

KARYA AKHIR

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI PLATELET RICH PLASMA
(PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION CELLS
(SVFs) TERHADAP PROSES INFLAMASI PADA
PERLAKUAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR**

***THE COMBINATION OF PLATELET RICH PLASMA (PRP)
AND STROMAL VASCULAR FORMATION CELL (SVFs)
MEDIATES INFLAMMATORY PROCESS ON WISTAR RATS
WITH DEEP DERMAL BURN WOUND***

Adriani Purnasakti Pakan

C045172001



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS - 1
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI PLATELET RICH PLASMA
(PRP) DAN STROMAL VASCULAR FRACTION CELLS
(SVFs) TERHADAP PROSES INFLAMASI PADA
PERLAKUAN LUKA BAKAR DEEP DERMAL TIKUS WISTAR**

***THE COMBINATION OF PLATELET RICH PLASMA (PRP)
AND STROMAL VASCULAR FORMATION CELL (SVFs)
MEDIATES INFLAMMATORY PROCESS ON WISTAR RATS
WITH DEEP DERMAL BURN WOUND***

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis – 1

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

ADRIANI PURNASAKTI PAKAN

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

2022

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI PLATELET RICH PLASMA (PRP)
DAN STROMAL VASCULAR FRACTION CELLS (SVFs) TERHADAP
PROSES INFLAMASI PADA PERLAKUAN LUKA BAKAR DEEP
DERMAL TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

Adriani Purnasakti Pakan
C045172001

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 5 Februari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Pembimbing Utama

[Signature]

Dr.dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K)B.Mikro
NIP. 19700512 199903 2 004

Pembimbing Pendamping

[Signature]

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

Ketua Program Studi

[Signature]

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

Dekan Fakultas Kedokteran

[Signature]

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

PERYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Adriani Purnasakti Pakan
Nomor Mahasiswa : C045172001
Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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, 1 Agustus 2022

Yang Menyatakan,



The image shows a handwritten signature in black ink over a cancelled 1000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '1000', and 'METAL TEMPEL'. A serial number '6EAKX112846956' is visible at the bottom of the stamp.

Adriani Purnasakti Pakan

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkah dan kemurahan-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan karya akhir ini sebagai salah satu syarat dalam Program Pendidikan Dasar Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Kami menyadari banyak hambatan dan tantangan yang kami hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas bantuan yang tulus, bimbingan serta semangat yang diberikan pembimbing kami, Dr. dr. Fonny Josh, Sp.BP-RE(K)Bedah Mikro dan dr. Joko Hendarto, M. Biomed, Ph.D, serta penguji Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, SpB Sp. BP-RE; Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk dan dr. Muhammad Ihwan Kusuma, Sp.B-KBD atas semua koreksi dan masukannya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

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

Saya juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk selaku Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, SpB Sp. BP-RE selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD saat menjabat sebagai Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin dan Dr. dr. William Hamdani, SpB(K)Onk saat menjabat

sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, serta seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan ilmu, ketrampilan, rasa percaya diri, dan profesionalisme dalam diri saya sejak saya mulai Pendidikan.

Terima kasih yang sebesar-besarnya juga kepada para Guru kami dan Staf Dosen Bagian Ilmu bedah 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 Unhas atas bantuan dan dorongan morilnya.

Terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia, dalam hal ini Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) di bawah naungan Kemetrian Keuangan, atas dukungan beasiswa sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.

Ungkapan teristimewa saya haturkan kepada Ibunda tercinta, Prof. Ir. Lince Mukkun, MS, PhD yang selalu setia dan memberikan motivasi dan selalu mendukung dalam doa sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir ini. Kepada Ayahanda Alm. Prof. Dr. Ir. Semuel Pakan, MS yang semasa hidupnya selalu memberikan dukungan dan motivasi. Terima kasih kepada anak Azalea Sophia Janeeta yang selalu menjadi semangat kami dalam menyelesaikan studi.

Terima kasih kepada suami Ramatri, SE, Ak yang telah memberikan dorongan sehingga saya dapat menjadi yang terbaik dari diriku.

Hanya Allah jualah yang dapat melimpahkan karunia-Nya kepada semua pihak yang mencurahkan budi baik, pengorbanan dan membantu kami selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

Makassar, 1 Agustus 2022

Adriani Purnasakti Pakan

ABSTRAK

ADRIANI PURNASAKTI PAKAN. *Efek Pemberian Kombinasi Platelet Rich Plasma (PRP) Stromal Vascular Fraction Cells (SVFs) terhadap Proses Inflamasi pada Perlakuan Luka Bakar Deep Dermal Tikus Wistar (dibimbing oleh Fonny Josh dan Joko Hendarto).*

Inflamasi merupakan proses awal dan penentu penyembuhan luka pada luka bakar. Kombinasi *platelet-rich plasma* (PRP) dan *stromal vascular fraction cells* (SVFs) bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan menilai pengaruh kombinasi PRP dan SVFs dalam menyeimbangkan proses inflamasi untuk mempercepat penyembuhan luka bakar. Tiga puluh tikus wistar yang memenuhi syarat digunakan dalam penelitian ini untuk membuat model luka bakar derajat dermal dalam. Mereka secara acak dibagi menjadi empat kelompok: injeksi lokal kombinasi SVFs dan PRP (n=9), vaselin (n=9), plasebo (n=9), dan kelompok tikus wistar sehat (n=3) sebagai kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok kontrol sehat. Jaringan luka bakar dieksisi dari tiga ekor tikus percobaan yang terpisah (pada jam ke-8, 24, dan 48) untuk memeriksa polimorfonuklear (PMN) dan jumlah limfosit melalui prosedur *hematoxylin-eosin standard* dan untuk ekspresi *siklooksigenase-2* (Cox-2) melalui prosedur imunohistokimia. Data dianalisis dengan *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dan uji regresi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah PMN, sel limfosit, dan ekspresi COX-2 tertinggi ditemukan pada jam ke-8 injeksi lokal kelompok SVFs kombinasi PRP (28.555 ± 11.237 , 8.111 ± 3.218 , dan 4.666 ± 2.309 dengan nilai $p < 0,05$ masing-masing, kecuali untuk COX-2). Hasil analisis regresi menunjukkan bahwa injeksi lokal kombinasi PRP dan SVFs dapat menurunkan sel PMN sebesar 1.068 kali, limfosit sebesar 1.786 kali, dan COX-2 sebesar 1.853 kali, lebih besar dibandingkan aplikasi topikal dengan vaselin. Simpulan penelitian bahwa kombinasi injeksi PRP dan SVFs efektif menyembuhkan luka bakar dalam dengan meningkatkan sel PNM, jumlah limfosit, dan ekspresi COX-2 secara akut. Sebaliknya, pengobatan menurunkan jumlah sel PMN dan limfosit, tetapi tidak menurunkan ekspresi COX-2 pada fase subakut penyembuhan luka.

Kata kunci: luka bakar, siklooksigenase-2, sel limfosit, sel polimorfonuklear, *platelet-rich plasma*, fraksi sel stromal



ABSTRACT

ADRIANI PURNASAKTI PAKAN. *The Effect of Combination of Platelet-Rich Plasma and Stromal Vascular Fraction Cells on Inflammatory Process in Deep Dermal Burn Injury on Wistar Rats* (supervised by Fonny Josh and Joko Hendarto)

Inflammation is the initial process and determinant of wound healing in burns. The combination of platelet-rich plasma (PRP) and stromal vascular fraction cells (SVFS) is beneficial in accelerating wound healing. This study aims to assess the effect of the combination of PRP and SVFs in balancing the inflammatory process to accelerate burn healing. Thirty eligible Wistar rats were used in this study to establish a deep dermal degree burn wound model. They were randomly divided into four groups, namely locally injected the combination of SVFs and PRP (n=9), the vaseline (n=9), the placebo (n=9), and healthy Wistar rat group (n=3) as treatment group, positive control group, negative control group, and healthy control group respectively. The burn wound tissue was excised from three separated sacrificed rats (8.24 and 48 hours) to examine polymorphonuclear (PMN) and lymphocyte counts through the standard hematoxylin-eosin procedure and for cyclooxygenase2 (COX-2) expression through the immunohistochemical procedure. The data were analyzed using one-way ANOVA followed by multiple comparisons and regression tests. The highest PMN, lymphocyte cell count and COX 2 expression were found at 8 hours in local injection the PRP combination SVF group (28.555 ± 11.237 , 8.111 ± 3.218 , and 4.666 ± 2.309 , respectively, $p < 0.05$ except for COX 2). The regression analysis results show that local injection of a combination of PRP and SVF could reduce PMN cells by 1.068 times, lymphocytes by 1.786 times, and COX 2 by 1.853 times greater than topical application with Vaseline. The combined injection of PRP and SVF effectively heals deep burns by acutely increasing the PMN cell, lymphocyte count, and COX 2 expression. Conversely, the treatment decreases the PMN cell and lymphocyte count but not the COX 2 expression in the subacute phase of wound healing.

