

KARYA AKHIR

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI *PLATELET-RICH PLASMA* (PRP)
DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVFS) TERHADAP
KADAR SERUM *EPIDERMAL GROWTH FACTOR* (EGF)
PADA LUKA BAKAR DEEP DERMAL
TIKUS WISTAR**

**EFFECT OF *PLATELET-RICH PLASMA* (PRP)
AND *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVFS)
COMBINATION ON THE LEVELS OF
EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) SERUM IN
DEEP DERMAL BURN INJURY
IN RAT WISTAR**

**DEASY RIEFMA
C104216203**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.-I)
PROGRAM ILMUBEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI *PLATELET-RICH PLASMA* (PRP)
DAN *STROMAL VASCULAR FRACTION* (SVFS) TERHADAP
KADAR SERUM *EPIDERMAL GROWTH FACTOR* (EGF)
PADA LUKA BAKAR DEEP DERMAL
TIKUS WISTAR**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis Bedah

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. Deasy Riefma

C104216203

KARYA AKHIR

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.-1)
PROGRAM ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**EFEK PEMBERIAN *PLATELET-RICH PLASMA (PRP)* DAN
STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs) TERHADAP
KADAR SERUM *EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF)*
PADA LUKA BAKAR DEEP DERMALTIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

Deasy Riefma

C104216203

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 17 Oktober 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

DR.dr. Sacharaswaty R Iaidding, Sp.B,Sp.BP-RE
NIP. 19760112 200604 2 001

DR.dr. Burhanuddin Bahar,MS
NIP. 19491015 198601 1 001

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran

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

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K),M.MedEd
NIP. 196612311995031009



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : dr. Deasy Riefma

Nim : C104216203

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengabdian tuhan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Oktober 2021

Yang menyatakan



10000
METERAI
TEMPEL
94006AJX478508729

Dr. Deasy Riefma

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing yaitu Alm. dr. Agust Jacob Rieuwpassa, Sp.B, Sp.BP-RE(K), DR.dr. Sacharaswaty R Laididing, Sp.B, Sp.BP-RE(K) dan Dr.dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K) dan Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS atas segala kesabaran, waktu, bantuan, bimbingan, nasihat, dan arahan yang diberikan selama ini kepada penulis

Rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pula kepada dosen-dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan demi perbaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Kedokteran, Ketua Departemen Ilmu Bedah, Ketua Program Studi Ilmu Bedah, Sekertaris Program Studi Ilmu Bedah, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terimakasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada ayahanda H. Godfried FIP, SH dan ibunda Hj. Nur Rahma MB, Suami tercinta Mohammad Rizki Soetrisno, ST, MT, serta ke 3 buah hati kami dan keluarga besar lainnya yang

tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah mengerti, mendoakan, mendukung dan mencurahkan perhatian yang besar selama penulis menjalani pendidikan ini.

Terimakasih penulis ucapkan untuk rekan angkatan “Stoked” Januari 2017 atas segala saran, dukungan dan bantuannya selama pendidikan. Terimakasih juga kepada seluruh staf pegawai bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terutama kepada kak Marlina Rajab, Zaitun Said mbak Nunung Mujiwiyanti, rekan-rekan sejawat dan perawat serta staf kamar operasi bedah yang telah banyak membantu selama proses pendidikan penulis.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para Guru Besar dan seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Bedah atas segala bimbingan dan arahnya selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis bedah. Semoga ilmu yang penulis dapatkan selama pendidikan ini dapat diamalkan dan dimanfaatkan sebaik baiknya untuk kepentingan masyarakat luas.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya akhir ini dan tidak menutup kemungkinan penulis mempunyai khilaf dan salah terhadap saudara - saudara yang turut serta dalam penyusunan karya akhir ini, untuk itu penulis mengucapkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya.

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak banyaknya kepada semua pihak yang turut berperan serta dalam penyelesaian karya akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan rahmat, kesehatan dan berkah yang melimpah dan semoga

kita dapat dipertemukan kembali dalam suasana bahagia dan sernoga karya akhir ini dapat bermanfaat dalam pengembangan Ilmu pengetahuan.

Makassar, 20 Oktober 2021



dr. Deasy Riefma

ABSTRAK

DEASY R. *Efek Pemberian Kombinasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVF-s) terhadap Kadar Serum Epidermal Growth Factor (EGF) pada Luka Bakar Deep Dermal Tikus Wistar (dibimbing oleh Sachraswaty R. Laidding, Fonny Josh, dan Burhanuddin Bahar).*

Penelitian ini bertujuan menentukan efek pemberian kombinasi SVF-s dan PRP pada kadar EGF dalam proses penyembuhan *deep dermal burn*.

Penelitian ini merupakan kajian eksperimental terhadap 64 tikus yang menggunakan pascauji kelompok kontrol yang terdiri atas 1 kelompok yang diterapi dengan injeksi kombinasi SVF dan PRP, 1 kelompok yang diberikan Vaseline, dan 1 kelompok kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar EGF antara kelompok *deep dermal burn* yang diberikan kombinasi injeksi SVF dan PRP dan kelompok obat topikal, kelompok vaseline, dan satu lagi kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,05$, Kombinasi SVF dan PRP meningkatkan kadar EGF pada proses penyembuhan *deep dermal burn*.

