap Platelet Derived Growth Faktor B Serum dalam Penyembuhan Trauma Anus pada Model Tikus Wistar (dibimbing oleh Sulmiati dan Firdaus Hamid).*

Penelitian ini bertujuan menilai efektivitas kombinasi injeksi SVF dan PRP terhadap kadar PDGF-B serum pada model trauma anus tikus wistar. Sebanyak 28 tikus wistar dewasa dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu 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 PDGF-B serum diukur pada hari pertama, ketujuh, dan keempat belas. Kelompok C adalah yang dikorbankan pada hari nol untuk data dasar kadar PDGF-B serum. Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan antara sampel tikus wistar yang diberikan PRP-SVF dan tanpa pemberian PRP-SVF. Secara statistik didapatkan perbedaan signifikan nilai PDGF B pada semua waktu pengambilan sampel ($p < 0,05$). Nilai PDGF B dengan terapi PRP dan SVF tertinggi didapatkan pada hari pertama. Kemudian mulai turun pada hari ketujuh dan keempat belas. Pemberian SVF dan PRP dapat meningkatkan nilai PDGF-B serum pada trauma anus tikus wistar. PDGF-B memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka, trauma pada proses proliferasi.

Kata kunci: SVF, PRP, PDGF-B Trauma Anus, Penyembuhan Luka



ABSTRACT

ANDI YULKARDINANSYAH. The effect of stromal vascular fraction (SVF) and platelet rich plasma (PRP) combination on platelet derived growth factor (PDGF) B serum in anal trauma healing in wistar rat model (supervised by Sulmiati and Firdaus Hamid).

The research aims to assess the effect of SVF and PRP local injection combination on PDGF-B content using the anal trauma model of the wistar rats. Twenty-eight adult wistar rats were divided into three groups. Groups A and B were treated with the anal trauma treatment and repair, group A got the therapy of SVF and PRP local injection combination, while group B was only treated with 0.9% chloride natrium liquid (normal saline). For groups A and B, PDGF-B serum content was measured on the first, seventh, and fourteenth days. Group C was the healthy control group being sacrificed on the zero day for the baseline data of PDGF of B serum content. The research result indicates that there is the significant difference between the wistar rat samples being treated using PRP – SVF and without PRP – SVF administration. Statistically, there is the significant difference of PDGF B serum values in all sampling times ($p < 0.05$). The highest value of PDGF of B serum using PRP and SVF therapy is obtained on the first day. Then, it begins to descend on the seventh and fourteenth days. The administration of SVF and PRP can improve PDGF B serum content in the anal trauma of the wistar rats. PDGF-B serum has a very important role in the wound healing process, especially in the proliferative phase.

Key words: SVF, PRP, PDGF-B, anal trauma, wound healing



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
KARYA AKHIR	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR GRAFIK.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2

	1.3.2 Tujuan Khusus	3
	1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	4
	2.1 Trauma Anus	4
	2.1.1 Definisi	4
	2.1.2 Etiologi.....	4
	2.1.3 Epidemiologi	4
	2.1.4 Diagnosis.....	5
	2.1.5 Tatalaksana	7
	2.2 Proses Penyembuhan Luka	8
	2.2.1 Definisi Luka	8
	2.2.2 Respon Selular Penyembuhan Luka	8
	2.3 Platelet Rich Plasma dan Stromal Vascular Fraction	17
	2.3.1 Platelet Rich Plasma	17
	2.3.2 Stromal Vascular Fraction	20
	2.4 Platelet Derived Growth Factor.....	21
	2.5 Kerangka Teori	23
	2.6 Kerangka Konsep	24
	2.7 Variabel	24
	2.8 Hipotesis	24
BAB III	METODE PENELITIAN	25

3.1 Rancangan Penelitian	25
3.2 Lokasi dan Waktu	25
3.3 Populasi dan Teknik Sampel	25
3.3.1 Metode Penarikan Sampel	25
3.3.2 Proses Penelitian	26
3.3.2.1 Preparasi Sampel	26
3.3.2.2 Preparasi Platelet Rich Plasma (PRP)	27
3.3.2.3 Preparasi Stromal Vascular Fraction (SVFs) ...	27
3.3.2.4 Preparasi PRP +SVFs	28
3.3.2.5 Perlakuan Sampel	28
3.3.2.6 Cara Sacrifice	29
3.4 Kriteria Inklusi dan Eklusi	29
3.5 Definisi Operasional	30
3.5.1 Trauma Anus	30
3.5.2 Platelet Rich Plasma (PRP)	30
3.5.3 Stromal Vascular Fraction cell (SVFs)	30
3.5.4 Platelet Derived Growth Factor (PDGF)	30
3.6 Instrumen Pengumpulan Data	30
3.7 Metode Pemeriksaan	33
3.8 Alur Penelitian	34
3.9 Analisa Data	34

Bab IV HASIL PENELITIAN	35
4.1 Hasil Penelitian	35
4.2 Pembahasan	40
4.3 Kelemahan Dan Kekuatan Penelitian.....	42
Bab V PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sebaran Sampel Penelitian	35
Tabel 2. Tes Normalitas Shapiro-Wilk	37
Tabel 3. Tes One Way ANOVA	38
Tabel 4. Independent Sample T Test	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Growth Factor dan sitokine pada proses penyembuhan luka.....	17
Gambar 2	Proses manual lipoaspirat SVF	20

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1 Perbandingan rerata kadar PDGF setiap kelompok pada hari

1, 7 dan 14 54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Pembimbing Karya Akhir Bagi Mahasiswa	49
Lampiran 2	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Penguji Seminar Usul Dan Hasil Penelitian	50
Lampiran 3	Rekomendasi Persetujuan Etik	51
Lampiran 4	Hasil Analisa Statistik	52

DAFTAR SINGKATAN

AAST	= American Association for The Surgery of Trauma
ADSC	= Adiposed Derived Stem Cell
ATLS	= Advanced Trauma Life Support
COX	= Cyclooxygenase
DAMP	= Damage-associated Molecular Pattern
DRE	= Digital Rectal Examination
ECM	= Extracellular Matrix
EGF	= Epidermal Growth Factor
ELISA	= Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EPC	= Endothelial Progenitor Cel
IGF	= Insulin Growth factor
IFN-y	= Interferon-y
IL-2	= Interleukin-2
MAPK	= Mitogen-activated Protein Kinase
MMP	= Matrix Metalloproteinase
MSC	= Mesenchymal Stem Cell
NET	= Neutrophil Extracellular Traps
PDGF	= Platelet-derived Growth Factor
PPP	= Platelet-poor Plasma
PRF	= Platelet-rich Fibrin
PRP	= Platelet-rich Plasma
SVF	= Stromal Vascular Fraction
TGF	= Transforming Growth Factor
TNF-a	= Tumor Necrosis Factor-a
VEGF	= Vascular Endothelial Growth Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Trauma anorektal pada anak belum terdata dengan baik dan penanganannya merupakan suatu tantangan sendiri. Trauma anorektal juga merupakan kasus trauma yang jarang pada anak. Mekanisme trauma biasanya bervariasi (Ameh, 2000; Samuk *et al.*, 2015). Penilaian inisial merupakan hal vital untuk mendapatkan hasil penanganan yang baik. Biasanya membutuhkan tindakan diversi stoma (Hellinger, 2002)