Keywords: burn injury, cyclooxygenase-2, lymphocyte cells, polymorphonuclear cells, platelet rich plasma, stromal vascular fraction



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR SINGKATAN	iv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
E. Hipotesis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Tentang Luka Bakar dan Fase Inflamasi.....	5
B. Tinjauan Tentang PRP, SVFs dan Vaseline.....	11
C. Tinjauan Tentang MDA.....	20
BAB III KERANGKA PENELITIAN	
A. Kerangka Teori.....	23
B. Kerangka Konsep.....	25
BAB IV METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian.....	28
B. Populasi dan Sampel.....	28
C. Metode Penarikan Sampel.....	28
D. Jalannya Penelitian.....	28
E. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	32
F. Cara Pengumpulan Data.....	34
G. Tata Cara Kerja Penelitian.....	34
H. Analisis data.....	38
I. Pertimbangan Etika.....	37
J. Alur Penelitian.....	45
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Diagnosis kedalaman luka bakar.....	12
---------	-------------------------------------	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Klasifikasi Luka Bakar.....	10
Gambar 2	Tiga zona pada Luka Bakar.....	14
Gambar 3	Interaksi Seluler pada proses Inflamasi	21
Gambar 4	Ilustrasi Permodelan Luka Bakar Deep Dermal.....	41
Gambar 5	Alur Penelitian.....	45

DAFTAR SINGKATAN

PRP	: <i>Platelet Rich Plasma</i>
SVFs	: <i>Stromal Vascular Fraction cells</i>
MDA	: <i>Malondyaldehyde</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>asidic Fibroblast Growth Factor</i>
bFGF	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
eFGF	: <i>epidermal Fibroblast Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
H.E	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
DMEM	: <i>Dulbecco Modified Eagle Media</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
DSLR	: <i>Digital Single Lens Reflex</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka bakar adalah masalah kesehatan masyarakat global yang serius. Organisasi Kesehatan Dunia memperkirakan bahwa sebanyak 285.000 kematian setiap tahun dan masih banyak lagi disabilitas akibat luka bakar. Tingkat kematian akibat luka bakar menurun dengan modalitas pengobatan terbaru, meskipun infeksi sekunder dan lamanya penyembuhan masih mempengaruhi angka kematian (Karina et al., 2019; Marck et al., 2019).

Tidak hanya menyebabkan terganggunya integritas kulit, luka bakar juga sangat berdampak pada hemostatis tubuh manusia. Selain fungsinya yang penting dalam hemostasis, platelet juga berperan dalam penyembuhan luka dan sistem kekebalan tubuh. Fungsi ini sebagian besar dimediasi oleh *growth factor* yang disimpan yang akan dikeluarkan setelah teraktivasi. Pada pasien luka bakar, jumlah platelet berbeda pada tiap perbedaan waktu setelah trauma. Hitung platelet akan meningkat pada hari ketiga, memuncak pada hari ke-15 dan kemudian mencapai nilai normal pada hari ke-24 post trauma. Tentu hal ini juga dipengaruhi oleh persentase luka bakar (*Total Body Surface Area*) dan usia pasien. Angka

sepsis dan mortalitas pada pasien luka bakar juga berhubungan dengan jumlah platelet (Marck *et al.*, 2019).

Setiap luka akut awalnya melewati fase hemostasis dan inflamasi. Segera setelah cedera, membran sel melepaskan vasokonstriktor kuat seperti prostaglandin 2 alpha dan tromboksan A2. Kolagen pada luka memicu kaskade pembekuan melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik. Gumpalan fibrin yang dihasilkan mengandung kolagen, trombin, dan fibronektin. Ini akan menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi dan faktor pertumbuhan. PMN menjalani kemotaksis ke dalam luka dengan adanya interleukin-1, tumor necrosis factor (TNF)-alpha, transformasi growth factor (TGF)-beta, platelet factor-4 dan produk bakteri. Sel-sel ini menyingkirkan bakteri luka dan jaringan yang rusak. (Sharma dan John, 2012).

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka bakar sampai hari kelima. Sel mast dalam jaringan ikat menghasilkan serotonin dan histamine yang meningkatkan permeabilitas kapiler, sehingga terjadi eksudasi cairan, penyerbukan sel radang disertai vasodilatasi setempat yang menyebabkan edema. Aktifitas seluler yang terjadi pada fase ini adalah migrasi leukosit dari pembuluh darah yang dilatasi. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna mikroorganisme. Sedangkan pembentukan kolagen pada fase ini masih sedikit. Walaupun reaksi inflamasi merupakan proses penting untuk penyembuhan, di mana terjadi kaskade sitokin dan faktor pertumbuhan sebagai perlindungan terhadap infeksi, namun inflamasi yang berkepanjangan dapat

merusak dan menyebabkan jaringan parut dan fibrosis (Strudwick dan Cowin, 2018).

Tujuan dari manajemen luka bakar adalah untuk mempercepat proses epitelisasi spontan yang cepat untuk memungkinkan mobilisasi dini dan keluar lebih awal dari rumah sakit (S. R. Laidding *et al.*, 2021). Perawatan luka bakar juga harus mencegah infeksi yang dapat mengubah cedera menjadi luka yang lebih dalam yang membutuhkan pencangkokan. Untuk tujuan ini, berbagai jenis dressing dan farmakoterapi telah dikembangkan, tetapi kebanyakan dari mereka mahal, dan mekanisme yang mendasari terapi ini belum sepenuhnya didokumentasikan. (Garner, 2005; Ozcelik *et al.*, 2018)

Studi praklinis menggunakan *adipose-derived mesenchymal stem cells* (ASC) dan PRP dalam kombinasi telah dilakukan dalam konteks rekayasa jaringan periodontal, penyembuhan luka, perbaikan tendon, dan regenerasi tulang. Laporan-laporan ini menunjukkan potensi PRP sebagai pembawa sel untuk meningkatkan potensi sel yang ditransplantasikan yang digunakan dalam terapi sel punca. Oleh karena itu, ada kemungkinan bahwa PRP dapat berkontribusi pada terapi sel punca (Tobita, Tajima dan Mizuno, 2015) (Josh, Fonny, 2013)

Dengan menstimulasi mekanisme perbaikan tubuh sendiri, pengobatan regeneratif menawarkan janji untuk meregenerasi luka melalui pengembangan strategi berdasarkan penggunaan sel, faktor bioaktif, dan pengganti kulit aselular. Di antara strategi ini, pemberian *platelet rich plasma* (PRP) atau sel punca

mesenkim telah diselidiki secara intensif untuk mendorong regenerasi berbagai jaringan lunak dan keras termasuk kulit (Hersant *et al.*, 2019).

Platelet Rich Plasma (PRP) berasal dari darah dan berfungsi untuk merangsang regenerasi endotel, epitel, dan epidermal, angiogenesis, sintesis kolagen, menurunkan jaringan parut pada kulit, serta mempercepat respon homeostasis pada cedera,. PRP mengandung tujuh jenis faktor pertumbuhan, yaitu TGF-, bFGF, PDGFa, PDGFb,EGF, VEGF, dan CTGF. Karena penggunaannya selalu autologous, PRP tidak memiliki efek penularan penyakit (Chicharro-Alcántara *et al.*, 2018, Laidding *et al.*, 2021)

Stromal Vascular Fraction cell (SVFs) merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak. Lipoaspirat mengandung sejumlah besar stem sel yang disebut *Adipose derived stem cell* (ASCs). SVFs dari jaringan lemak diketahui mengandung sel T regulator, sel prekursor endothelial, preadiposit, yang diketahui sebagai anti inflamasi makrofag. SVFs merupakan campuran sel autolog yang memiliki banyak efek yang menguntungkan pada berbagai jenis luka, Keamanan implantasi jaringan lemak autolog telah terbukti pada prosedur bedah kosmetik, sebagaimana pada penelitian *in vitro expanded ASCs*. SVFs diketahui dapat memperbaiki penyembuhan luka bakar melalui peningkatan proliferasi sel dan vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblas (Kim *et al.*, 2008;(S. Laidding *et al.*, 2021) Laidding *et al.*, 2020)

Faktor - faktor pertumbuhan yang terkandung dalam *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan *Stromal Vascular Factors* (SVFs) diketahui memiliki peran penting untuk penyembuhan luka bakar, antara lain *platelet-derived endothelial cell growth factor* (PDGF) dan *insulin-like growth factor-I* (IGF-I), yang menghambat jalur apoptosis yang penting dalam regenerasi sel dalam memfasilitasi perbedaan stadium penyembuhan luka, *Platelet-derived growth factor* (PDGF) untuk mempercepat penutupan luka, *Fibroblast growth factors* (FGF), *Epidermal growth factors* (EGF) yang mempercepat reepitelisasi, *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) sebagai mediator angiogenesis, dan *Transforming Growth Factor* (TGF) sebagai stimulator dan proliferasi fibroblast, dan matriks ekstraseluler. (Josh. F, Soekamto.T, Jonathan.B, Adriani, 2021)(Josh, Soekamto dan Faruk, 2021)