Kata kunci: luka bakar, penelitian eksperimental, *platelet-rich*, *stromal vascular fraction*, EGF



ABSTRACT

DEASY R. *The Effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Stromal Vascular Fraction (SVFs) Combination on the Level of Epidermal Growth Factor (EGF) Serum in Deep Dermal Burn Injury in Wistar Rats* (supervised by **Sachraswaty R. Laidding, Fonny Josh, and Burhanuddin Bahar**)

The aim of this study is to determine the effect of giving combination of SVFs and PRP on EGF level in the healing process of deep dermal burns.

This research was an experimental study in 64 rats using post-test control group design consisting of one group of SVFs and PRP combination injection treatment group, one group given a topical combination of SVFs and PRP, one group given Vaseline, and one control group.

The results of the research indicate that there is no significant different in EGF level among the deep dermal group given a combination of SVFs and PRP injection and topical, Vaseline group, and control group with $p\text{-value} < 0.05$. The combination of SVFs and PRP increases the level of EGF in the healing process of deep dermal burns.

Keywords: burn injury, experimental research, platelet-rich plasma, stromal vascular fraction, EGF



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR BAGAN	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan Umum	9
1.3.2 Tujuan Khusus	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka	11
2.1.1 Definisi Luka Bakar	11
2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar	13
2.1.3 Penyembuhan Luka	17
2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi	
PRP + SVFs	26
2.2.1 PRP	26

2.2.2 SVFs.	30
2.2.3 Vaseline.	33
2.2.4 Kombinasi PRP + SVFs.	34
2.3 Sel Punca (Stem Cell).	35
2.4 Epidermal Growth Factor (EGF).....	41
2.4.1 Definisi.	41
2.4.2 Klasifikasi.	42
2.4.3 Mekanisme Kerja.	42

2.4.4 Ekspresi dan Aktifitas Biologis.	44
BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL	47
3.1 Kerangka Teori	49
3.2 Kerangka Konsep	50
3.3 Variabel	50
3.4 Hipotesis	51
3.5 Definisi Operasional.	51
BAB IV METODE PENELITIAN	53
4.1 Desain Penelitian.	53
4.2 Populasi dan Sampel	53
4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	60
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	60
4.5 Cara Pengumpulan Data	60
4.6 Analisa Data	61
4.7 Prosedur Penelitian	61
4.8 Etika Penelitian	64
4.9 Alur Penelitian	65
BAB V HASIL PENELITIAN	66
5.1 Analisis Univariat	66
5.2 Analisis Bivariat	69
5.3 Regresi Linier	80
BAB VI PEMBAHASAN	83
6.1 Kadar EGF	83
6.2 Pengaruh Pemberian Terapi Stem Cell (PRP dan SVFs) terhadap Luka Bakar	85
6.3 Pengaruh Pemberian Terapi Vaseline terhadap Luka Bakar	88
6.4. Perbedaan Efektivitas Pemberian Terapi Stem Cell (PRP dan SVFs) secara injeksi dan topical terhadap Luka Bakar	89

6.5. Perbedaan Efektivitas Pemberian Terapi injeksi Stem Cell (PRP dan SVFs) dengan Vaseline terhadap Luka Bakar.	89
6.6. Perbedaan Efektivitas Pemberian Terapi Topikal Stem Cell (PRP dan SVFs) dengan Vaseline terhadap Luka Bakar	90
6.7. Kelebihan dan Keterbatasan Penelitian	90
BAB VII KESIMPULAN.	93
DAFTAR PUSTAKA	94

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Diagnosis Kedalaman Luka Bakar.....	15
Tabel 5.1	Kadar EGF pada setiap kelompok perlakuan.....	62
Tabel 5.2	Hasil uji normalitas dan homegenitas data penelitian.....	64
Tabel 5.2.1	Perbandingan kadar EGF pada setiap kelompok perlakuan (uji oneway ANOVA)	66
Tabel 5.2.2	Hasil uji t independen kadar EGF setelah diberi perlakuan berupa pemberian injeksi stem cell	68
Tabel 5.2.3	Hasil uji t independen kadar EGF setelah diberi perlakuan topikal stem cell	69
Tabel 5.2.4	Hasil uji t independen kadar EGF setelah diberi perlakuan Vaselin dibandingkan dengan kontrol	70
Tabel 5.2.5	Hasil uji t independen kadar EGF pada kelompok A dan kelompok B	72
Tabel 5.2.6	Hasil uji t independen kadar EGF pada kelompok A dan kelompok C.	73
Tabel 5.2.7	Hasil uji t independen kadar EGF pada kelompok B dan kelompok C.	74
Tabel 5.3	Hasil Uji Regresi Linier Pemberian Injeksi Stem Cell	75
Tabel 5.4	Hasil Uji Regresi Linier Pemberian Topikal Stem Cell	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kedalaman Luka Bakar	14
Gambar 2.2	Fase penyembuhan luka	16
Gambar 2.3	Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka	18
Gambar 2.4	Faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada penyembuhan luka	21
Gambar 2.5	Hubungan antara waktu munculnya sel yang berbeda- beda pada proses penyembuhan luka	23
Gambar 2.6	Jenis Sel Punca	35
Gambar 2.7	Aktivitas EGF dalam penyembuhan luka.	41
Gambar 4.1	Sampel tikus wistar.	50
Gambar 4.2	Proses pengambilan Donor PRP dan SVFs	51
Gambar 4.3	Proses preparasi Donor SVFs	52
Gambar 4.4	Proses pemodelan luka bakar.	54
Gambar 4.5	Perlakuan injeksi PRP dan SVFs	60
Gambar 4.6	Bahan dan Proses pemeriksaan EGF	66
Gambar 5.1	Kadar EGF secara keseluruhan.	68
Gambar 5.2.1	Kadar EGF (pg/ml) pada setiap kelompok perlakuan	71
Gambar 5.2.2	Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terapi injeksi kombinasi PRP dan SVF dibandingkan Kontrol	73
Gambar 5.2.3	Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terap Topikal kombinasi PRP dan SVF dibandingkan Kontrol.	74

