

**KARYA AKHIR**

**PERUBAHAN JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR (PMN) PADA  
PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS YANG DIBERIKAN STROMAL  
VASCULAR FRACTION (SVFS) DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP)  
PADA TIKUS WISTAR**

**EFFECTS OF PLATELET RICH PLASMA AND STROMAL VASCULAR  
FACTOR COMBINATION ON POLYMORPHONUCLEAR CELLS (PMN)  
COUNT IN ANAL TRAUMA IN WISTAR RATS**

**ERWIN HADI CHANDRA**

**C045181006**



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

**2022**

**PERUBAHAN JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR (PMN) PADA  
PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS YANG DIBERIKAN STROMAL  
VASCULAR FRACTION (SVFS) DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP)  
PADA TIKUS WISTAR**

**EFFECTS OF PLATELET RICH PLASMA AND STROMAL VASCULAR  
FACTOR COMBINATION ON POLYMORPHONUCLEAR CELLS (PMN)  
COUNT IN ANAL TRAUMA IN WISTAR RATS**

**TESIS**

Sebagai salah satu syarat menyelesaikan  
Program Pendidikan Dokter Spesialis  
dan mencapai sebutan dokter Speialis Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

dr. Erwin Hadi Chandra  
C045181006

**PEMBIMBING**

Dr. dr . Sulmiati Sp.BA, Subsp.UA(K)  
Dr. dr. Nita Mariana, M. Kes., Sp.BA Subsp. D.A(K)  
Dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK

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

**2022**

**LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS**

**PERUBAHAN JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR (PMN) PADA PENYEMBUHAN TRAUMA ANUS YANG DIBERIKAN STROMAL VASCULAR FRACTION (SVFS) DAN PLATELET RICH PLASMA (PRP) PADA TIKUS WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

**dr. Erwin Hadi Chandra**  
C045181006

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 11 Februari 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

Pembimbing Utama



**Dr. dr. Sulmiati, Sp.BA, Subsp. U.A(K)**  
NIP. 19731206 200604 2 007

Pembimbing Pendamping



**dr. Firdaus Hamid, Ph.D, M.Kes, Sp.MK**  
NIP. 197712312002121002

Ketua Program Studi



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

Dekan Fakultas Kedokteran



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

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erwin Hadi Chandra  
Nomor Induk mahasiswa : C045181006  
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, 10 Februari 2022

Yang menyatakan,



Erwin Hadi Chandra

## 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 , M.Kes dan dr.Firdaus Hamid PhD, Dr. dr. Fonny Josh SpBP-RE (K) B. Mikro dan Dr. dr. Sachraswaty Rachman Laiding SpB 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. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin; dr. Ulang Bahrun, 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;. Juga kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD, dan Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk sebagai Ketua Departemen Bagian Ilmu Bedah dan Ketua Program Studi Ilmu Bedah 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 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 Juli 2018, 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 istri saya dr. Isne Adelaide Barus, ayah Herson Kudung dan anak yang tercinta Declan Nathan Chandra selalu mendukung dan menghibur saya dalam keadaan senang dan susah. Terutama almarhum ibu saya Anastasia Diana Suhardi yang dengan hebat bisa mendidik anaknya hingga sampai dititik ini.

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, 10 Januari 2022  
Yang menyatakan,



Erwin Hadi Chandra

## ABSTRAK

ERWIN HADI CHANDRA. *Perubahan Jumlah Leukosit Polimorfonuklear (PMN) pada Penyembuhan Trauma Anus yang Diberikan Stromal Vascular Fraction (SVFS) dan Platelet Rich Plasma (PRP) pada Tikus Wistar (dibimbing oleh Sulmiati dan Firdaus Hamid).*

