

KARYA AKHIR

**EFEK PEMBERIAN *STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS)* DAN
PLATELET RICH PLASMA (PRP) PADA *VASCULAR ENDOTHELIAL
GROWTH FACTOR (VEGF)* DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

**THE EFFECT OF STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS) AND
PLATELET-RICH PLASMA (PRP) COMBINATION ON THE LEVELS OF
VASCULAR ENDOHTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) SERUM IN
WOUND HEALING ANAL TRAUMATIC IN THE WISTAR RAT MODEL**



IBNUL BARAKAH

C104216207

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

2021

**EFEK PEMBERIAN *STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS)* DAN
PLATELET RICH PLASMA (PRP) PADA *VASCULAR ENDOTHELIAL
GROWTH FACTOR (VEGF)* DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
PADA MODEL TIKUS WISTAR**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter
Spesialis Bedah**

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

IBNUL BARAKAH

C104216207

KARYA AKHIR

Kepada

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

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

EFEK PEMBERIAN *STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFs)*
DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP) PADA
VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)
 DALAM PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS
 PADA MODEL TIKUS WISTAR

Disusun dan diajukan oleh

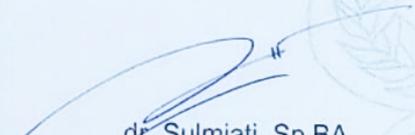
Ibnul Barakah
 C104216207

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian
 yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi
 Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah
 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
 pada tanggal 30 Desember 2021
 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

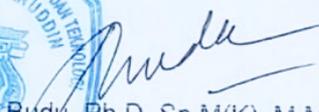

dr. Sulmiati, Sp.BA
 NIP. 19731206 200604 2 007


Dr. dr. Andi Afian Zainuddin, M.KM
 NIP. 19830727 200912 1 005

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran


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


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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ibnul Barakah

Nomor Induk mahasiswa : C104216207

Program studi : Ilmu Bedah

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

Makassar, 20 Desember 2021

Yang menyatakan,



Ibnul Barakah

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa berkat karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan karya akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas kerja keras, bantuan yang tulus, serta semangat dan dukungan yang diberikan pembimbing saya, dr. Sulmiati, SpBA, Dr. dr. Nita Mariana, Sp.BA dan Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM serta Dr. dr. Fonny Josh SpBP-RE (K) B. Mikro, dr. Sachraswaty R. Laidding SpBP-RE, sehingga penulisan karya ini dapat selesai sesuai dengan waktunya.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin; dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D selaku Manajer Program Pasca Sarjana Unhas; serta Prof. dr. Budu, PhD, SP.M (K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas; Dr. dr Irfan Idris, M.Kes. sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi; dan Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) sewaktu menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter

Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Juga kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD, Dr. dr. William Hamdani, SpB(K)Onk dan Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk sebagai Ketua Bagian Ilmu Bedah, saat menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah dan sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri dan profesionalisme yang kuat dalam diri saya.

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

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

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

Ungkapan teristimewa saya haturkan kepada Ibunda Hj. Atika, Hj. Sudarmi, nenek Hj. Raodah, dan kepada istri saya Ayu Mukarrama Aulia yang senantiasa memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan penelitian saya.

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

Makassar, 20 Desember 2021

Yang menyatakan,

Ibnul Barakah

ABSTRAK

IBNUL BARAKAH. *Efek Pemberian Stromal Vascular Fraction (SVF) dan Platelet Rich Plasma (PRP) pada Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dalam Penyembuhan Trauma Anus pada Model Tikus Wistar (dibimbing oleh Sulmiati, Nita Mariana, dan Andi Alfian Zainuddin).*

Penelitian ini bertujuan efektivitas kombinasi injeksi SVF dan PRP terhadap kadar VEGF serum pada model trauma tikus wistar. Sebanyak 28 tikus wistar dewasa dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu: kelompok A dan B diberikan perlakuan trauma anus dan perbaikan. Kelompok A mendapat terapi kombinasi SVF dan PRP, kelompok B hanya diberikan perawatan cairan natrium klorida 0,9%. Pada kelompok A dan B kadar VEGF serum diukur pada hari pertama, ketujuh, dan keempat belas. Kelompok C adalah kelompok kontrol sehat, yang dikorbankan pada hari nol untuk data dasar kadar VEGF serum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dan rata-rata kadar VEGF pada kelompok intervensi terhadap kelompok kontrol pada hari ke-1 ($71,87 \pm 3,33$ vs $62,51 \pm 3,28$ $p=0,027$) dan hari ke-7 ($69,61 \pm 1,77$ vs $62,48 \pm 2,70$. $P=0,027$) dan hari ke-14 ($74,09 \pm 4,94$ vs $58,02 \pm 3,63$ $p=0,027$) Pemberian kombinasi *Stromal Vascular Fraction (SVF)* dan *platelet rich plasma (PRP)*, efektif dalam meningkatkan kadar *vascular endothelial growth factor (VEGF)* penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar .

Kata kunci: SVF, PRP, VEGF, Trauma, Penyembuhan Luka.



ABSTRACT

IBNUL BARAKAH. The effect of stromal vascular fraction (SVF) and platelet rich plasma (PRP) administration on vascular endothelial growth factor (VEGF) in anal trauma healing in wistar rat model (supervised by Sulmiati, Nita Mariana and Andi Alfian Zainuddin).

The research aims at assessing the administration effectiveness of SVF and PRP local injection combination on VEGF serum content in the anal trauma of the wistar rats. Twenty-eight adult wistar rats were divided into three groups. Groups A and B were given the anal trauma treatment and repair, group A got the therapy of SVF and PRP local injection combination, group B was only treated with 0.9% chloride natrium liquid. For groups A and B, VEGF serum content was measured on the first, seventh, and fourteenth days. Group C was the healthy control group being sacrificed on the zero day for the baseline data of VEGF serum content. The research result indicates that there is the significant difference of the mean VEGF serum content between the intervention group and control group on the first day (71.87 ± 3.33 vs 62.51 ± 3.28 , $p=0.027$), seventh day (69.61 ± 1.77 vs 62.48 ± 2.70 , $p=0.027$), and fourteenth day (74.09 ± 4.94 vs 58.02 ± 3.63 , $p=0.027$). The administration of the stromal vascular fraction (SVF) and platelet rich plasma (PRP) combination is effective to increase the vascular endothelial growth factor (VEGF) serum content during the anal trauma healing in the wistar rat model.

Key words: SVF, PRP, VEGF, anal trauma, wound healing



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
KARYA AKHIR	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR BAGAN	xvi
DAFTAR GRAFIK	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4

BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	5
	2.1 Trauma Anus	5
	2.1.1 Etiopatofisiologi	6
	2.1.2 Epidemiologi	7
	2.1.3 Diagnosis	8
	2.1.4 Pemeriksaan Penunjang	9
	2.1.5 Tatalaksana	10
	2.1.6 Proses Penyembuhan Luka	11
	2.2 <i>Platelet Rich Plasma (PRP) dan Stromal Vascular Fraction (SVFs)</i>	17
	2.2.1 <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i>	17
	2.2.2 <i>Stromal Vascular Fraction (SVFs)</i>	23
	2.3 <i>Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i>	29
	2.3.1 Definisi	29
	2.3.2 Reseptor VEGF	29
	2.3.3 Kalsifikasi VEGF	32
	2.4 Kerangka Teori	36
	2.5 Kerangka Konsep	37
	2.6 Hipotesis	37
BAB III	METODE PENELITIAN	38
	3.1 Rancangan Penelitian	38
	3.2 Lokasi dan Waktu	38
	3.3 Populasi dan Teknik Sampel	38

3.3.1 Metode Penarikan Sampel	39
3.3.2 Proses Penelitian	40
3.3.2.1 Preparasi Sampel	40
3.3.2.2 Preparasi Platelet Rich Plasma (PRP) ..	42
3.3.2.3 Preparasi <i>Stromal Vascular Fraction</i> (SVFs)	42
3.3.2.4 Preparasi PRP +SVFs	43
3.3.2.5 Perlakuan Sampel	43
3.3.2.6 Cara Sacrifice	45
3.4 Kriteria Inklusi dan Eklusi	46
3.4.1 Kriteria Inklusi	46
3.4.2 Kriteria Eklusi	46
3.5 Definisi Operasional	46
3.5.1 Trauma Anus	46
3.5.2 <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i>	46
3.5.3 <i>Stromal Vascular Fraction cell (SVFs)</i>	47
3.5.4 Faktor pertumbuhan endotel vaskuler (VEGF) ...	47
3.6 Instrumen Pengumpulan Data	47
3.7 Metode Pemeriksaan	50
3.8 Alur Penelitian	51
3.9 Analisa Data	51
3.10 Ethical Clearance.....	52