Gambar 5.2.4 Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terapi vaselin dibandingkan Kontrol	75
Gambar 5.2.5 Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terapi Injeksi Stem Cell dibandingkan Topikal Stem Cell	76
Gambar 5.2.6 Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terapi Injeksi Stem Cell dibandingkan Vaselin Topikal.	77
Gambar 5.2.7 Rata-rata kadar EGF (pg/ml) setelah dilakukan terapi Topikal Stem Cell dibandingkan Vaselin Topikal.	77
Gambar 6.1 Pola kadar EGF temuan Mansoub dkk	78
Gambar 6.2 Tahap penyembuhan luka dan molekul yang terlibat	79
Gambar 6.3 Temuan kadar EGF pada penelitian Marck	80
Gambar 6.4 Pengaruh pemberian stem cell pada luka bakar temuan Mansoub dkk	81
Gambar 6.5 Peran stem cell dalam tahapan penyembuhan luka	82

DAFTAR SINGKATAN

PRP	: <i>Platelet Rich Plasma</i>
SVFs	: <i>Stromal Vascular Fraction cells</i>
ASCs	: <i>Adipose-derived Stem Cells</i>
PMN	: <i>Polimorfonuclear</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
TNF- α/β	: <i>Tumor Necrosis Factor- α/β</i>
ECM	: <i>Extracellular Matriks</i>
aFGF	: <i>acidic Fibroblast Growth Factor</i>
bFGF	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
eFGF	: <i>epidermal Fibroblast Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
DMEM	: <i>Dulbecco Modified Eagle Media</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar didefinisikan sebagai kerusakan pada kulit dan jaringan di bawahnya yang disebabkan oleh panas, bahan kimia, atau listrik (Gillenwater and Garner, 2020). Setiap tahun di Amerika Serikat 450.000 orang mendapat perawatan medis untuk luka bakar. Diperkirakan 4.000 orang meninggal setiap tahun karena kebakaran dan luka bakar (Toussaint and Singer, 2014). Tujuan dari penanganan luka adalah penyembuhan luka dengan cepat dan memuaskan secara fungsi dan estetik (Barret-Nerin, 2004).

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 punca (Ghieh *et al.*, 2015). Sel punca merupakan sel primitif yang belum berdiferensiasi namun memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi mulai dari hanya menjadi satu jenis sel (*unipoten*), atau menjadi beberapa jenis sel (*multipoten*) bahkan dapat menjadi berbagai jenis sel (*totipotent*). Kemampuan ini lah yang dapat digunakan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak akibat penyakit atau trauma (Singh *et al.*, 2016). Tentunya hasil yang diharapkan adalah metode ini dapat mempercepat penyembuhan yang nantinya akan memberikan hasil penyembuhan luka bakar deep dermal yang bagus dengan masa perawatan menjadi lebih singkat sehingga

biaya perawatan dapat lebih rendah (Ghieh *et al.*, 2015).

Jaringan adiposa visceral dan subkutan telah menunjukkan bahwa ia 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) (Cervelli *et al.*, 2010; Choi, Minn and Chang, 2012).

SVFs merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak (Tantuway *et al.*, 2016). Lipoaspirat mengandung sejumlah besar stem sel yang disebut Adipose derived stem cell (ASCs). SVFs dari jaringan lemak diketahui mengandung sel T regulator, sel precursor endothelial, pre-adiposit yang diketahui sebagai anti inflamasi makrofag, superoxide dismutase (SOD), IGF, TGF, FGF, hepatocyte growth factor (HGF) dan interleukin (IL), selain itu didalam SVFs juga terdapat adipose tissue-derived stromal cells (ASCs), hematopoietic stem dan sel progenitor, sel endothelial, eritrosit, fibroblasts, limfosit, monosit/macrophages dan pericytes. SVFs diketahui dapat memperbaiki penyembuhan luka bakar melalui peningkatan proliferasi sel dan vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblast (Baglioni *et al.*, 2009; Marchi and Sbarbati, 2009; Choi, Minn and Chang, 2012).