Perkembangan biologi molekular dan bioteknologi baru lainnya sangat membantu ilmuan dalam mendalami penyembuhan luka pada kulit dalam 30 tahun terakhir. Kerusakan kulit disebabkan oleh faktor eksternal baik itu fisik, kimia, suhu, biologis ataupun yang lainnya (Qing, 2017). Proses regenerasi dan perbaikan jaringan terjadi berdasarkan urutan proses molekuler dan selular yang dimulai saat terjadi lesi jaringan dengan tujuan untuk mengembalikan kerusakan jaringan (Gonzalez *et al.*, 2016)

Platelet Rich Plasma (PRP) merupakan suatu bioteknologi terkini dalam terapi seluler dan perbaikan jaringan. Penggunaan klinisnya dalam berbagai bidang ilmu kedokteran telah berhasil dilaporkan. Sebagian besar tentang ulkus yang sukar diobati, bedah kosmetik dan rekonstruktif, bedah maksilofasial, bedah otolaringologi, bedah mulut dan periodontal, traumatology dan ortopedi, bedah saraf dan tulang belakang serta bedah *bypass* jantung (Hidajat, Malik dan Buditjahjono, 2012).

Stromal Vascular Fraction (SVF) merupakan kumpulan sel dengan aktivitas progenitor termasuk di dalamnya preadiposit, stem sel mesenkimal, pericyte, sel endotelial, dan makrofag. SVF memiliki potensi untuk pengobatan dan dalam

pengembangan penelitian untuk indikasi klinik yang beragam termasuk di dalamnya lipotransfer, komplikasi diabetes, regenerasi saraf, luka bakar dan hal lainnya (Guo *et al.*, 2016).

Platelet Derived Growth Factor (PDGF) memegang peranan penting di hampir setiap fase penyembuhan luka. PDGF dilepaskan melalui platelet degranulasi. Margolis *et al.*, pertama kali mendemonstrasikan PDGF *gene delivery* dapat dicobakan pada luka kronik dengan aman. Telah dilakukan juga *clinical trial* menggunakan Adenovirus PDGF BB pada pasien dengan ulkus diabetic (Barrientos *et al.*, 2008).

Untuk menggali lebih dalam mengenai efek PRP dan SVF serta PDGF terhadap percepatan penyembuhan luka masih diperlukan penelitian-penelitian lain yang mendukungnya. Demikian pula mengenai percepatan penyembuhan luka pada daerah anorectal, laporan penelitiannya tergolong masih kurang utamanya dengan kasus trauma anus. Oleh karena itu, penulis terdorong untuk melakukan penelitian *experimental* untuk mendukung hal tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

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

Apakah terdapat efek kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVF) terhadap kadar PDGF B dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVF) terhadap kadar PDGF B dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengukur kadar PDGF B pada penyembuhan trauma anus pada model tikus Wistar
- b. Membuktikan pemberian kombinasi *platelet rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVF) meningkatkan kadar PDGF B

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjut tentang pemanfaatan kombinasi PRP dan SVF dalam mempercepat penyembuhan trauma
- b. Hasil penelitian dapat dijadikan bahan referensi penelitian lain dalam penatalaksanaan trauma anus
- c. Memberikan informasi kepada masyarakat umum bahwa pemberian PRP dan SVFs dapat mempercepat penyembuhan trauma anus

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trauma Anus

2.1.1 Definisi

Trauma anorektal merupakan kasus trauma yang jarang pada anak. Biasanya disebabkan karena penganiayaan, kekerasan seksual, atau kecelakaan lalu lintas. Baik itu trauma intra pelvis maupun intraabdomen biasanya mengancam nyawa pada anak. Diagnosis yang tepat pada trauma anorectal biasanya bukan hal yang mudah dan seyogyanya dikerjakan di ruang gawat darurat untuk utamanya komplikasi sepsis (Hashish, 2011; Komlatsè Akakpo-Numado, 2015).

Trauma anus adalah disrupsi yang terjadi pada anus (paling sering sfingter anus) yang disebabkan baik oleh trauma tumpul maupun trauma penetrasi pada perineum (Herzig, 2012).

Primary repair daerah luka perineal dan sphinter anus dapat dilakukan secara aman pada banyak kasus dengan hemodinamik stabil. Diversi feces harus dilakukan pada kasus yang melibatkan perineum yang luas atau dengan trauma penyerta yang lain serta kemungkinan kontaminasi yang besar (Samuk *et al.*, 2015)

2.1.2 Etiologi

Penyebab trauma anus dan perineal dapat dibedakan atas mekanisme tumpul dan penetrasi. Trauma dengan mekanisme tumpul lebih sering terjadi. Pada dewasa muda dapat terjadi karena terjatuh dan kecelakaan sepeda motor dan pada anak-anak biasanya karena akibat olah raga dan *stradel injury*. Cedera penetrasi dapat berupa iatrogenik, penetrasi anal akibat hubungan seksual atau perkosaan, luka tembak atau luka tusuk, dan lain-lain (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

2.1.3 Epidemiologi

Trauma anus sering ditemukan bersamaan dengan trauma pelvis utamanya pada trauma tumpul (Herzig, 2012). Insidens trauma perineal sendiri 0.1 % (69/53224) dengan rasio laki-laki : perempuan 85 : 15 dan rerata umur 30 tahun. Cedera dapat mencakup laserasi jaringan lunak, cedera penetrasi energi rendah atau tinggi, sampai cedera luas akibat fraktur kompleks pelvis dan ledakan besar (Petrone *et al.*, 2016)

Untuk cedera perineum terisolasi, angka kematian sampai 18%, sedangkan cedera pelviperineal kompleks memiliki angka kematian hingga 70%. pada wanita primipara, 35% mengalami defek sfingter anal. Wanita dengan inkontinensia fekal yang persisten atau onset lambat setelah persalinan pervaginam, sebanyak 90% wanita mengalami defek pada sfingter ani eksternal dan 65% pada sfingter ani internal (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

2.1.4 Diagnosis

Diagnosis dapat ditegakkan lebih awal saat trauma. Di negara-negara maju, pasien terlihat lebih cepat masuk ke ruang emergensi setelah trauma. Beda halnya pada kebanyakan negara berkembang, sumber daya kesehatan melingkupi populasi terbatas. Inilah yang sering menyebabkan terlambatnya konsultasi. Keterlambatan dapat mempermudah terjadinya komplikasi sepsis dan penanganan (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015).