Dalam beberapa tahun terakhir, berbagai jenis dressing dan farmakoterapi yang dikembangkan yang bertujuan untuk mempercepat penyembuhan luka, namun sebagian besar mahal, dan mekanisme kerjanya belum sepenuhnya didokumentasikan. Penelitian yang dilakukan oleh dr. Sachraswaty dkk membuktikan bahwa ada perubahan jumlah PMN yang bermakna pada hari ke 0 sampai hari ke 14 pada sample luka bakar yang diterapi dengan kombinasi PRP dan SVFs dibandingkan dengan perawatan vaseline. Jumlah fibroblast yang terbentuk setelah perawatan dengan kombinasi PRP dan SVFs juga menunjukkan peningkatan yang bermakna dibanding dengan perawatan vaselin. (S. R. Laididing *et al.*, 2021)

Penelitian lanjutan menunjukkan bahwa kadar stress oksidatif *Malondialdehyde* (MDA) dan Nitric Oxide yang terjadi pada luka bakar deep dermal dalam jaringan yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs lebih rendah hasilnya dibandingkan yang dirawat dengan Vaseline maupun tanpa terapi serta kontrol. (Josh. F, Soekamto.T, Jonathan.B, Adriani, 2021)

Penelitian kami merupakan kesatuan penelitian sebelumnya, untuk menilai pengaruh kombinasi PRP dan SVFs dibandingkan dengan terapi standar vaselin dalam menyeimbangkan proses inflamasi sehingga mempercepat penyembuhan luka bakar. Pada penelitian ini akan dihitung jumlah sel PMN, limfosit, serta intensitas COX 2 pada jam ke 8, 24 dan 48 setelah perlakuan sebagai prediktor proses inflamasi luka bakar deep dermal. Oleh karena struktur kulit tikus dalam beberapa aspek menyerupai kulit manusia, maka kami menggunakan tikus Wistar sebagai model pada penelitian ini.

1.2. Rumusan Masalah

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

Apakah kombinasi *Platelet rich plasma* (PRP) dan *Stromal vascular fraction cell* (SVFs) mengurangi proses inflamasi dibandingkan perawatan dengan vaselin pada model luka bakar deep dermal burn tikus wistar?

1.3. Tujuan Penelitian

A. Tujuan Umum

- Membuktikan efektivitas penggunaan PRP kombinasi SVFs dapat mempercepat dan mengurangi proses inflamasi

B. Tujuan Khusus

- Untuk membuktikan efek peningkatan sel PMN, limfosit, dan COX 2 sebagai prediktor proses inflamasi luka bakar deep dermal tikus wistar yang diberikan kombinasi PRP dan SVFs dibandingkan perawatan dengan vaselin.

1.4. Manfaat Penelitian

- Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan PRP dan SVFs untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar
- Hasil penelitian dapat dijadikan referensi penelitian lain dalam hal penatalaksanaan luka bakar.

1.5. Hipotesis

Injeksi *Platelet rich plasma* (PRP) kombinasi *Stromal Vascular Fraction Cells* (SVFs) pada model luka bakar deep dermal burn tikus dapat mengurangi proses inflamasi dengan menyeimbangkan produksi jumlah sel PMN, limfosit, dan COX 2.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka bakar

2.1.1. Definisi

Luka bakar adalah rusak atau hilangnya jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti kobaran api di tubuh (flame), jilatan api ketubuh (flash), terkena air panas (scald), tersentuh benda panas (kontak panas), akibat sengatan listrik, akibat bahan-bahan kimia, serta sengatan matahari (sunburn). Luka bakar, tidak seperti trauma lainnya, dapat dihitung dengan persentase pasti tubuh yang terkena, dan dapat dilihat sebagai paradigma cedera yang darinya banyak pelajaran bisa diperoleh karena melibatkan banyak sistem organ. Manajemen awal yang tepat sangat penting untuk kelangsungan hidup dan hasil yang baik (Frese, 2001; Garner, 2005).

Kulit adalah organ terbesar pada manusia, terdiri dari 10% dari total massa tubuh dan menutupi seluruh area permukaan. Kulit memiliki peran penting dalam pertahanan dan kelangsungan karena kemampuan memperbaharui diri, bertindak sebagai penghalang penting dari lingkungan luar ke dalam lingkungan. Penyembuhan luka adalah proses perbaikan jaringan dinamis yang terkoordinasi, yang melibatkan interaksi beberapa jenis sel, faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin. Jika mekanisme ini terganggu,

maka luka tidak sembuh atau terbentuk jaringan granulasi yang berlebih sehingga masuk dalam fase inflamasi kronis (Chicharro-Alcántara *et al.*, 2018).

2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar

Berdasarkan kedalamannya, luka bakar dibagi menjadi luka bakar superfisial, sedang dan dalam. Masing–masing disebut luka bakar *epidermal*, *partial thickness* yang meliputi *mid–dermal* dan *deep–dermal* dan *full thickness*. Pada umumnya luka bakar dijumpai dalam bentuk gabungan (Hettiaratchy dan Papini, 2004).

Kedalaman luka bakar dapat berkembang dari waktu ke waktu terutama dengan luka ketebalan parsial. Luka bakar yang awalnya superficial atau mid dermal bisa berkembang menjadi luka bakar dalam selama 2-4 hari setelah luka bakar. Seperti dibuktikan oleh studi histologis, luka bakar adalah proses dinamis yang memuncak sekitar 3 hari. Nekrosis di zona stasis dianggap bertanggung jawab atas perkembangan ini. Baru-baru ini, apoptosis telah dikenali hadir di zona stasis dan dapat berkontribusi pada perkembangan luka. Karena patofisiologi yang unik ini, pasien dengan luka bakar ketebalan parsial perlu dievaluasi untuk kedalaman luka secara berkala. Sebagai aturan, luka bakar dengan ketebalan parsial yang diperkirakan tidak sembuh dalam 3 minggu harus dieksisi kemudian dilakukan graft. (Evers, Bhavsar dan Mailänder, 2010)

A. Luka bakar superfisial

Disebut juga luka bakar dangkal. Merupakan bentuk luka bakar yang memiliki potensi mengalami proses epitelialisasi spontan. Termasuk ke dalam kategori ini adalah luka bakar epidermal dan dermal bagian superfisial. (Evers, Bhavsar dan Mailänder, 2010)

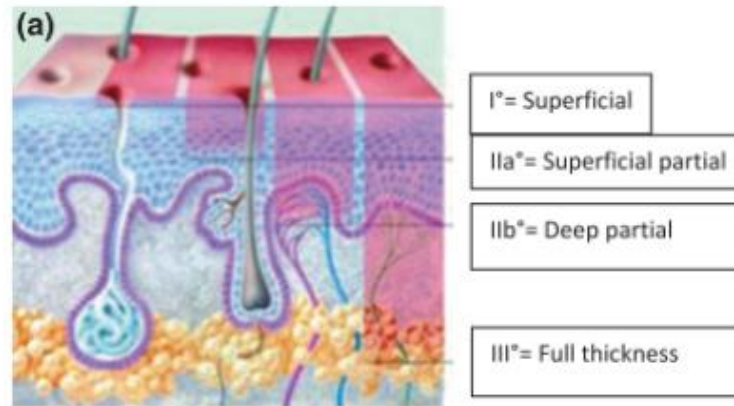
1. Luka bakar epidermal

Luka bakar ini hanya melibatkan lapisan epidermis. Penyebab tersering adalah paparan sinar matahari atau *flash minor injury* (percikan api). Lapisan epidermis mengalami kerusakan dan proses penyembuhan berlangsung melalui regenerasi epidermis yang berasal dari lamina basalis. Dengan adanya produksi mediator inflamasi, didapatkan hiperemis yang menyebabkan luka yang kemerahan dan nyeri. Adanya eritema, kerap sulit dinilai pada seorang yang berkulit gelap. Luka bakar jenis ini mengalami epitelialisasi dalam waktu singkat (dalam 7 hari) tanpa parut maupun perubahan warna. Kadang diperlukan perawatan di rumah sakit untuk manajemen nyeri. Eritema (luka bakar epidermal) tidak diperhitungkan pada kalkulasi luas luka bakar. Memang untuk membedakan eritema (luka bakar epidermal) dengan luka bakar superfisial (dermal) adalah sulit dalam beberapa jam pertama pasca luka bakar. (Benson et al., 2008, Evers et al., 2010)