SVFs dapat diisolasi dari jaringan lemak kurang lebih 30-90 menit di klinik menggunakan teknik mini-lipoaspirate. SVFs berisi campuran sel-sel yang termasuk ASCs dan faktor pertumbuhan dan sudah tidak mengandung sel adiposit (Comella,

Silbert and Parlo, 2017). SVFs Pertama kali digunakan oleh Matsumoto dkk untuk memperkaya graft lemak pada tikus untuk meningkatkan viabilitas graft lemak pada tikus (Karagergou et al., 2018).

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 mesenchymal stem cells (MSC) sumsum tulang untuk menghabiskan sebagian besar populasi sel hematopoietik dari SVFs. Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang homogen disebut ASCs (Ferraro, Mizuno and Pallua, 2016).

ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts. ASCs menunjukkan sifat yang serupa dengan MSCs sumsum tulang yang menyebabkan beberapa peneliti menyatakan 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, Mizuno and Pallua, 2016).

Platelet-rich plasma (PRP) adalah trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, yang berisi setidaknya enam faktor pertumbuhan yang utama, termasuk diturunkan platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), dan transforming growth factor- β (TGF- β) yang di lepaskan setelah aktivasi trombosit (Duran et al., 2016; Stessuk et al., 2016; Gentile et al., 2017).

Efek positif dari PRP dalam merangsang proses angiogenesis dan proliferasi undifferentiated stem cells telah ditunjukkan secara eksperimental. Dalam kaitannya dengan angiogenesis, Eppley dkk melaporkan bahwa PRP merangsang sel-sel endotel dekat daerah luka, merangsang proliferasi dan pembentukan pembuluh darah kapiler baru (Eppley, Pietrzak and Blanton, 2006). Selain itu, dalam studi in vitro, Hu dkk. menyimpulkan bahwa PRP merupakan sel-sel penyumbang yang potensial dalam memulai proses angiogenesis, yang merekrut endotel pembuluh darah daerah tersebut, dan mulai inisiasi regenerasi tulang (Hu et al., 2009). PRP mampu merangsang proliferasi stem cell undifferentiated dan diferensiasi sel untuk regenerasi jaringan (Hausman and Richardson, 2004). Stem cells undifferentiated bermigrasi ke lokasi konsentrasi faktor pertumbuhan PRP, dan faktor pertumbuhan memicu proliferasi sel-sel ini ke daerah luka (Choi, Minn and Chang, 2012).

Semua cedera/luka pada jaringan dapat mengakibatkan regenerasi, perbaikan normal dengan pembentukan parut, luka penyembuhan yang kurang atau berlebihan dengan endapan matriks berlebih. 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 epitelisasi, sedangkan penyembuhan luka full- thickness terutama oleh kontraksi (dengan beberapa epitelisasi) (Nazzal et al., 2019).

Penyembuhan luka secara normal diatur dan urutan prosesnya tumpang tindih: koagulasi, inflamasi, fibroplasia, dan remodelling (Nazzal et al., 2019). Sitokin adalah para mesenger yang memediasi semua peristiwa dari proses penyembuhan dari saat cedera sampai akhir perbaikan jaringan. Sitokin dari proses koagulasi dan seluruh proses inflamasi [platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), dan banyak sitokin lain] yang faktor utama dalam penyembuhan luka (McGee et al., 1988).

Epidermal growth factor (EGF) adalah growth factor pertama yang karakter biokimia dan namanya sesuai dengan kemampuannya untuk menstimulasi mitosis dan hipertrofi epidermis kulit (Tarnuzzer et al., 1997). EGF mempunyai kemampuan yang poten mitogenesis untuk sel epidermis, fibroblast dan sel vascular endotelial secara in vitro, yang mana ketiga sel tersebut terlibat pada penyembuhan luka. EGF dan TGF- α promote migrasi dari keratinosit manusia (Ju et al., 1993; Rohovsky and D'Amore, 1997) dan EGF adalah faktor kemotaksis sel kornea (Grant et al., 1992; Tarnuzzer et al., 1997) dan sel vascular endothelial serta menstimulasi angiogenesis pada binatang percobaan (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). Pada percobaan klinik dengan pemberian EGF topikal meningkatkan epitelisasi dan memperpendek waktu penyembuhan luka pada skin graft, venous ulcers, dan ulkus kaki diabetik (Bodnar, 2013).