Deskripsi yang jelas mengenai mekanisme trauma sangat penting. Hal ini membantu dalam menilai kerusakan yang mungkin terjadi (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015). Pada awal evaluasi, penilaian fungsi usus dan kontinensia pasien sebelumnya sangat membantu dalam mengidentifikasi kelainan tambahan yang tidak terkait dengan indeks trauma. Setelah pasien pulih dan kembali mampu untuk buang air kecil, penanganan definitif untuk trauma anus dapat dipertimbangkan (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

Pemeriksaan klinik dilakukan untuk membantu diagnosis. Saat pasien masuk, parameter hemodinamik harus diperiksa dan resusitasi jika diperlukan. Perdarahan rektal merupakan gambaran yang paling sering didapatkan. Perdarahan pada vagina dapat terjadi jika septum rectovaginal terluka. Perdarahan uretra menunjukkan buli-buli atau uretra juga cedera. Perforasi buli-buli dapat mengakibatkan *out flow* urin terdorong ke rectum setelah penekanan suprapubic saat pemeriksaan. Pemeriksaan abdomen juga perlu dilakukan untuk mencari adanya nyeri abdomen (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015).

Pemeriksaan fisik juga mencakup pemeriksaan rektal rectal touche untuk menilai tonus dan tekanan saat istirahat. Proktoskopi rigid dan fleksibel sigmoidoskopi juga penting untuk mengidentifikasi lokasi cedera di dalam rektum dan saluran anus (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

Pemeriksaan rectoscopy atau vaginoscopy pada perempuan kadang diperlukan untuk menilai lebih tepat adanya ekstensi luka (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015).

Saat cedera akut teratasi, manometri anorectal perlu digunakan digunakan untuk menilai fungsi sphinter anus. Pasien dengan tekanan basal yang sangat rendah mungkin mengalami kontinensia total dan, sebaliknya, pasien dengan tonus istirahat tinggi mungkin mengalami inkontinensia yang signifikan. Di sisi lain, tekanan kontraksi dikaitkan terutama dengan fungsi sphinter ani eksterna, serta sling puborectalis (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

Nervus pudendus terdiri dari jalur aferen dan eferen, terutama yang menginervasi sphinter ani eskterna. Secara fungsional, latensi motor terminal saraf pudendal adalah pengukuran waktu konduksi dari stimulasi saraf pudendal setinggi vertebra iskia hingga kontraksi sphinter ani eksterna. Latensi berkepanjangan digunakan sebagai penanda adanya cedera saraf pudendal (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).

Endoanal ultrasound dan computerized tomography juga merupakan alat penting untuk mengevaluasi gambaran sphinter anorectal setelah trauma perineal utamanya sebelum mempertimbangkan penundaan operasi sphinter ani (Hashish, 2011).

2.1.5 Tatalaksana

Pasien trauma yang masuk ruang emergensi harus dilakukan penanganan awal sesuai berdasarkan *Advanced Trauma Life Support (ATLS)*. Cedera yang mengancam nyawa harus tertangani sebelum menilai kerusakan daerah perineal atau anus (Petrone *et al.*, 2016; Ahern *et al.*, 2017)

Ahli bedah harus bisa membuat keputusan apakah perlu dilakukan kolostomi ataukah repair primer. Kolostomi diindikasikan pada kasus dengan keterlibatan intraperitoneal, cedera dinding rectum anterior, cedera buli-buli, cedera rectal extraperitoneal kompleks dan destruksi jaringan perineal penting. Jika keterlibatan intraperitoneal meragukan, laparascopy eksplorasi diindikasikan (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015)

Jika tidak dilakukan kolostomi pada pasien terindikasi, resiko infeksi sangat tinggi dan dapat mengancam nyawa anak. Pada pasien yang diawal admisi, repair primer dapat dilakukan pada hampir semua kasus dengan luka yang mudah diakses. Sedangkan pada pasien yang terlambat admisi, cedera yang memerlukan repair primer dapat dilakukan repair setelah kolostomi (Komlatsè Akakpo-Numado, 2015)

Untuk dengan kasus dengan keterlibatan sphinter ani ada beberapa teknik pembedahan yang menjadi pilihan (Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018):

- a. Sfingteroplasti : diseksi pada kompleks sfingter hingga ke cincin anorectal kemudian di tumpang-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.

2.2 Proses Penyembuhan Luka

2.2.1 Definisi Luka

Luka adalah rusak atau hilangnya jaringan tubuh yang terjadi karena adanya suatu faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Faktor tersebut seperti trauma, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Bentuk dari luka berbeda tergantung penyebabnya, ada yang terbuka dan tertutup. Salah satu contoh luka terbuka adalah insisi dimana terdapat robekan linier pada kulit dan jaringan di bawahnya. Salah satu contoh luka tertutup adalah hematoma dimana pembuluh darah yang pecah menyebabkan berkumpulnya darah di bawah kulit (R. Sjamsuhidajat, 2005)

2.2.2 Respon Selular Penyembuhan Luka

2.2.2.1 Hemostasis

Hemostasis merupakan marker awal tahap penyembuhan luka dengan menghentikan pendarahan setelah kerusakan jaringan. Hal ini terjadi dalam tiga langkah yaitu vasokonstriksi, hemostasis primer dan hemostasis sekunder (Rodrigues *et al.*, 2019)

- a. Vasokonstriksi

Setelah terjadi cedera jaringan, pembuluh darah berkontraksi dengan cepat menghindari perdarahan akibat rumpur mikrovaskular. Hal ini

dapat terjadi karena kontraktur refleks dari otot polos pembuluh darah dan dirangsang oleh vasokonstriktor seperti endothelin yang dilepaskan oleh endothelium yang rusak. Kemudian katekolamin sirkulasi, epinefrin, norepinefrin, dan prostaglandin dilepaskan dari jaringan yang cedera untuk meregulasi vasokonstriksi (Singh, Young dan McNaught, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019).

b. Pembentukan Platelet Plug (Hemostasis Primer)

Platelet pertama ditemukan oleh Schultze pada tahun 1865. *Bizzozero* pada tahun 1881, menamakan sel ini dengan piastrine atau plat kecil yang kemudian dikenal dengan sebutan platelet. Secara morfologi, platelet memiliki struktur unik system kanalikuli terbuka yang merupakan saluran invaginasi dari membran sel. Platelet juga memiliki granula secretory dimana α granule merupakan yang terpenting dalam aktifitas platelet. Setelah cedera dan rupture pembuluh darah, matriks endotelial trombogenic terekspos. Platelet melalui ikatan protein G-reseptor permukaan, mengikat matriks ini dan mengaktifkan signal pathway. Hal ini menyebabkan aktivasi integrin dan meningkatkan perlekatan platelet dengan platelet lainnya sekitar Extra Cellular Matrix (ECM) (Singh, Young dan McNaught, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019)