Dengan melihat sel polimorfonuklear (PMN) terhadap pemberian fraksi vaskular stroma (SVF) dan plasma kaya trombosit (PRP) memberikan kontribusi yang signifikan dalam proses penyembuhan. Melalui model trauma anal, penelitian ini akan menguji pengaruh kombinasi SVF dan PRP terhadap jumlah PMN secara *in vivo*. Penelitian ini menggunakan tiga kelompok yang terdiri atas dua puluh delapan tikus wistar yang memenuhi syarat model trauma anal ditugaskan secara acak untuk menerima kombinasi SVF dan PRP (kelompok A), *saline* normal (kelompok B), atau kontrol sehat (kelompok C). Pada hari ke-1, 7, dan 14 diperiksa jumlah sel PMN pada kelompok A dan B. kelompok C dikorbankan lebih awal untuk mendapatkan data awal sel PMN. Hasil penelitian menunjukkan pada hari pertama, kelompok A memiliki lebih banyak sel PMN daripada kelompok B. tetapi perbedaan ini tidak signifikan pada hari ke-7 dan 14. Pada hari ke-1, tes menunjukkan peningkatan yang signifikan pada sel PMN ( $p=0,002$ ). Disimpulkan bahwa menggabungkan SVF dan PRP dapat meningkatkan fase akut sel PMN untuk memperbaiki kerusakan anus secara *in vivo*.

Kata kunci: sel PMN, SVF, PRP, trauma anus, penyembuhan luka



## ABSTRACT

ERWIN HADI CHANDRA. *Changes in the Number of Polymorphonuclear Leukocytes (PMN) in the Return of Anus Trauma Granted with Stromal Vascular Fraction (SVF) and Platelet Rich Plasma (PRP) in Wistar Rats* (supervised by Sulmiati and Firdaus Hamid)

By looking at polymorphonuclear cells (PMN) on the provision of stromal vascular fraction (SVF) and platelet-rich plasma (PRP), this make a significant contribution to the healing process. Using an anal trauma model, this study examines the effect of the combination of SVF and PRP on the number of PMNs in vivo. This research used three groups of twenty-eight Wistar rats eligible for the anal trauma model that were randomly assigned to receive a combination of SVF and PRP (Group A), normal saline (Group B), and healthy controls (Group C). On days 1, 7 and 14, a number of PMN cells in Groups A and B were examined. Group C was sacrificed earlier to obtain preliminary PMN cell data. The results show that on day 1, Group A has more PMN cells than Group B, but this difference is not significant on days 7 and 14. On day 1, tests show a significant increase in PMN cells ( $p=0.002$ ). In conclusion, combining SVF and PRP can increase the acute phase of PMN cells to repair anal damage in vivo.

Keywords: PMN cells, SVF, PRP, anal trauma, wound healing





## DAFTAR ISI

|   |          |
|---|----------|
| HALAMAN JUDUL .....   | i        |
| HALAMAN PENGAJUAN .....   | ii       |
| HALAMAN PENGESAHAN .....  | iii      |
| PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR .....   | iv       |
| KATA PENGANTAR .....  | v        |
| ABSTRAK .....   | vii      |
| ABSTRACT .....  | viii     |
| DAFTAR ISI .....  | ix       |
| DAFTAR TABEL .....  | xii      |
| DAFTAR GAMBAR.....  | xiii     |
| DAFTAR LAMPIRAN .....   | xiv      |
| <b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>  | <b>1</b> |
| 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.....  | 3        |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....   | 3        |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>  | <b>4</b> |
| 2.1 Trauma Anus .....   | 4        |
| 2.1.1 Definisi .....  | 4        |
| 2.1.2 Anatomi .....   | 4        |
| 2.1.3 Epidemiologi .....  | 5        |
| 2.1.4 Diagnosis.....  | 5        |
| 2.1.5 Pemeriksaan Penunjang.....  | 5        |
| 2.1.6 Tatalaksana.....  | 7        |
| 2.1.7 Proses Penyembuhan Luka.....  | 7        |
| 2.1.8 Fase Penyembuhan Intestinal .....   | 15       |
| 2.2 <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i> dan <i>Stromal Vascular Fraction (SVFs)</i> ..... | 18       |
| 2.2.1 <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i> .....   | 18       |
| 2.2.2 <i>Stromal Vascular Fraction (SVFs)</i> .....                                     | 21       |