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 dibandingkan efek injeksi intradermal antara kelompok PRP, SVFs, kombinasi antara PRP + SVFs dan kontrol yang diaplikasikan secara intra dermal pada model luka bakar deep dermal tikus wistar. Kelompok kontrol menggunakan perawatan luka bakar standar (vaselin). Kemudian di nilai secara mikroskopik dan makroskopis dimana hasilnya didapatkan bahwa kombinasi antara PRP dan SVFs memiliki laju percepatan penyembuhan yang paling tinggi. Penilaian mikroskopis, yaitu:

1. Percepatan epitelisasi dan penutupan luka,
2. Ketebalan kolagen,
3. Rata-rata *Capillary Density/angiogenesis* lebih banyak dan memuncak pada hari ke 14 perlakuan,
4. Sel Polimorfonuklear (PMN), pada fase akut inflamasi hari ke 7 perlakuan infiltrasi sel PMN lebih banyak dan pada hari ke 14 jumlah PMN mulai

menurun disertai mulai tampak adanya makrofag.

5. Jumlah fibroblast dan ketebalan granulasi

Penilaian makroskopik:

1. Warna luka bakar,
2. Adanya bula,
3. Tanda-tanda edema,
4. Adanya krusta pada hari ke 4 perlakuan
5. Timbulnya *scar* pada hari ke 14 perlakuan

Saat ini di Indonesia, belum ada data yang membuktikan efek penyembuhan luka bakar deep dermal yang diberikan stem cell (kombinasi PRP + SVFs) dibandingkan dengan perawatan luka moist standar (vaselin).

Hal ini yang melatarbelakangi untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menilai kuantitas penyembuhan luka bakar baik secara mikroskopis maupun secara makroskopis dan menilai kadar protein EGF dalam serum. Dengan tujuan melihat pengaruh EGF terhadap kuantitas penyembuhan luka bakar deep dermal pada model tikus wistar yang di terapi dengan kombinasi PRP + SVFs topikal maupun suntikan.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* topikal mempercepat penyembuhan luka bakar dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus

wistar?

2. Apakah kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* injeksi mempercepat penyembuhan luka bakar dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar?
3. Apakah ada perbedaan kadar serum EGF antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* topikal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar?
4. Apakah ada perbedaan kadar serum EGF antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* injeksi dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs dapat mempercepat proses penyembuhan luka bakar dan hubungannya dengan peningkatan kadar protein EGF dalam serum

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk membuktikan penyembuhan luka bakar *deep dermal* tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs injeksi lebih baik dibandingkan perawatan dengan vaselin.

1. Untuk membuktikan penyembuhan luka bakar *deep dermal* tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs topikal lebih baik dibandingkan perawatan dengan vaselin.
2. Untuk membuktikan bahwa kadar serum EGF lebih tinggi pada yang diberikan kombinasi PRP + SVFs injeksi dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar
3. Untuk membuktikan bahwa kadar serum EGF lebih tinggi pada yang diberikan kombinasi PRP + SVFs topikal dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP + 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; Moenadjat *et al.*, 2013):

- Paparan api
- *Scalds* (air panas)

Terjadi akibat kontak dengan air panas. Semakin kental cairan dan semakin lama waktu kontak, 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 (Moenadjat *et al.*, 2013; Nazzal *et al.*, 2019). 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* (Moss, 2010; Williams, 2011; ANZBA, 2016):

A. Luka Bakar Superficial Dermal

Adalah luka bakar yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan diri sendirisecara spontan dengan cara proses epithelialisasi

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 menyembuh secara cepat (dalam tujuh hari), tanpa meninggalkan jejas berakibat ke kosmetik.

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.

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 reepithelialisation lebih kurang daripada luka bakar yang lebih dalam dan penyembuhan luka bakar secara cepat dan spontan tidak selalu terjadi. Secara klinis, penampilan luka bakar ini ditentukan oleh kerusakan pleksus vaskular dermal yang bervariasi. *Capillary refill time* mungkin lambat, dan edema pada jaringan dan bula akan ada. Area yang terbakar ini biasanya berwarna merah muda gelap daripada luka bakar *superficial dermal*.

C. *Deep Burns*

Luka bakar yang lebih dalam tampak lebih parah dan tidak sembuh secara spontan dengan epitelialisation, atau hanya sembuh setelah jangka waktu yang

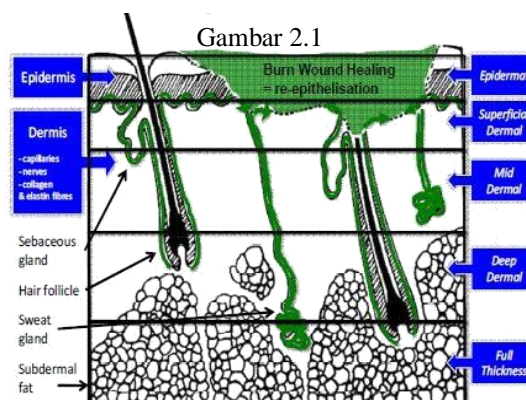
lama dengan jaringan parut yang signifikan. Luka bakar ini terbagi menjadi luka bakar deep dermal dan luka bakar full thickness.

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 ekstravasasi 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*.

2. 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.