Platelet di dalam plug melepaskan *growth factor* dan sitokine seperti *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* β (TGF- β), *epidermal growth factor* (EGF), *insulin growth factor* (IGF), yang merupakan mediator sellular penting untuk fase lanjut penyembuhan. Pelepasan faktor platelet lebih intens dalam satu jam pertama aktifasi, tetapi platelet teraktifasi dapat terus melepaskan faktor ini sampai lebih 7 hari. Walaupun platelet merupakan hemostasis essensial, hilangnya platelet tidak memberikan dampak kritis pada penyembuhan luka (Qing, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019)

c. Koagulasi dan penguatan plug platelet

Koagulasi klasik pathway ada dua yaitu intrinsic dan ekstrinsik. Keduanya diaktifasi oleh paparan matriks subendotelial dan menuju aktivasi faktor X. setelah aktivasi faktor X, prothrombin dikonversi menjadi thrombin yang memecah fibrinogen menjadi fibri. Kemudian mengikat plug platelet teragregasi membentuk plug hemaostasis sekunder definitive atau thrombus (Rodrigues *et al.*, 2019)

2.2.2.2 Fase Inflamasi Penyembuhan Luka

a. Mekanisme pengerahan sel inflamasi

Damage-associated molecular patterns (DAMP), hydrogen peroksidase (H₂O₂), mediator lipid, dan kemokin yang dilepaskan oleh sel luka juga menyampaikan sinyal untuk penguatan sel inflamasi utamanya neutrophil. Molekul DAMP memiliki DNA, peptide, komponen ECM, ATP, dan asam urat. Produksi kemokin pada luka bergantung pada waktu dan dosis serta diinisiasi oleh munculnya bakteri. Sel mast juga ditemukan melakukan pelepasan sel inflamasi setelah trauma. Sel yang dipengaruhi oleh respon alergi ini, mengandung berbagai mediator di granulnya. Segera setelah cedera sel mast melepaskan faktor seperti sitokin inflamasi, agen vasodilatasi, faktor permeabilitas vascular, dan protease yang meningkatkan penguatan sel imun ke dalam luka (Rodrigues *et al.*, 2019).

b. Neutrofil dalam penyembuhan luka

Neutrophil biasanya tidak teramati di kulit normal. Neutrophil diproduksi di sumsum tulang dari promielosit dan direkrut sebagai "*first responder*" dari sumsum tulang dalam respon signal "*find me*" termasuk DAMP, hydrogen perokside, mediator lipid, dan kemokin. Neutrophil teraktifasi dapat melepaskan faktor menjadi memanjang. Neutrophil menghancurkan ancaman infeksi dengan melepas granula toksik,

menghasilkan ledakan oksidatif, menginisiasi fagositosis, dan membentuk *neutrophil extracellular traps* (NET) (Rodrigues *et al.*, 2019).

Pembersihan neutrophil dimulai dengan apoptosis atau nekrosis dan ditelan oleh makrofag atau efferositosis. Protein matriks seluler ditemukan sangat penting untuk efferositosis neutrophil. Kegagalan mengaktifasi efferositosis dapat menjadi nekrosis sekunder dimana neutrophil lisis sehingga terjadi pelepasan molekul proinflamasi dan sitotoksik dan meningkatkan kerusakan jaringan. Untungnya, tidak semua neutrophil dibersihkan oleh makrofag. Neutrophil yang persisten dapat menunjukkan status inflamasi yang memanjang dan munculnya luka kronik seperti ulkus diabetik dan ulkus vena (Rodrigues *et al.*, 2019)

c. Makrofag pada penyembuhan luka

Makrofag sering diidentifikasi dengan ekspresi marker permukaan CD45+/CD11b+/F480+ pada tikus dan CD45+/Cd11b+/CD66B- pada manusia. Luka menginduksi akumulasi makrofag dalam 24-48 jam pertama pada lokasi luka. Peningkatan jumlah makrofag dapat terjadi melalui meningkatnya makrofag di local jaringan dan pengarahannya dari sumsum tulang (Rodrigues *et al.*, 2019)

Pada tahap awal penyembuhan luka, makrofag ialah mikrobisidal dan pro inflamasi dengan mengekspresikan TNF α dan interleukin 6 serta interleukin 1 β . Makrofag kemudian disebut dengan M1. Makrofag proinflamasi mengenali dan menelan patogen ke dalam organel intraseluler yang disebut fagosom. Dengan resolusi inflamasi, fenotip makrofag inflamasi transisi menjadi tipe sel anti inflamasi yang disebut dengan makrofag M2. Makrofag antiinflamasi berkontribusi pada pembentukan pembuluh darah baru dan meningkatkan jumlah makrofag selama tahap ini dihubungkan dengan densitas pembuluh mikro yang tinggi. Sel sel ini juga melepaskan faktor pertumbuhan seperti VEGF

yang penting untuk tumbuhnya pembuluh darah selama angiogenesis. Selama tahap proliferasi, makrofag aktif mengirimkan sinyal ke fibroblast dermis. Makrofag juga bisa mentransisikan menjadi sel fibrotik (Rodrigues *et al.*, 2019).

d. Sel Mast pada penyembuhan luka

Sel mast ditemukan oleh Paul Ehrlich pada tahun 1978. Progenitor sel mast turunan dari sumsum tulang dan migrasi ke regio perivascular jaringan konektif kulit dan mukosa. Pada kulit, fungsi primer sebagai efektor reaksi alergi, mediasi reaksi immunoglobulin E (IgE) dan melawan infestasi helminth. Meningkatnya jumlah sel mast merupakan implikasi skar dan fibrosis kulit (Rodrigues *et al.*, 2019)

e. Sel dendritik pada penyembuhan luka

Sel dendritik merupakan *antigen opresenting cell* yang terlibat dalam respon primer sel T. Dalam epidermis bermanifestasi sebagai sel Langerhans. Sel dendritic sebagaimana dikenal sekarang ditemukan oleh Ralph Steinman pada tahun 1973. Baik sel Langerhans maupun sel dendritic dermal ditemukan pada kulit dengan aliran limfonodus saat terjadi infeksi kulit. Masih dalam perdebatan, sel dendritic merupakan tipe makrofag dikarenakan keduanya merupakan bagian dari *mononuclear phagocytic system*, mengekspresikan marker permukaan dan merespon faktor pertumbuhan yang sama. Sel dendritic ketika terikat antigen, menunjukkan antigen tersebut ke sel T dalam dermis dan migrasi ke aliran limfonodus dimana akan berlanjut mengaktifkan respon sel T (Rodrigues *et al.*, 2019)

f. Sel T pada penyembuhan luka

Ada dua varian sel T manusia di epidermis dan dermis yaitu sel T $\gamma\delta+$ dan sel T $\alpha\beta+$. Sel T $\gamma\delta+$ dermis penting dalam program surveilansi kutaneus karena secara positif mempengaruhi ekspansi sel T CD4+ dalam aliran limfonodus kulit dan meningkatkan rekrutmen neutrophil

kedalam kulit saat terjadi infeksi. Sel T $\alpha\beta$ + di kulit menampilkan memori dan terdiri dari sel T helper CD4+, sel T killer CD8+ dan subset sel Treg. Sel-sel ini dapat melewati sirkulasi atau dapat permanen di kulit yang sudah tidak terhubung dengan sirkulasi. Ini disebut juga dengan sel T *tissue resident memory* (Trm). Penyimpangan fungsi sel T dikorelasikan dengan fibrosis kulit (Rodrigues *et al.*, 2019).