2. Luka bakar dermal–superfisial

Luka bakar dermal–superfisial mengenai epidermis dan lapis dermis bagian superfisial, yaitu dermal papillae. Ciri khas luka bakar jenis ini yaitu lepuh (*blister*, *bullae*). Lapis kulit di atas bula (non vital) terlepas dari lapis dermis (vital) karena edema. Edema menyebabkan terlepasnya epidermis dari lapisan dermis dan proses eksudasi menyebabkan akumulasi cairan dan mendorong epidermis; lapis epidermis mengalami kematian. Cairan tersebut selanjutnya menyebabkan kerusakan dermis berlanjut sehingga luka bertambah dalam. Terpaparnya dermal papillae memberikan warna merah muda dan karena ujung–ujung saraf sensorik terpapar, maka hal ini diikuti nyeri yang ekstrim. Dengan suasana kondusif, epitel akan menyebar dari struktur adneksa kulit (folikel rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat) dan menutupi dermis. Proses ini merupakan proses epitelisasi. Proses tersebut berlangsung dalam waktu maksimal 14 hari dengan bekas luka yang menunjukkan perbedaan warna. Tidak ada skar yang dibentuk pada luka bakar dermal–superfisial ini. Bila proses epitelisasi mengalami keterlambatan, hal ini menunjukkan bahwa kedalaman luka lebih dalam

dibandingkan saat diagnosis ditegakkan. (Moss, 2010, EMSB Manual Course, 2013).



Gambar 1. Klasifikasi luka bakar secara histologis. (Evers, Bhavsar dan Mailänder, 2010)

B. Luka bakar mid-dermal

Luka bakar mid-dermal, melibatkan kedalaman di antara luka bakar superfisial dan luka bakar dalam, lebih cepat mengalami epitelialisasi dibandingkan luka bakar dalam. Secara klinis, terlihat adanya variasi derajat kerusakan pleksus dermal. Trombosis kapiler dan keterlambatan pengisian kapiler disertai edema dan pembentukan bula dapat diamati. Jaringan berwarna merah muda lebih gelap dibandingkan luka bakar superfisial. (Benson et al., 2008, EMSB Manual Course, 2013)

C. Luka bakar dalam

Luka bakar dalam lebih berat dibandingkan dua jenis luka bakar yang dijelaskan sebelumnya. Proses epitelialisasi spontan tidak terjadi, atau terjadi

dalam waktu relatif panjang dengan skar yang nyata. Luka bakar ini terdiri dari dermal–dalam dan seluruh ketebalan kulit.

1. Luka bakar dermal–dalam

Pada luka bakar dermal–dalam mungkin dapat dijumpai bulla, namun di dasar bulla ditunjukkan karakteristik luka bakar dalam, retikulum dermis menunjukkan warna merah berbercak. Hal ini disebabkan karena ekstrasvasasi hemoglobin dari sel–sel darah merah yang rusak dan keluar dari pembuluh darah. Pertanda khas pada luka bakar ini adalah suatu tampilan yang disebut fenomena hilangnya *capillary blush*. Ini menunjukkan kerusakan pleksus dermal. Ujung–ujung saraf di lapis dermis juga mengalami nasib yang sama, karenanya akan diikuti hilang sensasi terutama saat dilakukan uji *pinprick*. (Benson et al., 2008, EMSB Manual Course, 2013)

2. Seluruh ketebalan kulit (*Full Thickness Burns*)

Luka bakar *full thickness* menyebabkan kerusakan lapis epidermis dan dermis dan dapat menyebabkan kerusakan struktur jaringan yang lebih dalam. Pada penampilan klinis dijumpai kulit bewarna putih (*dense white, waxy, dan charred appearance*). Ujung saraf sensorik di dermis rusak sehingga hilang sensasi. Kulit yang mengalami koagulasi menunjukkan konsistensi seperti kulit ini disebut eskar. (Benson et al., 2008, EMSB Manual course 2013)

Diagnosis kedalaman luka bakar [10]

Kedalaman	Warna	Bula	Pengisian Kapiler	Sensasi	Penyembuhan
Epidermal	Merah	Tidak	Cepat	Nyeri	Ya
Dermal–superfisial (dangkal)	Merah muda Pucat	Kecil	Cepat	Nyeri	Ya
Mid–dermal	Merah mudagelap	Awal	Lambat	+/-	Biasanya
Dermal dalam	Merah Bernoda	+/-	Tidak ada	Tidak ada	Tidak
Seluruh ketebalan	Putih	Tidak	Tidak ada	Tidak ada	Tidak

Tabel 1 Diagnosis Kedalaman Luka Bakar (Benson, Dickson dan Boyce, 2006)

2.1.3. Patofisiologi Luka Bakar

Luka bakar terjadi baik karena kondisi panas langsung atau radiasi elektromagnetik. Sel-sel dapat menahan temperatur sampai 44⁰C tanpa kerusakan bermakna, kecepatan kerusakan jaringan berlipat ganda untuk tiap derajat kenaikan temperatur. Saraf dan pembuluh darah merupakan struktur yang kurang tahan dengan konduksi panas (Molan, 2012).

Dalam menilai peran inflamasi pada luka bakar, penting untuk terlebih dahulu mengenali perbedaan dalam patofisiologi luka bakar. Tidak seperti luka lainnya, luka bakar terdiri dari tiga zona, yang awalnya dijelaskan oleh Jackson dalam *British Journal of Surgery* pada tahun 1953. Zona ini adalah zona koagulasi, zona stasis dan zona hiperemis. (Strudwick dan Cowin, 2018)

Bagian tengah luka dikenal sebagai zona koagulasi yang merupakan bagian terbesar yang terpapar oleh panas dan menderita kerusakan paling

banyak. Protein mengalami denaturasi pada suhu 41°C, sehingga panas yang berlebihan di tempat cedera menyebabkan denaturasi protein yang berlebihan, degradasi, dan koagulasi, yang menyebabkan nekrosis jaringan. Zona koagulasi pada fokus sentral cedera umumnya dianggap terdiri dari jaringan yang rusak (Rowan *et al.*, 2015).

Di luar zona koagulasi, terdapat zona stasis atau zona iskemik, yang ditandai dengan penurunan perfusi jaringan dan terdapat jaringan yang berpotensi untuk masih bisa diselamatkan. Zona stasis paling sering diidentifikasi pada luka bakar kulit sedang hingga dalam dan mewakili wilayah stasis vaskular dan iskemia. Dari perspektif klinis, wilayah inilah yang memiliki beberapa tantangan terbesar. Pada zona ini, hipoksia dan iskemia dapat menyebabkan nekrosis jaringan dalam 48 jam pertama jika tidak ada penanganan yang dilakukan. Mekanisme apoptosis dan nekrosis pada zona iskemik sendiri masih belum dapat dimengerti dengan baik, namun tampaknya melibatkan autofagi dalam 24 jam pertama setelah cedera dan apoptosis yang tertunda sekitar 24-48 jam setelah cedera. Studi lain telah menunjukkan apoptosis menjadi aktif paling cepat 30 menit setelah luka bakar, tergantung pada dalamnya luka bakar. Jika inflamasi dan vaskularisasi tidak cepat kembali normal, zona stasis juga dapat mengalami nekrosis yang berarti bahwa ukuran luka sebenarnya bisa membesar dari waktu ke waktu. Dengan demikian, arah perluasan luka bakar lebih dominan horizontal, yang berbanding terbalik dengan

luka insisional yang meluas secara vertical. Sementara luka bakar berbeda dari jenis luka lain karena steril pada saat cedera, lepuh cepat dan nekrosis jaringan yang terluka segera membuka luka hingga patogen dan risiko infeksi (Strudwick & Cowin, 2018, Benson et al., 2008).

Daerah terluar lesi ini adalah zona hiperemis, yang menerima peningkatan aliran darah melalui inflamasi dan vasodilatasi pembuluh darah. Zona ini ditandai oleh vasodilatasi, perubahan inflamasi tanpa kerusakan struktural (Evers, Bhavsar dan Mailänder, 2010)



Gambar 2. Tiga zona Luka Bakar Menurut Jackson. a) Zona koagulasi, (b) zona stasis dan (c) zona hiperemia. (Tiwari, 2012)

2.1.4. Fase Inflamasi pada Luka Bakar

Meskipun sumber cedera mungkin berbeda, fase penyembuhan luka umumnya serupa dan dapat digambarkan sebagai fase hemostasis dan peradangan, proliferasi, dan remodeling. Fase yang saling terkait dan tumpang tindih ini biasanya berkembang dalam hitungan hari atau minggu untuk secara efektif menyembuhkan

luka, meskipun waktunya sering berbeda antara jenis luka. Pada luka akut, fase inflamasi berlangsung selama 5-7 hari pertama, namun luka bakar dalam dapat menunjukkan peradangan kronis dan persisten yang lama setelah kerusakan jaringan awal dan bahkan dapat mengakibatkan kegagalan organ multiple (*Multiple Organ Failure / MOF*) karena sindrom respons inflamasi sistemik (*Systemic Inflammatory Response Syndrome / SIRS*). Selain itu, disregulasi respons inflamasi dan perkembangan selanjutnya melalui fase penyembuhan berhubungan dengan hasil luka yang tidak optimal dan inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan bekas luka yang besar, tebal dan restriktif. Dengan demikian, memahami interaksi antara fase inflamasi awal dan fase penyembuhan proliferasi dan remodeling kemudian penting untuk memahami komplikasi tertentu yang mungkin timbul setelah luka bakar (Strudwick and Cowin, 2018; Sharma and John, 2012).

