

EFEK KOMBINASI *PLATELET RICH PLASMA* (PRP) DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVFs) TERHADAP TINGKAT KEPADATAN KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR

THE EFFECT OF COMBINED PLATELET-RICH PLASMA (PRP) AND STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) ON COLLAGEN DENSITY LEVEL OF DEEP DERMAL BURN WOUND INJURIES IN THE WISTAR RAT



Oleh:

N a m a : Nur Hidayatullah

NIM : C045171002

PEMBIMBING:

Dr. dr. Sachraswaty R. Laididing, Sp.B, Sp. BP-RE

Dr. dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K) B. Mikro

Dr. Joko Hendarto, M. Biomed, Ph.D

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

KARYA AKHIR

Efek Kombinasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs) terhadap Tingkat Kepadatan Kolagen pada Luka Bakar Deep Dermal Tikus Wistar

The Effect of Combined Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVFs) on Collagen Density Level of Deep Dermal Burn Wound Injuries in the Wistar Rat

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Bedah
Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan diajukan oleh

**NUR HIDAYATULLAH
C045171002**

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 (SVFS) TERHADAP TINGKAT KEPADATAN KOLAGEN
PADA LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

Nur Hidayatullah
C045171002

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 29 Maret 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. dr. Sachraswaty R. Laiding, Sp.B, Sp.BP-RE(K)
NIP. 19760112 200604 2 001

Pembimbing Pendamping



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

Ketua Program Studi



Dr.dr. Sachraswaty R.L, Sp.B, Sp.BP-RE(K)
NIP. 19760112 200604 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : NUR HIDAYATULLAH

Nomor Induk Mahasiswa : C045171002

Program Studi : Ilmu Bedah

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

Makassar, Maret 2022
yang menyatakan,



Nur Hidayatullah

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah subhanahu wa ta'ala atas karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini, sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi selama menyusun karya akhir ini. Namun, saya bisa menyelesaikan karya akhir ini berkat motivasi, dukungan, dan masukan yang diberikan pembimbing saya, Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, SpB Sp. BP-RE; dan dr. Joko Hendarto, M.Biomed, PhD serta penguji saya Dr. dr. Fonny Josh, Sp. BP-RE(K)B. Mikro, Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk dan dr. Muhammad Ihwan Kusuma, Sp.B-KBD.

Pada kesempatan ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Dr. dr. A. Muhammad Takdir Musba, Sp.An, KMN-FIPM selaku Manajer PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, , dr. Agussalim Bukhari, M. Clin.Med., Ph.D., Sp.GK sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, serta Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) dan Prof. dr. Budu, Ph-D, SP.M(K), M. MedEd saat menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

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

Terima kasih kepada saudara seperjuangan Residen Bedah Periode 1 Juli 2017 yang tanpa henti memotivasi dan mengingatkan untuk pantang menyerah dalam menyusun dan menyelesaikan karya akhir ini. Terima kasih saudara-saudaraku! Terima kasih untuk dr. Andi Sinapati, Sp.B, dr. Fransisca, Sp.B, dr. Aldhi, Sp.B, dr. Sartian Battung, Sp.B, dr. Deasi, Sp.B, dr. Agusni, Sp.B, dr. M. Faruk, dan dr. Bayu Satria, yang sudah berkerja sama dan memberikan dukungan

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

Saya mengucapkan terima kasih secara khusus untuk istri tercinta dr. Hj. Nurfathanah, Ibunda Hj. Siti Aisyah Djafar, S.Pd, Ayahanda Drs. H. Syafruddin H.M. Udjin, mertua saya Hj. Nurhayati, S.E, M.Si dan H. Mahfud HAR, S.E, M.Si serta keluarga besar yang senantiasa mendoakan saya, memberikan motivasi untuk menyelesaikan karya akhir ini, serta mencerahkan hari-hari selama penelitian dan penyusunan karya akhir ini. I love you all!

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

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

Makassar, Maret 2022
yang menyatakan,

Nur Hidayatullah

ABSTRAK

NUR HIDAYATULLAH. *Efek Kombinasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs) terhadap Tingkat Kepadatan Kolagen pada Luka Bakar Deep Dermal Tikus Wistar* (dibimbing oleh Sachraswaty R.Laiding, Fonny Josh, dan Joko Hendarto).

Penelitian terus dilakukan untuk mendapatkan metode terbaik dalam penanganan dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar, salah satunya adalah terapi sel punca. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektifitas kombinasi PRP + SVFs injeksi dan topikal terhadap tingkat kepadatan kolagen pada model luka bakar deep dermal pada tikus Wistar. Metode penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratorium* pada tikus Wistar dengan menggunakan rancang *post test control group design*. Sebanyak 60 ekor tikus Wistar dewasa dibagi dalam 3 kelompok. Group I diberikan kombinasi PRP+SVFs secara injeksi subkutan, group II diberikan kombinasi PRP+SVFs secara topikal, dan group III diberikan vaseline topikal. Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan Masson's Trichrome untuk menilai kepadatan kolagen. Data statistik memperlihatkan hasil yang signifikan ($p < 0.05$) pada perbedaan tingkat kepadatan kolagen terhadap kelompok perlakuan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dan vaseline, yaitu pada sacrifice hari ke-4 ($p = 0.040$), hari ke-7 ($p = 0,032$), dan hari ke-10 ($0,011$). Hasil signifikan yang hampir sama juga pada perbandingan kelompok perlakuan kombinasi PRP + SVFs injeksi dan PRP + SVFs topikal, yaitu pada sacrifice hari ke-4 ($p = 0.040$), hari ke-7 ($p = 0,040$), dan hari ke-10 ($0,011$). Adapun kelompok perlakuan kombinasi PRP + SVFs topikal dan vaseline tidak memberikan hasil signifikan terhadap gambaran perubahan kepadatan kolagen pada seluruh hari sacrifice ($p > 0,05$). Namun, terdapat perbedaan signifikan secara statistik pada tiga kelompok perlakuan terhadap kecepatan pembentukan kolagen dengan lamanya perlakuan sesuai hari sacrifice, yaitu hari ke-7 ($p = 0.028$) dan 10 ($p = 0.005$). Pemberian PRP+SVF secara injeksi lokal dinilai mampu meningkatkan kecepatan kepadatan kolagen secara signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok pemberian PRP+SVF secara topikal maupun vaseline.

Kata kunci: PRP.,SVFs. kolagen, luka bakar, penyembuhan luka



ABSTRACT

NUR HIDAYATULLAH. *The Effect of Combined Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVFs) on Collagen Density Level of Deep Dermal Burn Wound Injuries in The Wistar Rat* (Supervised by Sachraswaty R. Laiding, Fonny Josh, and Joko Hendarto).

Research continues to be carried out to find the best method for treating burn and accelerating the healing process of burn, one of which is stem cell therapy. This study aims to assess the effectiveness of the combined PRP + SVFs injection and topical on collagen density in a model of deep dermal burn in Wistar rats. This study method used was a laboratory experimental method on wistar rat using a post test control group design. A total of 60 adult Wistar rats were divided into 3 group. Group I was given a combination of PRP+SVFs by subcutaneous injection, group II was given a combination of PRP+SVFs topically, and group III was given topical vaseline. Histopathological examination was performed with Masson's Trichrome staining to assess collagen density. Statistical data show significant results ($p < 0.05$) on the difference in the level of collagen density against the combination treatment group of PRP+SVFs local injection and Vaseline, namely on the 4th day of sacrifice ($p = 0.040$), the 7th day ($p = 0.032$), and the 10th day ($p = 0.011$). Significant results are almost the same in the comparison of the treatment group with the combination of PRP+SVFs local injection and topical PRP+SVFs, namely on sacrifice on day 4 ($p = 0.040$), day 7 ($p = 0.040$), and day 10 ($p = 0.011$). Meanwhile, in the treatment group, the combination of topical PRP + SCFs and Vaseline do not give significant results on the description of changes in collagen density on all days of sacrifice ($p > 0.05$). However, there are statistically significant differences in three treatment groups on the speed of collagen formation with the length of treatment according to the day of sacrifice, namely day 7 ($p = 0.028$) and day 10 ($p = 0.005$). The administration of PRP + SVFs by injection is assessed to be able to significantly increase the speed of collagen density ($p < 0.05$) compared to the group that is given PRP+SVFs topically or vaseline.