2.2.2.3 Fase Pertumbuhan Penyembuhan Luka

a. Pembentukan jaringan granulasi dan neovaskularisasi

Selama fase proliferasi, jaringan konektif baru atau jaringan granulasi dibentuk bersama. Dengan proses penyembuhan lainnya termasuk reepitelisasi, neovaskularisasi, dan immunomodulasi. Formasi dan evolusi jaringan granulasi pertama kali dijelaskan oleh ahli bedah Inggris John Hunter pada akhir abad 18 dan diperdalam lagi oleh ahli bedah Perancis, Alexis Carrel pada abad 19. Jaringan granulasi utamanya terbentuk dari fibroblast teraktifasi yang mensintesis ECM baru. Jaringan granulasi digantikan dengan jaringan konektif normal selama remodeling luka. Neovaskularisasi sangat penting dalam penyembuhan luka yang efisien. Ini diperlukan untuk pengangkutan nutrisi dan *maintenance* hemostasis oksigen sehingga proliferasi dan regenerasi jaringan dapat terjadi (Rodrigues *et al.*, 2019).

Angiogenesis melibatkan aktivasi *endothelial cell* (EC) mikrovaskular local. EC teraktifasi menghancurkan ECM pada jaringan granulasi, proliferasi, migrasi dan membentuk sel-sel penghubung baru, dan mempercabang untuk membentuk kapiler baru (Rodrigues *et al.*, 2019).

b. Sel endoteleal dan pembentukan pembuluh darah baru

Mikrovaskular EC berada di lapisan dalam pembuluh darah dan merupakan tipe sel primer yang dilibatkan dalam pembentukan pembuluh darah baru. Aktivasi EC membutuhkan *growth factor*,

produksi enzim proteolitik yang membantu migrasi EC kedalam clot fibrin/kaya fibronectin, respon EC intraselular terhadap hipoksia, dan interaksi EC dengan sel perivascular sekitar. Sel endothelial menginisiasi angiogenesis dengan ‘bertunas’ atas respon pada signal pro-angiogenic seperti VEGF, FGF, PDGF-B, TGF- β dan angiopoietin. Reseptor integrin pada sel endoteleal juga sangat penting, utamanya $\alpha v \beta 3$ yang merupakan reseptor untuk fibrin, fibronectin dan vitronectin.

c. Pericyte pada neovaskularisasi dan penyembuhan luka

Pericyte mengelilingi sel endotel pada pembuluh darah dan memiliki fungsi penting termasuk destabilisasi dan stabilisasi mikrovaskular, regulasi aliran darah, dan membentuk barrier vascular terhadap bakteri. Fungsi ini sangat penting dalam penyembuhan luka (Rodrigues *et al.*, 2019).

d. Sel progenitor sirkulasi pada neovaskularisasi dan penyembuhan luka

Sejak Ashara dan Isner pertama kali mendeskripsikan tentang *Endothelial Progenitor Cell* (EPC) tahun 1997, ada banyak hal menarik dan kontroversi berhubungan dengan kemampuan sel sirkulasi ikut berperan dalam proses penyembuhan luka. Studi akhir ini mengindikasikan baik *hematopoietic stem cell* (HSC) maupun *non-hematopoietic progenitor cell*, utamanya EPC berkontribusi dalam pembentukan pembuluh darah. Stem sel dan sel progenitor ini mencapai jaringan iskemik dalam tiga tahap. Pertama, kemokine yang dilepaskan pada jaringan cedera menyebabkan sel progenitor dari sumsum tulang memobilisasi ke dalam sirkulasi. Kemudian sel progenitor transit melalui sirkulasi kerarah meningkatnya kemokine dan menempati daerah iskemik. Akhirnya, sel progenitor bergabung ke tunas endotel dimana stem sel dan sel progenitor berdiferensiasi menjadi sel endotel (Rodrigues *et al.*, 2019).

e. Fibroblas pada penyembuhan luka

Fibroblast berada pada setiap jaringan konektif sistem organ. Fibroblast heterogen dilihat dari jaringan berbeda, selama fase perkembangan, dan berdasarkan status aktifasinya. Telah terhipotesa bahwa fibroblast dapat melakukan transdiferensiasi menjadi sel endotel selama perbaikan luka. Juga diduga bahwa sel mesenkimal sirkulasi dari sumsum tulang dapat berkontribusi pada populasi fibroblast di kulit selama penyembuhan luka (Rodrigues *et al.*, 2019).

f. Myofibroblast pada penyembuhan luka

Salah satu tanda penyembuhan luka ialah kontraksi luka. Hal ini dapat membantu mengurangi area permukaan luka yang harus diepitelialisasi. Selama proses ini, fibril kolagen tersusun tegak lurus pada sudut luka untuk meningkatkan kekuatan mekanik jaringan. Perubahan kekakuan sekitar luka mengubah fibroblast yang migrasi ke pusat luka menjadi myofibroblast α SMA positif. Myofibroblast merupakan tipe sel transien yang menyimpan ECM dan menunjukkan karakteristik otot polos kontraktile. Pada keadaan terluka, fibroblast lokal berada pada dermis yang tidak terluka dan jaringan subkutan diduga sebagai sumber utama myofibroblast (Rodrigues *et al.*, 2019).

Fibroblast dari dermis yang tidak terluka dan jaringan subkutan dibawahnya awalnya mengalami transisi menjadi proto-myofibroblast dengan serat sebagai respon meningkatnya stress mekanik. Meningkatnya myofibroblast pada luka tikus dimulai pada hari 3 dan puncaknya di hari 7. Myofibroblast dibersihkan dari lokasi luka melalui proses apoptosis dan terjadi saat integritas jaringan telah terganti. Myofibroblast memegang peranan penting pada tahap akhir pembentukan jaringan granulasi dan sebagai target yang menjanjikan untuk terapi fibrosis dan skar (Rodrigues *et al.*, 2019)

2.2.2.4 Reepitelialisasi

Epidermis menahan stress mekanik dan melindungi tubuh dari mikroorganisme, radiasi ultraviolet, kehilangan cairan, dan suhu ekstrim. Epidermis terdiri dari epitelium multilayer yang mengandung keratinosit yang dihubungkan dengan desmosome. Setelah terjadi luka, keratinosit di tepi luka kehilangan adhesi satu sama lain dan ke lamina basal untuk menutup defek. Beberapa growth factor dan protein memodulasi migrasi dan proliferasi keratinosit. Interaksi keratinosit dengan tipe sel lain selama penyembuhan luka sangat penting dalam penutupan sempurna luka. Ketidakseimbangan mekanisme sel maupun molekular dapat menyebabkan luka menjadi fibrosis atau luka kronik (Rodrigues *et al.*, 2019).