Bab IV HASIL PENELITIAN.....	52
4.1 Hasil Penelitian	52
4.2 Pembahasan.....	56
4.3 Kelemahan Dan Kekuatan Penelitian	61
Bab V Penutup	63
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rerata kadar VEGF setiap kelompok pada hari 1, 7 dan 14	52
Tabel 2. Perbandingan kadar rata-rata kadar VEGF secara keseluruhan	54
Tabel 3. Perbandingan kadar VEGF pada kelompok kontrol, tanpa terapi, dan dengan terapi berdasarkan hari pengamatan.	54
Tabel 4. Post Hoc Test Bonferonni H7 dan H14	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Trauma Anus	5
Gambar 2 Patofisiologi Trauma Anus	7
Gambar 3 Gambar darah setelah disentrifugasi untuk memperoleh PRP	21
Gambar 4 Mekanisme SVFs dalam menyembuhkan luka	24
Gambar 5 Pemerosesan lipoaspirate secara manual untuk menghasilkan SVFs	28
Gambar 6 Proses preparasi Donor SVFs	45

DAFTAR BAGAN

Bagan 1. Kerangka Teori Penelitian	36
Bagan 2. Kerangka Konsep Penelitian	37
Bagan 3. Alur Penelitian	51

DAFTAR GRAFIK

Grafik boxplot . Perbandingan rerata kadar VEGF setiap kelompok pada	
hari 1, 7 dan 14	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Pembimbing Karya Akhir Bagi Mahasiswa	68
Lampiran 2	Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Tentang Pengangkatan Penguji Seminar Usul Dan Hasil Penelitian	69
Lampiran 3	Rekomendasi Persetujuan Etik	70
Lampiran 4	Hasil Analisa Statistik	71

DAFTAR SINGKATAN

AAST	= American Association for The Surgery of Trauma
ADSC	= Adiposed Derived Stem Cell
ATLS	= Advanced Trauma Life Support
BM-MSC	= Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell
COX	= Cyclooxygenase
CT scan	= Computed-tomography scan
DRE	= Digital Rectal Examination
EAS	= Externa Ani Sfingter
EAUS	= Endo Anal Ultra Sonography
ECM	= Extracellular Matrix
EDTA	= Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EFT	= Extra Fetal Tissue
EGF	= Epidermal Growth Factor
ELISA	= Enzyme-linked Immunosorbent Assay
HSC	= Hematopoietic Stem Cell
IAS	= Interna Ani Sfingter
ICAM	= Intercellular Adhesion Moleccular
IFN- γ	= Interferon- γ
IL-2	= Interleukin-2
GFs	= Platelet Rich Growth Factor
MAPK	= Mitogen-activated Protein Kinase
MAPKK	= Mitogen-activated Protein Kinase Kinase
MCP-1	= Monocyte Chemoattractant Protein-1
MEK	= MAPK-ERK Kinase
MMP	= Matrix Metalloproteinase
MSC	= Mesenchymal Stem Cell
PDGF	= Platelet-derived Growth Factor
PPP	= Platelet-poor Plasma
PRF	= Platelet-rich Fibrin
PRP	= Platelet-rich Plasma
PNTML	= Pudendal Neuro Terminal Motor Latention
STAT	= Signal Transducer and Activator of Transcription
SVF	= Stromal Vascular Fraction
S3	= Sacral 3
TNF-a	= Tumor Necrosis Factor-a
VEGF	= Vascular Endothelial Growth Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Trauma anus pada anak merupakan kasus yang jarang dengan insiden global diperkirakan hanya 11%. Walaupun kasus yang jarang, trauma pada anus memiliki tantangan tersendiri dalam tatalaksananya untuk mencegah perburukan dan morbiditas. Tatalaksana dan perawatan luka yang tepat dapat mengurangi risiko perdarahan, infeksi dan pembentukan fistul. (Altomare *et al.*, 2011)

Salah satu faktor penting dalam penyembuhan luka adalah neovaskularisasi atau angiogenesis yang melibatkan pertumbuhan kapiler baru untuk membentuk jaringan granulasi. Hipoksia merupakan keadaan yang menstimulasi proses angiogenesis pada saat proses penyembuhan luka. Perbedaan gradien hipoksia antara jaringan yang cedera dan jaringan yang sehat memicu produksi VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). VEGF merupakan mitogen spesifik sel endotel vaskular yang merangsang proliferasi sel endotel, permeabilitas mikrovaskular dan mengatur beberapa reseptor integrin endotel selama proses angiogenesis. (Primo *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2015)

Beberapa teknologi telah dikembangkan dalam mempercepat penyembuhan luka dan angiogenesis. Terapi sel punca telah muncul sebagai pilihan terapi yang menarik dalam penyembuhan dan

perawatan luka. Salah satu sumber sel punca terbanyak dan sumber yang tergolong mudah didapatkan berasal dari jaringan adiposa. *Stromal Vascular Fraction* (SVF) merupakan preparat sel punca dari jaringan adiposa yang mampu berdiferensiasi, menstimulasi pengeluaran sitokin anti-inflamasi, dan agen angiogenesis seperti VEGF, TGF dan agen kemotaksis lain yang berperan penting dalam penyembuhan luka. (Yin *et al.*, 2021; Zhang and Chae, 2022)

Selain SVF, agen lain yang memiliki peran dalam hemostasis adalah PRP (*Platelet rich plasma*). PRP merupakan autologous platelet yang mengandung banyak faktor pertumbuhan, termasuk VEGF, HGF, bFGF, EGF, TGF- β , IGF-1, dan PDGF yang merangsang proliferasi sel dan angiogenesis selama proses penyembuhan luka. Penggunaan PRP kombinasi sel punca mendorong efektivitas terapi sel punca seperti SVF dibandingkan tanpa menggunakan PRP. (Hosny *et al.*, 2015; Alves and Grimalt, 2018b)

Studi yang dilakukan Sirowanto *et al* melaporkan penggunaan kombinasi PRP+SVF mampu meningkatkan kadar EGF (Epidermal Growth Factor) pada trauma anus. Dalam studi lain yang dilakukan oleh Josh, *et al.* melaporkan kombinasi SVF dan PRP berkontribusi dalam menghambat respon lokal pada luka bakar dengan mengurangi kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan NO (*Nitric Oxide*). (Josh *et al.*, 2012; Sirowanto *et al.*, 2021)

Saat ini, masih sedikit literatur baik di Indonesia maupun di dunia yang membahas mengenai kombinasi pemberian PRP dan SVF pada kasus trauma anus. Pada penelitian yang mendeskripsikan efek pemberian SVF dan PRP dalam penyembuhan luka trauma anus oleh Sirowanto, Josh dan Alfian (2021), namun yang diteliti adalah kadar *epidermal growth factor* (EGF) serum; penelitian yang menilai kadar VEGF serum pada model penelitian ini belum ada. Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk menilai efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVF pada kasus trauma anus, dengan menggunakan VEGF sebagai indikator perbaikan mukosa yang dapat diukur (Karina et al., 2019).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut: Bagaimanakah efek pemberian *stromal vascular fraction* (SVFS) dan *platelet rich plasma* (PRP) pada *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas pemberian *stromal vascular fraction* (SVFS) dan *platelet rich plasma* (PRP) pada *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam penyembuhan trauma anus pada model tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui kombinasi *stromal vascular fraction* (SVFS) dan *platelet rich plasma* (PRP) pada *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam penyembuhan trauma anus tikus wistar pada hari ke satu (1) , ke tujuh (7) dan ke empat belas (14).