|   |  |    |
|---|--|----|
| 2.3   | <i>Polymorphonuclear Neutrophils (PMNs)</i> .....  | 22 |
| 2.3.1   | Definisi .....                                     | 22 |
| 2.3.2   | Siklus Hidup Neutrofil .....                       | 23 |
| 2.3.3   | Granulopoiesis.....                                | 24 |
| 2.3.4   | Migrasi Neutrofil.....                             | 25 |
| 2.3.5   | Agregasi Neutrofil dan Clearance .....             | 25 |
| 2.3.6   | Jumlah eutrofil.....                               | 26 |
| 2.4   | Kerangka Teori.....                                | 28 |
| 2.5   | Kerangka Konsep .....                              | 29 |
| 2.6   | Hipotesis .....                                    | 29 |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....              |  | 30 |
| 3.1   | Rancangan Peneltiain .....                         | 30 |
| 3.2   | Lokasi dan Waktu.....                              | 30 |
| 3.3   | Populasi dan Teknik Sampel .....                   | 30 |
| 3.4   | Kriteria Inklusi dan Ekslusi .....                 | 35 |
| 3.5   | Definisi Operasional.....                          | 36 |
| 3.5.1   | <i>Trauma Anus</i> .....                           | 36 |
| 3.5.2   | <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i> .....            | 36 |
| 3.5.3   | <i>Stromal Vascular Fraction cell (SVFs)</i> ..... | 36 |
| 3.5.4   | <i>Sel Polimorfonuklear</i> .....                  | 36 |
| 3.6   | Instrumen Pengumpulan Data .....                   | 36 |
| 3.7   | Metode Pemeriksaan .....                           | 37 |
| 3.8   | Alur Penelitian.....                               | 38 |
| 3.9   | Analisis Data .....                                | 39 |
| <b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b> ..... |  | 40 |
| 4.1   | Hasil Penelitian .....                             | 40 |
| 4.2   | Pembahasan .....                                   | 45 |
| 4.3   | PRP + SVFs dalam penyembuhan luka.....             | 46 |
| 4.4   | Kelemahan dan Kekuatan Penelitian.....             | 47 |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>BAB V PENUTUP</b> .....  | 48 |
| 5.1 Kesimpulan.....         | 48 |
| 5.2 Saran.....              | 48 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> ..... | 49 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....       | 55 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 1. Rerata kadar PMN selama masa pengamatan .....   | 40 |
| Tabel 2. Tes normalitas Shapiro-Wilk. ....   | 41 |
| Tabel 3. Perbandingan jumlah PMN pada kelompok tanpa perlakuan, dan dengan perlakuan berdasarkan hari pengamatan ..... | 42 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 1 Patofisiologi Trauma Anus .....                                | 4  |
| Gambar 2 Fase Inflamasi dalam proses penyembuhan luka.....              | 8  |
| Gambar 3 Hubungan antara waktu terhadap sel pada penyembuhan luka ..... | 15 |
| Gambar 4 Darah yang disentrifugasi untuk mendapat PRP.. .....           | 20 |
| Gambar 5 Mekanisme antimikroba pada Neutrofil .....                     | 23 |
| Gambar 6 Proses Granulopoiesis.....                                     | 24 |
| Gambar 7 Fenotipe dari Neutrofil.. .....                                | 27 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik..... | 55 |
| Lampiran 2. Daftar Riwayat Hidup .....        | 56 |
| Lampiran 3. Data Penelitian .....             | 58 |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Trauma Anus umumnya jarang dan sering berhubungan dengan cedera akibat energi kinetik yang tinggi. Hal tersebut disebabkan karena posisi anorektal yang dilindungi oleh tulang pelvis membuat cedera jarang terjadi. Penyebab iatrogenik, berhubungan dengan aktivitas seksual dan cedera oleh luka tembak penyebab yang sering ditemukan