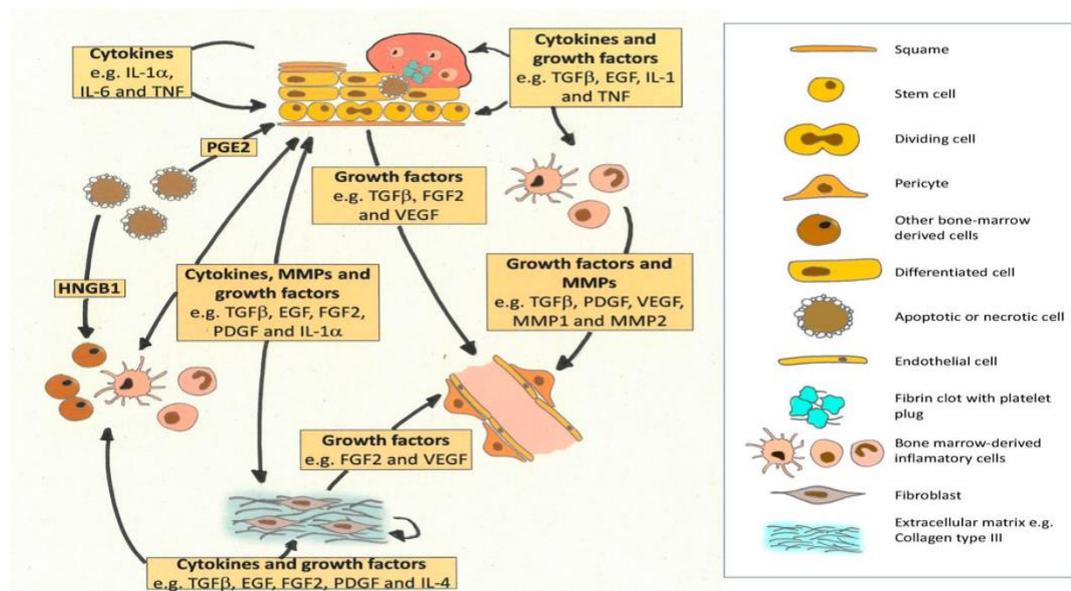
2.2.2.5 Maturasi Jaringan dan Remodeling pada Penyembuhan Luka

Penutupan luka akut maupun kronik dianggap sebagai titik akhir penyembuhan luka. Namun perlu diketahui bahwa luka bisa saja mengalami remodeling atau maturasi jaringan dalam beberapa bulan atau bahkan tahun. Remodeling terdiri dari regresi neovaskulatur, sebak deposit periodik pada ECM dan pemulihan jaringan granulasi pada jaringan skar. Jaringan granulasi secara garis besar meliputi collagen III yang secara parsial diganti oleh kolagen yang lebih kuat, kolagen I saat remodeling luka (Singh, Young dan McNaught, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019).

Walaupun jumlah kolagen sudah maksimal, kekuatan tahanan luka hanya 15 % dari kulit normal. Proses remodelling akan meningkatkan kekuatan tahanan luka secara drastis. Proses ini didasari pergantian dari kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I. Peningkatan kekuatan terjadi secara signifikan pada minggu ketiga hingga minggu keenam setelah luka. Kekuatan tahanan luka maksimal akan mencapai 90% dari kekuatan kulit normal (Suryadi, Asmarajaya dan Maliawan, 2013). Sekali reepitelisasi terjadi, myofibroblast dalam jaringan granulasi berlanjut mensintesa MMP dan inhibitornya. Saat penyembuhan luka selesai, myofibroblast

mengalami apoptosis dan ketika sel di dalam jaringan granulasi tidak menjalani apoptosis setelah remodeling, hipertropik skar beresiko terjadi. Makrofag juga penting selama remodeling dengan mengambil alih fenotip fibrinolitik, menghancurkan ECM berlebih dan menelan ECM debris serta sel apoptosis (Rodrigues *et al.*, 2019).

Beberapa growth factor yang terlibat pada proses penyembuhan luka diantaranya *platelet derived growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *insuline-like growth factor* (IGF1, IGF2), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *transforming growth factor* (TGF- β) dan *keratinocyte growth factor* (KGF) (Chicharro-Alcántara *et al.*, 2018) Gambar 1.



Gambar 1 Growth factor dan sitokine pada proses penyembuhan luka

2.3 Platelet Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs)

2.3.1 Platelet Rich Plasma (PRP)

PRP juga dikenal dengan *platelet-rich growth factor* (GF), matriks *platelet rich fibrin* (PRF) dan konsentrat platelet. Hematologist mengistilahkan PRP pada

tahun 1970 dengan tujuan menggambarkan plasma dengan hitung platelet diatas darah perifer. Awalnya digunakan sebagai produk transfusi untuk menangani pasien trombositopeni. Sepuluh tahun kemudian, PRP mulai digunakan untuk bedah maksilofasial sebagai PRF. Fibrin memiliki potensi dalam efek adhesi dan hemostatiknya serta PRP dengan efek anti inflamasi dapat menstimulasi proliferasi sel (Alves dan Grimalt, 2018).

Dewasa ini, ketertarikan dalam penggunaan PRP ialah dermatology. Dalam dermatologi kosmetik, studi dilakukan secara in vitro mendemonstrasikan PRP dapat menstimulasi proliferasi fibroblast dermal manusia dan meningkatkan sintesis kolagen tipe I. PRP tidak hanya mengandung jumlah tinggi platelet tetapi juga komplemen faktor bekuan. PRP juga diperkaya dengan sejumlah GF, kemokine, sitokine dan protein plasma lainnya (Alves dan Grimalt, 2018).

Prinsip pembuatan PRP ialah dengan sentrifugasi whole blood sehingga terpisah menjadi 3 lapisan yaitu lapisan dasar (eritrosit), lapisan tengah (buffy coat), dan lapisan atas (plasma). PRP disiapkan melalui sebuah proses yang dikenal sebagai sentrifugasi diferensial, di mana percepatan kekuatan disesuaikan dengan konstituen sedimen seluler tertentu berdasarkan gravitasi spesifik yang berbeda (Dhurat dan Sukes, 2014; Syamsul Hadi, Kusumah dan Sandra, 2019).

Dalam mempersiapkan PRP, ada dua teknik pengambilan yaitu (Alves dan Grimalt, 2018):

- a. Teknik terbuka : sampel terpapar lingkungan kerja dan bersentuhan langsung dengan berbagai alat atau bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel, seperti pipet atau tabung koagulan.
- b. Teknik tertutup : menggunakan alat dengan marking CE (termasuk peralatan dan aplikasi sentifuge) di mana produk tidak terpapar ke lingkungan (direkomendasikan).