1.4 Manfaat Penelitian

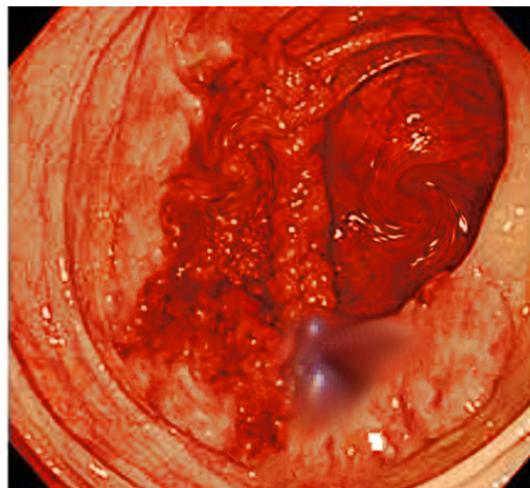
1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP dan SVFs untuk mempercepat proses penyembuhan trauma anus.
2. Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan trauma anus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Trauma Anus

Trauma anus didefinisikan sebagai disrupsi yang terjadi pada anus (paling sering spinchter anus yang disebabkan oleh trauma tumpul dan penetrans pada perineum (Karadimos dkk, 2019). Trauma pada anus memiliki insiden yang cukup rendah yaitu sekitar 0,1-0,5% dan managemennya diinformasikan dari pengalaman militer dalam menangani cedera penetrans. Penanganan operatif cedera anus adalah dengan 4D (jahit primer, deversi, rectal wash-out, drainase presacral) dengan diversi proximal menjadi pilihan terapi. Kebanyakan dari populasi mengalami cedera penetrans pada rectum dan lebi dari $\frac{1}{2}$ kasus berasal dari extraperitoneal. Hampir $\frac{3}{4}$ kasus adalah low grade (I-II) dan insidens yang lebih banyak yang berhubungan dengan cedera abdomen dan pelvix. (Brown, 2018)

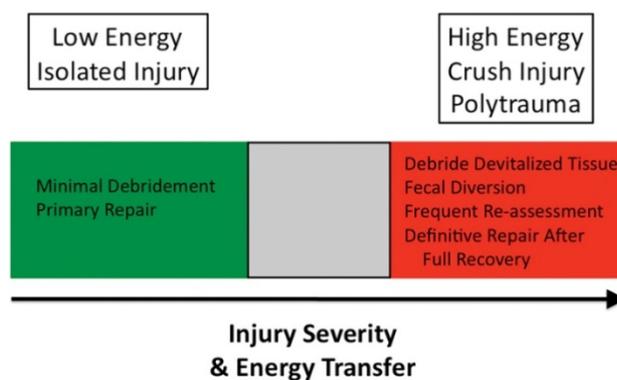


Gambar 1. Trauma anus(Mark, 2020)

2.1.1 Etiopatofisiologi

Panjang rectum sekitar 15 cm. rectum terdiri dari bagian intraperitoneal yang terdiri dari 2/3 anterior dan di atas 1/3 lateral. 1/3 distal peritoneum terletak di extraperitoneal. Suplai darah berasal dari cabang hemoroidal superior dari arteri mesenterica inferior, arteri hemoroida superior cabang dari arteri iliaca interna and inferior hemoroid cabang dari arteri pudenda eksterna. Keputusan tatalaksana dari pasien cedera rectal bergantung apakah intra dan ekstra peritoneal dan pembagian cedera rectum berdasarkan American Association for Surgery of Trauma (Mahan et al., 2017).

Tipe cedera anus dan perineal berdasarkan energi dibedakan atas trauma, terisolasi dan atau energi rendah yang hanya mengenai sphinter ani yang menyebabkan cedera kompleks akibat dari tipe poli trauma dengan energi tinggi (Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).



Gambar 2. Patofisiologi trauma anus
(Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018)

Robertson dkk, mengklasifikasikan penyebab (etiologi) trauma anus kedalam 6 subgrup, yaitu(Ahern *et al.*, 2017):

- a. Luka tembak
- b. Impalement mayor
- c. Impalement minor
- d. Iatrogenik
- e. Trauma tumpul
- f. Trauma benda asing

2.1.2 Epidemiologi

Trauma anus biasanya ditemukan bersamaan dengan trauma pelvis, khususnya pada trauma tumpul(Herzig, 2012). Cedera perineum terisolasi diidentifikasi pada 5,4% pasien, paling sering ke saluran urogenital, sebagai lawan dari kompleks anosfingterik. Untuk cedera perineum terisolasi, angka kematian mendekati 18%, sedangkan cedera pelviperineal kompleks memiliki angka kematian hingga 70%. pada wanita primipara, 35% mengalami defek sfingter anal pada endosonografi rutin pada minggu ke-6. Selanjutnya, pada wanita dengan inkontinensia fekal yang persisten atau onset lambat setelah persalinan pervaginam, sebanyak 90% wanita mengalami defek pada sfingter ani eksternal (EAS) dan 65% pada sfingter ani internal (IAS)(Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).

2.1.3 Diagnosis

Anamnesis

Setelah pasien pulih dan mendapatkan kembali kemampuan untuk buang air kecil, penanganan definitif untuk trauma anus dapat dipertimbangkan. Derajat cedera sfingter ani dapat dinilai dengan lebih akurat setelah perineum dibiarkan sembuh sepenuhnya, karena jaringan parut yang substansial dapat mengubah fungsi sfingter ani. Pada awal evaluasi, penilaian fungsi usus dan kontinensia pasien sebelumnya sangat membantu dalam mengidentifikasi patologi tambahan yang tidak terkait dengan indeks trauma (Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).

Pemeriksaan Fisis

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

2.1.4 Pemeriksaan Penunjang

Manometri anorektal

Manometri anorektal adalah salah satu alat paling efektif yang tersedia untuk mengevaluasi berbagai parameter buang air besar secara fungsional, termasuk aktivitas terkoordinasi rektoanal. Manometri paling baik digunakan setelah cedera akut teratasi. Komponen utama yang berkontribusi pada tonus istirahat anal adalah aktivitas IAS, dan, secara umum, gejala inkontinensia fekal pasif berkorelasi dengan tonus anus istirahat yang rendah. Namun, pasien dengan tekanan basal yang sangat

rendah mungkin mengalami kontinensia total dan, sebaliknya, pasien dengan tonus istirahat tinggi mungkin mengalami inkontinensia yang signifikan. Di sisi lain, tekanan kontraksi dikaitkan terutama dengan fungsi EAS, serta sling puborectalis. Pencekikan kontraksi diukur dalam hal nilai maksimal, serta durasi kontraksi berkelanjutan (Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).

Latensi Saraf Pudendal

Nervus pudendus terdiri dari jalur aferen dan eferen, terutama yang menginervasi EAS. Secara fungsional, latensi motor terminal saraf pudendal (PNTML) adalah pengukuran waktu konduksi dari stimulasi saraf pudendal setinggi vertebra iskia hingga kontraksi EAS. Latensi berkepanjangan digunakan sebagai penanda adanya cedera saraf pudendal. Sebelum munculnya USG endoanal (EAUS), sebagian besar kasus inkontinensia fekal neurogenik dikaitkan dengan cedera saraf pudendal. Sekarang diketahui bahwa, pada kenyataannya, kerusakan struktural pada sfingter daripada neuropati pudendal adalah penyebab yang mendasari pada kebanyakan pasien (Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).

Pencitraan Anus

Karena berkaitan dengan kompleks sfingter, EAUS (dengan probe 2D atau 3D) adalah modalitas yang lebih disukai untuk mengevaluasi anatomi sfingter anal. Probe dimasukkan ke dalam lubang anus hingga setinggi otot puborectalis, dan kemudian dipindai secara distal, sampai pita sfingter internal menghilang dan sfingter eksterna distal dicitrakan ke ujungnya. Trauma pada IAS atau EAS menyebabkan penggantian serat

otot yang pecah dengan jaringan granulasi dan fibrosis berikutnya. Pemeriksaan ini dapat mendefinisikan area cacat sfingter dan memberikan informasi yang sangat berharga untuk memandu perbaikan bedah (Jeganathan, Cannon and Bleier, 2018).

2.1.5 Tatalaksana

Penangan awal

Tatalaksana trauma rektal berbasis bukti diformulasikan berdasarkan anatomi dan fisiologi. Secara fisiologis pasien dengan hemodinamik stabil dan tidak stabil dengan perdarahan yang massif, asidosis, hyponatremia dan coagulopati. Pasien akan segera ke kamar operasi dan menjalani operasi. Skenario ini tidak jarang terjadi pada trauma rectal karena etiologinya 85% dari luka tembak biasanya sekunder dari fraktur pelvis open book, Pasien ini akan fokus pada Seluruh pasien anal trauma pada awalnya harus diterapi dengan prinsip *Advanced Trauma Life Support (ATLS)* dimana pasien harus diresusitasi dan stabilisasi sebelum melakukan pemeriksaan lebih lanjut (Mahan Mark et al., 2016).