Respon inflamasi memiliki komponen vaskular dan seluler. Respons vaskuler ditandai dengan vasodilatasi lokal dengan ekstrasvasasi cairan di ruang ketiga. Pada cedera luka bakar yang luas, peningkatan permeabilitas kapiler dapat digeneralisasi yang menyebabkan ekstrasvasasi masif plasma yang membutuhkan penggantian cairan. Hemostasis dan koagulasi terjadi melalui pembentukan bekuan darah trombosit dan fibrin dan fibronektin yang terkait silang untuk mencegah kehilangan cairan yang berlebihan dari tempat luka. Membran sel melepaskan vasokonstriktor kuat seperti prostaglandin 2 alfa dan tromboksan A₂. Kolagen dalam luka memicu kaskade pembekuan melalui baik jalur intrinsik dan ekstrinsik. Hasilnya adalah

bekuan fibrin yang mengandung kolagen, trombin, dan fibronectin. Ini pada gilirannya menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi dan faktor pertumbuhan. PMN menjalani kemotaksis ke dalam luka di hadapan interleukin-1, tumor necrosis factor (TNF)-alpha, mengubah faktor pertumbuhan (TGF)-beta, platelet factor-4 dan produk bakteri. Sel-sel menyingkirkan bakteri luka dan jaringan yang rusak (Marck *et al.*, 2019; Sharma and John, 2012).

Pembuluh darah yang terluka cepat menyumbat aliran darah dari pembuluh terbuka dan kemudian vasodilatasi untuk memfasilitasi masuknya sel darah ke tempat luka yang dibutuhkan dalam fase inflamasi. Sementara luka bakar menunjukkan kehilangan darah yang lebih sedikit daripada luka insisional akibat koagulasi jaringan yang dipicu oleh panas, masih ada kerusakan signifikan pada pembuluh darah, dengan vasokonstriksi yang memanjang keluar dari zona cedera awal dan ke dalam zona stasis. Selain itu, tahap-tahap awal setelah luka bakar ini mungkin kompleks oleh kerusakan yang berkelanjutan karena proses nekrosis yang mengarah ke penundaan yang signifikan dalam penyembuhan (Karina *et al.*, 2019).

Respons seluler ditandai dengan sel-sel imun utama yang direkrut ke tempat luka dengan sinyal yang dilepaskan dari platelet degranulasi di dalam jaringan yang terluka. Dalam beberapa jam, tahap inflamasi awal dimulai dengan masuknya sel-sel imun ke lokasi luka. Sel-sel ini bertanggung jawab untuk perlindungan dari infeksi, pembersihan jaringan nekrotik yang rusak dari lokasi luka dan stimulasi sel yang diperlukan untuk perbaikan luka selama fase proliferasi dan remodelling dari

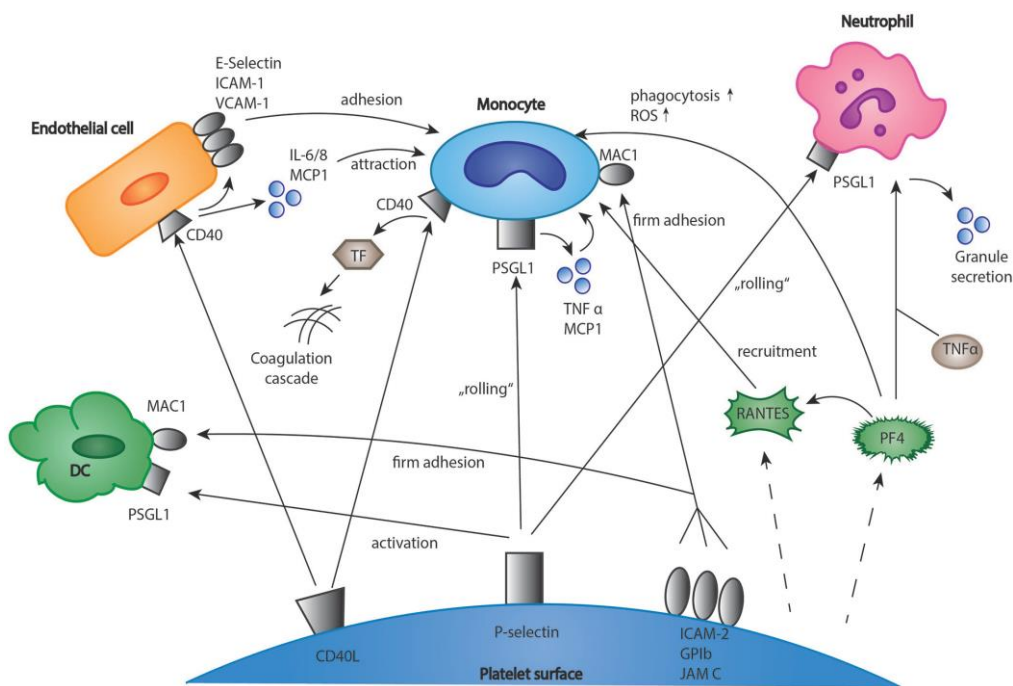
penyembuhan luka. Agregasi trombosit teraktivasi pada ujung pembuluh yang rusak juga melepaskan faktor pertumbuhan, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor-beta 1* (TGF- β 1), untuk memulai migrasi fibroblast dan sel mesenkimal dari sekitar luka. Jaringan yang akan diperlukan untuk pembentukan matriks ekstraseluler baru dan jaringan dermal selama fase proliferaif penyembuhan luka. Sel mast dalam jaringan ikat menghasilkan serotonin dan histamine yang meningkatkan permeabilitas kapiler, sehingga terjadi eksudasi cairan, penyerbukan sel radang disertai vasodilatasi setempat yang menyebabkan edema. Aktifitas seluler yang terjadi pada fase ini adalah migrasi leukosit dari pembuluh darah yang dilatasi. Leukosit ini mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna mikroorganisme. Sedangkan pembentukan kolagen pada fase ini masih sedikit (Strudwick dan Cowin, 2018).

Setelah aktivasi, trombosit mengekspos berbagai membran reseptor, dan melepaskan mediator larut yang mengatur inflamasi dan respons imun lainnya. Salah satu reseptor penting adalah P-selectin, protein membran yang disimpan di *platelet alpha-granules*, yang berikatan dengan P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) pada PMN, monosit, dan eosinophil. Baik PMN dan monosit direkrut ke daerah lesi vaskuler bersama platelet yang tidak bergerak dan melekat melalui P-selectin (Gambar 3). Ikatan yang lebih stabil selanjutnya terbentuk oleh interaksi leukosit Mac-1 dan reseptor trombosit GPIIb/IIIa, *junctional adhesion molecule 3* (JAM3), dan intercellular adhesion molecule 2 (ICAM-2). Proses ini mendorong

perekrutan leukosit untuk pembentukan thrombus dan tampaknya penting untuk formasi thrombus yang stabil. Menariknya, blokade P-selectin secara signifikan melindungi terhadap pembentukan plak aterosklerotik pada tikus. Dalam uji klinis Tahap II SELECT-ACS, antagonis P selectin inclacumab mengurangi kerusakan miokard setelah NSTEMI. Mediator penting pada respons seluler adalah ligan platelet CD40 (CD40L), yang dilepaskan baik dalam bentuk terikat membrane atau larut. CD40 dapat ditemukan pada sel endotel, monosit, limfosit, dan sel dendriti. Dalam monosit, platelet CD40L merangsang ekspresi faktor jaringan yang mengaktifkan kaskade koagulasi (Gambar 3). Selanjutnya, dalam sel endotel, trombosit CD40L mengatur ekspresi reseptor adhesi E-Selectin, *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1), dan ICAM-1 serta sekresi sitokin proinflamasi seperti interleukin 8 (IL-8), IL-8 dan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1). Platelet mengeluarkan CD40L yang larut tampaknya memainkan peran penting untuk pembentukan trombus yang stabil melalui interaksi dengan reseptor GPIIb / IIIa platelet. Namun, kurangnya platelet CD40L menyebabkan penurunan pembentukan plak aterosklerotik yang signifikan pada tikus ApoE $-/-$, yang bisa dijelaskan oleh disregulasi hemostasis sel T yang dependent CD40L. Selain dari mediator yang terikat pada membran, platelet mensekresi berbagai sitokin (Gambar 1). Ditunjukkan bahwa pada saat aktivasi, platelet mensintesis dan mengeluarkan IL- 1β yang merupakan sitokin proinflamasi yang sangat kuat. IL- 1β mengatur ekspresi adhesi reseptor dan sekresi IL-8 dan IL-8 dalam sel endotel