Epidemiologi tentang prevalensi trauma anus berdasarkan data baik cedera anus ataupun gabungan dengan rektum sangatlah jarang dengan insiden 1.1% dari cedera kolorektal dengan total 16.814 pasien yang mengalami trauma. Terdapat dua laporan tambahan dengan insiden 0.27% (Vitale, 1983) dan 0.1% (Velhams, 2000). Penyebabnya pun bervariasi seperti trauma iatrogenik, benda asing, kejahatan seksual. Mayoritas data yang ditemukan ialah terbanyak pada laki-laki muda dengan umur rata-rata 29 tahun yang berkaitan dengan cedera berhubungan dengan kecelakaan dan pada orang tua terbanyak ialah karena benda asing seperti tindakan endoskopi. Di United Kingdom terbanyak ialah dikarenakan cedera saat persalinan (Thakar dan Sultan, 2003).

Dalam tatalaksana trauma anus, ada beberapa faktor yang berperan. Sejak zaman kuno, manusia telah mencari faktor dan zat yang bisa memperbaiki kerusakan sel. Di Yunani dan Mesir, mereka menggunakan resin (getah) nabati untuk mengatasi cedera jaringan kemudian mereka menggunakan fibrin manusia karena memiliki komponen perekat sangat kuat. Pada 1970-an, komponen darah digunakan untuk mengatasi cedera jaringan, termasuk platelet, yang digunakan di berbagai bidang kedokteran (M, 2017; Amaro, Pérez dan Robaina, 2018).

Menurut beberapa penelitian, *Stromal Vascular Fraction* (SVFs) merupakan komponen lipoaspirat yang diperoleh dari liposuction jaringan lemak. Lipoaspirat mengandung sejumlah besar stem sel yang disebut *Adipose derived stem cell* (ASCs). SVFs berisi campuran sel-sel yang termasuk ASCs dan faktor pertumbuhan (Comella, K., dkk., 2017). SVFs dari jaringan lemak diketahui mengandung sel T regulator, sel precursor endothelial, pre-adiposit yang diketahui sebagai anti inflamasi makrofag. SVFs diketahui dapat memperbaiki penyembuhan luka melalui peningkatan proliferasi sel dan

vaskularisasi, memperkuat inflamasi, dan meningkatkan aktivitas fibroblast (Kim-Serk W et al., 2007; Baglioni S et al., 2009).

*Platelet-Rich Plasma* (PRP) adalah trombosit konsentrat dalam volume kecil plasma, yang berisi setidaknya enam Growth Factor yang utama, termasuk diturunkan *platelet-derived growth factor* (PDGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *epidermal growth factor* (EGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *transforming growth factor-b* (TGF-b) yang di lepaskan setelah aktivasi trombosit (Raposio E, et al., 2016).

*Platelet rich plasma* (PRP) adalah suatu produk darah yang berfungsi mempercepat regenerasi endotelial, epitelial dan epidermal, menstimuli angiogenesis, merangsang sintesa kolagen, mempercepat penyembuhan jaringan lunak, menurunkan jaringan parut pada kulit, mempercepat respon homeostasis pada cedera, dan melawan efek penghambatan penyembuhan luka. PRP karena selalu penggunaannya autologous sehingga tidak memiliki efek penularan penyakit. (Raposio E, et al., 2016)

Menurut beberapa penelitian, platelet yang bersirkulasi berfungsi untuk mempertahankan integritas vaskular dan memfasilitasi pembentukan trombus di situs cedera vaskular. Perannya dalam hemostasis sangat penting dan merupakan sumber alami faktor pertumbuhan. Beberapa penelitian lain menunjukkan kegunaan platelet dalam bedah ortopedi, estetika, ulkus post-flebitis, fistula dan fisura anus. Komponen granula platelet, yaitu faktor pertumbuhan turunan platelet (*platelet derived growth factor*) efektif dalam merangsang proliferasi sel (Amaro, Pérez dan Robaina, 2018).