Pembedahan

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

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

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

2.1.6 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka memiliki proses psikologis untuk mempertahankan keutuhan kulit setelah trauma, baik karena proses kecelakaan maupun proses yang disengaja. Penyembuhan luka normal memiliki 3 tahap mulai dari fase inflamasi atau hemostasis, fase proliferasi dan remodelling(Wang, 2018).

a.) Hemostasis

Hemostasis merupakan respon awal tubuh terhadap luka yang terjadi. Pembuluh darah yang rusak dengan cepat melakukan vasokonstriksi. Dalam beberapa menit, jaringan akan mengalami hipoksia dan asidosis. Keadaan ini akan mempromosikan produksi oksida nitrat, adenosin dan metabolit vasoaktif lainnya menyebabkan vasodilatasi refleks dan relaksasi pembuluh arteri. Pada saat yang bersamaan, pelepasan histamin dari sel mast juga terjadi untuk

meningkatkan vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas vaskular, memfasilitasi masuknya sel-sel inflamasi ke dalam ruang ekstraseluler di sekitar luka. Keadaan inilah yang menjelaskan karakteristik hangat, merah, penampilan bengkak di awal luka (Young, 2017).

Kehilangan darah lebih lanjut pada tahap ini juga dicegah melalui pembentukan gumpalan darah yang dicapai melalui tiga mekanisme kunci:

- Jalur intrinsik dari kaskade pembekuan (jalur aktivasi kontak)

Kerusakan endotel akibat cedera jaringan mengekspos jaringan sub-endotel ke darah sehingga terjadi aktivasi faktor XII (faktor Hageman). Hal ini akan menginisiasi kaskade pembelahan proteolitik dalam menghasilkan aktivasi faktor X yang mengubah protrombin menjadi thrombin mengakibatkan konversi fibrinogen menjadi fibrin dan pembentukan *plug* fibrin (Young, 2017).

- Jalur ekstrinsik kaskade pembekuan (jalur faktor jaringan)

Kerusakan endotel mengakibatkan terpajannya faktor jaringan (yang ada di sebagian besar sel) ke sirkulasi darah. Hal ini menghasilkan aktivasi faktor VII dan jalur ekstrinsik lainnya dari kaskade koagulasi yang akhirnya menghasilkan aktivasi trombin (Young, 2017).

- Aktivasi platelet

Dalam hemostasis dan thrombosis, ada peningkatan jumlah penelitian yang mengindikasikan platelet memegang peran integral dan

komunikasi interseluler, memediasi inflamasi, dan aktivitas imunomodulator (Yung dkk, 2016).

Platelet merupakan fragmen megakaryosit yang tidak berinti. Platelet memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka. Platelet tidak hanya penting untuk pembentukan gumpalan, tetapi juga menghasilkan berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang terus meregulasi kaskade penyembuhan. Lebih dari 300 molekul sitokin telah diisolasi dari platelet teraktivasi, yang memengaruhi dan memodulasi fungsi platelet lain, leukosit dan sel endotel (Young, 2017).

Selain faktor-faktor ini, sebagai respons membran sel yang luka akibat stimulus yang terluka, asam arachidonic dipecah menjadi sejumlah molekul sitokin kuat seperti prostaglandin, leukotrien, dan tromboxan yang memiliki peran dalam merangsang respon inflamasi (Young, 2017).

Inflamasi

Reaksi inflamasi adalah respon fisiologis normal tubuh dalam mengatasi luka. Inflamasi ditandai oleh rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), calor (hangat), dan dolor (nyeri). Tujuan dari reaksi inflamasi ini adalah untuk membunuh bakteri yang mengkontaminasi luka (Suryadi et al., 2016).

Pada awal terjadinya luka terjadi vasokonstriksi lokal pada arteri dan kapiler untuk membantu menghentikan pendarahan. Proses ini dimediasi oleh epinephrin, norepinephrin dan prostaglandin yang dikeluarkan oleh sel yang cedera. Setelah 10 – 15 menit pembuluh darah

akan mengalami vasodilatasi yang dimediasi oleh serotonin, histamin, kinin, prostaglandin, leukotriene dan produk endotel. Hal ini yang Hal ini yang menyebabkan lokasi luka tampak merah dan hangat (Suryadi et al., 2016).

Sel mast yang terdapat pada permukaan endotel mengeluarkan histamin dan serotonin yang menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler. Hal ini mengakibatkan plasma keluar dari intravaskuler ke ekstrasvaskuler.⁵ Leukosit berpindah ke jaringan yang luka melalui proses aktif yaitu diapedesis. Proses ini dimulai dengan leukosit menempel pada sel endotel yang melapisi kapiler dimediasi oleh selectin. Kemudian leukosit semakin melekat akibat integrin yang terdapat pada permukaan leukosit dengan intercellular adhesion molecular (ICAM) pada sel endotel. Leukosit kemudian berpindah secara aktif dari sel endotel ke jaringan yang luka (Suryadi et., 2016).

Agen kemotaktik seperti produk bakteri, complement factor, histamin, PGE₂, leukotriene dan platelet derived growth factor (PDGF) menstimulasi leukosit untuk berpindah dari sel endotel. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil. Sel ini membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis. Netrofil juga mengeluarkan protease untuk mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa. Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati. Meskipun neutrofil memiliki peran dalam mencegah infeksi, keberadaan neutrofil yang persisten pada luka dapat

menyebabkan luka sulit untuk mengalami proses penyembuhan. Hal ini bisa menyebabkan luka akut berprogresi menjadi luka kronis (Suryadi et al., 2016).

Pada hari kedua / ketiga luka, monosit / makrofag masuk ke dalam luka melalui mediasi monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Makrofag sebagai sel yang sangat penting dalam penyembuhan luka memiliki fungsi fagositosis bakteri dan jaringan mati. Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan penting untuk membuang material asing, merangsang pergerakan sel, dan mengatur pergantian ECM. Makrofag merupakan penghasil sitokin dan growth factor yang menstimulasi proliferasi fibroblast, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Suryadi et al., 2016).

Limfosit T muncul secara signifikan pada hari kelima luka sampai hari ketujuh. Limfosit mempengaruhi fibroblast dengan menghasilkan sitokin, seperti IL-2 dan fibroblast activating factor. Limfosit T juga menghasilkan interferon- γ (IFN- γ), yang menstimulasi makrofag untuk mengeluarkan sitokin seperti IL-1 dan TNF- α . Sel T memiliki peran dalam penyembuhan luka kronis (Suryadi et al., 2016).

b.) Proliferasi

Proliferasi memegang peran penting mulai dari proses reepitelisasi, angiogenesis, lalu sintesis kolagen dan pembentukan matrix ekstraseluler (ECM) (Guo S. et al., 2010).

Tahap proliferasi terjadi secara simultan dengan tahap migrasi dan proliferasi sel basal, yang terjadi selama 2- 3 hari. Tahap proliferasi terdiri dari neoangiogenesis, pembentukan jaringan yang tergranulasi, dan epitelisasi kembali.¹⁰ Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler dan limfatik ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblas dan memberikan kekuatan pada kulit. Sel epitel kemudian mengeras dan memberikan waktu untuk kolagen memperbaiki jaringan yang luka. Proliferasi dari fibroblas dan sintesis kolagen berlangsung selama dua minggu. Tahap maturasi berkembang dengan pembentukan jaringan penghubung selular dan penguatan epitel baru yang ditentukan oleh besarnya luka. Jaringan granular selular berubah menjadi massa aselular dalam waktu beberapa bulan sampai 2 tahun (Purnama et al., 2017).

c.) Remodelling

Dalam kebanyakan pengaturan klinis, penutupan luka akut dan kronis dianggap sebagai titik akhir penyembuhan luka, tetapi luka dapat terus mengalami remodeling atau kerusakan jaringan selama beberapa bulan atau bahkan tahun. Tahap terakhir dari penyembuhan luka ini pada akhirnya menentukan apakah jaringan parut akan terjadi atau luka akan kambuh. Fase renovasi terdiri dari regresi neovaskulatur, serta deposisi periodik ke ECM dan rekonstitusi jaringan granulasi ke jaringan parut. Jaringan granulasi sebagian besar terdiri dari kolagen III, yang sebagian digantikan oleh kolagen I

yang lebih kuat saat renovasi luka berlangsung. Proses ini merupakan hasil sintesis kolagen I dan lisis kolagen III secara bersamaan, yang diikuti dengan reorganisasi ECM (Rodrigues et al., 2019).

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

2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet Rich Plasma (PRP) juga dikenal sebagai faktor pertumbuhan trombosit (GF), matriks fibrin trombosit (PRF), dan konsentrat trombosit. PRP merupakan produk biologis yang didefinisikan sebagai bagian dari fraksi plasma darah autologus dengan konsentrasi trombosit di atas nilai ambang (sebelum sentrifugasi)(Alves and Grimalt, 2016, 2018a). Dengan demikian, PRP tidak hanya mengandung trombosit tingkat tinggi tetapi juga komplemen penuh faktor pembekuan di atas kadar fisiologis normalnya. PRP diperkaya oleh berbagai GF, kemokin, sitokin dan protein plasma lainnya(Lynch and Bashir, 2016; Alves and Grimalt, 2018a).