Keywords: PRP, SVFs, collagen, burn injury, wound healing



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
ABSTRACT.....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka.....	9
2.2 Kolagen.....	23
2.3 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP + SVF	27
BAB III. KERANGKA PENELITIAN.....	37
3.1 Kerangka Teori.....	38
3.2 Kerangka Konsep	39
3.3 Variabel Penelitian	39
3.4 Hipotesis	40
3.5 Definisi Operasional.....	40
BAB IV. METODE PENELITIAN	43
4.1 Desain Penelitian	43
4.2 Populasi dan Sampel	43
4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	50
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	50
4.5 Cara Pengumpulan Data.....	50
4.6 Analisis Data	51
4.7 Prosedur Penelitian.....	51
4.8 Etika Penelitian.....	52

4.9	Alur Penelitian.....	53
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		54
5.1	Hasil penelitian.....	54
5.2	Pembahasan	73
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		83
6.1.	KESIMPULAN	83
6.2.	SARAN-SARAN.....	83
DAFTAR PUSTAKA		84
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Diagnosis Kedalaman Luka Bakar	15
Tabel 2.2 Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka bakar.....	19
Tabel 2.3 Faktor pertumbuhan pada penyembuhan luka	21
Tabel 2.4 Tipe kolagen dan lokasinya.....	25
Tabel 5. 1. Sebaran Sampel	55
Tabel 5. 2. Perbandingan Tingkat Kepadatan Kolagen pada Pemberian Kombinasi PRP+SVFs Injeksi dan Vaseline.	56
Tabel 5. 3. Perbandingan Tingkat Kepadatan Kolagen pada Pemberian Kombinasi PRP+SVFs Topikal dan Vaseline.	60
Tabel 5. 4. Perbandingan Tingkat Kepadatan Kolagen pada Pemberian Kombinasi PRP+SVFs Injeksi dan PRP+SVFs Topikal	63
Tabel 5. 5. Perbandingan Kepadatan Kolagen Ketiga Kelompok	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Kedalaman Luka Bakar	15
Gambar 2.2 Fase penyembuhan luka	17
Gambar 2.3 Hubungan waktu munculnya berbagai sel pada proses penyembuhan luka	23
Gambar 5.1 Tingkat kepadatan kolagen antara kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dan vaselin.....	57
Gambar 5.2 Tingkat kepadatan kolagen antara kombinasi PRP + SVFs topikal dan vaselin.....	61
Gambar 5.3 Tingkat kepadatan kolagen antara kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dan PRP + SVFs topikal.....	64
Gambar 5.4 Tingkat kepadatan kolagen pada ketiga kelompok perlakuan	67
Gambar 5.5. Gambaran histopatologi seluruh sample berdasarkan group perlakuan dan lama perlakuan.	71
Gambar 5. 6. Gambaran histopatologi jaringan granulasi pada penyembuhan luka dengan pewarnaan jaringan Masson Trichrome	72

DAFTAR SINGKATAN

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

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah suatu kerusakan pada kulit dan jaringan dibawahnya yang disebabkan karena kontak dengan suhu yang sangat tinggi seperti api panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi atau kontak dengan suhu yang sangat rendah. Luka bakar 90% terjadi di negara yang memiliki penghasilan rendah dan infrastruktur minim untuk mencegah terjadinya luka bakar. Pada tahun 2014, World Health Organization (WHO) memperkirakan terdapat lebih dari 265.000 kematian yang terjadi setiap tahunnya akibat luka bakar dan kebanyakan terjadi didaerah Afrika, Asia tenggara, dan Timur Tengah.(Moenadjad Y., 2011; Vincy LAIW, 2004).

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

perawatan menjadi lebih singkat sehingga biaya perawatan dapat lebih rendah (Ghieh, F., 2015).

Stromal Vascular Fraction Cells (SVFs) merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak. Lipoaspirat mengandung sejumlah besar stem sel yang disebut *Adipose derived stem cell* (ASCs). SVFs dari jaringan lemak diketahui mengandung sel T regulator, sel precursor endothelial, pre-adiposit yang diketahui sebagai anti inflamasi makrofag, *superoxide dismutase* (SOD), IGF, TGF, FGF, *hepatocyte growth factor* (HGF) dan *interleukin* (IL). (Tantuway V., dkk., 2017; Darinskas A., 2017; Comella, K., 2017; Bourin P., 2013; Baglioni S., dkk., 2009; Rigotti G, 2009; Choi, J. dkk. 2012).

Platelet-rich plasma (PRP) adalah trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, yang berisi setidaknya enam faktor pertumbuhan yang utama, termasuk diturunkan *platelet-derived growth factor* (PDGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *epidermal growth factor* (EGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *transforming growth factor-b* (TGF-b) yang di lepaskan setelah aktivasi trombosit (Raposio E, dkk., 2016; Bourin, P., 2013; Asli Duran, 2018; Choi J., dkk., 2012; Tohidnezhad, M.,2011; 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).

Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan, dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis (Novriansyah R., dkk. 2008).

Fragmen-fragmen kolagen melepaskan kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah injuri. Selanjutnya kolagen menjadi pondasi untuk matrik ekstraseluler yang baru. Akumulasi kolagen pada daerah luka tergantung pada ratio antara sintesis kolagen dan degradasi kolagen oleh enzim. Pada fase awal proses penyembuhan luka, jumlah degradasi kolagen rendah, tetapi akan meningkat seiring dengan maturasi dari luka (Mercandetti M, dkk. 2002).

Kolagen merupakan protein yang terdiri dari molekul tunggal (monomer) yang berkaitan menjadi tiga rantai polipeptida untuk membentuk struktur triple helix. Dalam triple helix, setiap susunan ketiga pada asam amino ialah glisin, dan struktur rantai umum dilambangkan sebagai Gly-X-Y, dimana asam amino X dan Y umumnya ialah prolin dan hidrosiprolin.^{16,17} Prolin dan hidrosiprolin mencapai sekitar 21% dari residu asam amino pada kolagen yang jarang ditemukan pada protein lain selain pada kolagen dan elastin. Kolagen sendiri mengandung 35% glisin dan 11% alanine. Hal inilah

yang membuat kolagen memiliki sifat kenyal. Kolagen ini juga merupakan komponen serat utama dalam tulang, gigi tulang rawan, lapisan kulit dalam, dan tendon sehingga menjadi kenyal (Lehninger, dkk, 2013).

Kolagen terdiri dari peptide RGD (arginin-glisin-aspartat) dan non-RGD yang dapat berikatan pada permukaan sel terkait integrin, maka dari itu, kolagen dapat memfasilitasi migrasi, perlekatan, proliferasi, dan diferensiasi dari sel. Kolagen juga memiliki sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang baik, serta antigenisitas rendah. Namun, kolagen memiliki beberapa kerugian yaitu cepatnya laju degradasi dan kekuatan mekanik yang buruk. Hal ini dapat diatasi melalui kombinasi dengan biomaterial lainnya untuk membentuk scaffold dengan sifat yang lebih optimal (Winias et al., 2017). Gelatin merupakan polimer alami yang terdenaturasi, turunan dari kolagen. Gelatin terdiri dari asam amino (hidroksiprolin, prolin, atau urutan RGD-asam arginin-glisin-aspartat) yang secara normal biasanya ditemukan pada matriksekstraseluler (ECM). Beberapa keunggulan protein ini adalah secara komersial tersedia dengan biayanya yang relatif rendah, antigenisitas rendah, tidak menghasilkan produk sampingan berbahaya setelah degradasi enzimatik, larut dalam larutan, mengandung asam arginin-glisin-aspartat yang mendukung perlekatan sel dan dapat diekstraksi dari beberapa sumber kolagen (Moreira et al., 2019). Gelatin dalam rekayasa jaringan digunakan karena sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya. Gelatin diperkirakan sebagai biomaterial yang sesuai untuk menyerupai ECM karena gugus fungsionalnya dan kemungkinan untuk membentuk scaffold 3D dengan

struktur berpori. Namun, polimer ini memiliki stabilitas yang rendah pada kondisi fisiologis, oleh karena itu banyak dilakukan penelitian dengan penambahan substansi lainnya (Azizian et al., 2018).

Proses penyembuhan luka yang kompleks tidak terlepas dari peran dan pengaruh sitokin. Pada tahap deposisi matrik ekstraseluler (ECM), sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin, yaitu: PDGF, FGF, TGF β , IL-1, IL-4, IGF. Mathew R dkk (1999) dalam penelitian pada tikus menunjukkan bahwa TGF β akan mempercepat sintesis dan deposit kolagen. Menurut Stites dan Ferr (1991) faktor xviii pertumbuhan TGF β mempunyai efek kemotaksis dan mitogenik pada fibroblas sehingga akan meningkatkan sintesis kolagen (Mathew R, dkk. 1999).

Adanya peningkatan jumlah faktor pertumbuhan dan protein pada kombinasi PRP dan SVFs yang diberikan secara lokal baik injeksi maupun topikal diharapkan dapat merangsang pembentukan kolagen yang selanjutnya mempercepat proses penyembuhan luka bakar *deep dermal* dengan membandingkan tiga macam produk dari sel punca yaitu PRP, SVFs serta kombinasi antara PRP dan SVFs.

Saat ini di Indonesia belum ada data yang menunjukkan efek kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka bakar *deep dermal* yang diberikan stem cell (kombinasi PRP + SVFs) secara injeksi lokal maupun topikal dibandingkan dengan perawatan luka moist standar (vaselin). Hal inilah yang melatarbelakangi penelitian dengan melakukan pengamatan mikroskopis dari preparat *trichrome* jaringan kulit luka bakar *deep dermal*

hewan coba, dengan menilai tingkat kepadatan kolagen pada model tikus wistar yang di terapi dengan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal maupun topikal.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah ada perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* injeksi lokal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar?
2. Apakah ada perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* topikal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar ?
3. Apakah ada perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* Injeksi lokal dibandingkan perawatan dengan kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* topikal pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs terhadap kepadatan kolagen dalam mempercepat proses penyembuhan luka bakar deep dermal pada tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan bahwa tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka lebih baik pada yang diberikan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal tikus wistar.
2. Untuk membuktikan bahwa tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka lebih baik pada yang diberikan kombinasi PRP + SVFs topikal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal tikus wistar.
3. Untuk membuktikan apakah ada perbedaan kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka bakar dengan pemberian kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dibandingkan perawatan kombinasi PRP + SVFs topikal pada model luka bakar deep dermal tikus wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar pemanfaatan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal maupun topikal dalam menilai

kepadatan kolagen yang sangat berperan dalam proses penyembuhan luka bakar.

2. Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan luka bakar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka

2.1.1 Definisi Luka bakar

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

- Paparan api
- *Scalds* (air panas)

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

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

- Uap panas

Terutama ditemukan di daerah industri atau akibat kecelakaan radiator mobil. Uap panas menimbulkan cedera luas akibat kapasitas panas yang tinggi dari uap serta dispersi oleh uap bertekanan tinggi. Apabila terjadi inhalasi, uap panas dapat menyebabkan cedera hingga ke saluran napas distal di paru.

- Gas panas

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

- Aliran listrik

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

- Zat kimia (asam atau basa)

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

- Radiasi

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

- *Sunburn* sinar matahari.

2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar

Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu, lamanya pajanan suhu tinggi, adekuasi resusitasi dan adanya infeksi pada luka. Selain api yang langsung menjilat tubuh, baju yang ikut terbakar juga memperdalam luka bakar (Sjamsuhidajat, de Jong., 2016; Moenadjat Y., 2005; Williams N, et al., 2013).

Luka bakar dapat dikelompokkan dalam 3 klasifikasi utama bergantung pada kedalaman kerusakan jaringan yaitu *superficial*, *mid* dan *deep burns*. Klasifikasi ini kemudian lebih lanjut didefinisikan sebagai *epidermal*, *superficial dermal*, *middermal*, *deep dermal* atau *full thickness* (EMSB 2016, Williams C. 2011, Moss LS., 2010).

A. *Luka Bakar Superficial Dermal*

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

1. *Epidermal Burns*

Epidermal burns hanya terkena bagian epidermis. Penyebab umum dari luka bakar ini adalah sinar matahari dan luka kecil akibat ledakan (EMSB 2016). Bagian lapisan epidermis yang terkena luka bakar sembuh melalui proses regenerasi epidermis dari lapisan basal. Karena produksi mediator inflamasi, hiperaemia terjadi sehingga luka bakar ini berwarna merah dan menimbulkan nyeri (EMSB 2016). Luka bakar ini menyembuh secara cepat (dalam tujuh hari), tanpa meninggalkan jejas berakibat ke kosmetik (EMSB, 2016).

2. *Superficial Dermal Burns*

Superficial dermal burns termasuk jaringan epidermis dan bagian *superficial dermis – papillary dermis*. Ciri khas dari luka bakar ini adalah adanya bula (EMSB 2016). Lapisan kulit yang menutupi bula ini sudah mati dan dipisahkan dari bagian dasar yang masih viabel dengan bagian inflamasi-edema. Edema ini akan mengangkat bagian atas jaringan nekrotik membentuk bula. Bula ini mungkin pecah sehingga mengekspos bagian dermis yang setelah paparan, mungkin mengalami *desiccate* dan mati. Hal ini menyebabkan peningkatan kedalaman jaringan yang hilang. Bagian *papillary dermis* yang terkena berwarna kemerahan. Karena saraf sensorik terkena, maka luka bakar ini biasanya sangat nyeri (EMSB 2016, Moss LS., 2010). Luka bakar *superficial dermal* akan sembuh secara spontan oleh karena proses epitelisasi dalam waktu 14 hari, hanya meninggalkan

jejas perubahan warna tanpa menimbulkan *scar* pada jejas luka bakar ini (EMSB 2016).

B. Mid-dermal Burns

Luka bakar mid-dermal adalah luka bakar yang terletak di antara luka bakar dermal yang akan sembuh relatif cepat, dan luka bakar deep-dermal yang tidak menyembuh secara cepat. Pada luka bakar mid-dermal, jumlah sel-sel epitel yang bertahan hidup mampu reepithelialisation lebih kurang daripada luka bakar yang lebih dalam dan penyembuhan luka bakar secara cepat dan spontan tidak selalu terjadi. Secara klinis, penampilan luka bakar ini ditentukan oleh kerusakan pleksus vaskular dermal yang bervariasi. *Capillary refill time* mungkin lamban, dan edema pada jaringan dan bula akan ada. Area yang terbakar ini biasanya berwarna merah muda gelap daripada luka bakar *superficial dermal* (EMSB 2016).

C. Deep Burns

Luka bakar yang lebih dalam tampak lebih parah dan tidak sembuh secara spontan dengan epitelisasi, atau hanya sembuh setelah jangka waktu yang lama dengan jaringan parut yang signifikan. Luka bakar ini terbagi menjadi luka bakar deep dermal dan luka bakar full thickness (EMSB 2016).

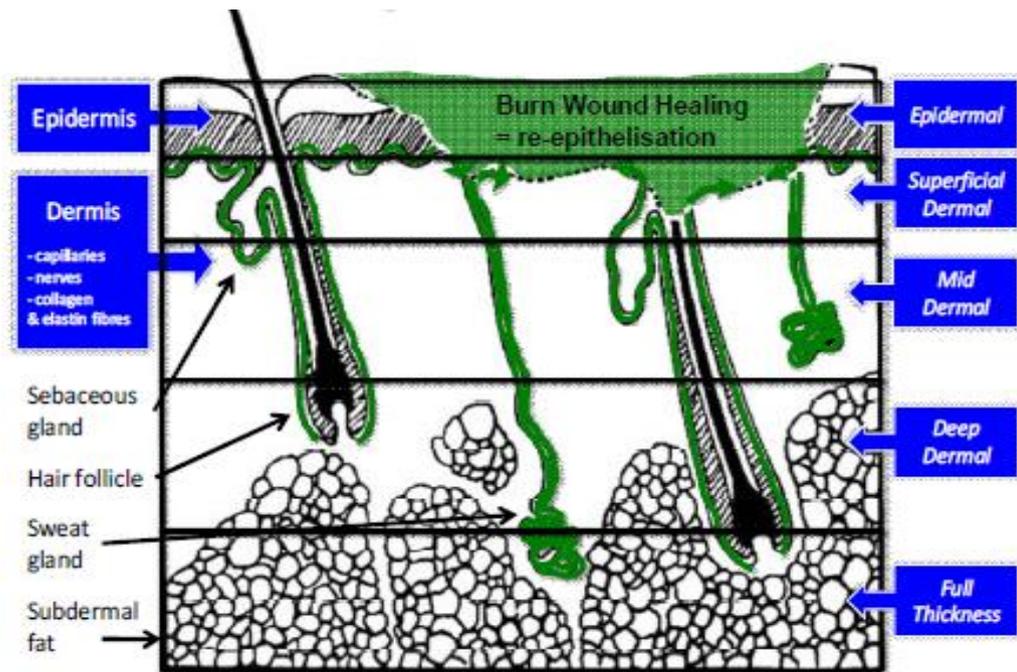
1. Deep Dermal Burns

Pada luka bakar deep dermal masih mungkin terdapat bula, tapi dasar bula menunjukkan bagian dermis yang dalam dan bagian retikuler

dermis sering tampak bintik-bintik warna merah (EMSB 2016, Herndon DN. 2007, Benson A., dkk 2006). Bintik warna merah ini karena ekstrasvasasi hemoglobin dari sel-sel merah yang rusak dan keluar dari pembuluh darah yang pecah. Ciri penting luka bakar jenis ini adalah hilangnya fenomena capillary refill. Ini menunjukkan bahwa luka bakar *deep dermal* telah merusak pleksus vaskular dermal. Ujung saraf dermal juga terletak pada bagian ini sehingga tes pinprick akan hilang pada luka bakar *deep dermal* (EMSB 2016).

2. *Full Thickness Burns*

Luka bakar *full thickness* merusak kedua lapisan kulit (epidermis dan dermis), dan dapat menembus lebih dalam ke dasar struktur kulit (Herndon DN. 2007). Kulit pasien pada luka bakar ini berwarna putih padat, seperti lilin, atau bahkan tampak hangus. Saraf sensorik dalam dermis rusak dan jadi sensasi untuk tes pinprick hilang (Herndon DN. 2007, Benson A., dkk 2006). Kulit mati yang mengalami koagulasi tampak kasar yang disebut Eschar (EMSB 2016).



Gambar 2.1 Kedalaman Luka Bakar

Sumber: EMSB Course 2016

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

Tabel 2.1 Diagnosis Kedalaman Luka Bakar

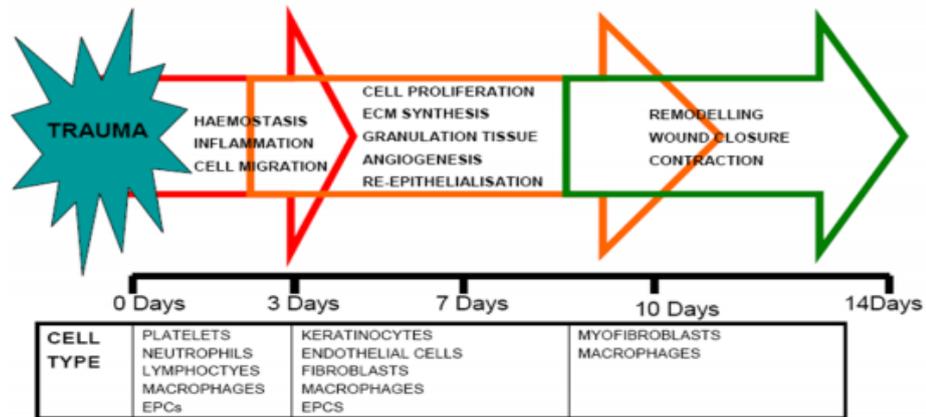
Sumber: EMSB Course 2016

2.1.3 Penyembuhan Luka Bakar

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

Terdapat dua proses yang penting dalam terjadinya proses homeostasis. Pertama adalah penggantian selular matriks yang berbeda sebagai tambalan untuk kembali menyusun kelanjutan baik fisik dan psikologis terhadap organ yang cedera. Hal tersebut merupakan proses terbentuknya *scar*. Proses yang kedua adalah rekapitulasi proses awal pembentukan organ yang cedera. Arsitektur organ asal dibentuk kembali, dengan mengaktifkan kembali jalur pembangunan. Ini merupakan proses regenerasi. Penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling. (Leong M. 2016; McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Moenadhat Y, dkk., 2011)

Stages of Normal Cutaneous Wound Healing



Gambar 2.2 Tiga Fase Penyembuhan Luka, Waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu (Gurtner C, 2007)

➤ Fase Inflamasi (Hemostasis dan Inflamasi)

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke tiga. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat dan bersama jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblast lokal dan sel endotel serta vasokonstriktor. Hemostasis memicu inflamasi dengan terjadinya pelepasan faktor

kemotaktik dari luka. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014)

Paparan kolagen subendotelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi menghasilkan bekuan fibrin. Granul-granul *platelet- α* melepaskan sejumlah zat kimia seperti platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), platelet-activating factor (PAF), fibronectin dan serotonin. Sebagai tambahan untuk mencapai hemostasis, bekuan fibrin memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi menuju luka seperti *polymorphonuclear leucocytes* (PMNs, neutrofil) dan monosit. PMN adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah pelepasan prostaglandin dan adanya komponen kemotaktik seperti faktor komplemen, interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), TNF- β , factor platelet-4 atau produk bakteri kesemuanya merangsang migrasi netrofil. Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007)

Makrofag muncul pertama 48-96 jam setelah terjadi luka. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada

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

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

Tabel 2.2 Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka

Sumber: Rumalia VK, 2001

➤ **Fase Proliferasi**

Ketika respons akut hemostasis dan inflamasi mulai pulih, terjadi perbaikan luka melalui angiogenesis, fibroplasia, dan epitelisasi. Tahap ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, yang terdiri dari lapisan kapiler, fibroblast, makrofag, dan susunan kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat yang longgar. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblast. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke tiga. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi dibentuk dari tiga tipe sel yang memainkan peranan yang penting dalam pembentukan jaringan granulasi, yaitu fibroblast, makrofag dan sel endothelial (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Nauta A, et al., 2012).

Fibroblast muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Fibroblast berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi yang menghasilkan mukopolisakarida, asam amino glisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan merekatkan tepi luka. Pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblast juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein triple helix,

unsur utama matriks ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Fibroblast juga membentuk matriks fibronectin, asam hialuronik dan glikosaminoglikan. Pada fase ini, serat-serat dibentuk dan dihancurkan untuk penyesuaian tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini bersama dengan sifat kontraktif miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Halim D, dkk., 2010).

GROWTH FACTOR	CELL SOURCE	FUNCTION	Type of Wound	
			ACUTE	CHRONIC
PDGF	Platelets, macrophages, endothelial cells, keratinocytes, fibroblasts	Inflammation; granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for PMNs, macrophages, fibroblasts, and smooth muscle cells, activates PMNs, macrophages and fibroblasts; mitogenic for fibroblasts, endothelial cells; stimulates production of MMPs, fibronectin, and HA; stimulates angiogenesis and wound contraction	Increased levels	Decreased levels
TGF- β (including isoforms β_1 , β_2 , and β_3)	Platelets, T lymphocytes, macrophages, endothelial cells, keratinocytes, fibroblasts	Inflammation; granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for PMNs, macrophages, lymphocytes, fibroblasts; stimulates TIMP synthesis, keratinocyte migration, angiogenesis, and fibroplasia; inhibits production of MMPs and keratinocyte proliferation; induces TGF- β production	Increased levels	Decreased levels
EGF	Platelets, macrophages, fibroblasts	Mitogenic for keratinocytes and fibroblasts; stimulates keratinocyte migration	Increased levels	Decreased levels
FGF-1 and FGF-2 family	Macrophages, mast cells, T lymphocytes, endothelial cells, fibroblasts, keratinocytes, smooth muscle cells, chondrocytes	Granulation tissue formation; reepithelialization; matrix formation and remodeling; chemotactic for fibroblasts, mitogenic for fibroblasts and keratinocytes; stimulates keratinocyte migration; angiogenesis; wound contraction and matrix deposition	Increased levels	Decreased levels
KGF (also called FGF-7)	Fibroblasts, keratinocytes, smooth muscle cells, chondrocytes, endothelial cells, mast cells	Stimulate proliferation and migration of keratinocytes, increase transcription of factors involved in detoxification of ROS, potent mitogen for vascular endothelial cells; upregulates VEGF, stimulates endothelial cell production of UPA	Increased levels	Decreased levels
VEGF	Keratinocytes, platelets, PMNs, macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells, fibroblasts	Granulation tissue formation; increases vasopermeability; mitogenic for endothelial cells	Increased levels	Decreased levels
TGF- α	Macrophages, T lymphocytes, keratinocytes, platelets, fibroblasts, lymphocytes	Reepithelialization; increase keratinocyte migration and proliferation		
IGF-1	Macrophages, fibroblasts	Stimulates elastin production and collagen synthesis, fibroblast proliferation		

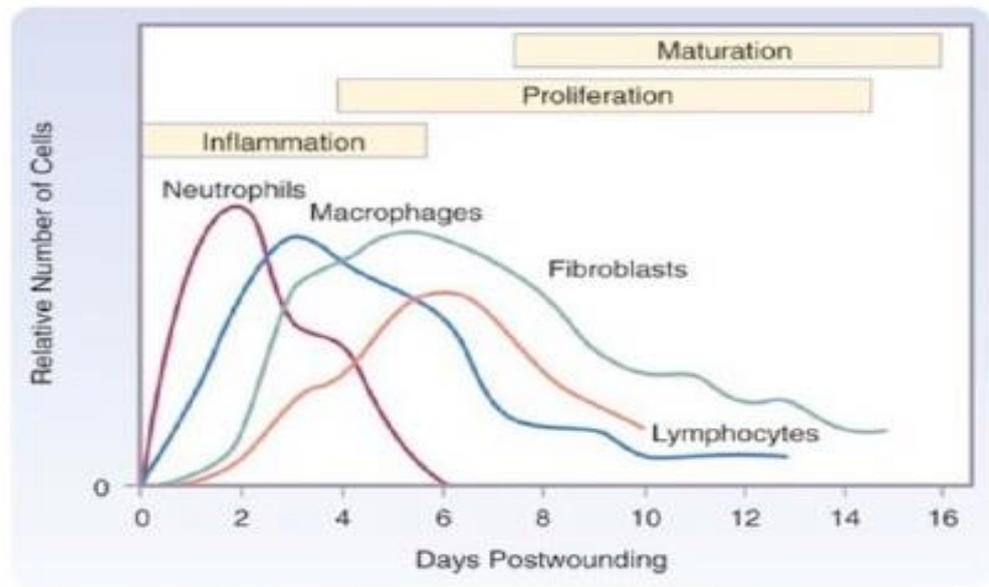
Tabel 2.3 Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka. HA: Hyaluronic acid

Sumber: Schwartz SI (ed),2008.

➤ **Fase Remodeling**

Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Saat luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang lama dan hubungannya yang jelas sangat tampak, fase ini masih jauh dari pemahaman tentang penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses pematangan berupa edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Herndon D., 2005; Moenadjat Y, dkk., 2011).

Pada manusia, remodeling ditandai oleh dua proses yaitu kontraksi luka dan remodeling kolagen. Proses kontraksi luka dihasilkan oleh miofibroblast, yang mana fibroblast dengan intraseluler aktin mikrofilamen mampu mendorong pembentukan dan kontraksi matriks. Miofibroblast menghubungkan luka melalui interaksi spesifik secara utuh dengan matriks kolagen. Beberapa growth factor yang menstimulasi sintesis kolagen dan molekul jaringan ikat yang lain juga merangsang sintesis dan aktivasi dari metalloproteinase, enzim yang mendegradasi komponen ECM ini. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015).



Gambar 2.3 Hubungan waktu munculnya berbagai sel pada proses penyembuhan luka (Witte M.B. & Barbul A., 1997)

2.2 Kolagen

2.2.1 Sintesis Kolagen

Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler dan merupakan protein yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh manusia. Kolagen tersusun atas triple helix dari tiga rantai α polipeptida. Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada setiap tahap proses penyembuhan luka.

Sintesis kolagen secara berurutan meliputi kombinasi dari asam amino ke bentuk rantai yang bergabung membentuk molekul, dan kemudian bergabung untuk membentuk fibril-fibril yang menyatu kedalam bundle. Fibroblast merupakan tipe sel utama untuk sintesis kolagen. Tahap

pertama sintesis berada pada intraseluler, untuk menghasilkan molekul prokolagen dimana dalam keadaan aktif berada di ruang ekstraseluler. Sintesis di intraseluler terjadi di nukleus dimana gen-gen diaktifkan dan terjadi perubahan mRNA, khas untuk rantai polipeptida tunggal. mRNA masuk kedalam sitoplasma dan diubah pada ribosom dari retikulum endoplasma dan secara simultan terjadi sintesis rantai polipeptida triple. Tiga rantai α yang identik sebagai kolagen tipe III dan tiga rantai yang berbeda sebagai tipe I. Prokolagen selanjutnya meninggalkan sel, kemudian beberapa asam amino membelah secara enzimatik membentuk tropokolagen. Tropokolagen inilah yang secara definitif disebut molekul kolagen. Molekul-molekul ini secara spontan bersatu kedalam fibril-fibril yang selanjutnya mengalami cross-linking kebentuk yang lebih tebal atau bundle. Kolagen disintesis oleh fibroblast dan juga oleh chondroblast, osteoblast, otot polos, sel endotel dan sel epitel. Prolyl hydroxylase merupakan salah satu enzim yang membatasi sintesa kolagen. Substrat dan kofaktor seperti besi, α -ketoglutarat, asam askorbat, dan oksigen juga merupakan faktor yang penting yang menyertai proses ini. Kapan mulai dan berhentinya sintesis kolagen menjadi sesuatu hal yang masih secara aktif diteliti. Beberapa sinyal yang mempengaruhi sintesis kolagen diantaranya; faktor pertumbuhan, nutrisi, tekanan parsial oksigen dan konsentrasi laktat (Triyono B, Witjaksono, 2005).

Tipe	Panjang Serabut	Lokasi
Tipe I	300 nm	Semua jaringan konektif kecuali kartilago hialin dan membrana basalis
Tipe II	300 nm	Kartilago hialin
Tipe III	300 nm	Kulit, pembuluh darah
Tipe IV	390 nm	Membrana basalis
Tipe V	300 nm	Semua jaringan
Tipe VI	105 nm	Semua jaringan
Tipe VII	450 nm	<i>Dermal-epidermal junction</i>
Tipe VIII	150 nm	Membrana Descemet
Tipe IX	200 nm	Kartilago hialin
Tipe X	150 nm	Kartilago hipertrofik dan kartilago hialin
Tipe XI	-	Sebagian kecil kartilago
Tipe XII	-	Sebagian kecil tendon, berhubungan dengan tipe I
Tipe XIII	-	Jaringan endotelial
Tipe XIV	-	Kulit dan tendon <i>fetal</i>

Tabel 2.4 Tipe kolagen dan lokasinya

2.2.2 Peran Kolagen Dalam Penyembuhan Luka

Kolagen merupakan agent hemostatik yang sangat efisien, sebab trombosit melekat pada kolagen, membengkak dan melepaskan substansi yang memulai proses hemostasis. Kolagen tipe III dilaporkan lebih efektif dalam agregasi trombosit dibanding kolagen tipe I dan II. Interaksi kolagen-trombosit tergantung pada tingkat polimerisasi dari maturasi kolagen dan pengaruh positif pada molekul kolagen. Aglutinasi trombosit melengkapi kemampuan elektrostatis dari molekul kolagen. Struktur triple helix dari kolagen merupakan hal yang esensial untuk agregasi trombosit. Proline dan hidrosiproline memainkan peranan yang penting pada interaksi kolagen-trombosit.

Fibroblast merupakan komponen yang paling banyak pada jaringan granulasi. Sintesis dan deposit kolagen merupakan saat yang penting pada fase proliferasi dan penyembuhan luka secara umum. Kolagen disekresi ke ruang ekstraseluler dalam bentuk prokolagen. Bentuk ini kemudian

membelah diri pada segmen terminal dan disebut tropokolagen. Tropokolagen dapat bergabung dengan molekul tropokolagen lainnya membentuk filamen kolagen. Filamen – filamen ini kemudian bergabung membentuk fibril. Fibril-fibril kolagen ini selanjutnya bergabung membentuk serabut-serabut kolagen. Bentuk filamen, fibril, dan serabut terjadi di dalam matrik glikosaminoglikan, asam hialuronidase, chondroitin sulfat, dermatan sulfat dan heparin sulfat yang dihasilkan oleh fibroblast. Sintesa kolagen dimulai hari ke-3 setelah injuri dan berlangsung secara cepat sekitar minggu ke 2 – 4. Sintesis kolagen dikontrol oleh kolagenase dan faktor- faktor lain yang merusak kolagen sebagai kolagen yang baru.

Remodeling kolagen selama fase maturasi tergantung pada berlangsungnya sintesis kolagen dan adanya degradasi kolagen. Kolagenase dan metalloproteinase di dalam luka membuang kelebihan kolagen sementara sintesis kolagen yang baru tetap. Selama remodeling, kolagen menjadi lebih terorganisir. Fibronektin secara bertahap menghilang dan asam hialuronidase dan glikosaminoglikan diganti tempatnya oleh proteoglikan. Kolagen tipe III tempatnya digantikan oleh kolagen tipe I. Air diserap dari scar. Pada saat ini serabut-serabut kolagen menutup bersama, menyebabkan kolagen cross-linking dan akhirnya mengurangi ketebalan scar. Kolagen intermolekul dan intramolekul cross-link menghasilkan peningkatan kekuatan luka (Mathew R et al; 1999).

2.3 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP + SVF

2.3.1 Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet Rich Plasma (PRP) adalah suatu autologous dari trombosit manusia dalam volume yang kecil dalam plasma yang mengandung 1.000.000 trombosit/ μ l dengan volume 5 ml plasma. PRP mengandung faktor-faktor pertumbuhan, sitokin, dan faktor pembekuan dengan jumlah yang besar. Platelet pada PRP akan menginisiasi mediator inflamasi 10 menit setelah terbentuk bekuan, setelah 1 jam >95% faktor pertumbuhan dihasilkan. PRP tetap stabil, tanpa mengurangi efektifitasnya 8 jam setelah persiapan. PRP mengandung mediator yang berbeda-beda, namun TGF- β dan PDGF merupakan faktor pertumbuhan utama pada PRP, yang terlibat dalam berbagai tahap penyembuhan dengan memicu perkembangan dan diferensiasi sel. Studi *in vivo* dan *in vitro* sebelumnya menunjukkan bahwa sel-sel yang berperan pada penyembuhan luka dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan. Fibroplastin diketahui sensitive terhadap PDGFa, PDGFb, IGF, bFGF, dan EGF. EGF sebagai kemotaktik untuk fibroblast dan jika diaplikasikan secara topikal, dapat meningkatkan regenerasi dan kekuatan luka. Sel-sel endotel berespon terhadap VEGF dan bFGF, sementara VEGF, PDGF dan bFGF akan memicu proliferasi pembuluh darah. Migrasi dan proliferasi fibroblast diinduksi oleh PDGF. Selain itu PDGF juga merupakan faktor kemotaktik untuk neutrofil dan monosit serta meningkatkan deposisi kolagen. TGF- β berfungsi sebagai regulator diferensiasi sel, proliferasi,

kemotaksis dan sintesis protein matriks ekstraseluler. Efek ini meningkatkan sintesis kolagen, jaringan granulasi dan kekuatan regangan luka. Selain itu TGF- β juga menginduksi sintesis kolagen dan mempercepat pematangan kolagen pada tahap awal penyembuhan luka (Ramadhan, E., 2018; Kim, Y., et al., 2014).

PRP juga dapat meningkatkan diferensiasi sel epitel dan kolagen. Pada pasien yang diterapi dengan PRP, fase inflamasi penyembuhan luka menjadi lebih pendek dan inflamasi terjadi lebih singkat. Sehingga mengurangi infeksi bakteri dan pembentukan skar. (Kim, Y., et al., 2014).

Darah terdiri dari 93% eritrosit, 6% leukosit, trombosit 1% dan plasma. Trombosit paling dikenal karena fungsi pembekuan darah untuk menghentikan perdarahan. Trombosit memiliki peranan yang lebih penting daripada ini, karena trombosit manusia juga merupakan komponen penting dalam penyembuhan cedera. Trombosit secara alami sangat kaya akan faktor pertumbuhan untuk penyembuhan luka. Respon tubuh pertama terhadap cedera jaringan adalah mengantarkan trombosit ke daerah tersebut. Trombosit memulai perbaikan dan menarik sel punca pada luka. Menyuntikkan faktor pertumbuhan ini ke dalam ligamen, tendon, sendi dan spinal yang rusak akan merangsang proses perbaikan alami. Untuk memaksimalkan proses penyembuhan, platelet harus terkonsentrasi dan terpisah dari sel darah merah. Tujuan PRP adalah untuk memaksimalkan jumlah trombosit sambil meminimalkan jumlah

sel darah merah dalam larutan yang disuntikkan ke daerah yang terluka atau sakit. Singkatnya, PRP menciptakan, merangsang, dan mempercepat proses penyembuhan alami tubuh. (Bakacak, M., 2015; Nikolidakis, D., 2008; Kim Yeol et al., 2014; Raposio E, et al., 2016)

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

Penggunaan PRP kini telah makin meluas di bidang kedokteran lainnya, misalnya untuk terapi pada kebotakan alopesia, peremajaan kulit, penyembuhan luka, perbaikan lubang-lubang bekas jerawat serta menghaluskan garis-garis pada kulit akibat kehamilan. Data klinis dan riset yang ada menunjukkan bahwa penggunaan terapi ini sangat aman, memiliki resiko minimal akan terjadinya efek samping, alergi, maupun reaksi penolakan karena diambil dari darah pasien sendiri (autologue) (Rigotti G, Marchi A., 2009; Kim Yeol et al., 2014).

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

Manfaat PRP pada luka bakar belum pasti karena terbatasnya uji klinis PRP pada kasus luka bakar. Pembuatan PRP biasanya dilakukan sebelum operasi atau tindakan medis lain, tetapi hal tersebut sulit dilakukan pada pasien luka bakar, mengingat kondisi hemodinamik yang mungkin terganggu. PRP hanya meningkatkan persentase relatif trombosit dalam plasma, sedangkan jumlah absolut trombosit dalam plasma pasien luka bakar mungkin jauh lebih rendah, sehingga efektivitas PRP pada pasien luka bakar tidak dapat disamakan dengan pasien lain. Meskipun demikian, terdapat beberapa laporan mengenai

efektivitas PRP untuk luka bakar. Melaporkan bahwa pemberian PRP pada 10 pasien dengan luka bakar pada mata mempercepat re-epitelisasi pada kelopak mata dan kornea (Kim Yeol et al., 2014; Raposio E, et al., 2016; Rigotti G, Marchi A., 2009).

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

2.3.2 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)

Stromal vascular fraction cell (SVFs) berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVFs diperoleh melalui sedot lemak dan mengandung beberapa jenis sel, termasuk sel induk yang diturunkan dari adiposa derivate stem cell (ASCs), sel mesenchymal dan sel progenitor endotel, subtipe 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. (Josh, F. et al, 2012; Comella,

K., 2017; Darinkas A., 2017; Bourin P., 2013; Choi, J., 2012; Zuk PA., 2012; Han J., 2010)

Persepsi tentang jaringan adiposa sebagai organ telah berubah dalam 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 (Josh, F. et al, 2012; Comella, K. et al, 2017; Bourin, P. et al., 2013).

Setelah netralisasi enzim, unsur yang dilepaskan didefinisikan sebagai SVFs, dipisahkan dari adiposit matang dengan sentrifugasi. SVFs terdiri dari populasi sel mesenkim heterogen yang tidak hanya mencakup sel stroma dan sel hematopoietik serta sel progenitor adiposa tetapi juga sel endotel, eritrosit, fibroblast, limfosit, monosit dan pericytes. Ketika SVFs ditumbuhkan ke dalam kultur, sebagian sel mulai menempel pada plastik kultur jaringan. Sel-sel ini dapat dimurnikan lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi langkah pencucian dan ekspansi kultur dengan media yang serupa dengan yang digunakan untuk MSC sumsum tulang

untuk menghabiskan sebagian besar populasi sel hematopoietik dari SVFs. Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang sejenis disebut ASCs. ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts (Josh F, et al., 2012; Ferraro G, Mizuno H., 2016)

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

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

ini, penggunaan fraksinasi vaskular stroma untuk mengobati luka akibat luka bakar diselidiki. Uji *in vivo* dan *in vitro* digunakan untuk mengkonfirmasi keefektifan sel stroma dalam penyembuhan luka bakar (Halim D, dkk., 2010; Baglioni S, dkk. 2009).

2.3.3 Vaseline

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

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

2.3.4 Kombinasi PRP dan SVFs

PRP merangsang proliferasi ASCs, hal ini ditunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada banyak faktor pertumbuhan penting yang diturunkan dari trombosit yang dapat merangsang proliferasi sel induk (Van Pham, P., dkk. 2013).

PRP tidak hanya merangsang proliferasi ASCs tetapi juga menjaga potensi diferensiasi ASCs secara *in vitro* seperti diferensiasi sel-sel chondrogenic. ASCs yang dikombinasi PRP didapatkan peningkatan ekspresi gen terkait chondrogenesis *Col-II*, *SOX-9* dan *Aggrecan* (Van Pham, P., dkk. 2013; Zhang YS., dkk. 2011; Li H., dkk.2009).

Penelitian yang dilakukan oleh Tajima dkk, menunjukkan bahwa kombinasi dari ASCs/ SVFs dan PRP efektif untuk regenerasi tulang, dimana konsentrasi faktor pertumbuhan (IGF-1, TGF- β , HGF dan VEGF) yang dikeluarkan oleh ASCs secara signifikan meningkat dengan penambahan PRP, sehingga beberapa ASCs langsung berdiferensiasi menjadi osteoblas *in vivo*. Selain itu kombinasi ASCs/ SVFs dengan PRP juga berkontribusi dalam regenerasi tulang menjadi lebih tebal sesuai dengan area yang kosong dan akan terhubung dengan tulang asli (Tajima, S. et al., 2014).

Beberapa studi telah meneliti profil sekresi dari ASCs/ SVFs. Dimana ASCs mensekresi sitokin angiogenik (VEGF dan HGF) secara *in vitro* dan *in vivo*, yang meningkatkan neovaskularisasi (angiogenesis)

serta mempercepat penyembuhan luka jaringan. Luo, dkk juga melaporkan bahwa ASCs melindungi jaringan dari apoptosis pada regenerasi saraf karena ketergantungan pada TGF- β 1 serta dapat mengurangi peradangan dan meningkatkan VEGF untuk angiogenesis. Banyak faktor pertumbuhan yang dikeluarkan oleh ASCs berfungsi dalam mekanisme perlindungan terhadap kematian sel dan menginduksi migrasi serta proliferasi sel. Namun dilaporkan pula bahwa ASCs hanya melepas sejumlah kecil PDGF, salah satu faktor pertumbuhan yang paling penting untuk pembentukan tulang. Oleh karena itu, transplantasi ASCs secara sendiri saja tidak menguntungkan bagi rekayasa jaringan tulang, sehingga pencampuran ASCs dan PRP merupakan kombinasi yang lebih berguna. Selain itu Tajima, dkk menunjukkan pula bahwa konsentrasi TGF- β 1, VEGF, IGF-1 dan HGF secara signifikan lebih tinggi pada ASCs yang mengandung 5% PRP daripada yang berisi 10% FBS (Fetal Bovine Serum), dimana hal ini menunjukkan bahwa PRP dapat menginduksi pelepasan faktor pertumbuhan dari ASCs (Tajima, S. et al., 2014).

Sel punca dan serum yang dipergunakan pada penelitian ini adalah PRP dan SVFs yang diisolasi dari darah dan lemak tikus wistar (*Rattus norvegicus*) pada usia + 10 minggu. Diproduksi oleh HUM-RC RSPTN Universitas Hasanuddin, Makassar. SOP sesuai dengan ketentuan dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB III

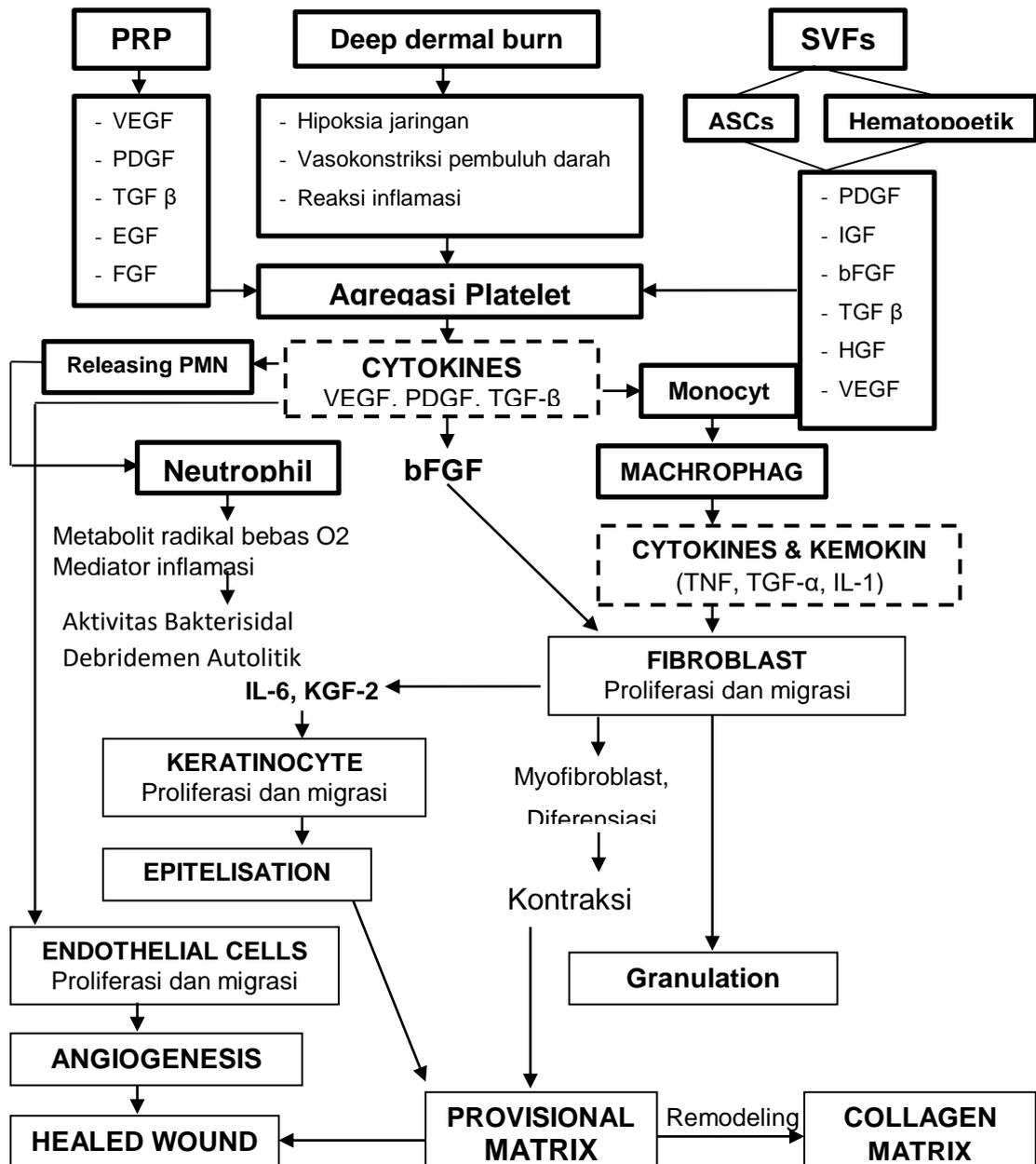
KERANGKA PENELITIAN

Pada luka bakar deep dermal terjadi hipoksia jaringan yang akan memicu terjadinya vasokonstriksi pembuluh darah dan reaksi inflamasi. Selanjutnya terbentuk formasi trombin dan agregasi platelet pada endotel. Trombosit akan teraktifasi oleh trombin untuk melepaskan beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin yang akan membentuk sebuah plak hemostatik. PRP dan SVFs akan bekerja pada tahap ini (Park J.W. et al., 2017). Setelah terjadi pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan, maka selanjutnya akan berlangsung proses sebagai berikut :

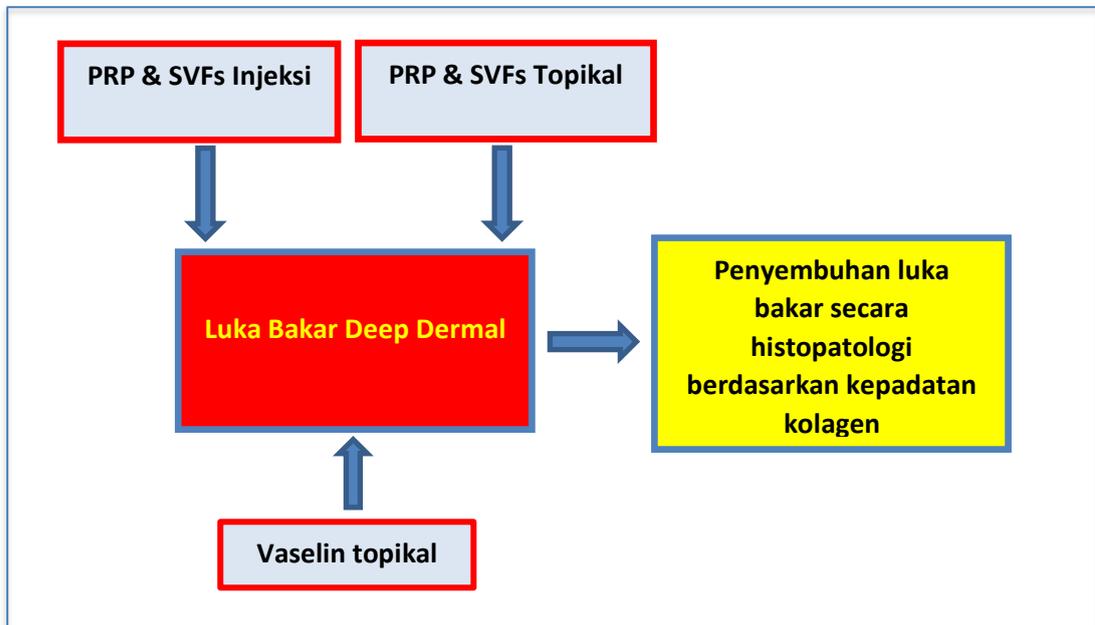
1. Pelepasan PMN terutama netrofil yang merupakan respon awal dari proses inflamasi. Selanjutnya akan mengaktifasi proliferasi dan migrasi sel endotel. Kemudian melalui serangkaian proses yang kompleks maka akan terjadi angiogenesis, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru yang sangat penting dalam proses penyembuhan luka. Angiogenesis ini dapat kita monitoring, salah satunya dengan mengetahui densitas kapiler pada proses penyembuhan luka. Hal inilah yang menjadi fokus utama dalam penelitian ini.
2. Sitokin dan faktor pertumbuhan akan mengakibatkan pelepasan monosit ke dalam sirkulasi sistemik, yang selanjutnya menjadi makrofag. Makrofag ini akan berperan dalam proliferasi dan migrasi fibroblast yang akan menimbulkan granulasi jaringan serta proliferasi dan migrasi

keratinosit yang penting dalam proses epitelisasi. Kedua proses ini memainkan peranan penting dalam pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka, khususnya pada fase remodeling.

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



Luka bakar deep-dermal pada kulit tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dilakukan perawatan dengan pemberian Vaseline secara topikal. Kemudian dibandingkan dengan pemberian PRP & SVFs injeksi lokal serta dibandingkan juga dengan PRP & SVFs yang diberikan secara topikal. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan mikroskop, untuk mengetahui tingkat kepadatan kolagen pada hari 1, 4, 7, 10 dan 14 secara berurutan.

3.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas / Independent

- Kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal
- Kombinasi PRP + SVFs topikal
- Vaseline topikal

2. Variabel Terikat / Dependent

- Penyembuhan luka bakar *deep dermal*

3. Variabel Antara

- Kepadatan kolagen

3.4 Hipotesis

- Terdapat perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka bakar pada penggunaan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dibandingkan dengan perawatan konvensional menggunakan vaselin.
- Terdapat perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka bakar pada penggunaan kombinasi PRP + SVFs topikal dibandingkan dengan perawatan konservatif menggunakan vaselin.
- Terdapat perbedaan tingkat kepadatan kolagen dalam penyembuhan luka bakar pada penggunaan kombinasi PRP + SVFs injeksi lokal dibandingkan dengan kombinasi PRP + SVFs topikal.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Luka bakar *deep dermal* adalah luka bakar yang mencapai lapisan dermis dalam. Secara klinis masih memungkinkan terdapat bula, tapi dasar bula menunjukkan bagian dermis yang dalam dan bagian retikuler dermis menunjukkan warna merah berbintik, karena terjadi ekstrasvasasi hemoglobin. Terjadi kerusakan pleksus vaskular dermal yang ditandai dengan fenomena hilangnya capillary refill, sehingga

sensasi nyeri menghilang. Penyembuhan secara spontan tidak terjadi dan akan sembuh dalam jangka waktu lama dengan meninggalkan jaringan parut/ scar.

3.5.2 *Platelet Rich Plasma* (PRP) merupakan suatu produk darah yang berfungsi mempercepat regenerasi endotelial, epitelial dan epidermal, menstimuli angiogenesis, merangsang sintesis kolagen, mempercepat penyembuhan jaringan lunak, menurunkan jaringan parut pada kulit, mempercepat respon homeostasis pada cedera, dan melawan efek penghambatan penyembuhan luka.

3.5.3 *Stromal Vascular Fraction cell* (SVFs) merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak, yang mengandung Adipose derived Stem Cells (ASCs). SVFs memperbaiki penyembuhan luka bakar melalui peningkatan proliferasi sel dan vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblast.

3.5.4 Kepadatan kolagen adalah gambaran ketebalan serabut berwarna biru dengan pengecatan *masson's trichorm*, pada saat dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop Olympus seri EX51 dengan pembesaran 100 x pada satu lapang pandang. Kemudian gambar histopatologi di foto menggunakan kamera OLYMPUS DP-21. Lokasi pengamatan kolagen adalah di daerah bekas luka bakar, selanjutnya ketebalan kolagen diinterpretasikan secara semikuantitatif dengan melihat kepadatannya dengan parameter skoring:

+0 = Tidak ditemukan adanya serabut kolagen pada daerah luka.

+1 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rendah.

+2 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sedang.

+3 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rapat.

+4 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sangat rapat.