Selain PRP, *Stromal Vascular Fraction* (SVFs) juga merupakan preparat dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVF berasal dari jaringan adiposa, dan mereka memiliki berbagai kemampuan diferensiasi dan dapat mengeluarkan berbagai sitokin yang berhubungan dengan perbaikan. Penggunaan PRP dan SVFs dalam penyembuhan luka diprediksi menjadi terapi yang menjanjikan di masa depan (Yin *et al.*, 2020).

Oleh karena adanya peningkatan jumlah faktor pertumbuhan dan protein pada kombinasi antara PRP dan SVFs sehingga diharapkan lebih mempercepat penyembuhan luka. Hal inilah yang mendasari penelitian sebelumnya untuk membandingkan tiga macam produk dari sel punca yaitu PRP, SVFs serta kombinasi antara PRP dan SVFs.

Penelitian mengenai perubahan jumlah sel PMN pada trauma anus yang diberikan PRP dan SVFs belum banyak diteliti. Pentingnya peran PMN dalam menilai awal proses



penyembuhan luka yaitu pada inflamasi penting dalam penyembuhan luka. Hal ini juga mendasari alasan peneliti memilih penelitian ini sebagai bahan penelitian.

Penelitian baik di Indonesia maupun di dunia yang membahas mengenai kombinasi pemberian PRP dan SVF pada kasus trauma anus masih sangat sedikit. Beberapa literatur menunjukkan efektivitasnya pada penyembuhan luka bakar, khususnya pada proses re-epitelisasinya (Karina *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk menilai efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVF pada kasus trauma anus, dengan menggunakan PMN sebagai indikator perbaikan mukosa yang dapat diukur.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut: Apakah ada perubahan jumlah leukosit PMN (Polimorfonuklear) pada penyembuhan luka antara kombinasi *Platelet rich plasma (PRP)* dan *Stromal vascular fraction (SVFs)* dalam trauma anus pada model tikus wistar

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Untuk mengetahui perubahan jumlah leukosit Polimorfonuklear (PMN) pada proses penyembuhan trauma anus yang diberikan Stromal Vascular Fraction (SVFs) dan Platelet Rich Plasma (PRP) pada tikus wistar

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Untuk mengetahui efektivitas penggunaan kombinasi PRP dan SVFs pada proses penyembuhan luka trauma anus berdasarkan gambaran mikroskopik perubahan jumlah leukosit PMN (Polimorfonuklear) pada model tikus wistar

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terutama dalam pemanfaatan kombinasi PRP + 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 TELAAH PUSTAKA

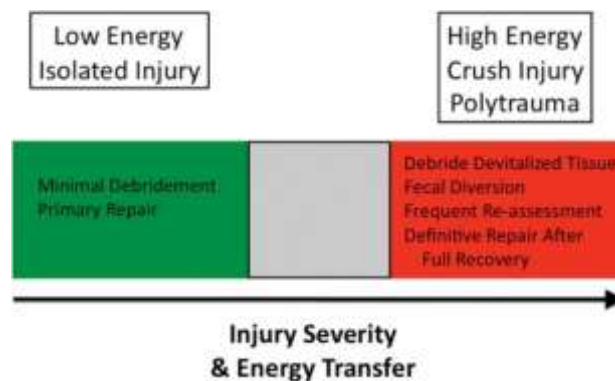
#### Trauma Anus

##### 2.1.1 Definisi

Trauma anus adalah cedera yang terjadi pada anus dan mengalami gangguan (paling sering sfingter anus) yang disebabkan baik oleh trauma tumpul maupun trauma penetrasi pada perineum(Herzig, 2012).