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

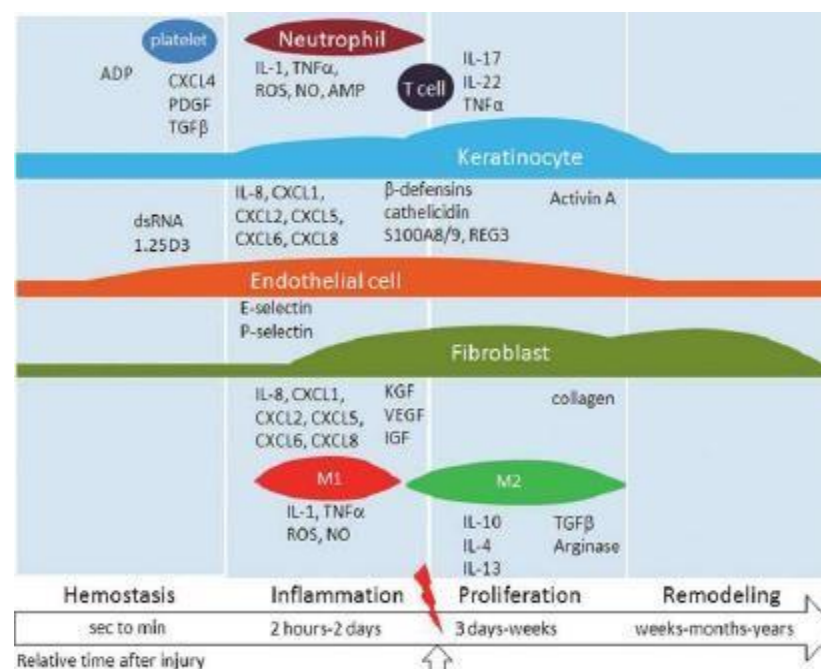
Tabel 2.1 Diagnosis Kedalaman Luka Bakar (ANZBA, 2016)

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 (Rohovsky and D'Amore, 1997). Lebih jauh lagi, riset sebelumnya melibatkan stem sel dan sel progenitor dalam proses penyembuhan luka membutuhkan perspektif yang luas daripada yang satu semata-mata fokus pada kerusakan organ itu sendiri. Penyembuhan luka paling baik dipahami secara menyeluruh sebagai respon organisme terhadap cedera, tanpa melihat apakah lokasinya pada kulit, hati atau jantung (Rohovsky and D'Amore, 1997; Nazzal *et al.*, 2019)

Terdapat dua proses yang penting yang dengan hal ini pembentukan ulang proses homeostasis dapat terjadi. 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 pembentukan yang awalnya tercipta dari 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).



Gambar 2.2 Fase penyembuhan luka (MacLeod and Mansbridge, 2016)

➤ 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 subendothelial terhadap platelet menghasilkan agregasi platelet, degranulasi dan aktivasi koagulasi menghasilkan bekuan fibrin. Granul-granul *platelet- α* melepaskan sejumlah zat kimia seperti platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), platelet-activating factor (PAF), fibronectin dan serotonin. Sebagai tambahan untuk mencapai hemostasis, bekuan fibrin memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi menuju luka seperti *polymorphonuclear leucocytes* (PMNs, neutrofil) dan monosit. PMN adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah pelepasan prostaglandin dan adanya komponen kemotaktik seperti faktor komplemen, interleukin-1 (IL-1), tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), TNF- β , factor platelet-4 atau produk bakteri kesemuanya merangsang migrasi netrofil. Elemen imunseluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi (MacLeod and Mansbridge, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

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

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

➤ 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. (Nauta *et al.*, 2013; MacLeod and Mansbridge, 2016).

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 fibronektin, 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 kontraktile miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal (MacLeod and Mansbridge, 2016; Gillenwater and Garner, 2020).

Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk basic fibroblast growth factor (bFGF), asidic FGF (aFGF), transforming growth factor α - β (TGF α - β) dan epidermal fibroblast growth factor (eFGF). FGF 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 kearah 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)
HA: Hyaluronic acid

➤ Fase Remodeling

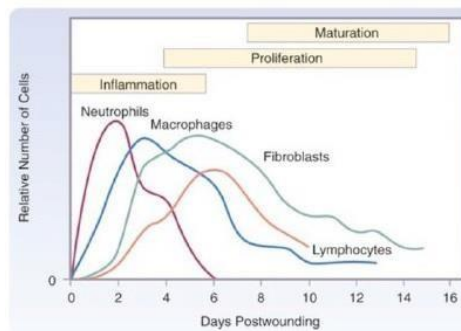
Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang 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. Udem 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 (Rohovsky and D'Amore, 1997; Moenadjat *et al.*, 2013).

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 fibronectin; stromelysin (MMP-3, 10, dan 11), yang beraksi pada berbagai komponen ECM, termasuk proteoglycans, laminin, fibronectin 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 (Witte and Barbul, 1997; Lawrence, 1998; MacLeod and Mansbridge, 2016).

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 (McGee *et al.*, 1988; Lawrence, 1998)



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 proliferasi (Witte and Barbul, 1997).