PRP diperoleh dari darah pasien yang sentrifugasi. Setelah sentrifugasi komponen darah (sel darah merah, PRP, dan plasma miskin trombosit [PPP]) akan berpisah mengikuti gradien kepadatan yang berbeda. Selain konsentrasi trombosit yang lebih tinggi di dalam PRP, terdapat juga parameter lain yang perlu dipertimbangkan, seperti ada atau tidaknya serta aktivasi leukosit. Hal ini akan menentukan jenis PRP yang digunakan dalam berbagai patologi(Alves and Grimalt, 2018a).

Seperti yang dikatakan sebelumnya, PRP telah digunakan secara luas dalam bidang kedokteran untuk penyembuhan luka. Granula alfa-platelet menyekresikan faktor pertumbuhan yang mampu memodulasi fungsi sel. Secara khusus, faktor pertumbuhan secara langsung berkaitan dengan domain reseptor transmembran ekstraseluler untuk melakukan transduksi sinyal sekunder pada kontrol biologi subseluler (Amaro, Pérez and Robaina, 2018).

PRP disiapkan melalui sebuah proses yang dikenal sebagai sentrifugasi diferensial, di mana percepatan kekuatan disesuaikan dengan konstituen sedimen seluler tertentu berdasarkan gravitasi spesifik yang berbeda (Dhurat and Sukesh, 2014).

Terdapat 2 teknik pengambilan PRP (Alves R, 2016; Alves and Grimalt, 2018a):

1. Teknik terbuka: produk terpapar lingkungan area kerja dan bersentuhan dengan berbagai bahan yang harus digunakan untuk produksi, seperti pipet atau produk tabung koagulan. Dalam pemrosesan darah untuk mendapatkan PRP dengan teknik terbuka, harus dijamin bahwa produk tidak terkontaminasi selama penanganan mikrobiologis.
2. Teknik tertutup: melibatkan penggunaan perangkat komersial dengan tanda CE (termasuk peralatan dan aplikasi sentifuge) di mana produk tidak terpapar ke lingkungan.

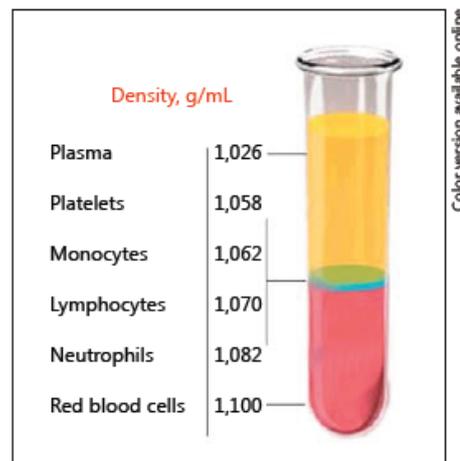
Beberapa perangkat medis CE tersedia untuk produksi PRP autologous. Sebagian besar dari mereka termasuk dalam salah satu dari 3 jenis perangkat berikut(Alves R, 2016):

1. Darah diperoleh dengan tabung yang mengandung antikoagulan, dan tabung ini dapat digunakan untuk semua jenis sentrifus.
2. Alat kesehatan yang dengannya darah dikumpulkan dengan tabung yang sudah mengandung antikoagulan; sentrifugasi kemudian dapat dibuat dalam segala jenis sentrifus.
3. Alat kesehatan yang dengannya darah dikumpulkan sebuah jarum suntik yang sebelumnya diisi dengan antikoagulan; biasanya, darah ditransfer ke perangkat sekunder yang bentuknya mengahruskan penggunaan sentrifuge yang disediakan oleh pabrikan yang sama.

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

Setelah sentrifugasi, tabung menunjukkan 3 lapisan dasar: pada bagian bawah tabung terdapat sel darah merah dengan leukosit; lapisan tengah mengandung PRP; lapisan paling atas mengandung PPP. PPP kemudian dibuang, dan PRP diperoleh(Arshdeep and Kumaran, 2014).

Trombin dan kalsium klorida, yang merupakan penginduksi agregasi, digunakan dengan tujuan untuk mengaktifkan trombosit dan merangsang degranulasi, menyebabkan pelepasan factor pertumbuhan dari platelet (Alves and Grimalt, 2018a).



Gambar 3 Gambar darah setelah disentrifugasi untuk memperoleh PRP (Alves and Grimalt, 2018a)

Pada tahun 2009, Dohan Ehrenfest dkk. mengusulkan klasifikasi PRP menjadi 4 bagian utama berdasarkan (1) tidak adanya konten sel (seperti leukosit) dan (2) arsitektur fibrin (Alves and Grimalt, 2018a):

1. PRP murni atau PRP miskin leukosit: preparat diperoleh tanpa leukosit dan menunjukkan kepadatan rendah jaringan fibrin setelah aktivasi.
2. Leukosit dan PRP: preparat mengandung leukosit dan menunjukkan jaringan fibrin densitas rendah setelah aktivasi.
3. Platelet kaya factor (*Platelete Rich Factor/PRF*) murni atau PRF miskin-leukosit: preparat tanpa leukosit dan dengan jaringan fibrin densitas tinggi. Tidak seperti PRP murni atau PRP yang mengandung

leukosit, produk-produk ini tidak dapat disuntikkan dan hanya ditemukan dalam bentuk gel.

4. Fibrin kaya leukosit dan PRF: produk adalah preparat dengan leukosit dan dengan fibrin densitas tinggi.

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

Pada 2016, Magalon dkk. mengusulkan klasifikasi DEPA (Dosis, Efisiensi, Kemurnian, Aktivasi) yang berfokus pada jumlah trombosit yang diperoleh oleh kit PRP serta kemurnian produk dan aktivasi platelet sebelum injeksi(Magalon *et al.*, 2016).

Klasifikasi DEPA didasarkan pada 4 komponen berbeda(Magalon *et al.*, 2016):

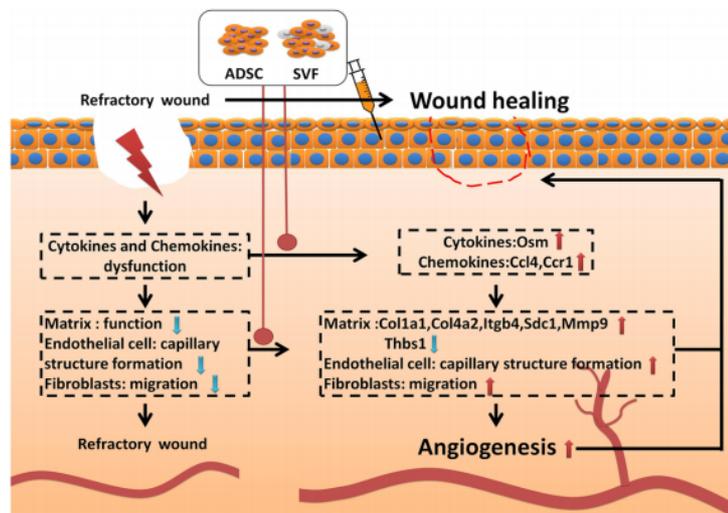
- a. Dosis trombosit yang disuntikkan: dihitung dengan mengalikan konsentrasi trombosit dalam PRP oleh volume yang diperoleh dari PRP. Menurut dosis yang disuntikkan (diukur dalam miliaran atau jutaan trombosit), PRP dikategorikan menjadi (a) dosis trombosit yang disuntikkan sangat tinggi > 5 miliar; (b) dosis tinggi trombosit yang disuntikkan, dari 3 hingga 5 miliar; (c) dosis trombosit yang disuntikkan, dari 1 hingga 3 miliar, dan (d) trombosit suntikan dosis rendah, <1 miliar.