Seluruh darah diperoleh dengan venipuncture dalam tabung antikoagulan (biasanya dengan asam sitrat dekstrosa atau larutan natrium sitrat). Darah kemudian disentrifugasi dengan sentrifugasi tunggal atau ganda, tergantung pada perangkat. Pengaturan dari sentrifuge yang ditetapkan untuk mendapatkan PRP pada sebuah konsentrasi ditentukan oleh pabrik (Alves dan Grimalt, 2018)

Dohan Ehrenfest et al, membuat klasifikasi preparat PRP menjadi 4 kelompok utama diikuti 2 parameter yaitu ada tidaknya konten sel (seperti leukosit) dan fibrin (Alves dan Grimalt, 2018)

1. *Pure PRP* atau *leucocyte-poor PRP* : preparat yang diperoleh tanpa leukosit dan menunjukkan kepadatan rendah jaringan fibrin setelah aktivasi.
2. Leukosit dan PRP : preparat mengandung leukosit dan menunjukkan jaringan fibrin densitas rendah setelah aktivasi.
3. *Pure PRF* atau *leucocyte-poor PRF* : preparat tanpa leukosit dan dengan jaringan fibrin densitas tinggi. Tidak seperti PRP murni atau PRP yang mengandung leukosit, produk ini tidak dapat disuntikkan dan hanya ditemukan dalam bentuk gel.
4. *Leucocyte-rich fibrin* dan PRF: produk adalah preparat dengan leukosit dan dengan fibrin densitas tinggi.

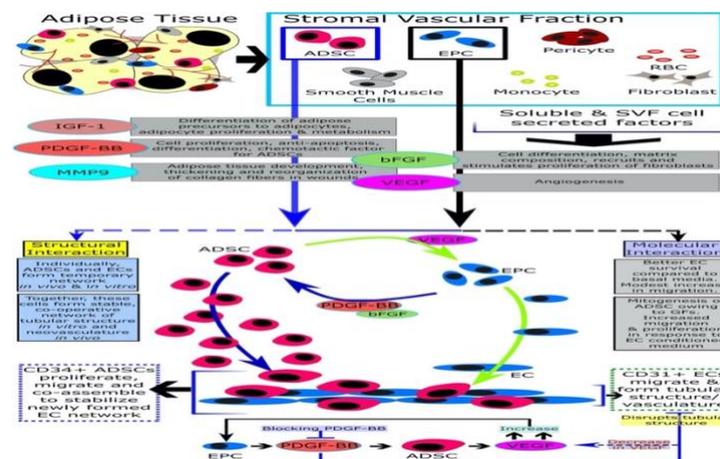
Mishra et al. menyusun klasifikasi lain yaitu berdasarkan ada tidaknya leukosit, status aktivasi, dan konsentrasi trombosit, berdasarkan pada koefisien peningkatan trombosit dan leukosit konsentrat PRP dibandingkan dengan nilai ambang seluruh darah, serta pada aktivasi PRP (Magalon *et al.*, 2016).

Magalon et al. di tahun 2016 membuat klasifikasi DEPA (*Dose, Efficiency, Purity, Activation*) yang berfokus pada jumlah trombosit yang diperoleh oleh kit PRP serta kemurnian produk dan aktivasi platelet sebelum injeksi (Magalon *et al.*, 2016)

2.3.2 Stromal Vascular Fraction (SVFs)

Adipose-derived stem/stromal cell (ADSC) pertama kali dikarakteristikan pada tahun 2001. ADSC telah ditelaah secara luas dan sebagai sumber sel utama dengan potensi regenerative dengan karakteristik sama dengan *mesenchymal stem/stromal cell* (MSC). ADSC terisolasi sebagai bagian fraksi cair berasal dari proses enzimatik lipoaspirate. Fraksi cairan ini mengandung kombinasi ADSC, EPC, EC, makrofag, sel otot polos, limfosit, pericyte dan pre adipocyte. Fraksi ini kemudian disebut dengan SVF (Bora dan Majumdar, 2017)

Keuntungan SVF dibandingkan ADSC secara garis besar ada dua. Pertama, walaupun memiliki persamaan seperti imunomodulasi, anti inflamasi, angiogenesis, dan lainnya, heterogenitas komposisi selular SVF dapat menghasilkan luaran terapeutik lebih baik pada studi hewan. Kedua, tidak seperti ADSC, SVF lebih mudah didapatkan. Tidak memerlukan separasi sel atau kultur. Di lain hal, ADSC memiliki keunggulan dalam terapi allogenic maupun autologue. Dibandingkan SVF yang memiliki variasi sel yang diketahui menyebabkan penolakan immunologis sehingga hanya digunakan untuk terapi autologue saja (Bora dan Majumdar, 2017).



Gambar 2 Proses manual lipoaspirat SVF

Traktuev et al, menjelaskan bahwa beberapa faktor yang dihasilkan oleh ADSC seperti VEGF membantu proses migrasi. PDGF yang diproduksi oleh

membantu ADSC berproliferasi dan migrasi. Informasi dari beberapa artikel digabungkan dalam draf skematik untuk aktifitas SVF, khususnya interaksi antara ADSC dan EPC seperti pada gambar 2 (Bora dan Majumdar, 2017).

Secara klinis, SVF dapat diisolasi dari lipoaspirate manusia yang dibuang. Namun, perlu dipertimbangkan perbedaan situs isolasi serta bagaimana jaringan adiposa terisolasi diproses. Selain perbedaan anatomi regional dalam komposisi lemak, misalnya, sifat molekul jaringan adiposa berbeda pada perut, paha medial, payudara lateral, terdapat juga perbedaan antara jaringan adiposa coklat (BAT) dan jaringan adipose putih (WAT). Prunet-Marcassus *et al.* menunjukkan bahwa sel SVF yang diisolasi dari WAT memiliki lebih banyak sel hematopoietik, makrofag, progenitor hematopoietik, dan sel imatur yang bersama-sama, berkontribusi pada tingkat plastisitas yang lebih tinggi daripada sel SVF yang diisolasi dari BAT (Ramakrishnan dan Boyd, 2018)

2.4 Platelet Derived Growth Factor (PDGF)

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang melibatkan beberapa tahap diantaranya inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelialisasi, dan pembentukan matriks dan remodeling. Saat terjadi luka pada kulit, barrier epidermal rusak dan keratinosit melepaskan interleukin-1 (IL-1). IL-1 merupakan signal pertama di sekitar sel yang menandai adanya kerusakan barrier. Platelet melakukan degranulasi melepaskan granula alfa yang mensekresikan factor pertumbuhan seperti EGF, PDGF, TGF- β (Barrientos *et al.*, 2008)

PDGF memegang peran dalam setiap tahap penyembuhan luka. Saat terjadi luka, PDGF dilepaskan dari platelet terdegranulasi dan berada dalam cairan luka. Hal ini menstimulasi mitogenisitas dan kemotaksis netrofil, makrofag, fibroblast, dan sel otot polos di lokasi luka. Juga menstimulasi makrofag untuk memproduksi dan mensekresikan factor pertumbuhan seperti TGF- β (Barrientos *et al.*, 2008; Avriyanti Hanafiah *et al.*, 2018)

PDGF merupakan hal penting dalam maturasi pembuluh darah. Pada penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa PDGF penting dalam mengarahkan percyte ke kapiler sehingga meningkatkan integritas struktur dari pembuluh darah. PDGF juga memegang peran dalam reepitelialisasi dengan *upregulating* produksi IGF-1 dan trombospondin-1 *in vitro*. IGF-1 telah diketahui meningkatkan proliferasi fibroblast dan produksi matriks extra selular (Barrientos *et al.*, 2008).