dan meningkatkan Nitrit oxide yang kemudian menginduksi permeabilitas pembuluh darah. Penelitian lain menunjukkan sekresi IL-1b dalam ekstrak platelet disebabkan oleh leukosit yang terkontaminasi. Kemokin platelet lain adalah *Regulated And Normal T cell Expressed and Secreted* (RANTES), yang dikeluarkan oleh set T sitotoksik. Hal ini menunjukkan bahwa RANTES yang berasal dari platelet berikatan dengan sel endotel dan membantu adhesi monosit terhadap endotelium yang terinflamasi dan plak aterosklerotik (Gambar 3). Selanjutnya, studi yang sama menunjukkan blokade RANTES menyebabkan berkurangnya formasi neointimal setelah lesi vaskular pada tikus ApoE $-/-$, dengan demikian menunjukkan peran *platelet derived* RANTES dalam terbentuknya atherosclerosis. Menariknya, platelet RANTES menunjukkan pembentukan heteromer dengan *neutrophil-derived human neutrophil peptide 1* (HNP-1) dan *platelet factor 4* (PF4), yang meningkatkan daya tarik monosit. Baru-baru ini, Machlus et al. menunjukkan bahwa platelet RANTES menginduksi produksi proplatelet pada megakaryocytes. Hal inilah yang mungkin merupakan penjelasan mengapa terjadi peningkatan sementara jumlah trombosit selama inflamasi dan infeksi. Ketika mengacu pada kemokin trombosit, PF4 harus disebutkan. Pada 1981, Deuel et al. menemukan PF4 berfungsi sebagai *chemoattractant* baik untuk PMN dan monosit. Namun, dalam studi lanjutan, efek PF4 pada leukosit kemotaksis tidak dapat ditegaskan. Dalam PMN, PF4 meningkatkan sekresi granul dengan adanya *tumor necrosis factor α* (TNF α). Fungsi lain dari PF4 termasuk

penghambatan apoptosis pada monosit dan stimulasi diferensiasi monosit menjadi makrofag, serta merangsang oksidasi monosit dan fagositosis. Seperti disebutkan di atas, interaksi platelet PF4 dan RANTES menyebabkan peningkatan ikatan monosit pada sel endotel. Menariknya, ditunjukkan bahwa jika interaksi ini dihambat oleh peptida inhibitor MKEY, maka akan menyebabkan kurangnya pembentukan plak aterosklerotik pada tikus dengan hyperlipidemia tanpa menargetkan respons imunologis tertentu terhadap infeksi. Sebuah studi terbaru menunjukkan bahwa MKEY juga mengurangi secara signifikan ukuran infark pada stroke dan meningkatkan hasil neurologis (Eisinger, Patzelt and Langer, 2018; Arturson, 1998).



Gambar 3. Interaksi trombotik dan sel imun dalam proses inflamasi. Platelet mengekspresikan reseptor membran dan menghasilkan mediator yang larut seperti kemokin yang mengatur respons inflamasi sel imun. Interaksi meliputi monosit, sel T, PMN, dan sel dendritik.

Sel dendritic (DC), sel endotel (EC); ICAM-1, intercellular adhesion molecule 1; IL 8/8, interleukin 8/8; MCP1, monocyte chemotactic protein 1; TF, tissue factor; JAM C, junctional adhesion molecule C; PF4, platelet factor 4; PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand-1; RANTES, chemokine ligand 5 (CCL5); TNF α , tumor necrosis factor α ; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1. (Eisinger, Patzelt dan Langer, 2018)

2.1.5. Sel Imun penting dan ekspresi protein dalam penyembuhan luka bakar

Sel-sel imun diperlukan berada di lokasi luka bakar dengan cepat. Walaupun beberapa adalah sel yang normalnya sudah berada di kulit, namun sebagian besar direkrut dari sirkulasi dan bergerak keluar dari pembuluh darah ke tempat cedera. Sel-sel inflamasi utama yang bertanggung jawab untuk mendorong perbaikan luka bakar adalah sel mast, PMN, monosit dan makrofag, yang aktivitasnya dimediasi oleh sejumlah faktor pertumbuhan dan protein pemberi sinyal (sitokin) yang bertanggung jawab untuk mengarahkan perkembangan melalui kaskade penyembuhan yang dikeluarkan oleh sel-sel imun sendiri. Hal ini memastikan lokasi yang tepat dari sel-sel yang diperlukan dalam jaringan yang terluka dan merangsang proliferasi dan berdiferensiasi sel sebagaimana diperlukan untuk menyembuhkan luka bakar. Awalnya, kemokin yang merupakan bagian dari sitokin yang menginduksi kemotaksis, diekspresikan untuk memastikan pergerakan sel imun ke lokasi luka. Ekspresi faktor pertumbuhan dan sitokin lebih lanjut merangsang sel-sel imun ini dan sel-sel aktif luka lainnya, seperti fibroblast dan keratinitis, untuk melaksanakan proses yang diperlukan untuk penyembuhan luka bakar (Strudwick and Cowin, 2018; Singh *et al.*, 2007)

- PMN

Luka bakar ditandai dengan jumlah PMN yang terus-menerus tinggi, namun, penelitian telah menunjukkan bahwa kemotaksis PMN terganggu setelah cedera luka bakar, dengan kecepatan migrasi terarah berkurang, fungsi fagositosis terganggu, dan penurunan kapasitas bakterisida. PMN juga membantu membersihkan jaringan yang mengalami devitalisasi melalui produksi MMP, kolagenase, dan elastase, yang membuka jalan bagi pembentukan ECM baru. Sel-sel ini juga mengekspresikan sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β dan IL-8 yang memberikan sinyal lebih lanjut untuk lebih banyak PMN dan sel imun lainnya, seperti monosit dan makrofag, untuk dikumpulkan di lokasi luka. Sejumlah mekanisme digunakan oleh PMN untuk membersihkan agen infeksi yang meliputi fagolisosom, pelepasan radikal bebas seperti ROS dan protease antimikroba untuk merusak membran sel dan dengan menjebak mikroba dalam jaring histone dan DNA (Strudwick dan Cowin, 2018)

- COX 2

Siklooksigenase adalah enzim yang mengkatalisis dua langkah pertama yang dilakukan dalam metabolisme arakidonat asam menjadi prostaglandin. Terdapat dua isoform dari COX, yaitu COX-1 dan COX-2. Bentuk konstitutif COX-1 diyakini untuk hadir di sebagian besar jaringan dan jenis sel di seluruh tubuh dan mempertahankan fungsi homeostatis tertentu. COX-2 merupakan bentuk yang

dapat diinduksi dalam jenis sel tertentu, biasanya tidak ada dalam kondisi normal dan diekspresikan sebagai respons terhadap inflamasi rangsangan atau faktor pertumbuhan.

Data dari beberapa kelompok baru-baru ini telah menunjukkan bahwa sel-sel PMN juga mengekspresikan siklooksigenase (COX)-2 pada tingkat mRNA dan protein di bawah stimulasi faktor-faktor seperti phorbol 12- miristat 13-asetat, bakteri opsonisasi, zymosan, lipopolisakarida (LPS), *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (gm-csf)*, TNF- α dan N-formyl-L-methionyl- L-leucyl-L-phenylalanine. Dengan menggunakan pewarnaan imunoperoksidase, COX-2 telah terbukti ada pada kulit manusia yang mengalami fase inflamasi. (He *et al.*, 2001, Futagami *et al.*, 2002)

- Aktivasi komplemen

Luka bakar menyebabkan peningkatan sistemik komplemen dan protein C-reaktif (CRP), meningkatkan risiko SIRS dan juga secara negatif mempengaruhi penyembuhan luka bakar. Kaskade komplemen memainkan peran penting dalam fase akut respons imun. Sebagai bagian dari respon imun bawaan, sistem komplemen terdiri dari sejumlah protein komplemen (C) yang meningkatkan kemampuan untuk melawan infeksi oleh mikroba yang menyerang dan membersihkan debris. Sistem komplemen secara dinamis terlibat dengan respon imun seluler, beroperasi melalui jalur yang berbeda termasuk jalur klasik, lektin dan alternatif atau melalui properdin dan trombin, yang dipicu oleh antibodi

yang diekspresikan pada sel-sel apoptosis atau mikroba, oleh residu karbohidrat dan lipid yang berbeda pada sel yang terluka dan oleh DAMP dan PAMP di lokasi luka. Sementara jalur yang berbeda digunakan, semua kaskade pelengkap bertindak untuk melisis mikroba melalui pembentukan C5b dan C9 ke dalam kompleks serangan membran dan bertemu untuk menghasilkan C3a yang bersama-sama dengan C5 menarik sel-sel inflamasi dan mendorong fagositosis dan pembersihan sel-sel yang rusak oleh makrofag. Degranulasi trombosit mengaktifkan protein C5. C5, bersama dengan C3, pada gilirannya merangsang sel mast dan dengan demikian kaskade komplemen dapat memodulasi keterlibatan sel mast dalam resolusi bekuan darah dan remodeling ECM. Setelah cedera luka bakar, kadar CRP dan C3d meningkat di dalam lokasi luka lokal dan peningkatan ini bertahan lama setelah cedera awal. Peningkatan komplemen juga dikaitkan dengan peningkatan jumlah makrofag dan PMN, menunjukkan bahwa respon imun lokal pada luka bakar bertahan secara lokal lebih lama daripada jenis luka akut lainnya. Memang, tampaknya seluruh sistem kekebalan terlibat secara dinamis dalam proses penyembuhan luka bakar. (Strudwick dan Cowin, 2018).