- b. Efisiensi produksi: sesuai dengan persentase trombosit pulih dalam PRP dari darah. PRP dikategorikan sebagai berikut: (a) efisiensi perangkat yang tinggi, jika tingkat pemulihan dalam trombosit > 90%; (b) efisiensi perangkat menengah, jika tingkat pemulihan dalam trombosit adalah antara 70 dan 90%; (c) efisiensi perangkat rendah, jika tingkat pemulihan antara 30 dan 70%, dan (d) buruk efisiensi perangkat, jika tingkat pemulihan < 30% dan sesuai dengan komposisi relatif trombosit, leukosit, dan sel darah merah dalam PRP yang diperoleh.
- c. Kemurnian PRP yang diperoleh: berkorelasi dengan relative komposisi trombosit, leukosit, dan sel darah merah dalam memperoleh PRP. PRP digambarkan sebagai (a) PRP yang sangat murni, jika persentase trombosit dalam PRP, dibandingkan dengan Sel darah merah dan leukosit, adalah > 90%; (B) PRP murni, antara 70 dan 90% trombosit; (c) PRP heterogen, jika persentase trombosit adalah antara 30 dan 70%, dan (d) PRP darah lengkap, jika persentase trombosit masuk PRP < 30% dibandingkan dengan sel darah merah dan leukosit.
- d. Proses aktivasi: jika ada faktor pembekuan eksogen digunakan untuk mengaktifkan trombosit, seperti trombin autologous atau kalsium klorida. Sebuah penelitian terhadap ulkus dengan ukuran lebih dari 10 cm dengan dasar berupa serat sfingter anal internal, dan berlangsung lebih dari 60 hari, menunjukkan bahwa ulkus tersebut memiliki kemungkinan tinggi untuk sembuh dalam 20 minggu pada 22% pasien (Amaro, Pérez and Robaina, 2018). Respons awal terhadap

pengobatan merupakan faktor prediktif penyembuhan. Telah ditetapkan bahwa perawatan dapat dilanjutkan bila terdapat perbaikan sekitar 15% permukaan lesi setelah satu atau dua minggu perawatan(Amaro, Pérez and Robaina, 2018).

2.2.2 *Stromal Vascular Fraction (SVFs)*

Stromal Vascular Fraction (SVFs) merupakan preparat yang berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. Sebagai organ endokrin terbesar dalam tubuh, adiposa menggunakan pembuluh darah kompleks untuk memengaruhi proses sistemik, mulai dari sensitivitas insulin hingga peradangan dan fungsi imunologis. SVF dapat merakit diri menjadi jaringan pembuluh darah yang kompleks, hirarkis, sangat bercabang, dan perfusif(Tsuji, Rubin and Marra, 2014; Grant and Dixit, 2015; Ramakrishnan and Boyd, 2018). Dalam uji pada hewan, SVF ditemukan berfungsi untuk mendukung proses angiogenesis, meningkatkan kepadatan pembuluh darah, dan meningkatkan suplai darah ke jaringan iskemik(Zhou *et al.*, 2016; Bi *et al.*, 2019).



Gambar 4 Mekanisme SVFs dalam menyembuhkan luka. SVF mendorong penyembuhan luka dengan menginduksi angiogenesis, renovasi matriks, dan migrasi sel. Sebagian besar proses dimulai melalui peningkatan ekspresi kemokin dan sitokin. Panah merah menunjukkan peningkatan yang diprakarsai oleh SVF atau ADSC. Panah biru menunjukkan penurunan (Bi *et al.*, 2019).

SVF diketahui mengandung fibroblast, *mesenchymal stem cell* (MSC), dan sel endotel, serta sel otot polos, sel mural, makrofag, sel darah, dan seluruh turunan fenotip sel induk lainnya (Klar *et al.*, 2016). Komposisi SVF tergantung pada berbagai faktor, seperti tempat isolasi adiposa, metode pemrosesan, dan status patologis pasien sendiri (Ramakrishnan and Boyd, 2018).

Penyembuhan yang baik membutuhkan elemen biologikal dan molekular yang teratur dengan baik untuk menjalankan proses inflamasi, epitelisasi, granulasi, neovaskularisasi dan reorganisasi. Beragam sitokin dan growth factor berperan dalam regulasi pertumbuhan dan diferensiasi keratinosit. Seperti peran penting EGF dalam epitelisasi karena fungsinya

dalam membantu menginduksi keratinosit dan migrasi fibroblast untuk menjalankan fungsi pertumbuhan dan akselerasi penyembuhan luka. EGF juga memicu formasi jaringan granulasi. Beberapa penelitian terkini menunjukkan sel punca diderivasi dari jaringan adiposa atau *adipose derived stem cell* (ADSC) mampu memicu proliferasi fibroblast secara langsung antara sel ke sel dan mengaktifasi sekresi parakrin yang kemudian secara signifikan akan mengecilkan ukuran luka dan mengakselerasi reepitelisasi dari tepi luka. (Josh et al, 2012; Chae et al, 2017)

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

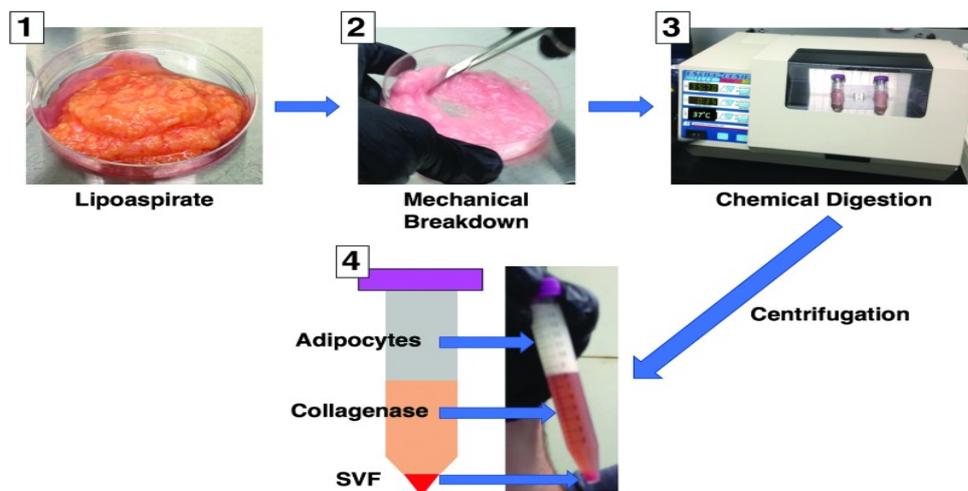
Variasi khusus situs lainnya juga ada. Sebagai contoh, lemak omental manusia digambarkan penuh dengan sel mesothelial yang bertentangan dengan sel endotel. Williams dkk. mendiskripsikan bahwa sel

endotel paling banyak ditemukan pada lipoaspirat manusia subkutan. Selanjutnya, lemak inguinal diperkirakan menjadi lebih plastik dan lebih mudah diakses (Ramakrishnan and Boyd, 2018).

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. Beberapa penerapan klinis ini memberikan pengaruh yang baik, pada penelitian yang dilakukan pada 52 pasien dengan penyakit kronik yang tidak menyembuh, menunjukkan angka perbaikan pada lebih 90% kasus dimana fistula perianal, fistula kriptoglandular dan Crohn's disease, menunjukkan angka perbaikan sebesar sekitar 50 % pada pengaplikasian pertama dan mampu mencapai 100% pada pengaplikasian kedua dengan rerata peningkatan sebesar 30 %. Pada penelitian terhadap kasus alopecia dengan menggunakan kombinasi PRP dan SVF, dapat dibuktikan bahwa aktifitas proliferasi meningkat dengan pesat, sesuai dengan kandungan SVF yang kaya akan sel progenitor multipoten. (Gimble et al, 2007; Herreros et al, 2019; Josh et al, 2021)

Modalitas isolasi adalah pertimbangan penting lainnya. Gambar 2 menggambarkan skema umum untuk bagaimana laboratorium memproses SVF secara manual. SVF diproses menggunakan kolagenase untuk pencernaan kimia lipoaspirate, suatu teknik yang masih dianggap sebagai standar emas pemrosesan SVF. Namun, hasil yang diperoleh dapat

bervariasi, tergantung pada jenis, jumlah, dan / atau banyak kolagenase. Williams dkk. mengevaluasi secara ekstensif beberapa merek kolagenase yang tersedia secara komersial. Penelitian tersebut menemukan terjadinya penurunan efektivitas kolagenase dengan pemurnian melalui dialisis dan peningkatan efektivitas kolagenase yang dimurnikan dengan penambahan trypsin. Untuk mengatasi hal tersebut, saat ini pemroses SVF difokuskan pada isolasi SVF otomatis atau semi-otomatis, yang banyak di antaranya menghindari pencernaan bahan kimia dan dalam uji klinis (misalnya, NCT02234778, NCT01601353, dan NCT01305863)(Oberbauer *et al.*, 2015; Chaput *et al.*, 2016; Hanke *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2017; van Dongen *et al.*, 2017).