##### 2.1.2 Anatomi

Cedera traumatis pada trauma anus dapat terisolasi dan/atau berenergi rendah, yang hanya melibatkan sfingter anal. Namun sebagai alternatif, dapat juga terjadi kompleks cedera polytrauma yang disebabkan oleh trauma berenergi tinggi(Jeganathan, Cannon dan Bleier, 2018).



**Gambar 1. Patofisiologi trauma anus** (Jeganathan, Cannon dan 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

### **2.1.3 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 6 minggu. 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 dan Bleier, 2018).

### **2.1.4 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 dan 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 dan Bleier, 2018).

### **2.1.5 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 dan 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 dan 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 dan Bleier, 2018).

### **2.1.6 Tatalaksana**

#### Penangan awal

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 (Ahern *et al.*, 2017).

#### Pembedahan

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

- a. Sfingteroplasti; diseksi pada kompleks sfingter hingga ke cincin anorectal kemudian di tumpeng-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.

### **2.1.7 Proses Penyembuhan Luka**

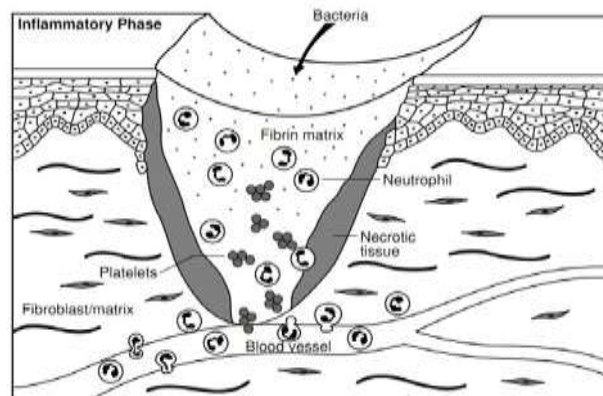
Terlepas dari etiologi luka, proses penyembuhan luka pada umumnya serupa. Luka mengakibatkan kerusakan jaringan yang merangsang respons fisiologis mengkoordinasi untuk memberikan hemostasis dan memulai proses inflamasi, proliferasi dan *remodelling* (Young, 2017).

#### **a. Fase Inflamasi**

Berlangsung sejak terjadinya luka sampai hari ke-5. 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 dan pembengkakan (Tiwari V.K., 2012). Aktifitas seluler yang terjadi pada fase ini adalah migrasi leukosit dari pembuluh darah yang

dilatasi. Leukosit ini mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna mikroorganismenya. Sedangkan pembentukan kolagen pada fase ini masih sedikit. Bila diskematiskan menjadi: (Strudwick, 2017)

- a) Dimulai saat terjadi luka, bertahan 2 sampai 3 hari
- b) Diawali dengan vasokonstriksi untuk mencapai hemostasis (efek epinefrin dan tromboksan)
- c) Thrombus terbentuk, dan rangkaian pembekuan darah diaktifkan, terjadi deposisi fibrin
- d) Keping darah melepaskan platelet derived growth factor (PDGF) dan transforming growth factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) dari granula alfa, yang menarik sel-sel inflamasi terutama makrofag. Setelah hemostasis tercapai, terjadi vasodilatasi dan permeabilitas darah meningkat (akibat histamine, platelet activating factor, bradikinin, prostaglandin I<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>) membantu infiltrasi sel-sel inflamasi ke daerah luka



Gambar 2. Fase inflamasi dalam proses penyembuhan luka (Strudwick, 2017)

- e) Jumlah netrofil memuncak dalam 24 jam dan membantu debridement
- f) Monosit memasuki luka, menjadi makrofag, dan jumlahnya memuncak dalam 2-3 hari
- g) Sejumlah kecil limfosit juga memasuki luka, tetapi perannya tidak diketahui
- h) Makrofag menghasilkan PDGF dan TGF  $\beta$ , akan menarik fibroblast dan merangsang pembentukan kolagen