2. 2. Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet Rich Plasma (PRP) adalah suatu produk plasma autologous dari trombosit yang memiliki trombosit empat hingga lima kali lebih banyak

daripada plasma darah yang tidak diproses. PRP telah terbukti menjadi agen yang efektif untuk penguatan tulang, regenerasi tulang rawan, neovaskularisasi, dan deposisi jaringan dalam penelitian pada hewan. Hasil ini telah meningkatkan minat pada PRP dan menyebabkan penggunaan PRP pada manusia. PRP telah dilaporkan digunakan dalam berbagai aplikasi, antara lain pada luka maksilofasial, orthopedic, bedah mulut, osteoarthritis. Hasil penelitian ini telah memberikan bukti kuat yang mendukung penggunaan klinis PRP, namun hanya beberapa yang menyertakan kontrol untuk secara jelas menunjukkan peran PRP. Selain itu, tidak ada konsensus yang tepat mengenai produksi dan karakteristik PRP. Kurangnya konsensus ini juga menghalangi pendekatan standar untuk PRP (Unal, 2018)

PRP diketahui mengandung faktor-faktor pertumbuhan, sitokin, dan faktor pembekuan dengan jumlah besar. Sebagai sumber yang kaya faktor pertumbuhan, PRP digunakan dalam rekayasa jaringan untuk meningkatkan level faktor pertumbuhan dengan melepaskannya dari penyimpanan intraseluler. Berbagai faktor pertumbuhan ditemukan dalam PRP antara lain *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* (TGF) - β 1, keduanya terlibat dalam regulasi regenerasi tulang (El-Sharkawy *et al.*, 2007, Laidling *et al.*, 2020)

PRP diperoleh dengan sentrifugasi secara berkala dari ketebalan seluruh darah yang memisahkan plasma, leukosit dan platelet dari sel darah

merah untuk membentuk lapisan *buffy* dan lapisan plasma. Lapisan buffy ini akan didiamkan dalam sejumlah kecil plasma untuk membentuk produk PRP akhir. (Devereaux *et al.*, 2018, Mehranfar *et al.*, 2019)

PRP bertindak melalui degradasi butiran alfa pada platelet. Sekresi faktor pertumbuhan dimulai dari butiran alfa dalam waktu 10 menit setelah pembekuan dan lebih dari 95% faktor pertumbuhan yang dipresintesis disekresikan dalam 1 jam. Dalam prakteknya, setelah PRP disiapkan, perlu untuk menginduksi butiran alfa dalam platelet untuk pelepasan faktor pertumbuhan. Induksi ini dibuat dengan menambahkan kalsium dan / atau trombin ke dalam PRP yang disiapkan secara *in vitro*. Untuk alasan ini, PRP harus disiapkan tanpa pembekuan dan harus diaplikasikan dalam waktu 10 menit setelah inisiasi bekuan PRP tetap stabil, tanpa mengurangi keefektifannya kurang lebih 8 jam setelah persiapan. PRP mengandung banyak mediator berbeda, namun *TGF- β* dan *PDGF* merupakan faktor pertumbuhan yang terpenting di PRP. Mereka terlibat dalam banyak tahap penyembuhan dengan memicu perkembangan dan diferensiasi sel. Studi *in vivo* dan *in vitro* sebelumnya menunjukkan bahwa sel-sel yang mempunyai peran pada penyembuhan luka dipengaruhi faktor pertumbuhan. Fibroplastin diketahui sensitif terhadap *PDGFa*, *PDGFb*, *IGF*, *bFGF*, dan *EGF*. *Epidermal growth factor* aksinya sebagai kemotaktik untuk fibroblast dan juga jika diaplikasikan topical mempercepat regenerasi dan penyembuhan

luka. Sel-sel endotel berespon terhadap *VEGF* dan *bFGF*, faktor pertumbuhan seperti *VEGF*, *PDGF* dan *bFGF* merupakan pemicu proliferasi pembuluh darah. Migrasi fibroblast dan proliferasinya diinduksi *PDGF*, *PDGF* juga menunjukkan bahwa dia merupakan faktor kemotaktik untuk neutrophil dan monosit dan meningkatkan deposisi kolagen. *TGF-β* berfungsi sebagai regulator diferensiasi sel, proliferasi, kemotaksis dan sintesis protein matriks ekstraseluler. Efek ini meningkatkan sintesis kolagen, jaringan granulasi, dan kekuatan tegangan luka. *TGF-β* menginduksi sintesis kolagen dan mempercepat pematangan kolagen pada tahap awal penyembuhan luka. PRP juga menunjukkan peningkatan diferensiasi sel epitel dan kolagen. Pada pasien yang diterapi dengan PRP, fase inflamasi penyembuhan luka memendek dan pemanjangan inflamasi tidak ada. Sehingga menurunkan infeksi bakteri dan pembedahan skar (Unal, 2018)

Aktivitas enzim *CAT* (*catalase*) dalam kelompok PRP-T secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol, yang menyiratkan bahwa produksi H_2O_2 dari respon injuri/inflamasi ditekan. Fenomena ini dihubungkan oleh PRP karena kemampuan untuk mengaktifkan *antioxidant response elements* (ARE) melalui *nerve related growth factor 2* (Nrf2). PRP meningkatkan proses regeneratif melalui aktivitas antifagositic seperti yang ditunjukkan oleh berkurangnya aktivasi makrofag, inhibisi *MCP-1*, peningkatan pengiriman *RANTES*, dan pelepasan *LXA4*. Makrofag sangat

penting untuk penyembuhan luka dan memainkan peran sentral dalam proses inflamasi dan peraturan regeneratif perbaikan proses. Banyak sitokin dan kemokin dilepaskan dari makrofag selama peradangan dan penyembuhan luka. (Tohidnezhad *et al.*, 2011)

Sementara itu PRP menyebabkan inhibisi pada *MCP-1* yang dilepaskan oleh monosit secara signifikan. *MCP-1* adalah anggota Kemokin CC dan diproduksi oleh berbagai sel, termasuk monosit / makrofag dalam menanggapi rangsangan pro-inflamasi. Pada monosit, *MCP-1* diinduksi chemotaxis, induksi cepat pelepasan *arachidonic acid*, dan perubahan dalam konsentrasi Ca^{2+} . *PRP* mengurangi peradangan yang dimediasi monosit dan meningkatkan penyembuhan luka. (Eisinger, Patzelt dan Langer, 2018)

Hesham El-Sharkawy dkk menunjukkan bahwa *LXA4* yang dikeluarkan trombosit meningkat, yang mendorong proses peradangan mereda. *LXA4* meningkatkan *TGF- β 1* sehingga mengurangi eksudat sementara meningkatkan infiltrasi monosit *non-phagositic* yang tampaknya diperlukan untuk penyembuhan luka dan stimulasi lebih lanjut makrofag untuk fagositosis dan apoptosis PMN. Wruck dkk telah menunjukkan bahwa PRGF dapat mengaktifkan jalur *Nrf2-ARE pathway* pada kultur sel *osteoblast* dan bahwa *Nrf2* memainkan peran dalam proses kompleks inflamasi. Oleh karena itu di sini ditunjukkan bahwa jalur ini diaktifkan oleh *PDGF*. *PDGF* mengaktifkan jalur *Nrf2* yang mengarah ke peningkatan enzim antioksidan

dan melindungi sel dari stres oksidatif. Peningkatan *Nrf2* pada nukleus dimana ini berikatan dengan *Antioxidant Response Element* (ARE). Dengan aktivasi ARE, kadar enzim antioksidan in vivo seperti *transcriptional activation of antioxidant enzymes heme oxygenase-1* (HO-1), *NADPH dehydrogenase* (NQO1), *superoxide dismutase 2* (SOD₂), *catalase*, *thioredoxin 1* (Trx1), dan *glutathione peroxidase* (GPx) meningkat. HO-1 mengkonversi *heme* menjadi *karbon monoksida*, *iron* (II) dan *biliverdin*. NQO1 mengkonversi enzim dan protein lain (R) kembali ke bentuk semula (RH) melalui transfer elektron antara NADPH dan NADP. Dismutase (O₂⁻) dapat mengkonversi ke *hidrogen peroksida* menggunakan SOD₂ dan kemudian diproses lebih lanjut menjadi air dengan bantuan enzim *catalase* (CAT) yang enzim ini semuanya secara langsung akan menurunkan kadar ROS. (El-Sharkawy *et al.*, 2007)