Gambar 5 Pemerosesan lipoaspirate secara manual untuk menghasilkan SVF. Dalam Foto 1, lipoaspirate ditunjukkan sebelum dihancurkan secara mekanis menggunakan gunting (Foto 2). Rincian ini memberikan area permukaan yang lebih besar di mana enzim kolagenase enzim pencernaan dapat aktif (Foto 3). Setelah periode waktu pencernaan yang ditentukan, bubur yang dihasilkan disentrifugasi, menghasilkan solusi dari tiga bagian utama seperti yang ditunjukkan dalam Foto 4: lapisan atas adiposit apung, lapisan tengah kolagenase dan cairan tumescent yang tersisa, dan pelet seluler di bawah mengandung SVF — campuran heterogen dari berbagai jenis sel(Ramakrishnan and Boyd, 2018).

2.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

2.3.1 Definisi

Faktor pertumbuhan endotel vaskuler (VEGF) atau yang juga dikenal sebagai faktor permeabilitas vaskular (VPF) merupakan mitogen kuat untuk sel endotel pembuluh darah dan pengatur utama angiogenesis yang distimulasi oleh keadaan hipoksia (Luiza, Caramori and Rossing, 2016). Pada tahun 1983, Senger dkk. menggambarkan protein yang disebut faktor permeabilitas vaskular (VPF), yang dikeluarkan oleh sel-sel tumor hewan (hamster, guinea, babi), yang bertanggung jawab untuk peningkatan permeabilitas pembuluh darah tumor dan pengembangan asites yang terkait dengan tumor perut tertentu. Pada tahun 1989, Ferrara dkk., Dari Genentech, protein VEGF secara independen, diisolasi dan dideskripsikan, dan dipatikan hasil yang menunjukkan perannya dalam angiogenesis. Setelah dinalisis, VPF dan VEGF, ternyata memiliki kesamaan struktur (ElincoVICI *et al.*, 2018).

2.3.2 Reseptor VEGF

VEGF berikatan dengan reseptor tirosin kinase, yang memiliki tiga domain, yaitu: domain ekstraseluler untuk pengikatan VEGF, domain transmembran dan domain intraseluler dengan aktivitas tirosin. VEGF, mengikat ke domain reseptor ekstraseluler, mempromosikan aktivasi enzim tirosin kinase dalam domain reseptor intraseluler, yang memfosforilasi residu tirosin, sehingga mengaktifkan beberapa jalur pesinyalan intraseluler (ElincoVICI *et al.*, 2018).

Ada tiga jenis reseptor VEGF, yaitu:

1. VEGFR-1

VEGFR-1 [Fms-like tirosine kinase 1 (Flt-1)] merupakan bagian dari kelompok reseptor tirosin kinase (RTK), dengan berat molekul 180 kDa dan memiliki aktivitas tinggi penerimaan VEGF-A, VEGF-B, PlGF dan VEGF-F. Selain sel endotel, terdapat beberapa sel lain yang bisa mengekspresikan VEGFR-1, yaitu: sel-sel inflamasi, sel monosit/makrofag, sel progenitor hematopoietik yang diturunkan dari sumsum tulang, sel trofoblas, sel mesangial ginjal, sel tumor, serta sel otot polos pembuluh darah (VSMC). VEGFR-1 memainkan peran penting dalam migrasi sel endotel, monosit, makrofag, dan sel progenitor hematopoietic (Elinco *et al.*, 2018).

2. VEGFR-2

VEGFR-2 merupakan reseptor utama yang juga merupakan anggota kelompok reseptor tirosin kinase (RTK), dengan berat molekul 200–230 kDa. VEGFR-2 menunjukkan afinitas yang lebih besar terhadap VEGF-A dan VEGF-E, dan lebih rendah untuk VEGF-C dan VEGF-D. VEGFR-2 diekspresikan terutama pada sel endotel pembuluh darah dan limfatik, tetapi juga lemah ekspresi dalam: sel hematopoietik, megakariosit, sel progenitor retina, neuron, osteoblast, sel-sel duktus pankreas, sel tumor (Elinco *et al.*, 2018).

Pengikatan VEGF ke domain ekstraseluler VEGFR-2 akan menyebabkan autofosforilasi residu tirosin dan aktivasi jalur pensinyalan tertentu (Gambar 1), seperti: phospholipase-C γ (PLC γ) / protein kinase C (PKC) dan Jalur Ras / Raf / ERK / MAPK, yang

merupakan jalur pensinyalan ini yang terlibat dalam proliferasi endotel sel. Kemudian, aktivasi jalur PI3K / Akt, VEGFR-2 berperan dalam memainkan peran anti-apoptosis untuk kelangsungan hidup sel endotel. Dengan aktivasi jalur PI3K-kinase dan p38 MAPK, molekul-molekul adhesi seperti: cadherin [vaskular endotelial (VE) -cadherin], β -catenin, occludins dan connexin 43, maka dibentuk kompleks dengan VEGFR-2, yang melemahkan persimpangan interseluler, mengganggu kestabilan sitoskeleton dari sel endotel dan menginduksi pembentukan endotel fenestrae. Dengan demikian, permeabilitas vaskular meningkat dan terjadi migrasi sel. Aktivasi protein kinase Akt juga menyebabkan sel endotel mensitulasi pembentukan nitrat endotel oksida sintase (eNOS) dan produksi nitrat oksida (NO) yang kemudian menginduksi vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah (Elinco *et al.*, 2018).

3. VEGFR-3

VEGFR-3 [Fms-like tirosine kinase 4 (Flt-4)] juga termasuk dalam keluarga reseptor tirosin kinase dengan berat molekul 195 kDa. Reseptor ini memainkan peran penting dalam morfogenesis jaringan pembuluh limfatik selama perkembangan embrionik, juga terlibat dalam pembentukan pembuluh limfatik baru. VEGFR-3 memiliki afinitas untuk VEGF-C dan VEGF-D. Penemuan bentuk larut VEGFR-3 (sVEGFR-3) dan percobaan pada tikus transgenik yang mengekspresikan gen ini mengarah pada kesimpulan bahwa sVEGFR-3 menghambat

perkembangan pembuluh limfatik dan menginduksi edema, menghambat sinyal yang dimediasi oleh VEGF-C dan VEGF-D (Elinco *et al.*, 2018).

2.3.3. Klasifikasi VEGF

1. VEGF-A

VEGF-A, juga disebut VEGF, merupakan stimulator angiogenesis yang paling penting dan kuat. VEGF-A memainkan peran penting dalam vasculogenesis dan neoangiogenesis, menyebabkan proliferasi sel, penghambatan apoptosis, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, vasodilatasi, perekrutan sel-sel inflamasi ke lokasi cedera, dll. VEGF disekresikan tidak hanya oleh sel endotel, tetapi juga oleh sel-sel lain, dalam menanggapi kekurangan oksigen, yaitu: sel tumor, makrofag, trombosit, keratinosit, sel mesangial ginjal, sel T yang diaktifkan, leukosit, sel dendritik, sel epitel pigmen retina, sel Muller di retina, astrosit, osteoblas, sel epitel bronkial dan alveolar, pericytes, VSMCs. VEGF-A mengikat ke VEGFR-1 dan VEGFR-2, memiliki afinitas 10 kali lebih tinggi untuk VEGFR-1. VEGF₁₆₅ mengikat NP-1, NP-2, sedangkan VEGF₁₄₅ mengikat NP- (Maloney and Gao, 2015; Wang, Zhu and Le, 2015; Elinco *et al.*, 2018).

2. VEGF-B

VEGF-B berkontribusi pada pengembangan sistem kardiovaskuler dan pembentukan miokardium dalam tahap embrionik Peran

VEGF-B dalam vasculogenesis tidak penting. VEGF-B lebih terlibat dalam kelangsungan hidup jenis sel tertentu, seperti: sel otot polos, sel endotel, pericytes, neuron (neuron motorik di sumsum tulang belakang, korteks atau retina) , kardiomyosit, daripada angiogenesis. Beberapa percobaan telah mengungkapkan bahwa obstruksi median otak serebral pada tikus, diikuti oleh pemberian VEGF-B, menghambat apoptosis neuron kortikal dan meminimalkan area infark serebral(Elincovici *et al.*, 2018).

3. *Placenta Growth Factor* (PlGF)

Faktor pertumbuhan plasenta (PlGF) juga merupakan faktor pertumbuhan yang termasuk dalam famili VEGF. PlGF berperan dalam pertumbuhan dan diferensiasi trofoblas, invasi trofoblas dan implantasi blastokista. Selanjutnya, PlGF ditemukan di mukosa uterus: dalam sel desidua stroma maternal, epitel dan luminal kelenjar rahim, sekresi glandular, sel stroma predekidual dalam fase sekresi siklus uterin, serta di jantung , paru-paru, kulit (keratinosit, endotel pembuluh kulit). PlGF tidak memainkan peran penting dalam embrionik vasculogenesis, namun berperan dalam angiogenesis patologis (iskemia, peradangan, kanker), oleh sinergisme dengan VEGF-A(Binder *et al.*, 2016; Elincovici *et al.*, 2018).