2.2 Tinjauan Tentang PRP, SVFs, Vaseline dan Kombinasi PRP + 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 (Tohidnezhad *et al.*, 2011). PRP diketahui mengandung 7 macam faktor pertumbuhan yaitu: TGF- β , bFGF, PDGFa, PDGFb, EGF, VEGF (Gentile *et al.*, 2017; Rah *et al.*, 2017). FGF-1 dan FGF-2 adalah promotor proliferasi sel endotel dan organisasi fisik dari sel-sel endotel untuk pembentukan struktur tubuler. Fungsi utama FGF adalah stimulasi proliferasi fibroblast yang menimbulkan granulasi jaringan dan *remodeling* jaringan (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). EGF adalah faktor mitogenic umum yang merangsang proliferasi berbagai jenis sel, terutama fibroblas dan sel-sel epitel melalui jalur reseptor EGF (EGFR) – RAS – MAPK (Kuwada and Li, 2000). EGF juga mempengaruhi sintesis dan perubahan protein dari matriks ekstraseluler, termasuk fibronectin, collagens, laminin, dan glycosaminoglycans (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 (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).

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) (Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *et al.*, 2014).

Luka yang berat seperti luka bakar atau ulkus diabetes merupakan jenis luka yang cukup sulit disembuhkan dan biasanya memberikan hasil yang kurang memuaskan. Dengan PRP sel-sel akan dipacu oleh faktor pertumbuhan untuk diperbaiki lebih cepat sehingga hasilnya akan lebih memuaskan (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, Marchi and Sbarbati, 2009). Banyak ahli ingin mendapatkan berbagai manfaat faktor pertumbuhan dan menggunakan beberapa metode untuk mengekstraksi faktor pertumbuhan tersebut, salah satunya dengan membuat PRP (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *et al.*, 2014; Raposio *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. 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 (Rigotti, Marchi and Sbarbati, 2009; Kim *et al.*, 2014). 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 (Grant *et al.*, 1992; Ghieh *et al.*, 2015).

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

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 mesenchymal dan sel progenitor endotel, subtipe leukosit, sel limfatik, pericytes, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular (Bourin *et al.*, 2013; Comella, Silbert and Parlo, 2017; Darinskas *et al.*, 2017). 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 (Zuk *et al.*, 2002; Darinkas *et al.*, 2017).

Persepsi masyarakat umum tentang jaringan adiposa sebagai organ telah berubah secara dramatis selama 4 dekade terakhir. Meskipun jaringan adiposa telah secara rutin dibuang sebagai limbah medis, ahli bedah plastik dan peneliti lainnya telah mendokumentasikan penggunaan jaringan adiposa sebagai sumber sel stroma multipoten yang melimpah dan dapat diakses untuk pengobatan regeneratif (Zuk *et al.*, 2002). Sejak laporan awal pada akhir 1960-an (Hollenberg CH, 1969), 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). 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 (Josh *et al.*, 2012; Bourin *et al.*, 2013). 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 kondrogenik 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, Mizuno and Pallua, 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 (Gimble, Katz and Bunnell, 2007; Bourin *et al.*, 2013). Metode untuk mengisolasi SVFs menggunakan teknik mekanis dan non enzimatis sedang dikembangkan dan beberapa telah diterapkan dalam praktik klinis. Untuk alasan ini, sekarang saatnya untuk mengembangkan sebuah pernyataan ringkas yang

mendefinisikan karakteristik dan sifat unik dari sel SVFs dan ASCs (Josh *et al.*, 2012; Ferraro, Mizuno and Pallua, 2016).

Jaringan adiposa seperti sumsum tulang berasal dari mesenkim dan terdiri dari stroma yang terpisah secara efektif. Mengingat hal ini, jaringan adiposa dapat mewakili sumber sel punca/stem cell yang memiliki keuntungan luas (Baglioni *et al.*, 2009). Reaksi seluler terhadap luka terutama difasilitasi oleh sel induk mesenchymal yang menghasilkan indikator atau sinyal parakrin dan menginduksi sel induk hematopoietik terdahulu, sel induk folikel dan jaringan epitel untuk berdiferensiasi ke dalam jaringan (Cerqueira, Pirraco and Marques, 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, Halkier-Sorensen and Elias, 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 sebagai (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, hal ini ditunjukkan bahwa PRP mengandung faktor pertumbuhan yang penting untuk proliferasi ASCs. Ada banyak faktor pertumbuhan penting, bFGF, EGF dan trombosit yang diturunkan faktor pertumbuhan, yang merangsang proliferasi sel induk (Van Pham *et al.*, 2013).

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

PRP tidak hanya merangsang proliferasi ASCs tetapi juga menjagapotensi 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 (Liu *et al.*, 2009; Van Pham *et al.*, 2013).