2. 3 Stromal Vascular Fraction Cell (SVFs)

Teknologi terbaru menawarkan alternatif baru yang hanya membutuhkan lemak dan darah, bukan kulit. Sel yang berada dalam stroma jaringan adiposa sekarang diakui sebagai sumber yang mudah diakses, berlimpah, dan dapat diandalkan dari berbagai sel induk dewasa yang cocok untuk rekayasa jaringan dan aplikasi kedokteran regeneratif. *Stromal vascular fraction cells* (SVF) dan *adipose-derived stem sel* (ADSC) telah digunakan untuk mempercepat proses

penyembuhan luka dan untuk mengobati berbagai penyakit, seperti osteoarthritis, multiple sclerosis, penyakit Crohn, serta kondisi yang membutuhkan pencangkokan lemak (Darinskas *et al.*, 2017; Karina *et al.*, 2019).

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* (ADSCs), sel mesenchymal dan sel progenitor endotel, subtipe leukosit, sel limfatik, *pericytes*, sel T, sel B dan sel otot polos vaskular. SVFs diproses sedemikian rupa sehingga mengandung komposisi sel heterogen konsisten yang dapat diproduksi 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 rusak. (Mehranfar *et al.*, 2019)

Meskipun jaringan adiposa telah secara rutin dibuang sebagai limbah medis, ahli bedah plastik dan peneliti lainnya telah mendokumentasikan penggunaan jaringan adiposa sebagai sumber sel stroma multipoten yang melimpah dan dapat diakses untuk pengobatan regeneratif. Sejak laporan awal pada akhir 1980-an, beberapa laboratorium telah menetapkan bahwa sel stroma yang serupa dengan yang teridentifikasi dalam sumsum tulang dapat diisolasi

dengan cara yang dapat direproduksi dari jaringan adiposa yang dapat direseksi sebagai jaringan utuh atau disedot dengan menggunakan sedot lemak. Umumnya jaringan adiposa dicerna oleh suatu kolagenase, tripsin atau enzim terkait. (Josh *et al.*, 2012)

Setelah netralisasi enzim, unsur yang dilepaskan populasi sel mesenkim heterogen yang tidak hanya mencakup sel stroma dan sel hematopoietik serta sel progenitor adiposa tetapi juga sel endotel, eritrosit, didefinisikan sebagai SVFs, dipisahkan dari adiposit matang dengan sentrifugasi. SVFs terdiri dari fibroblas, limfosit, monosit / makrofag 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 *mesenkimal stromal sel* (MSC) sumsum tulang untuk menghabiskan sebagian besar populasi sel hematopoietik dari SVFs. Proses ini memungkinkan munculnya populasi sel yang sejenis disebut sel stromal yang berasal dari jaringan adiposa (*Adipose-derived stromal/stem cells* - ASCs). ASCs termasuk sel multipoten dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteoblasts. 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, yang 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* (Josh, Kobe, 2012; Karina *et al.*, 2019).

Studi menunjukkan bahwa SVFs menurunkan tingkat inflamasi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, seperti dilihat pada rendahnya ekspresi sitokin inflamasi contohnya *IL-8* dan *TNF- α* , namun ekspresi anti-inflamasi yaitu *IL-10* lebih tinggi lagi, peningkatan jumlah makrofag M2 dideteksi pada kelompok SVF dibandingkan kontrol. Timessen *et al* mengindikasikan bahwa sel T regulasi yang terkandung pada SVFs mengatur fenotip M2 makrofag pada SVF. Studi sebelumnya pada iskemi jantung memperlihatkan bahwa SVFs memiliki efek anti-inflamasi pada terapi sel melalui penurunan ekspresi mRNA sitokin inflamasi seperti *TNF- α* , *IL-8* dan *Matrix Metalloproteinase* (MMP-1), dan inhibitor jaringan MMP (TIMP-1). (Lin *et al.*, 2003)

Adapun penelitian Cardoso *dkk* yang menunjukkan bahwa infiltrasi mononuklear pada pemberian SVFs secara klasik mengaktifasi makrofag M1 yang telah diketahui mengekspresikan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti

IL-1, IL-8 dan IL-23 dan dibawah pengaruhnya, sel Th17 yang dikeluarkan oleh IL-17 yang akan menginduksi perekrutan sel PMN menuju daerah luka. Dapat dilihat bahwa peningkatan infiltrasi Monosit pada hari ke 7 dengan tidak adanya peningkatan infiltrasi PMN pada daerah luka. Hasil ini memperlihatkan bahwa sitokin yang dikeluarkan oleh sel-sel SVFs akan mengubah aktivasi makrofag dari makrofag klasik M1 menuju makrofag regulator M2 yang akan meningkatkan profil penyembuhan luka. Makrofag regulator teraktivasi diketahui akan meningkatkan produksi komponen matriks ekstraseluler dan mengeluarkan sitokin anti-inflamasi misalnya IL-10 untuk mengontrol ekstensi dan intensitas inflamasi, lalu memicu kondisi yang sesuai untuk proses proliferasi jaringan luka. (Cardoso dkk, 2018).

Penelitian Tobita dkk menunjukkan bahwa kombinasi dari ASCs dan PRP efektif untuk regenerasi tulang: (1) konsentrasi faktor pertumbuhan (IGF 1, TGF- β 1, HGF, dan VEGF) yang dikeluarkan oleh ASCs secara signifikan meningkat dengan penambahan PRP, (2) beberapa ASCs langsung berdiferensiasi menjadi osteoblas *in vivo*, dan (3) kombinasi ASC/PRP berkontribusi meregenerasi tulang menjadi tebal sesuai dengan kekosongan, yang akan terhubung ke tulang asli. Beberapa studi telah menyelidiki profil sekresi dari ASCs. ASCs mensekresi sitokin angiogenik (VEGF dan HGF) secara *in vitro* dan *in vivo*, yang meningkatkan neovaskularisasi dan meningkatkan penyembuhan luka di jaringan yang injuri. Selain itu, Luo dkk.

melaporkan bahwa ASCs yang melindungi dari apoptosis pada regenerasi saraf karena tergantung pada TGF- β 1 untuk mengurangi peradangan dan meningkatkan VEGF untuk angiogenesis (Tobita, Tajima dan Mizuno, 2015).

Banyak faktor yang dikeluarkan oleh ASCs berfungsi dalam mekanisme perlindungan terhadap kematian sel atau menginduksi migrasi sel dan proliferasi. Namun, dilaporkan bahwa ASCs hanya melepas sejumlah kecil PDGF, salah satu faktor pertumbuhan yang paling penting untuk pembentukan tulang. Oleh karena itu, karena transplantasi ASCs sendiri tidak menguntungkan bagi rekayasa jaringan tulang, pencampuran ASCs dan PRP mungkin merupakan kombinasi yang lebih berguna. Selain itu, Tajima dkk menunjukkan bahwa konsentrasi TGF β 1, VEGF, IGF 1, dan HGF secara signifikan lebih tinggi di ASC supernatants yang mengandung 5% PRP daripada yang berisi 10% FBS (*Fetal Bovine Serum*). Hal ini menunjukkan bahwa PRP menginduksi pelepasan faktor pertumbuhan dari ASCs. (Tobita, Tajima dan Mizuno, 2015)

2..4. Vaseline

Petroleum jelly (juga disebut petrolatum) yang merupakan kandungan vaseline adalah campuran minyak mineral dan lilin, yang membentuk substansi seperti jeli semipadat. Manfaat petroleum jelly berasal dari bahan utama minyak bumi, yang membantu menutup kulit dengan penghalang

pelindung air. 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, sehingga kelembapan kulit tetap terjaga secara natural. Pada dasarnya Vaseline petroleum jelly berfungsi untuk memperbaiki fungsi sel-sel pada kulit. Vaseline sering digunakan juga untuk luka bakar tanpa komplikasi, pada bekas luka, anti kulit kering, menghindari stretch mark sesudah kehamilan. Namun, vaseline tidak boleh digunakan sebagai tindakan pertolongan pertama segera untuk luka bakar, tetapi dapat digunakan sebagai pembalut luka bakar ringan berikutnya.