4. VEGF-C

VEGF-C banyak diekspresikan dalam jaringan embrionik, di mana perkembangan pembuluh limfatik dimulai (jugular,

perimetanephric, daerah aksila), sedangkan pada orang dewasa diekspresikan dalam jantung, ovarium, plasenta, usus, tiroid, dll. Tipe ini memiliki afinitas tinggi untuk VEGFR-3, yang dinyatakan pada sel limfatik endotel dalam mempromosikan limfangogenesis (Elincofici *et al.*, 2018).

5. VEGF-D

VEGF-D memiliki sifat yang mirip dengan VEGF-C, yang juga memiliki peran utama dalam limfangiogenesis, tetapi tidak memiliki peran penting dalam angiogenesis. Dalam embrio, VEGF-D memiliki kadar tinggi di paru-paru, yang terlibat dalam perkembangan pembuluh limfatik; pada orang dewasa, VEGF-D ditemukan di jantung, paru-paru, otot rangka, usus kecil. VEGF-D memiliki afinitas untuk VEGFR-3 dan juga untuk NP-2. Secara eksperimental, inaktivasi gen VEGF-D hanya menghasilkan atrofi moderat sirkulasi limfatik, tanpa perubahan signifikan lainnya (Elincofici *et al.*, 2018).

6. VEGF-E

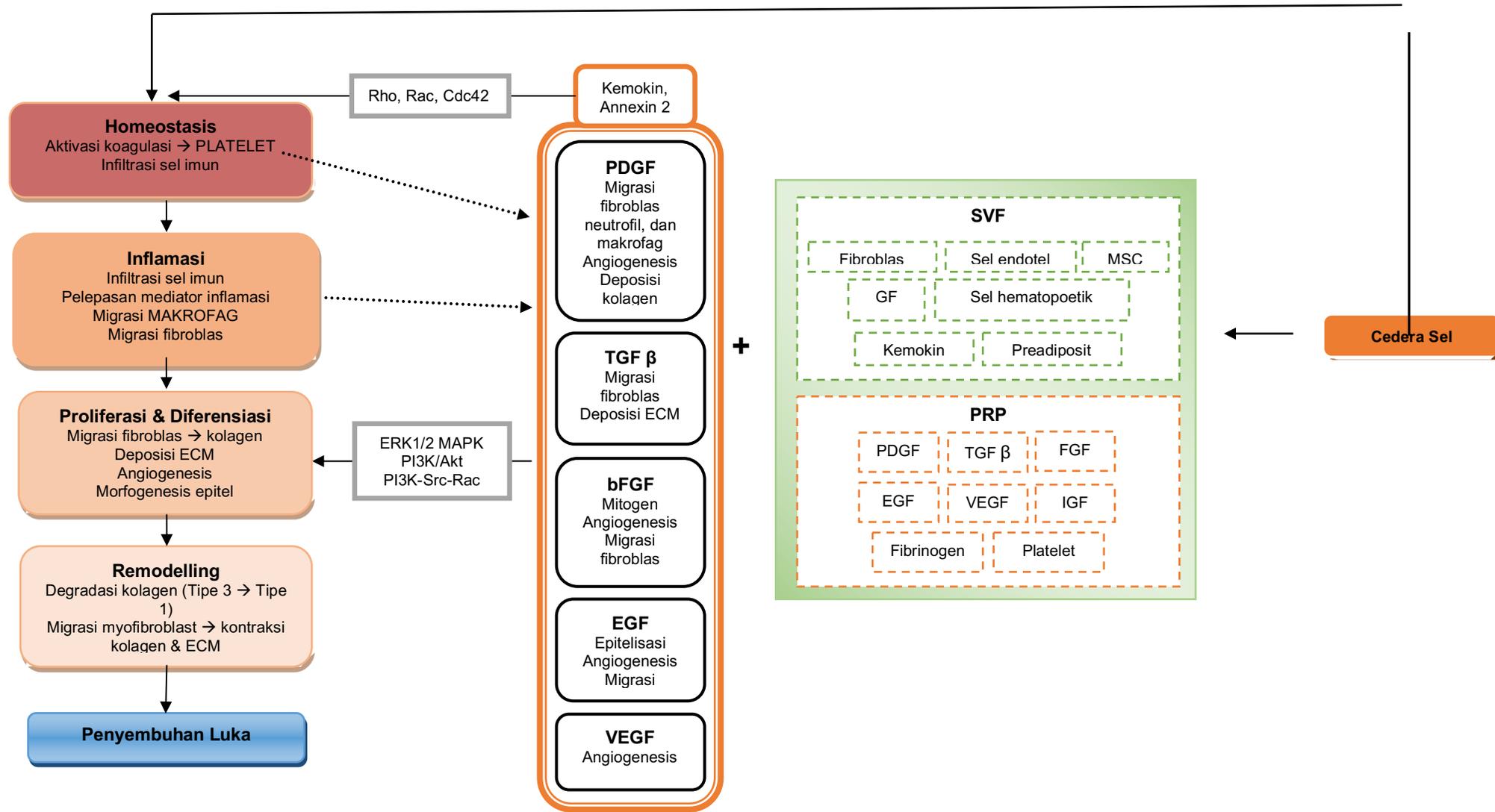
VEGF-E mengandung protein virus dari berbagai jenis virus Orf, seperti: VEGF-ENZ-2 (strain virus NZ-2), VEGF-ENZ-7 (strain virus NZ-7), VEGF-ENZ-10 (strain virus NZ-10), VEGF-ED1701 (strain virus D1701) dan juga VEGF-EVR 634 (strain virus VR 634 dari virus pseudocowpox). Gen yang mengkode protein VEGF-E (dari strain virus D1701, NZ-2 dan NZ-7) tidak ditemukan dalam genom manusia, tetapi setelah infeksi virus, gen itu dapat dimasukkan dalam genom individu

yang terkena dampak, yang bertindak seperti faktor pro-angiogenik. VEGF-E secara signifikan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, mirip dengan VEGF-A₁₆₅, dan juga memiliki efek mitogenik pada sel endotel. VEGF-E memiliki afinitas spesifik untuk VEGFR-2, bukan untuk VEGFR-1 dan VEGFR-3(Elincovici *et al.*, 2018).

7. EG-VEGF

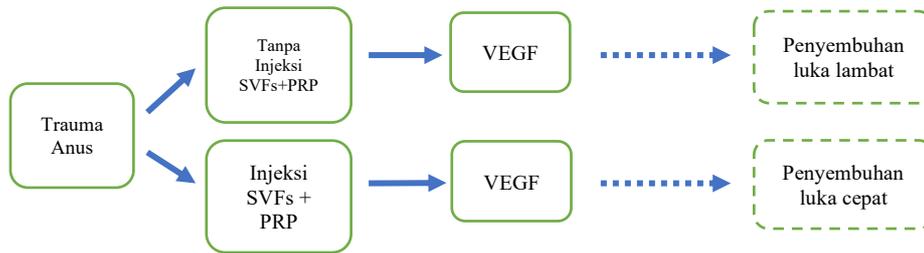
EG-VEGF, juga disebut prokineticin 1 (PK1) terletak pada kelenjar endokrin penghasil hormon steroid dan jaringan plasenta, di mana ia terlibat dalam angiogenesis fisiologis dan patologis. EG-VEGF menginduksi proliferasi, pertumbuhan, migrasi dan kelangsungan hidup sel endotel, tubulogenesis, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan memungkinkan transportasi paraseluler. Efek angiogenik EG-VEGF hanya berfungsi pada sel endotel yang terletak di kelenjar yang disebutkan, tanpa efek pada sel endotel dengan lokasi lain, misalnya di pembuluh otak, aorta dan kornea(Corlan *et al.*, 2017; Elincovici *et al.*, 2018).

2.4 Kerangka Teori



Bagan 1. Kerangka Teori penelitian

2.5 Kerangka Konsep



Bagan 2. Kerangka Konsep Penelitian

Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

- Tanpa Injeksi SVFs + PRP
- Injeksi SVFs + PRP

2. Variabel Dependen :

- Penyembuhan Luka lambat
- Penyembuhan Luka cepat

3. Variabel Antara

- VEGF serum

2.6 Hipotesis

- VEGF terlibat pada proses percepatan penyembuhan trauma anus.
- Kombinasi SVFs + PRP dapat mempercepat manifestasi klinis penyembuhan trauma anus.