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 embriodini dan dikembangkan sel punca embrio serta berhasil di isolasi sel germinal berasal dari sel dalam jaringan gonad janin (manusia), dan pada tahun 1995 ditemukan sumber sel punca pluripoten (Fu *et al.*, 2006). Penelitian sel punca terus dikembangkan untuk berbagai jenis terapi penyakit khususnya penyakit degeneratif, hingga kini banyak negara 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 (Chieragato *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 (menghantarkan 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 tubuh lainnya seperti sel jantung, otak maupun sel pankreas. Kemampuan ini tidak dipunyai oleh sel-sel jantung, neuron dan pankreas. Itulah sebabnya apabila jaringan dalam jantung, otak, maupun pankreas mengalami kerusakan, maka pada umumnya kerusakan tersebut bersifat irreversible (Cerqueira, Pirraco and

Marques, 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 (Raposio *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):

- **Totipoten**

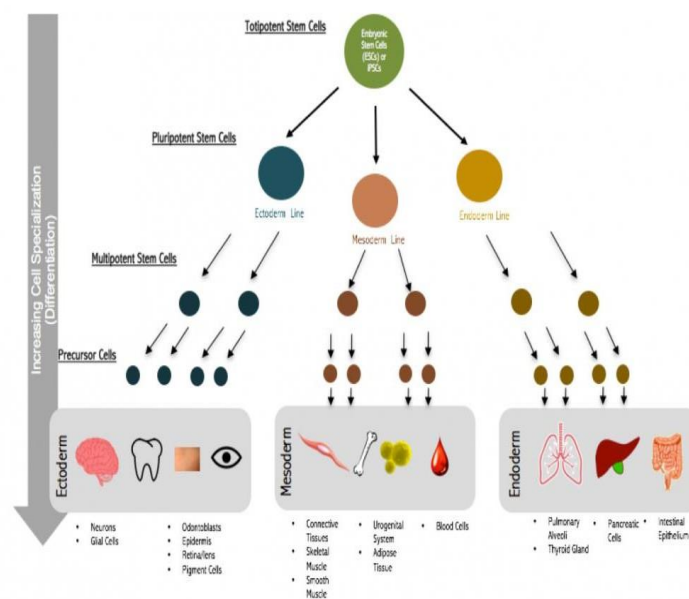
yaitu sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi organ hidup yang lengkap, termasuk dalam golongan ini adalah zigot (telur yang telah dibuahi).

- **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 puncaembryonik.

- **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 50-150 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 menjadi sel jaringan lain selain jaringan asalnya atau disebut sebagai plastisitas atau transdiferensiasi (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. SOP sesuai Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.4 Epidermal Growth Factor (EGF)

2.4.1 Definisi

Adalah polipeptida terdiri dari 53 asam amino yang pertama kali diisolasi dari kelenjar submaxillary 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 (Nexø, Jørgensen and Hansen, 1992; Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015).

2.4.2 Klasifikasi

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

2.4.3 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 specific ganda yang mengurangi sinyal mereka sendiri, menghambat aktivitas EGF (Harris, Chung and Coffey, 2003; Chieragato *et al.*, 2011; Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015). Jalur signaling

yang mengarah ke respon selular yang spesifik:

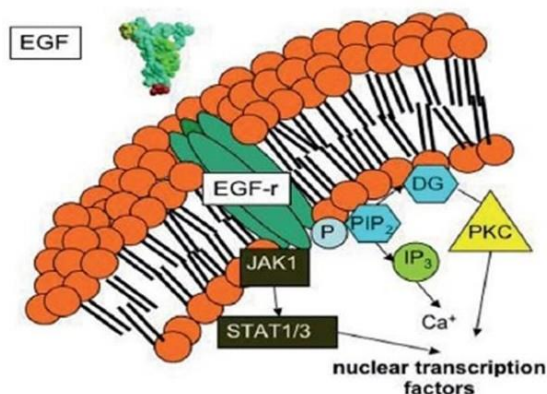
- Jalur RAS/MAP Kinase adalah Serin/Treonina-specific protein kinase yang menanggapi rangsangan ekstraseluler (mitogen) dan mengatur aktivitas selular seperti ekspresi gen, mitosis, differentiation, dan sel survival/apoptosis (Pearson *et al.*, 2001; Yun *et al.*, 2010). Jalur utama sinyal FGF adalah 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 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 fosforiasi substrat ke hilir, termasuk reseptor JAKs dan STATs. STATs yang teraktivasi masukkan 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

EGF awalnya dimurnikan dari Kelenjar submandibula dan parotis (tikus dan manusia), yang berfungsi untuk pemeliharaan dan keutuhan epitel 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) (Venturi and Venturi, 2009; Esquirol Causa and Herrero Vila, 2015). 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 Causa 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) (Tarnuzzer *et al.*, 1997; Hardwicke *et al.*, 2008).



Gambar 2.7 Ligan EGF berikatan pada reseptor EGF dan jalur aktivasi-nya (Hardwicke *et al.*, 2008).

Pada hewan percobaan, pengaplikasian kombinasi faktor pertumbuhan rekombinan menyebabkan peningkatan proliferasi, migrasi sel dan sintesis fibers kolagen tipe I pada fibroblasts kulit, mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan rata-rata re-epithelisasi 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 Causa and Herrero Vila, 2015), yang menanggapi lesi jaringan akut adalah proses yang menguntungkan, hal ini tampaknya untuk mencegah lesi kronik dari penyembuhan luka (Park, Hwang and Yoon, 2017). Pada daerah lesi keratinocytes (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 Causa and Herrero Vila, 2015).