Pada fase remodeling, PDGF membantu menghancurkan kolagen lama dengan *upregulating* matriks metalloproteinase (Barrientos *et al.*, 2008)

Ada empat gen PDGF (PDGFA, PDGFB, PDBFC dan PDGFD) yang berada pada kromosom 7, 22, 4 dan 11 pada manusia serta kromosom 5, 25, 3 dan 9 pada tikus. Beberapa sel *co-expres* PDGF-A dan PDGF-B sehingga menjadi heterodimer. Sehingga total protein PDGF aktif secara biologi menjadi 5 yaitu PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PDGF-AB) (Das C, Lucia MS, 2017).

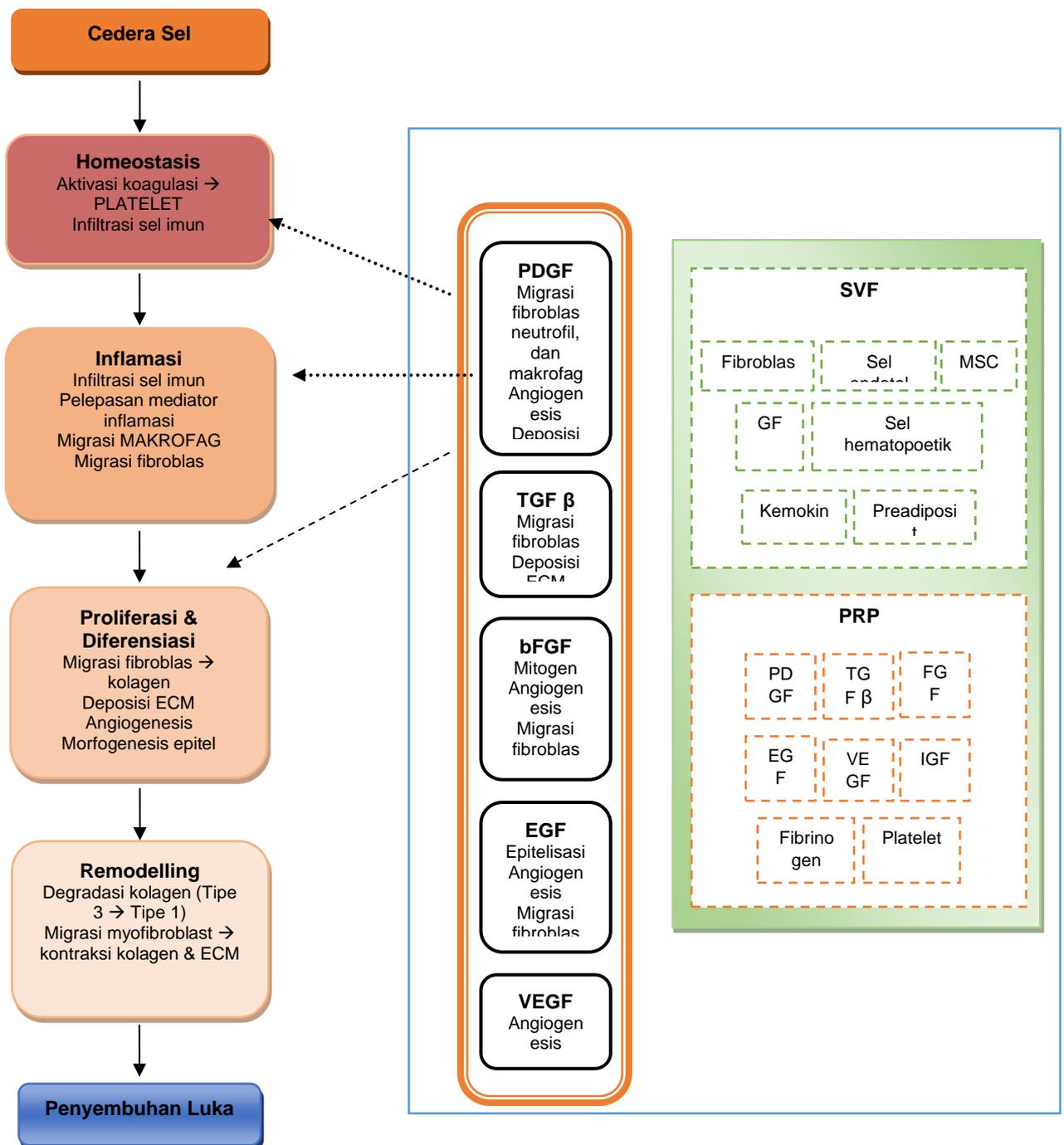
PDGF merupakan molukel stabil. PDGF-AB bertahan dengan aktivitas biologinya walaupun dengan suhu 100⁰C. Sehingga PDGF-AB yang paling resisten dengan suhu tinggi diikuti oleh PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D (Das C, Lucia MS, 2017).

Ada 2 gen PDGFR yaitu PDGFR-A dan PDGFR-B dimana kedua gen ini terletak pada kromosom 4 dan 5 pada manusia, serta kromosom 5 dan 18 pada tikus. PDGFR ini merupakan tipikal *Receptor Tyrosine Kinase* (RTK) yang mengkode protein transmembrane dengan domain ikatan ligan ekstraselular dan domain *thyrosine kinase* intraselular. Masing-masing molekul PDGF dalam PDGF dimer mengikat satu molekul PDGFR (Das C, Lucia MS, 2017).

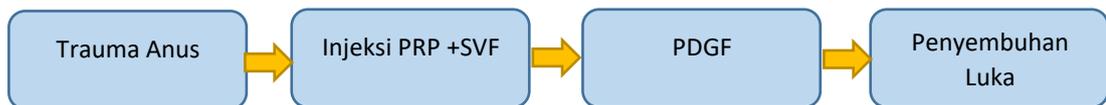
Semua anggota dari famili PDGF memiliki aktivitas angiogenik poten *in vivo* dan dalam hal ini aksis PDGFB/PDGFRB yang paling ekstensif didapatkan. PDGFB/PDGFRB sangat berpengaruh dalam pengembangan vaskular. PDGF B juga berperan dalam mempertahankan stabilitas vaskular dengan menarik sel

perivaskular. Hilangnya PDGF B jumlah sel perivaskular dalam pembuluh darah berkurang dan tingkat proliferasinya juga lambat. (Raica dan Cimpean, 2010)

2.5 Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep



2.7 Variabel

1. Variabel Bebas
 - Kombinasi PRP + SVFs
2. Variabel Tergantung
 - Kadar PDGF Serum
3. Variabel Antara
 - Trauma Anus

2.8 Hipotesis

- Kombinasi PRP dan SVF dapat meningkatkan kadar PDGF B dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar