

KARYA AKHIR

**PERBANDINGAN KADAR SERUM EGF DAN FGF DENGAN HASIL
HISTOPATOLOGI EPITELISASI DAN FIBROBLAST TERHADAP
AKSELERASI PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP
DERMAL DENGAN PENGGUNAAN KOMBINASI PRP
DAN SVF_s PADA MODEL TIKUS WISTAR**

*COMPARISON OF SERUM LEVELS OF EGF AND FGF WITH THE
RESULTS OF EPITELISATION AND FIBROBLAST HISTOPATHOLOGY
ON THE ACCELERATION OF DEEP DERMAL BURN INJURY HEALING
PROCESS USING PRP AND SVF_s COMBINATION IN WISTAR RATS
MODEL*

ANDI FATMAWATI MAHIR

C045182006



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)

PROGRAM STUDI ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023



KARYA AKHIR

**PERBANDINGAN KADAR SERUM EGF DAN FGF DENGAN HASIL
HISTOPATOLOGI EPITELISASI DAN FIBROBLAST TERHADAP
AKSELERASI PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP
DERMAL DENGAN PENGGUNAAN KOMBINASI PRP
DAN SVF_s PADA MODEL TIKUS WISTAR**

***COMPARISON OF SERUM LEVELS OF EGF AND FGF WITH THE
RESULTS OF EPITELISATION AND FIBROBLAST HISTOPATHOLOGY
ON THE ACCELERATION OF DEEP DERMAL BURN INJURY HEALING
PROCESS USING PRP AND SVF_s COMBINATION IN WISTAR RATS
MODEL***

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

Disusun dan diajukan oleh

ANDI FATMAWATI MAHIR

C045182006

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)

PROGRAM STUDI ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023



LEMBAR PENGESAHAN

**PERBANDINGAN KADAR SERUM EGF DAN FGF DENGAN HASIL
HISTOPATOLOGI EPITELISASI DAN FIBROBLAST TERHADAP AKSELERASI
PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL DENGAN PENGGUNAAN
KOMBINASI PRP DAN SVFs PADA MODEL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh :

ANDI FATMAWATI MAHIR

Nomor Pokok : C045182006

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 21 Agustus 2023
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Anggota



Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM
NIP: 19830727 200912 1 005

Ketua Program Studi



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

Dekan Fakultas Kedokteran



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



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : ANDI FATMAWATI MAHIR

Nomor Induk Mahasiswa : C045182006

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, 21 Agustus 2023

Yang Menyatakan



ANDI FATMAWATI MAHIR



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas 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. 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(K) dan Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM 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. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Dr. dr. A. Muh. Takdir Musba, Sp.An, KMN-FIPM selaku Kepala Pusat Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Unhas; serta Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Sc, Sp.PD-KGH, Sp.GK, FINASIM sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. dr. Prihantono, Sp.B, Subsp.Onk(K), M.Kes selaku Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, Sp.B, Sp.BP-RE(K) sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Warsinggih Sp.B, Subsp.BD(K) saat menjabat sebagai Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, dr. Mulawardi, SpB, Subsp.BVE(K) selaku Penasehat Akademik saya serta seluruh Guru Besar

Pengajar Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin yang dengan andidik, membimbing serta menanamkan ilmu, keterampilan, rasa percaya profesionalisme dalam diri saya sejak mulai pendidikan ini. Saya tidak



lupa mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin yang selalu menyemangati tanpa henti selama masa pendidikan saya.

Terima kasih para sejawat Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga karya akhir ini terselesaikan. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada saudara seperjuangan Residen Bedah Periode 1 Januari 2019, Assassin 119, yang tanpa henti memotivasi dan mengingatkan untuk pantang menyerah dalam menyusun dan menyelesaikan karya akhir ini.

Ungkapan istimewa saya haturkan kepada orangtua saya Drs. A.Mahir dan Pancawati, adik saya A. Muh. Ilham M.,ST yang senantiasa mendoakan, memberikan motivasi untuk menyelesaikan karya akhir ini. Terima kasih untuk teman-teman terbaik saya yang selalu memotivasi dan membantu menyelesaikan karya akhir ini. Terima kasih juga saya sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya akhir ini namun tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Sebagai penutup, penulis selalu mendoakan semoga Allah SWT melimpahkan karunia dan kemurahan-Nya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

Makassar, Agustus 2023

Andi Fatmawati Mahir



ABSTRAK

ANDI FATMAWATI MAHIR. *Perbandingan Kadar Serum EGF dan FGF dengan Hasil Histopatologi Epitelisasi dan Fibroblast terhadap Akselerasi Proses Penyembuhan Luka Bakar Deep Dermal dengan Penggunaan Kombinasi PRP dan SVFs pada Model Tikus Wistar* (dibimbing oleh Sachraswaty R. Laidding dan Andi Alfian Zainuddin).

Luka bakar menyebabkan jumlah kematian tahunan yang signifikan di Indonesia. *Platelet-rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction* (SVF) merupakan salah satu modalitas penanganan terkait dengan sel punca untuk penyembuhan luka bakar dermal dalam yang menggunakan faktor-faktor pertumbuhan seperti *epidermal growth factor* (EGF) dan *basic fibroblast growth factor* (FGF). Penelitian ini bertujuan menilai hubungan antara kadar EGF dan FGF dalam serum serta dampaknya pada reepitelisasi dan histopatologi fibroblas selama penyembuhan luka bakar dermal dalam menggunakan PRP dan SVF. Studi ini dilaksanakan selama enam bulan di Laboratorium HUM-RC Universitas Hasanuddin dan melibatkan 64 model tikus Wistar yang dikelompokkan menjadi grup PRP+SVF injeksi (grup A), grup PRP+SVF topikal (grup B), grup vaselin topikal (grup C), dan grup kontrol (grup D). Perlakuan dinilai pada hari 1, 4, 7, 10, dan 14 pascaperlakuan untuk grup perlakuan, sementara grup kontrol dinilai pada hari 0. Analisis statistik menggunakan SPSS 22. Grup A menunjukkan kadar FGF dan EGF tertinggi (6,62 dan 8,10 ng/ml, masing-masing), diikuti dengan erat oleh grup B (6,40 dan 7,09 ng/ml). Grup C memiliki kadar FGF lebih rendah daripada grup D dan kadar EGF yang serupa. Grup PRP+SVF injeksi menampilkan reepitelisasi yang lebih cepat dan proliferasi fibroblas yang lebih tinggi. Injeksi PRP+SVF lebih unggul dibandingkan dengan aplikasi topikal PRP+SVF dan vaselin dengan meningkatkan reepitelisasi dengan kadar EGF yang lebih tinggi. Meskipun injeksi PRP dan SVF menunjukkan penyembuhan yang sebanding dengan aplikasi topikal, perbedaan yang signifikan muncul dari aplikasi vaselin dalam proliferasi selama pemulihan luka bakar dermal dalam.

Kata kunci: faktor pertumbuhan, histopatologi, luka bakar, sel punca



ABSTRACT

ANDI FATMAWATI MAHIR. *Comparison of Serum Levels of EGF and FGF with the Results of Epitelisation and Fibroblast Histopathology on the Acceleration of Deep Dermal Burn Injury Healing Process Using PRP and SVFS Combination in Wistar Rats Model* (supervised Sachraswaty R.Laidding and Andi Alfian Zainuddin)

Burn injuries in Indonesia cause a significant number of annual fatalities. Platelet-rich plasma (PRP) and stromal vascular fraction (SVF) is one of the stem-cell related treatment modalities for deep dermal burn wound healing that utilize growth factors like epidermal growth factor (EGF) and basic fibroblast growth factor (FGF). This study aims to assess the relationship between serum EGF and FGF levels and their impact on re-epithelialization and fibroblast histopathology during deep dermal burn wound healing using PRP and SVF. Conducted over six months at Hasanuddin University's HUM-RC Laboratory, the experiment involved 64 Wistar rat models categorized into PRP+SVFS injection (Group A), topical PRP+SVFS application (Group B), topical vaseline application (Group C), and a control group (Group D). Treatments were evaluated on days 1, 4, 7, 10, and 14 of post-treatment for the treatment groups, while control group was assessed on day 0. Statistical analysis employed SPSS 22. The results show group A exhibits the highest FGF and EGF levels (6.62 and 8.10 ng/ml, respectively), closely followed by Group B (6.40 and 7.09 ng/ml). Group C has lower FGF level than Group D and similar EGF level. The PRP+SVFS injection group displays faster re-epithelialization and fibroblast proliferation. PRP+SVFS injection outperforms topical application and vaseline, enhancing re-epithelialization with higher EGF level. Although PRP and SVFs injections show comparable healing to topical application, differences arise from vaseline in proliferation during deep dermal burn wound recovery.

Keyword: burn injury, growth factors, histopathology, stem cell



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GRAFIK.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka.....	7
2.1.1 Definisi Luka bakar	7
2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar	8
2.1.3 Penyembuhan Luka.....	12
2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP dan SVFs	21
2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP).....	21
2.2.2 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)	24
2.2.3 Vaseline	26
2.2.4 Kombinasi PRP dan SVFs	27



2.3	Sel Punca (<i>Stem Cell</i>)	27
2.4	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i> (FGF2)	32
2.4.1	Definisi.....	32
2.4.2	Klasifikasi	32
2.4.3	Mekanisme Kerja.....	33
2.4.4	Ekspresi dan Aktifitas Biologis	35
2.5	Epidermal Growth Factor (EGF).....	39
2.5.1	Definisi.....	39
2.5.2	Klasifikasi	39
2.5.3	Mekanisme Kerja.....	39
2.5.4	Ekspresi dan Aktifitas Biologis	39
2.6	Kerangka Teori.....	41
2.7	Kerangka Konsep	44
2.8	Hipotesis Penelitian	44
BAB III METODE PENELITIAN.....		45
3.1	Desain Penelitian	45
3.2	Lokasi dan Waktu.....	45
3.3	Populasi dan Sampel	45
3.3.1	Metode Penarikan Sampel	45
3.3.2	Jalannya Penelitian	47
3.3.3	Preparasi Platelet Rich Plasma (PRP).....	47
3.3.4	Preparasi SVFs.....	48
3.3.5	Preparasi PRP + SVFs	48
3.3.6	Vaselin.....	48
3.3.7	Pemodelan luka bakar deep dermal pada tikus wistar.....	49
3.3.8	Cara Pemberian Injeksi Stemcell, Topikal Stemcell dan Vaselin	49
3.3.9	Cara <i>Sacrifice</i>	50
3.3.10	Blok Parafin	50
	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	51
	1 Kriteria Inklusi	51
	2 Kriteria Eksklusi.....	51



3.5	Definisi Operasional.....	51
3.5.1	Luka bakar <i>deep dermal</i>	51
3.5.2	<i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP).....	51
3.6	Instrumen Pengumpul Data	53
3.6.1	Pemilihan Alat dan Bahan Perangkat operasi minor :.....	53
3.6.2	Preparasi Stromal vascular fraction cell (SVFs).....	54
3.6.3	Bahan dan alat untuk pemeriksaan histologi	54
3.6.4	Bahan dan Alat untuk pemeriksaan ELISA	54
3.7	Metode Pemeriksaan	55
3.7.1	Cara pemeriksaan jaringan histologi.....	55
3.7.2	Prosedur Pemeriksaan ELISA	55
3.8	Alur Penelitian.....	58
3.8	Analisis Data	59
BAB V HASIL PENELITIAN.....		62
5.1.	Analisis Univariat	62
5.2.	Analisis Bivariat FGF dan EGF	64
5.2.1.	Keseluruhan kelompok perlakuan	65
5.2.2.	Kelompok A (Injeksi Stem Cell & Luka Bakar) dibandingkan dengan Kelompok D (Kontrol Negatif).....	67
5.2.3.	Kelompok B (Topikal Stem Cell & Luka Bakar) dibandingkan dengan Kelompok D (kontrol negatif)	68
5.2.4.	Kelompok C (Topikal Vaseline & Luka Bakar) dibandingkan dengan Kelompok D (kontrol negatif)	69
5.2.5.	Kelompok A (Injeksi Stem Cell) dibandingkan dengan kelompok B (Topikal Stem Cell).	70
5.2.6.	Kelompok A (Injeksi Stem Cell) dibandingkan dengan kelompok C (Vaselin Topikal).	72
5.2.7.	Kelompok B (Topikal Stem Cell) dibandingkan dengan Kelompok C (Vaseline Topikal)	73
	Analisis Re-Epitolisasi Luka Bakar	74



5.3.1 Perbandingan Proses Re-Epitelisasi pada Perlakuan PRP + SVFs Injeksi dan PRP + SVFs Topikal berdasarkan Lama Perlakuan.....	75
5.3.2 Perbandingan Proses Re-Epitelisasi pada Perlakuan PRP + SVFs Injeksi dan Vaseline Topikal berdasarkan Lama Perlakuan.....	77
5.3.3 Perbandingan Proses Re-Epitelisasi dengan Perlakuan PRP + SVFs Topikal dengan Perlakuan Vaseline Topikal dan Lama Perlakuan.....	79
5.3.4 Perbandingan Proses Re-Epitelisasi pada ketiga kelompok dan Lama Perlakuan	81
5.3.5 Perbandingan Proses proliferasi fibroplast antara Perlakuan PRP + SVFs injeksi, PRP + SVFs Topikal dan Perlakuan Vaseline Topikal dan Lama Perlakuan	84
5.4. Hubungan kadar FGF dan EGF terhadap epitelisasi dan fibroblast.....	87
5.4.1. Kelompok perlakuan A (Injeksi Stem Cell)	88
5.4.2. Kelompok perlakuan B (Topikal Stem Cell).....	89
5.4.3. <i>Kelompok perlakuan C (Topikal Vaseline)</i>	90
BAB VI PEMBAHASAN.....	91
6.1. Kadar FGF2	91
6.2. Kadar EGF.....	93
6.3. Epitelisasi	94
6.4. Pola Jumlah sel Fibroblas.....	96
6.5. Pengaruh Pemberian Terapi <i>Stem Cell</i> (PRP dan SVFs) terhadap Luka Bakar.	97
6.6. Pengaruh Pemberian Terapi Vaseline terhadap Luka Bakar.....	98
6.7. Perbedaan Efektivitas Pemberian Terapi <i>Stem Cell</i> (PRP dan SVFs) terhadap Luka Bakar secara injeksi dan topikal	99
6.8. Perbandingan Proses Re-Epitelisasi pada ketiga kelompok dan Lama Perlakuan	101
6.9. Hubungan Pertumbuhan Epitel, kadar FGF, dan Kelompok Perlakuan Hubungan Pertumbuhan Epitel, kadar EGF, dan Kelompok Perlakuan	104 107
Kelebihan dan Keterbatasan Penelitian	109



BAB VII KESIMPULAN	111
DAFTAR PUSTAKA	112
LAMPIRAN	112



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Diagnosis Kedalaman Luka Bakar (ANZBA, 2016)	11
Tabel 2.2.	Fungsi fibroblast growth factors (FGF) (Yun et al.,2010).....	38
Tabel 5.2. 2	Hasil uji t independen kadar FGF dan EGF setelah diberi perlakuan berupa pemberian injeksi stem cell	68
Tabel 5.2. 3	Hasil uji t-independen kadar FGF2 dan EGF setelah diberi perlakuan berupa pemberian topical stem cell.....	69
Tabel 5.2. 4	Hasil uji t-independen kadar FGF2 dan EGF setelah diberi perlakuan vaselin dibandingkan dengan kontrol negative	70
Tabel 5.2. 5	Hasil uji t-independen kadar FGF2 dan EGF pada kelompok A dan kelompok B	71
Tabel 5.2. 6	Hasil uji t-independen kadar FGF2 dan EGF pada kelompok A dan kelompok C	72
Tabel 5.2. 7	Hasil uji t independen kadar FGF2 dan EGF pada kelompok B dan kelompok C	74
Tabel 5.3. 1.	Perbandingan Sebaran proses keratinisasi antara kelompok pemberian injeksi PRP+SVFs dan Kelompok PRP + SVFs Topikal	75
Tabel 5.3. 2	Perbandingan Sebaran proses keratinisasi antara kelompok pemberian injeksi PRP+SVFs dan Kelompok Vaseline	78
Tabel 5.3. 3	Perbandingan Sebaran proses keratinisasi antara kelompok pemberian PRP + SVFs Topikal dan Kelompok Vaseline.....	80
Tabel 5.3. 4	Perbandingan Sebaran proses keratinisasi	82
Tabel 5.3. 5	Tabel uji post hoc perlakuan hari ke -14	84
Tabel 5.3. 6	Tabel Proses Proriferasi Fibroblast	85
Tabel 5.3. 7	Tabel uji post hoc perlakuan hari ke -14	86
Tabel 5.4. 1	Hasil uji korelasi Kendall's Tau-B untuk melihat hubungan kadar FGF2 dan EGF terhadap epitelisasi dan fibroplast	87



DAFTAR GRAFIK

Grafik 1 Kurva rata-rata kadar FGF	66
Grafik 2 Kurva rata-rata kadar EGF.....	66
Grafik 3 Perbandingan Sebaran proses Keratinisasi	83
Grafik 4. Perbandingan Sebaran proses fibroblast.....	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Kedalaman Luka Bakar	11
Gambar 2. 2	Tiga Fase Penyembuhan Luka, Waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu	13
Gambar 2. 3	Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka.....	15
Gambar 2. 4	Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka	18
Gambar 2. 5	Hubungan antara waktu munculnya sel yang berbeda-beda pada proses penyembuhan luka. Makrofag dan neutrofil yang dominan selama fase inflamasi (puncak masing-masing pada hari ke 3 dan 2). Limfosit muncul kemudian dan fase puncak pada hari ke 7. Fibroblast adalah sel dominan selama fase proliferaatif.	20
Gambar 2. 6	Jenis Sel Punca.	30
Gambar 2. 7	Aktivitas FGF dalam penyembuhan luka	38
Gambar 2. 8	Ligan EGF berikatan pada reseptor EGF dan jalur aktivasi-nya ...	40
Gambar 3. 1	Pengambilan sampel bentuk lingkaran (kiri atas) dan bentuk persegi (kiri atas) dengan jarak konstan, t, dan yang dibagi menjadi sembilan bagian (bawah).....	55
Gambar 6 1	Tahap penyembuhan luka dan molekul yang terlibat.....	93
Gambar 6 2	Pola jumlah sel Fibroblas temuan Kakudo dkk.....	96



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik	125
Lampiran 2. Biodata Penulis	126
Lampiran 3. Data Penelitian.....	127



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>
FGF2	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
eFGF	: <i>epidermal Fibroblast Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
DMEM	: <i>Dulbecco Modified Eagle Media</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

World Health Organization (WHO) mencatat, luka bakar menyebabkan sekitar 195.000 jiwa meninggal di Indonesia setiap tahun. Riset Kementerian Kesehatan tersebut juga menekankan anak-anak usia 1- 4 tahun menjadi kelompok umur yang paling rentan terkena luka bakar dengan tingkat prevalensi sampai 1,5 persen. Data riset kesehatan dasar Kementerian Kesehatan yang mencatat, luka bakar menempati urutan keenam penyebab cedera tidak disengaja (unintentional injury) dengan tingkat prevalensi 0,7 persen dari jumlah penduduk Indonesia.

Luka bakar didefinisikan sebagai kerusakan pada kulit dan jaringan di bawahnya yang disebabkan oleh panas, bahan kimia, atau listrik (Gillenwater and Garner, 2020). Luka bakar memberikan pengaruh hebat pada manusia, terutama dalam hal kehidupan manusia, penderitaan, cacat, dan kerugian finansial. Luka bakar dapat disebabkan oleh panas (api, cairan/lemak panas, dan uap panas), radiasi, listrik, kimia. Kerusakan dan perubahan berbagai sistem tubuh berkaitan dengan trauma luka bakar yang kadang sulit dipantau, sehingga permasalahannya sangat kompleks. Pengertian terhadap luka bakar, terapi sel, proses epitelisasi dan trombosit akan membantu dalam penanganannya.

Berbagai macam penelitian telah dan terus dilaksanakan untuk mengatasi dan mendapatkan metode yang terbaik dalam menangani masalah luka bakar dan bagaimana mendapatkan suatu metode yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar. Salah satunya adalah terapi sel (Ghieh et al., 2015). Sel punca merupakan sel primitif yang belum berdiferensiasi namun memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi mulai dari menjadi satu jenis sel (*unipoten*), atau menjadi beberapa jenis sel (*ipoten*) bahkan dapat menjadi berbagai jenis sel (*totipoten*).



Kemampuan ini lah yang dapat digunakan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak akibat penyakit atau trauma (Singh et al., 2016).

Salah satu Jaringan yang tersusun dari sel lemak, sel darah putih, sel endotel, dan fibroblast adalah jaringan adiposa yang berada di lapisan bawah kulit. Jaringan adiposa merupakan jaringan ikat penyokong yang didominasi oleh adiposit. Di dalam jaringan adiposa terdapat sel-sel stromavaskular termasuk sel-sel yang mirip dengan fibroblas, preadiposit, sel endotel pembuluh darah, makrofag, limfonodus, dan juga sel saraf. Jaringan adiposa visceral dan subkutan menunjukkan bahwa jaringan ini mengandung *progenitor cells* yang mampu membelah diri menjadi beberapa sel yang berbeda. Setelah jaringan adiposa ini disentrifugasi, didapatkan sel heterogen bernama *stromal vascular fraction* (SVFs) (Choi et al., 2012; Darinskas et al., 2017). SVFs adalah komponen lipoaspirat yang diperoleh dari *liposuction* jaringan lemak (Comella et al., 2017; Darinskas et al., 2017; Gentile et al., 2017).

Platelet-rich plasma (PRP) adalah trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, PRP berfungsi sebagai perekat jaringan fibrin dengan sifat hemostatik dan pengikatan jaringan, tetapi berbeda dari fibrin dan perekat jaringan trombosit lainnya karena trombositnya memberikan kemampuan unik untuk mendorong penyembuhan luka dan meningkatkan osteogenesis. Platelet-rich plasma (PRP) memiliki bermacam growth factors yang diperlukan dalam penyembuhan luka. Ketika trombosit pada Platelet-rich plasma (PRP) teraktivasi oleh trombin, trombosit melepaskan growth factors dan substansi lain yang berfungsi untuk mempercepat proses penyembuhan luka dengan meningkatkan proliferasi sel, pembentukan matriks, produksi osteoid, penyembuhan jaringan ikat, angiogenesis, dan sintesis kolagen. PRP yang berisi setidaknya enam faktor pertumbuhan yang utama, termasuk *platelet-derived growth factor* (PDGF), *basic fibroblast growth factor* (FGF2), *epidermal growth factor* (EGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *transforming growth factor- β* (TGF-



b) yang di lepaskan setelah aktivasi trombosit (Borrione et al., 2010; Choi et al., 2012; El-Sharkawy et al., 2007; Raposio et al., 2016)

Efek positif dari PRP dalam merangsang proses angiogenesis dan proliferasi *undifferentiated stem cells* telah ditunjukkan secara eksperimental (Eppley et al., 2006). Mekanisme perbaikan melalui epitelisasi, kontraksi dan pengendapan matriks (terutama kolagen). Deposisi kolagen baru pada tepi penutupan luka menyediakan kekuatan dan integritas. Penyembuhan luka *partial-thickness* disebabkan *epithelisasi*, sedangkan penyembuhan luka *full-thickness* terutama oleh kontraksi (dengan beberapa epitelisasi) (Nazzal et al., 2019).

FGF berfungsi untuk proliferasi sel, migrasi sel, diferensiasi sel, perkembangan sel, respon terhadap cedera, penyembuhan luka, dan tumorigenesis (Plichta and Radek, 2012). FGF diekspresikan dalam banyak jaringan dengan variabilitas pola yang signifikan dan waktu ekspresinya, yang telah terbukti menjadi penting selama perkembangan luka (Powers et al., 2000).

Sebagian besar anggota keluarga FGF memiliki spektrum mitogenik yang luas. Mereka merangsang proliferasi berbagai sel asal mesodermal, ectodermal, dan juga endodermal. Secara khusus, FGF1 dan FGF2 menunjukkan dapat merangsang angiogenesis dalam berbagai penelitian. Lebih lanjut, FGF2 bersifat mitogenik untuk beberapa tipe sel yang ada di lokasi luka, termasuk fibroblast dan keratinosit (Abraham and Klagsbrun, 1988; Werner and Grose, 2003).

Epidermal growth factor (EGF) adalah asam amino yang berperan penting dalam regulasi pertumbuhan sel, survival, migrasi, apoptosis, proliferasi, dan diferensiasi. EGF sangat penting dalam proses epitelisasi dalam penyembuhan luka karena menginduksi fibroblas untuk bermigrasi, bertumbuh dan mempercepat penyembuhan. EGF mempunyai kemampuan poten mitogenesis untuk sel epidermis, fibroblast dan sel vascular elial secara in vitro, yang mana ketiga sel tersebut terlibat pada mbuhan luka (Ju et al., 1993; Rohovsky and D'Amore, 1997). EGF



meningkatkan jumlah deposit ekstraseluler matriks pada jaringan subcutan pada luka di hewan coba dengan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler dan meningkatkan jumlah sel (Tarnuzzer et al., 1997). Sebagai tambahan, EGF juga telah terbukti di beberapa penelitian sebagai regulator intestinal dan faktor protektif mukosal yang membantu untuk melindungi integritas barrier intestinal, yang sangat esensial dalam absorpsi nutrisi, maturasi sel intestinal dan memelihara homeostasis sel intestinal. (Tang X et al, 2016)

Salah satu sumber EGF dan faktor pertumbuhan lainnya di beberapa penelitian saat ini dihubungkan dengan percobaan aplikasi berbagai macam bentuk terapi, yang terkenal saat ini adalah autologous platelet seperti Platelet Rich Plasma (PRP) dan penggunaan sel punca. (Chae et al. 2017) Oleh karena adanya peningkatan jumlah faktor pertumbuhan dan protein pada kombinasi antara PRP dan SVFs sehingga diharapkan lebih mempercepat penyembuhan luka bakar *deep dermal*. Hal ini lah yang mendasari penelitian sebelumnya untuk membandingkan tiga macam produk dari sel punca yaitu PRP, SVFs serta kombinasi antara PRP dan SVFs.

Pada penelitian awal tersebut dibandingkan efek injeksi intradermal antara kelompok PRP, kelompok SVFs, kelompok kombinasi PRP dan SVFs dan kelompok kontrol menggunakan yang perawatan luka bakar standar (vaselin). Kemudian di nilai secara mikroskopik dan makroskopis dimana hasilnya didapatkan bahwa kombinasi PRP dan SVFs memiliki laju percepatan penyembuhan yang paling tinggi.

Pada beberapa kasus, pemberian terapi dengan kombinasi PRP dan SVF sudah pernah dilakukan sebelumnya, utamanya dalam menangani berbagai jenis penyakit yang berhubungan dengan Kesehatan kulit. Berdasarkan penelitian-penelitian yang sebelumnya, belum pernah ada penelitian yang menilai kuantitas penyembuhan luka bakar secara mikroskopis tentang efek kombinasi terapi PRP dan SVF terhadap kadar protein EGF dan protein FGF dalam serum pada proses penyembuhan. Sehingga peneliti ik untuk meneliti apakah dengan pemberian PRP dan SVFs baik kan secara topikal maupun suntikan lebih baik dalam meningkatkan



kadar protein EGF dan kadar protein FGF dari dibandingkan dengan perawatan luka moist standar (vaselin)? Ataukah tidak ada pengaruh signifikan? Maka dalam penelitian ini, akan ditemukan jawaban tersebut dan juga harapan bila penelitian ini berhasil membuktikan kelebihan pemberian kombinasi tersebut, maka akan dapat sangat membantu dalam proses kemajuan terapi di bidang kedokteran di masa yang akan datang.

1.2 Rumusan Masalah

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

Apakah ada perbandingan antara kadar serum EGF dan FGF dengan hasil histopatologi terhadap akselerasi proses penyembuhan luka bakar deep dermal dengan penggunaan kombinasi PRP dan SVFs pada model tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan perbandingan antara kadar serum EGF dan FGF dengan hasil histopatologi terhadap akselerasi proses penyembuhan luka bakar deep dermal dengan penggunaan kombinasi PRP dan SVFs pada model tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan kadar serum EGF pada proses penyembuhan luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs
2. Untuk membuktikan kadar serum FGF pada proses penyembuhan luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs



3. Untuk membuktikan proses re-epitelisasi pada penyembuhan luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs
4. Untuk membuktikan jumlah fibroblast pada penyembuhan luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs
5. Untuk membuktikan perbandingan kadar serum EGF terhadap proses reepitelisasi pada model luka bakar deep dermal tikur wistar yang diberikan PRP dan SVFs
6. Untuk membuktikan perbandingan kadar serum FGF terhadap jumlah sel fibroblast pada model luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan PRP dan SVFs

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP dan SVFs topikal maupun injeksi untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar.
2. Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan luka bakar.
3. Sebagai alternatif dalam pengobatan luka bakar.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka

2.1.1 Definisi Luka bakar

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. 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 (Barret-Nerin, 2004; Moenadajat et al., 2013):

- 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 injuri ini sering disebabkan oleh penggunaan radio aktif untuk keperluan terapeutik dalam dunia kedokteran dan industri. Akibat terpapar sinar matahari yang terlalu lama juga dapat menyebabkan luka bakar radiasi.
- *Sunburn* sinar matahari.

2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar

Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tinggi suhu, lamanya pajanan suhu tinggi, adekuasi resusitasi dan adanya infeksi pada luka. Selain api yang langsung menjilat tubuh, baju yang ikut terbakar juga memperdalam luka bakar (ANZBA, 2016; Benson et al., 2006; Gillenwater and Garner, 2020). Luka bakar dapat dikelompokkan dalam 3 klasifikasi utama bergantung pada kedalaman kerusakan jaringan yaitu *superficial*, *mid* dan *deep burns*. Klasifikasi ini kemudian lebih lanjut didefinisikan sebagai *epidermal*, *superficial dermal*, *middermal*, *deep*



dermal atau *full thickness* (ANZBA, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

A. Luka Bakar Superficial Dermal

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

1. Epidermal Burns

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

2. Superficial Dermal Burns

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



B. *Mid-dermal Burns*

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

C. *Deep Burns*

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

1. *Deep Dermal Burns*

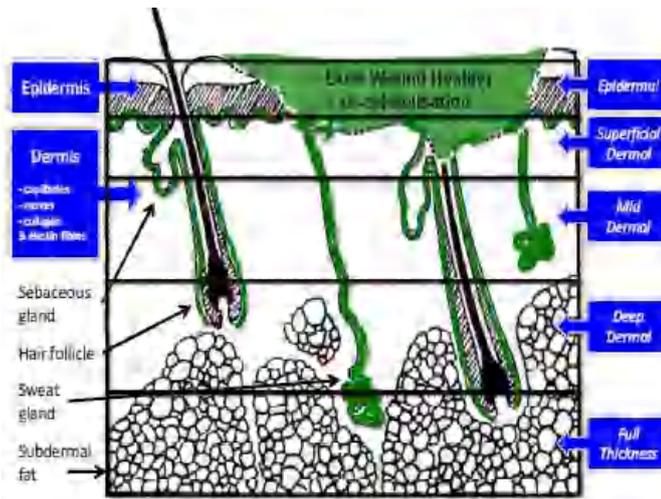
Pada luka bakar deep dermal terdapat bula, tapi dasar bula menunjukkan bagian dermis yang dalam dan bagian retikuler dermis sering tampak bintik-bintik warna merah. Bintik warna merah ini karena ekstrasvasi hemoglobin dari sel-sel merah yang rusak dan keluar dari pembuluh darah yang pecah. Ciri penting luka bakar jenis ini adalah hilangnya fenomena capillary refill. Ini menunjukkan bahwa luka bakar *deep dermal* telah merusak pleksus vaskular dermal. Ujung saraf dermal juga terletak pada bagian ini sehingga tes pinprick akan hilang pada luka bakar *deep dermal* (ANZBA, 2016).

. *Full Thickness Burns*

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



Kulit pasien pada luka bakar ini berwarna putih padat, seperti lilin, atau bahkan tampak hangus. Saraf sensorik dalam dermis rusak dan jadi sensasi untuk tes pinprick hilang. Kulit mati yang mengalami koagulasi tampak kasar yang disebut Eschar (ANZBA, 2016).



Gambar 2. 1 Kedalaman Luka Bakar (ANZBA, 2016)

Tabel 2.1 Diagnosis kedalaman luka bakar (ANZBA, 2016)

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



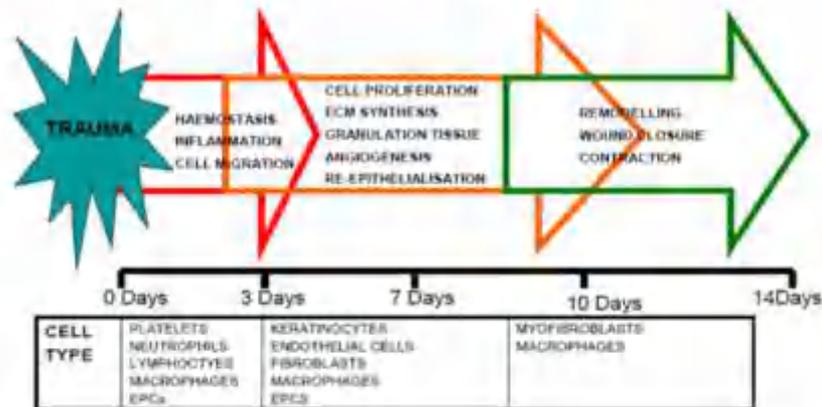
2.1.3 Penyembuhan Luka

Definisi penyembuhan luka termasuk perbaikan dari kerusakan pada organ atau jaringan, umumnya kulit. Bagaimanapun, telah jelas bahwa proses sistemik pada luka yang mengubah jauh melebihi batas dari kerusakan itu sendiri (Nazzal et al., 2019). Lebih jauh lagi, riset sebelumnya melibatkan stem sel dan sel progenitor dalam proses penyembuhan luka membutuhkan perspektif yang luas daripada yang satu semata-mata fokus pada kerusakan organ itu sendiri (Patel et al., 2015; Shpichka et al., 2019). Penyembuhan luka paling baik dipahami secara menyeluruh sebagai respon organisme terhadap cedera, tanpa melihat apakah lokasinya pada kulit, hati atau jantung (Cervelli et al., 2010; Nazzal et al., 2019; Rohovsky and D'Amore, 1997).

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 (Nazzal *et al.*, 2019). Penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan remodeling (MacLeod and Mansbridge, 2016; Nazzal et al., 2019; Oryan et al., 2017).



Stages of Normal Cutaneous Wound Healing



Gambar 2. 2. Tiga Fase Penyembuhan Luka, Waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu (Gurtner and Wong, 2013)

➤ Fase Inflamasi (Hemostasis dan Inflamasi)

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke tiga. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat dan bersama jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblast lokal dan sel endotel serta vasokonstriktor. Hemostasis memicu inflamasi dengan terjadinya pelepasan faktor kemotaktik dari luka (MacLeod and Mansbridge, 2016; Nazzal et al., 2019).

Paparan kolagen sub endothelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi menghasilkan bekuan brin. Granul-granul *platelet- α* melepaskan sejumlah zat kimia seperti atolet-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 (Gillenwater and Garner, 2020; MacLeod and Mansbridge, 2016).

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



Tye of Wound

CYTOKINE	CELL SOURCE	FUNCTION	ACUTE	CHRONI C
Proinflammatory Cytokines				
TNF-α	PMNs, macrohages	Inflammation, reepithelialization, PMN margination abd cytotoxicity, with or without collagen synthetis , provides metabolic substrate	Increased Levels	Increased Levels
IL-1	PMNs, monocytes, macrophages, keratinocytes	Inflammation, reepithelialization, fibroblast and keratinocyte chematosis, collagen synthetis	Increased Levels	Increased Levels
IL-2	T Lhymphocytes	Increases fibroblast infiltration and metabolism		
IL-6	PMNs, machrophages, fibroplasts	Inflammation, reepithelialization, fibroblast prolifiration, hepatic acute phase protein synthesis	Increased Levels	Increased Levels
IL-8	machrophages, fibroplasts	Inflammation, machropage, and PMNs chemotaxis, reepithelialization, keratinocyte maturation and prolifiration	Increased Levels	Increased Levels
IFN-μ	T Lhymphocytes, machropages	Activates machropages and PMNs, retard collagen synthetis and cross-linking, stimulates collagence activity		
Anti-inflammatory Cytokines				
IL-8	T Lhymphocytes, basophils, mast cells	Inhibition on TNF- α , IL-1, IL-6 production, fibroplast polifiration		
IL-10	T Lhymphocytes, machropages, keratinocytes	Inhibition on TNF- α , IL-1, IL-6 production, inhibition of macrophage and PMN activation		

Gambar 2. 3 Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka (Rumalla and Borah, 2001)



➤ Fase Proliferasi

Ketika respons akut hemostasis dan inflamasi mulai pulih, perancah diletakkan untuk memperbaiki luka melalui angiogenesis, fibroplasia, dan epitelisasi. Tahap ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, yang terdiri dari lapisan kapiler, fibroblast, makrofag, dan susunan kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat yang longgar. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblast. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke tiga. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi dibentuk dari tiga tipe sel yang memainkan peranan yang penting dalam pembentukan jaringan granulasi, yaitu fibroblast, makrofag dan sel endothelial. Sel-sel ini membentuk ekstraseluler matrik (ECM) dan pembuluh darah baru, yang secara histologis merupakan bahan untuk jaringan granulasi. Fibroblast muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblast pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi (MacLeod and Mansbridge, 2016; Nauta et al., 2013).

Fibroblast berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam amino glisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblast juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Fibroblast juga menyebabkan matriks fibronectin, asam hialuronik dan



glikosaminoglikan. Pada fase ini, serat-serat dibentuk dan dihancurkan untuk penyesuaian diri dengan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini bersama dengan sifat kontraktil miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal (Gillenwater and Garner, 2020; MacLeod and Mansbridge, 2016).

Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk basic fibroblast growth faktor (FGF2), asidic FGF (aFGF), transforming growth factor α - β (TGF α - β) dan epidermal fibroblast growth factor (eFGF). FGF2 pada percobaan *in vivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi. Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses migrasi hanya terjadi ke arah yang lebih rendah atau datar. Proses ini baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka. Dengan tertutupnya permukaan luka, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan berhenti dan mulailah proses pematangan dalam fase penyudahan. Proses reepitelisasi sempurna kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar (Gillenwater and Garner, 2020).



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

Gambar 2. 4 Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka (Nazzal et al., 2019)

➤ Fase Remodeling

Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang lama dan hubungannya yang jelas sangat tampak, fase ini masih jauh dari pemahaman tentang penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang sudah lenyap. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang

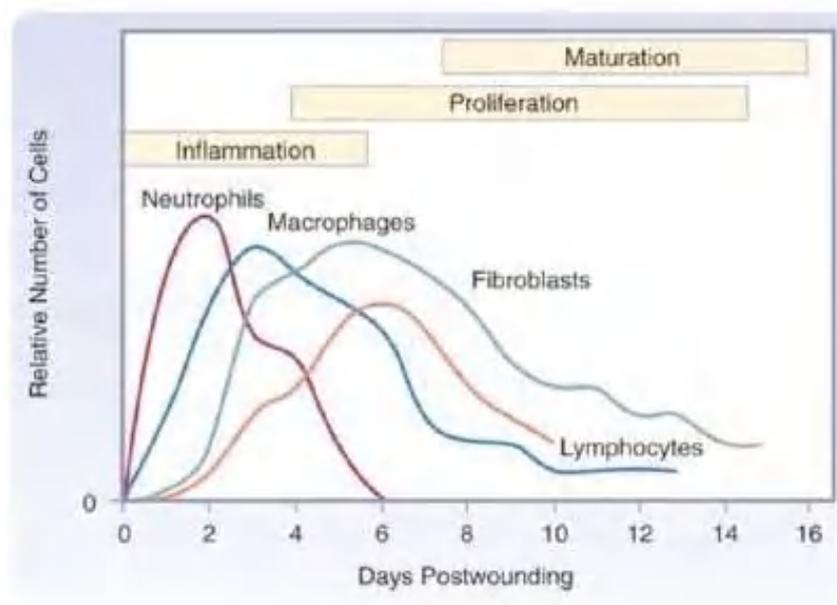


berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Moenadjat et al., 2013; Rohovsky and D'Amore, 1997).

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 (Lawrence, 1998; Nazzal et al., 2019). Beberapa growth factor yang menstimulasi sintesis kolagen dan molekul jaringan ikat yang lain juga merangsang sintesis dan aktivasi dari metalloproteinase, enzim yang mendegradasi komponen ECM ini. Matriks metalloproteinase termasuk interstitial collagenases (MMP-1, -2 dan -3) yang membelah menjadi kolagen tipe I, II dan III; gelatinases (MMP-2 dan 9), yang merubah kolagen tidak berbentuk sebaik fibronektin; stromelysin (MMP-3, 10, dan 11), yang beraksi pada berbagai komponen ECM, termasuk proteoglycans, laminin, fibronektin dan kolagen tak berbentuk; dan keluarga ikatan membran MMPs. MMPs diproduksi oleh fibroblast, makrofag, neutrofil, sel synovial, dan beberapa sel epitel. Sekresinya dipicu oleh growth factor (PDGF, FGF), sitokin (IL-1, TNF), dan fagositosis dalam makrofag dan di hambat oleh TGF- β dan steroid (Herndon et al., 1997). Enzim kolagen membelah kolagen di bawah kondisi fisiologis. Mereka disintesis secara tersembunyi (procollagenase) yang diaktivasi secara kimiawi, seperti radikal bebas diproduksi selama oksidasi leukosit, dan enzim proteinase (plasmin). Sekali dibentuk, enzim kolagen yang diaktivasi secepatnya dihambat oleh golongan jaringan spesifik penghambat enzim metalloproteinase, yang diproduksi oleh hampir seluruh sel mesenkimal, hal ini mencegah aksi enzim protease yang tidak terkontrol. Serat kolagen membentuk bagian utama dari jaringan ikat dalam perbaikan dan penting untuk membangun kekuatan penyembuhan luka (Lawrence, 1998; MacLeod and Mansbridge, 2016; Witte and Barbul, 1997).



Akumulasi jaringan kolagen tergantung tidak hanya peningkatan sintesis kolagen namun juga penurunan degradasi. Ketika jahitan diangkat dari luka, biasanya di akhir minggu pertama, kekuatan luka \pm 10% dari kulit normal. Kekuatan luka segera meningkat hingga 4 minggu kemudian, melambat hingga kira-kira tiga bulan setelah dilakukan luka insisi dan tensile strength mencapai kira-kira 70% – 80% dari kulit normal. Tensile strength pada luka yang lebih rendah mungkin berlangsung seumur hidup. Pemulihan tensile strength merupakan hasil dari sintesis kolagen lebih dari degradasi kolagen selama 2 bulan pertama penyembuhan dan selanjutnya dari modifikasi struktur serat kolagen setelah sintesis kolagen berakhir (Lawrence, 1998; McGee et al., 1988).



Gambar 2. 5 Hubungan antara waktu munculnya sel yang berbeda-beda pada proses penyembuhan luka. Makrofag dan neutrofil yang dominan selama fase inflamasi (puncak masing-masing pada hari ke 3 dan 2). Limfosit muncul kemudian dan fase puncak pada hari ke 7. Fibroblast adalah sel dominan selama fase proliferaatif. (Witte and Barbul, 1997).



2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP dan SVFs

2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet Rich Plasma (PRP) adalah suatu autologous dari trombosit manusia dalam volume yang kecil dalam plasma yang mengandung 1.000.000 trombosit/ μ l dengan volume 5 ml plasma (Li et al., 2009; Tohidnezhad et al., 2011). PRP diketahui mengandung 7 macam faktor pertumbuhan yaitu: TGF- β , bFG, PDGFa, PDGFb, EGF, VEGF. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran *growth factor* dalam meningkatkan proses regenerasi jaringan luka dengan memeriksa epitelisasi, fibroblast dan neovaskular jaringan menggunakan pemeriksaan histologi (Kim et al., 2014; Tajima et al., 2014; Tohidnezhad et al., 2011). FGF1 dan FGF2 adalah promotor proliferasi sel endotel dan organisasi fisik dari sel-sel endotel untuk pembentukan struktur tubuler. Fungsi utama FGF2 adalah stimulasi proliferasi fibroblast yang menimbulkan granulasi jaringan dan *remodeling* jaringan (Borrione et al., 2010; Gentile et al., 2017). TGF- β merangsang proliferasi sel-sel mesenchymal yang *undifferentiated*; mengatur mitogenesis sel-sel endotel, fibroblast dan osteoblast; meningkatkan produksi matriks ekstraseluler; meningkatkan aktivitas proliferasi fibroblast; merangsang biosintesis tipe I kolagen dan fibronectin; mendukung GFs (*growth factors*) lain (Borrione et al., 2010).

Darah terdiri dari 93% sel darah merah, 6% sel darah putih, platelet 1% dan plasma. Trombosit paling dikenal karena fungsi pembekuan darah untuk menghentikan perdarahan. Trombosit, bagaimanapun, jauh lebih penting daripada ini, karena trombosit manusia juga merupakan komponen penting dalam penyembuhan cedera. Trombosit secara alami sangat kaya akan faktor pertumbuhan untuk penyembuhan luka (Bakacak et al., 2016). Respon tubuh pertama terhadap cedera jaringan adalah mengantarkan trombosit ke daerah tersebut. Trombosit memulai perbaikan dan menarik sel punca pada luka. Menyuntikkan faktor pertumbuhan ini ke dalam ligamen, tendon, sendi



dan spinal yang rusak akan merangsang proses perbaikan alami. Untuk memaksimalkan proses penyembuhan, platelet harus terkonsentrasi dan terpisah dari sel darah merah (Nikolidakis and Jansen, 2008). Tujuan PRP adalah untuk memaksimalkan jumlah trombosit sambil meminimalkan jumlah sel darah merah dalam larutan yang disuntikkan ke daerah yang terluka atau sakit. Singkatnya, PRP menciptakan, merangsang, dan mempercepat proses penyembuhan alami tubuh. (Kim et al., 2014; Raposio et al., 2016).

PRP merupakan metode pengobatan mutakhir yang memanfaatkan plasma darah yang kaya akan faktor pertumbuhan dari darah kita sendiri untuk penyembuhan berbagai masalah pada tubuh. PRP ditemukan pertama kali pada tahun 1970-an dan digunakan pertama kali pada pembedahan jantung pada tahun 1987 (Zuk et al., 2002). Sejak saat itu PRP telah berkembang dan dipakai untuk mengobati berbagai cedera akibat olahraga (Kim et al., 2014; Rigotti et al., 2009).

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*) (Kim et al., 2014; Rigotti et al., 2009).

Luka yang berat seperti luka bakar atau ulkus diabetes merupakan jenis luka yang cukup sulit disembuhkan dan biasanya memberikan hasil yang kurang memuaskan. Dengan PRP sel-sel akan dipacu oleh faktor pertumbuhan untuk diperbaiki lebih cepat sehingga hasilnya akan lebih memuaskan (Raposio et al., 2016). Peran trombosit pada pembekuan darah telah lama diketahui. Selain fungsi tersebut, trombosit juga merupakan sumber berbagai faktor pertumbuhan yang berperan penting pada proses penyembuhan luka, respons akut jaringan terhadap trauma,



dan terlibat pada beberapa proses fisiologis selular, misalnya pertumbuhan, diferensiasi dan replikasi sel (Rigotti et al., 2009). Banyak ahli ingin mendapatkan berbagai manfaat faktor pertumbuhan dan menggunakan beberapa metode untuk mengekstraksi faktor pertumbuhan tersebut, salah satunya dengan membuat PRP (Kim et al., 2014; Rapisio et al., 2016).

Kepustakaan lain menyebutkan konsentrasi trombosit dalam PRP 2-8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan nilai normal. Tingginya konsentrasi trombosit dan berbagai faktor pertumbuhan di dalamnya, telah membuat PRP dimanfaatkan pada banyak cabang ilmu kedokteran, yaitu bedah mulut, bedah plastik, bedah kraniofasial, bedah jantung, ortopedi, neurologi, kedokteran olah raga, dan dermatologi (Kim et al., 2014). Pada makalah ini akan dibahas lebih lanjut mengenai penggunaan PRP pada luka bakar. Manfaat PRP pada luka bakar belum pasti karena terbatasnya uji klinis PRP pada kasus luka bakar. Pembuatan PRP biasanya dilakukan sebelum operasi atau tindakan medis lain, tetapi hal tersebut sulit dilakukan pada pasien luka bakar, mengingat kondisi hemodinamik yang mungkin terganggu. PRP hanya meningkatkan persentase relatif trombosit dalam plasma, sedangkan jumlah absolut trombosit dalam plasma pasien luka bakar mungkin jauh lebih rendah, sehingga efektivitas PRP pada pasien luka bakar tidak dapat disamakan dengan pasien lain (Kim et al., 2014; Rigotti et al., 2009). Meskipun demikian, terdapat beberapa laporan mengenai efektivitas PRP untuk luka bakar. Melaporkan bahwa pemberian PRP pada 10 pasien dengan luka bakar pada mata mempercepat re-epitelisasi pada kelopak mata dan kornea (Choi et al., 2012; Ghieh et al., 2015; Rapisio et al., 2016).

Namun PRP menginduksi respons inflamasi hebat pada luka bakar dan dikhawatirkan akan menstimulasi pembentukan jaringan granulasi berlebihan atau parut hipertrofik (Shpichka et al., 2019). Jaringan granulasi berlebihan tidak diharapkan terjadi pada luka bakar dengan defek superfisial atau parsial, tetapi jaringan granulasi tersebut



dapat berguna pada luka bakar dengan defek dalam (Kim et al., 2014; Rigotti et al., 2009).

2.2.2 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)

Stromal vascular fraction cell (SVFs) berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVFs diperoleh melalui sedot lemak dan mengandung beberapa jenis sel, termasuk sel induk yang diturunkan dari *adiposa derivate stem cell* (ASCs), sel mesenkimal dan sel progenitor endotel, subtype leukosit, sel limfatik, pericytes, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular (Bourin et al., 2013; Choi et al., 2012; Darinskas et al., 2017; Zuk et al., 2002). 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 (Darinskas et al., 2017; Han et al., 2010; Zuk et al., 2002).

Persepsi masyarakat umum tentang jaringan adiposa sebagai organ telah berubah secara dramatis selama 4 dekade terakhir. Meskipun jaringan adiposa telah secara rutin dib(Bourin et al., 2013)(Bourin et al., 2013)(Bourin et al., 2013)(Bourin et al., 2013)(Bourin et al., 2013)uang sebagai limbah medis, ahli bedah plastik dan peneliti lainnya telah mendokumentasikan penggunaan jaringan adiposa sebagai sumber sel stroma multipoten yang melimpah dan dapat diakses untuk pengobatan regeneratif (Zuk et al., 2002). Sejak laporan awal pada akhir 1960-an, beberapa laboratorium telah menetapkan bahwa sel stroma yang serupa dengan yang teridentifikasi dalam sumsum tulang dapat diisolasi dengan cara yang dapat direproduksi dari jaringan adiposa yang dapat direseksi sebagai jaringan utuh atau disedot dengan *liposuction* (Gimble and Guilak, 2003; Gimble et al., 2007). Umumnya jaringan adiposa dicerna oleh suatu kolagenase, tripsin atau enzim terkait (Bourin et al., 2013).



Setelah netralisasi enzim, unsur yang dilepaskan didefinisikan sebagai SVFs, dipisahkan dari adiposit matang dengan sentrifugasi. 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 (Josh et al., 2012). Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang sejenis disebut ASCs. ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan *osteoblasts* (Bourin et al., 2013; Josh et al., 2012). Dalam hal ini, ASCs menunjukkan sifat yang serupa dengan MSCs sumsum tulang yang menyebabkan beberapa peneliti menyarankan bahwa kedua populasi itu identik. Namun banyak fitur membedakan kedua populasi sel ini. Sebagai contoh, ASCs tampaknya lebih rentan untuk berdiferensiasi menjadi sel otot atau bahkan menjadi kardiomyosit dibandingkan dengan MSCs sumsum tulang, sementara kurang kuat pada sifat chondrogenik dan osteogenik menurut beberapa laporan. Variabilitas antara ASCs dan MSCs sumsum tulang mungkin mencerminkan sebagian lingkungan mikro yang berbeda atau dimana sel-sel ini berada di jaringan asal masing-masing dan perbedaan dalam protokol perluasan *ex vivo* (Ferraro et al., 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 (Bourin et al., 2013; Gimble et al., 2007). 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 (Ferraro et al., 2016; Josh et al., 2012).

Jaringan adiposa seperti sumsum tulang berasal dari mesenkim dan terdiri dari stroma yang terpisah secara efektif. Mengingat hal ini, jaringan adiposa dapat mewakili sumber sel punca/*stem cell* yang memiliki keuntungan luas (Baglioni et al., 2009). Reaksi seluler terhadap luka terutama difasilitasi oleh sel induk mesenkimal yang menghasilkan indikator atau sinyal parakrin dan menginduksi sel induk hematopoietik terdahulu, sel induk folikel dan jaringan epitel untuk berdiferensiasi ke dalam jaringan (Cerqueira et al., 2016). Jenis sel ini memiliki peran spesifik dalam setiap tahap perbaikan dan mereka mempercepat proses peradangan. Dalam penelitian ini, penggunaan fraksinasi vaskular stroma untuk mengobati luka akibat luka bakar diselidiki. Uji *in vivo* dan *in vitro* digunakan untuk mengkonfirmasi keefektifan sel stroma dalam penyembuhan luka bakar (Foubert et al., 2016).

2.2.3 Vaseline

Vaseline (*White Petrolatum*) adalah campuran dari mineral oil, paraffin dan lilin micro crystalline yang dilebur menjadi satu dalam bentuk gel halus yang biasanya berwarna *off-white* bening (Petry et al., 2017). Saat dioleskan ke kulit, gel ini meresap sempurna ke pori-pori kulit dan dengan cepat akan mengganti sel kulit mati dengan sel kulit baru yang sehat. Setelah meresap ke kulit, petroleum jelly juga dapat langsung masuk ke dalam celah-celah sel kulit untuk menghalangi hilangnya air alami yang diproduksi kulit kita. Sehingga kelembapan kulit tetap terjaga secara natural (Ghadially et al., 1992). Pada dasarnya *Vaseline petroleum jelly* berfungsi untuk memperbaiki fungsi sel-sel pada kulit, dari fungsi inilah banyak sekali manfaat yg bisa kita dapat dari



vaseline petroleum jelly. Vaseline mengandung 100% Petroleum Jelly yang berfungsi (Sethi et al., 2016):

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

2.2.4 Kombinasi PRP dan SVFs

PRP merangsang proliferasi ASCs, menunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada berbagai faktor pertumbuhan yang penting, seperti FGF2, EGF dan PDGF, yang merangsang proliferasi sel induk (Chierigato et al., 2011; Said et al., 2019).

PRP tidak hanya merangsang proliferasi ASCs tetapi juga menjaga potensi diferensiasi ASCs secara in vitro seperti diferensiasi sel-sel *chondrogenic*. ASCs yang dikombinasi PRP didapatkan peningkatan ekspresi gen terkait *chondrogenesis col-II*, *Sox9* dan *aggrecan* (Van Pham et al., 2013; Zhang et al., 2011).

2.3 Sel Punca (*Stem Cell*)

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



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

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

Karakteristik Sel Punca

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

Belum Berdiferensiasi (*undifferentiated*)

Sel Punca yang belum memiliki bentuk dan fungsi spesifik seperti sel-sel lain di tubuh manusia. Sel-sel spesifik contohnya sel otot jantung (berdenyut), neuron (mehantarkan impuls), sel β pancreas (mengeluarkan hormon). Terdapat bukti ilmiah yang menunjukkan bahwa populasi sel punca dalam suatu jaringan matur, tampak sebagai suatu populasi sel inaktif, yang fungsinya baru terlihat dalam waktu dan kondisi tertentu (Tsien, 2006).

Mampu memperbanyak diri (*self renewal*)

Sel Punca dapat melakukan replikasi dan menghasilkan sel berkarakteristik sama dengan sel induknya. Kemampuan memperbanyak diri dan menghasilkan sel-sel yang sama seperti induknya ini tidak dimiliki oleh sel-sel lainnya seperti sel jantung, otak maupun sel pankreas. Kemampuan tidak dipunyai oleh sel-sel jantung, neuron dan pankreas. Itulah sebabnya jika jaringan dalam jantung, otak, maupun pankreas mengalami



kerusakan, maka pada umumnya kerusakan tersebut bersifat *irreversible* (Cerqueira et al., 2016).

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

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

Stem cell merupakan sel yang paling berharga untuk pengobatan regeneratif. Penelitian tentang sel punca memberikan pengetahuan lanjut tentang bagaimana suatu organisme berkembang dari satu sel, dan bagaimana kualitas sel yang menggantikan sel lain yang rusak pada organ dewasa (Rapasio et al., 2016). Sel punca memiliki kemampuan untuk secara berkesinambungan membelah baik untuk replikasi dirinya sendiri atau menghasilkan sel-sel khusus yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel atau jaringan (*multilineage differentiation*) (Chiericato et al., 2011).

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

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

- ***Tolipoten***

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

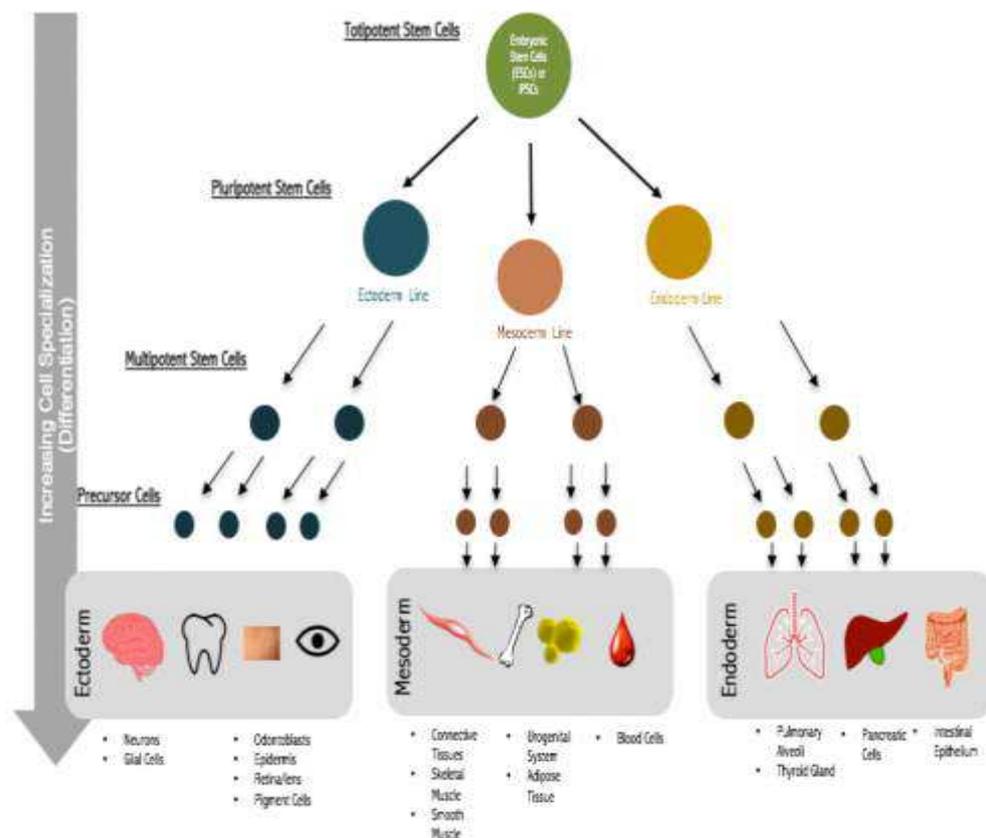


- **Pluripoten**

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

- **Multipoten**

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



Gambar 2. 6 Jenis sel punca (Hayes et al., 2012).



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

Sel punca dewasa merupakan sel-sel yang tidak berdiferensiasi dan ditemukan pada jaringan yang telah mengalami diferensiasi, serta mampu memperbaharui dirinya sendiri selama seumur hidup mikroorganisme tersebut (Zakrzewski et al., 2019). Peran sel punca dewasa adalah untuk mempertahankan dan memperbaiki jaringan tubuh di tempat sel punca ditemukan. Secara umum, *stem cell* dewasa dianggap memiliki potensi terbatas untuk menjadi jenis sel apapun dalam tubuh, dengan kata lain hanya dapat menghasilkan varietas tipe sel dalam garis keturunan atau jenisnya sendiri dan dianggap multipotensial. Terdapat dua karakteristik yang dimiliki oleh *stem cell* diantaranya adalah dapat menghasilkan sel yang serupa dengan dirinya dalam periode waktu yang panjang, kemampuan tersebut dikenal sebagai pembaharuan diri jangka panjang. Selain itu, sel tersebut dapat menghasilkan jenis sel dewasa mampu membentuk sel-sel yang berdiferensiasi sempurna dengan fenotip yang matang, mempunyai integrasi sempurna dengan jaringan dan mampu menjalankan fungsi khusus sesuai dengan jaringan tersebut (Schöler, 2016). Umumnya peneliti mengidentifikasi sel punca dewasa dengan cara mengandalkan dua karakteristik yaitu morfologi sel dan identifikasi penanda permukaan (Widowati and Widyanto, 2013).



beberapa sel punca dewasa memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi sel jaringan lain selain jaringan asalnya atau disebut sebagai plastisitas multidiferensiasi (Hombach-Klonisch et al., 2008). Untuk menunjukkan

bahwa sel punca dewasa mempunyai sifat plastisitas, harus diidentifikasi terlebih dahulu bahwa pada populasi sel jaringan awal terdapat sel punca, kemudian dibuktikan bahwa sel punca dewasa mampu menghasilkan jenis sel normal jaringan lain, dan potensi ini dapat dideteksi pada lingkungan yang baru. Sel ini harus dapat berintegrasi dengan lingkungan barunya, bertahan dan berfungsi seperti sel dewasa yang lain pada jaringan tersebut. Sel punca dewasa merupakan sel multipotensial karena dapat menghasilkan seluruh jenis sel yang memiliki hubungan dengan jaringan asalnya (Widowati and Widyanto, 2013).

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

2.4 Basic Fibroblast Growth Factor (FGF2)

2.4.1 Definisi

Adalah anggota dari keluarga *fibroblast growth factor* (FGF). FGF2 ini merupakan anggota keluarga heparin yang mengikat faktor pertumbuhan yang berfungsi sebagai mediator penting dalam penyembuhan luka. FGF merupakan polipeptida tunggal dengan berat molekul yang berbeda-beda dan memiliki efek mitogenik dan *angiogenesis* (Baird, 1997; Holland and Varmus, 1998; Komi-Kuramochi et al., 2005; Powers et al., 2000).

2.4.2 Klasifikasi

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



dan bertindak dalam reseptor FGF (FGFR)-secara independen (Goldfarb, 2005).

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

2.4.3 Mekanisme Kerja

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

FGF bertindak sebagai molekul sinyal yang berikatan dan mengaktifkan FGFR. FGFR yang teraktivasi sebagai sinyal mediator dengan merekrut molekul spesifik yang mengikat *tirosin phosphorilase* pada bagian reseptor sitosol, memicu sejumlah jalur sinyal yang mengarah ke respon selular yang spesifik (Yun et al., 2010):



- Jalur RAS/MAP Kinase adalah *Serin/Treonina-specific protein kinase* yang menanggapi rangsangan ekstraseluler (mitogen) dan mengatur aktivitas selular seperti ekspresi gen, mitosis, *differentiation*, dan sel survival/apoptosis (Pearson et al., 2001; Yun et al., 2010). Jalur utama sinyal FGF adalah jalur RAS/MAP kinase, yang berisi banyak signaling protein. Kunci penting jalur FGF adalah fosforilasi residu tirosin, faktor pertumbuhan fibroblast reseptor substrat 2 α (FRS2 α), yang menyediakan tempat-tempat pengikatan protein yang baru baik secara langsung atau tidak langsung bertanggung jawab untuk aktivasi dan inhibisi sinyal (Wong et al., 2002; Yun et al., 2010). FRS2 α merekrut struktur yang kompleks terdiri dari protein adaptor, *guanine nucleotide exchange factor-2* (GRB2), *the son of sevenless* (SOS), tirosin fosfatase (SHP2), dan protein docking, *GRB2-associated binding protein 1* (GAB1). Pembentukan FRS2 sinyal kompleks mengakibatkan aktivasi RAS/MAP kinase (Dailey et al., 2005; Yun et al., 2010).
- Jalur PI3 Kinase/AKT. Mirip dengan jalur kinase RAS/MAP, jalur *phosphoinositide 3* (PI3) *kinase/AKT* dimulai dengan membentuk FRS2 sinyal kompleks. Selanjutnya, protein link GAB1 diaktifkan FGF reseptor dengan PI3 kinase. GAB1 terdiri dari domain Homologi pleckstrin, daerah kaya prolin dan beberapa situs fosforilasi tirosin yang berfungsi sebagai situs pengikatan untuk domain SH2. Subunit katalis p110 dari PI3 kinase berada di dalam kompleks dengan protein adaptor (p85) yang memiliki dua SH2 domain; dengan demikian p85 berikatan dengan residu *phosphorylated tirosin* GAB1 adaptor protein. Jalur kinase AKT PI3 terlibat dalam kelangsungan hidup sel (*survival*) dan kematian sel (Yun et al., 2010).
- Jalur PLC γ . Salah satu molekul target untuk diaktifkan FGFR adalah *phospholipase C gamma* (PLC γ), yang mengikat reseptor



Tyr-766 phosphorylated dan kemudian menjadi tirosin fosforilasi PLC γ , mengakibatkan aktivasi PLC γ . Aktivasi PLC γ menghidrolisasi *phosphatidylinositol*, menghasilkan *inositol trifosfat* (IP3) dan *diacylglycerol* (DAG) (Yun et al., 2010). IP3 adalah *messenger seluler* kedua yang memfasilitasi pelepasan kalsium dari endoplasma. Peningkatan bersama kadar kalsium dan sitosol DAG mengaktifkan *protein kinase C* (PKC). Relevansi fisiologis jalur ini adalah untuk adhesi dan migrasi beberapa jenis sel (Kolkova et al., 2000; Yun et al., 2010).

- Jalur Janus kinase/*signal transducers and activators of transcription* (JAK/STAT). JAK/STAT cascade adalah jalur yang paling sederhana. Pengikatan ligan ekstraseluler ke jalur aktivasi melalui perubahan reseptor mengakibatkan intraselular JAKs yang berkaitan dengan mereka untuk terjadi fosforilasi satu sama lain. Transfosforilasi JAKs kemudian terjadi fosforilasi substrat ke hilir, termasuk reseptor JAKs dan STATs. STATs yang teraktivasi masuk ke nukleus dan mengikat sebagai dimers atau kompleks oligomer penambah tertentu dalam gen target dan mengatur transkripsi mereka. Tanggapan ini termasuk proliferasi, diferensiasi, migrasi, apoptosis, dan kelangsungan hidup sel, tergantung pada sinyal, Jaringan, dan konteks selular (Harrison, 2012).

2.4.4 Ekspresi dan Aktifitas Biologis

FGF berperan secara fisiologis dengan mengikat tirosin kinase FGFR afinitas secara tinggi pada permukaan sel target. Oleh karena itu, fungsi FGFs tergantung pada jalur sinyal FGF antara keluarga FGF dan FGFR. Banyak penelitian melaporkan bahwa FGF memiliki fungsi untuk proliferasi sel, migrasi, *differentiation*, dan *angiogenesis* di berbagai sel in jaringan. Tabel 2.2 meringkas fungsi FGF (Yun et al., 2010).

- Proliferasi sel. Proliferasi sel oleh FGF telah dilaporkan di berbagai jenis sel, termasuk sel-sel endotel, sel punca, dan sel-sel epitel.



FGF2 menginduksi proliferasi sel setelah transfer gen flia-specific pada tikus (Holland and Varmus, 1998) dan merangsang proliferasi dan survival sel-sel neuroepithelial yang terisolasi dari telencephalon dan mesencephalon tikus (Yun et al., 2010). FGF7 (sering disebut KGF manusia) berhubungan dengan pertumbuhan sel epithelial (Finch et al., 1989).

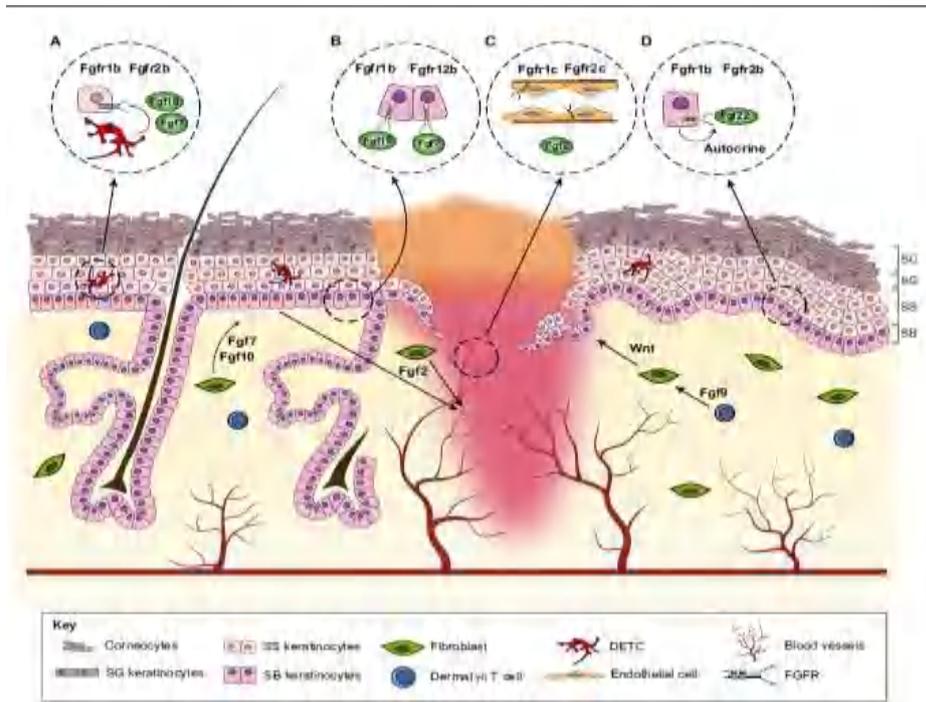
- Migrasi sel. Migrasi sel adalah proses utama dalam perkembangan dan pemeliharaan organisme multisel. Pembentukan jaringan selama perkembangan embrio, penyembuhan luka, dan respon imun semua memerlukan pengaturan gerakan sel khususnya petunjuk arah ke lokasi spesifik. Sel sering bermigrasi sebagai respon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



tikus. Selain itu, FGF2 merangsang diferensiasi sel-sel neuroepithelial ke neuron matang dan sel glia. FGF7 sangat penting untuk morphogenesis keratinosit suprabasal dan pembentukan program normal diferensiasi keratinosit (Yun et al., 2010).

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





Gambar 2. 7 Aktivitas FGF dalam penyembuhan luka (Maddaluno et al., 2017).

Tabel 2.2. Fungsi fibroblast growth factors (FGF) (Yun et al., 2010)

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



2.5 Epidermal Growth Factor (EGF)

2.5.1 Definisi

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

2.5.2 Klasifikasi

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

2.5.3 Mekanisme Kerja

EGF memiliki reseptor ligan afinitas tinggi untuk membran sel EGFR; mengaktifkan reseptor kompleks ligan yang diaktifkan tirosin kinase dengan memulai perubahan selular biokimia secara berturut-turut: meningkat kalsium intraseluler, glikolisis, sintesis protein dan ekspresi gen tertentu (seperti EGFR gen), mengarah ke sintesis DNA, pertumbuhan sel dan proliferasi, mengakibatkan proliferasi keratinosit, meningkatkan adhesi dan motilitas keratinosit, dan merangsang fosforilasi ganda spesifik yang mengurangi sinyal mereka sendiri, menghambat aktivitas EGF (Chierigato et al., 2011; Esquirol Caussa and Herrero Vila, 2015; Harris et al., 2003).

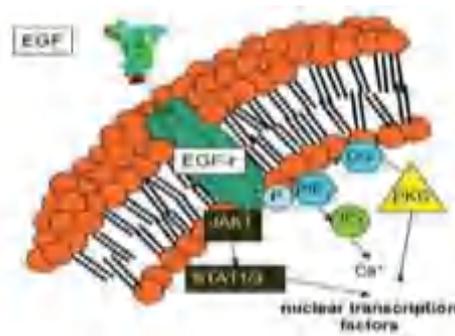
2.5.4 Ekspresi dan Aktifitas Biologis

EGF awalnya dimurnikan dari kelenjar submandibula dan parotis (tikus dan manusia), yang berfungsi untuk pemeliharaan dan keutuhan ototitel orofaringeal, esophagus dan lambung, dengan penyembuhan ulkus dan luka di epitel mulut dan gastro-esofagus, inhibisi produksi asam



lambung, stimulasi sintesis DNA dan perlindungan mukosa dari kerusakan yang disebabkan oleh faktor-faktor intraluminal (asam lambung, asam empedu, pepsin, tripsin, trauma secara fisik, kimia dan bakteri) (Esquirol Caussa and Herrero Vila, 2015; Venturi and Venturi, 2009). EGF juga mengatur pemeliharaan, kelengkapan dan regenerasi kulit dan selaput lendir, seperti epitel kornea, konjungtiva mata dan perkembangan embrio dari saluran bronkus (Desai and Cardoso, 2002; Esquirol Caussa and Herrero Vila, 2015).

EGF memfasilitasi regenerasi sel epidermis dan memainkan peran penting dalam proses penyembuhan melalui stimulasi proliferasi dan migrasi keratinocytes. EGF juga mempromosikan pembentukan jaringan granulasi dan merangsang motilitas fibroblast. Sebagai aktivator proses mitogenesis, EGF pertama berikatan affinitas yang tinggi dan sel reseptor permukaan yang spesifik dan kemudian mendorong dimerisasi mereka, yang penting untuk mengaktifkan tirosin kinase pada domain reseptor sitoplasma, sehingga memulai sinyal transduksi yang mengakibatkan sintesis DNA dan proliferasi sel (gambar 2.7) (Hardwicke et al., 2008; Tarnuzzer et al., 1997).



Gambar 2. 8 Ligan EGF berikatan pada reseptor EGF dan jalur aktivasi-nya (Hardwicke et al., 2008)



Pada hewan percobaan, pengaplikasian kombinasi faktor pertumbuhan kombinasi menyebabkan peningkatan proliferasi, migrasi sel dan sintesis bers kolagen tipe I pada *fibroblasts* kulit, mempercepat penyembuhan

luka, meningkatkan rata-rata re-epitelisasi dan mengurangi infiltrasi inflamasi (Falanga et al., 1992). Respon mitogenik secara in vitro ditanggapi sel bila adanya EGF secara kontinyu selama 3-4 hari (onset efek terapeutik), dan ketiadaan EGF menurunkan aktivitas reseptor dalam waktu 4 jam (Hardwicke et al., 2008).

EGFR sebagai faktor kunci inflamasi kulit, fungsi *barier* kulit dan pertahanan melawan infeksi. Ini tampak significant dalam ekspresi dan aktivasi sistem komplemen pada epidermis dan keratinocytes manusia (Abu-Humaidan et al., 2014; Esquirol Caussa and Herrero Vila, 2015), yang menanggapi lesi jaringan akut adalah proses yang menguntungkan, hal ini tampaknya untuk mencegah lesi kronik dari penyembuhan luka (Park et al., 2017). Pada daerah lesi keratinosit (secara in vivo dan in-vitro), beberapa komponen komplemen diaktifkan hanya jika dirangsang dengan adanya monosit, tetapi tidak terjadi bila monosit tidak ada: sel-sel inflamasi penting untuk penyembuhan luka (Esquirol Caussa and Herrero Vila, 2015).

2.6 Kerangka Teori

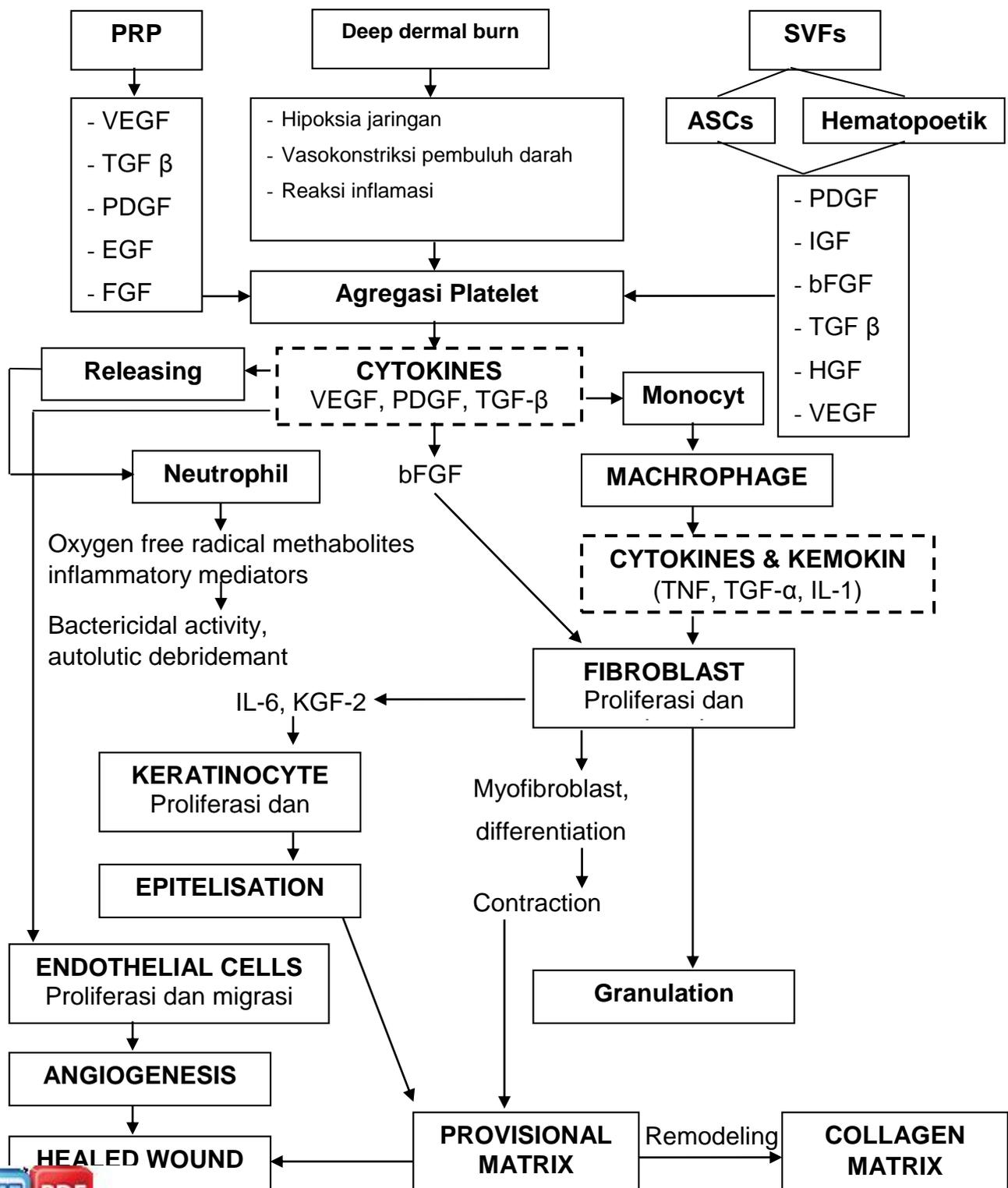
Pada Kondisi luka bakar terbentuk *thrombin formation* dan degranulasi platelets pada subendothelial (Park, J., Hwang, S., & Yoon, I.-S. 2017). Trombosit teraktivasi oleh trombin melepaskan beberapa faktor pertumbuhan yang membentuk sebuah plug hemostatik (Schaffer, C.J.; 1996). Faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh trombosit seperti EGF, IGF 1, TGF-alpha dan TGF-beta (Braund, R.2007; Lawrence, W.T. 1998). EGF akan berikatan pada reseptornya di permukaan sel, sehingga terjadi: (Ziegler, T. R., 1997)

1. Faktor pertumbuhan fibroblast reseptor substrat 2α (FRS2 α) merekrut struktur kompleks terdiri dari protein adaptor, *guanine nucleotide exchange factor 2* (GRB2), *the son of sevenless* (SOS), *tirosin fosfatase* (SHP2), dan protein docking, *GRB2-associated binding protein 1* (GAB1). Kompleks ini membentuk FRS2 kompleks mengakibatkan aktivasi RAS/MAP kinase (Sun, Y.-R.,2010; L. Dailey, 2005;).

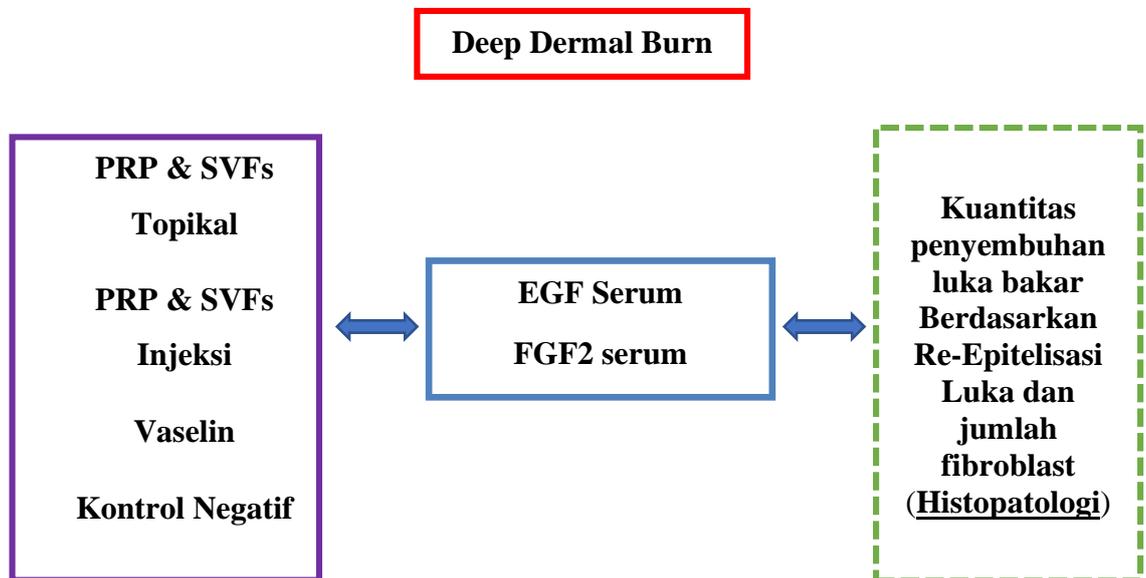


2. PI3K teraktivasi menyebabkan aktivasi protein kinase Akt, yang meningkatkan survival sel (mencegah apoptosis)(Yun, Y.-R., 2010).
3. Aktivasi *JAK-STAT cascade* mengakibatkan intraselular JAKs yang berkaitan dengan mereka terjadi transfosforilasi JAKs kemudian terjadi fosforilasi substrat ke hilir,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





2.7 Kerangka Konsep



Luka bakar deep dermal diberi perlakuan : Vaselin dibandingkan PRP & SVFs injeksi dan topikal serta kontrol negative kemudian dilakukan pengukuran kadar serum FGF2 dan EGF serta menilai proses epitelisasi dan jumlah fibroblast pada hari 1, 4, 7, 10 dan 14.

2.8 Hipotesis Penelitian

- Ada peningkatan kadar serum growth factor dan hasil histopatologi pada pemberian PRP dan SVFs terhadap proses penyembuhan luka bakar deep dermal pada model tikus wistar