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke tiga. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat dan bersama jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblast lokal dan sel endotel serta vasokonstriktor. Hemostasis memicu inflamasi dengan terjadinya pelepasan faktor kemotaktik dari luka. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014)

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

Makrofag muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Makrofag seperti halnya netrofil, memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga memainkan peranan penting dalam regulasi angiogenesis dan terkumpulnya ekstraseluler matriks (ECM) oleh fibroblast dan proliferasi dari otot polos dan sel endothelial yang dihasilkan dalam angiogenesis. Sesudah makrofag akan muncul Limfosit T dan

jumlahnya mencapai puncak pada hari ketujuh. Jumlahnya lebih sedikit dibandingkan makrofag dan sebagai jembatan transisi dari fase inflamasi ke proliferasi. Fase ini juga disebut fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah. (McLeod, Mansbridge., 2015; Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; Thorne, et al., 2007; Nauta A, et al., 2012)

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

Tabel 1 Sitokin yang berpengaruh pada penyembuhan luka  
Sumber: Rumalia VK, 2001

## b. Fase Proliferasi

Ketika respons akut hemostasis dan inflamasi mulai pulih, perancah diletakkan untuk memperbaiki luka melalui angiogenesis, fibroplasia, dan *epitelisasi*. Tahap ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, yang terdiri dari lapisan kapiler, fibroblast, makrofag, dan susunan kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat yang longgar. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblast. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke tiga. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi.

Terdapat tiga proses utama dalam fase proliferasi, antara lain :

### 1. Neoangiogenesis

Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun patologi



(sakit). Kata angiogenesis sendiri berasal dari kata *angio* yang berarti pembuluh darah dan *genesis* yang berarti pembentukan. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak. Pada angiogenesis pembentukan pembuluh darah baru berasal dari kapiler-kapiler yang muncul dari pembuluh darah kecil dari sekitarnya (Kalangi, 2011). Pembuluh darah kapiler terdiri atas sel-sel endotel dan perisit. Kedua jenis sel ini memuat seluruh informasi genetik untuk membentuk pembuluh darah dan cabang-cabangnya serta seluruh jaring kapiler. Molekul-molekul angiogenik khas akan mendorong terjadinya proses ini, tetapi ada pula molekul-molekul penghambat bersifat khusus untuk menghentikan proses angiogenesis. Molekul-molekul dengan fungsi yang berlawanan tersebut nampaknya seimbang dan serasi dalam bekerja terus menerus mempertahankan suatu sistem pembuluh darah kecil yang konstan (Kalangi, 2011).

Pada proliferasi terjadi angiogenesis disebut juga sebagai neovaskularisasi, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru, merupakan hal penting sekali dalam langkah-langkah penyembuhan luka. Jaringan dimana pembentukan pembuluh darah baru terjadi, biasanya terlihat warna merah (eritema) karena terbentuknya kapiler-kapiler di darah itu. Selama angiogenesis, sel endotel memproduksi dan mengeluarkan sitokin. Beberapa faktor pertumbuhan terlibat dalam angiogenesis antara lain *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *angiopentin*, *Fibroblast Growth Factor* (FGF), dan TGF- $\beta$ . Setelah pembentukan jaringan cukup adekuat, migrasi dan proliferasi sel-sel endotelial menurun, dan sel yang berlebih akan mati dalam dengan proses apoptosis (Gurtner GC,2007)

## 2. Fibroblast

Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase ini. Fibroblast memproduksi matriks ekstraselular yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan landasan untuk migrasi keratinosit. Matriks ekstraselular inilah yang menjadi komponen yang paling nampak pada skar di kulit. Makrofag

memproduksi *growth factor* seperti PDGF, FGF dan TGF- yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi, dan membentuk matriks ekstraselular (Gurtner GC, 2007). Dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP -12), fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan *glycosaminoglycan* (GAG). Dengan berjalannya waktu, matriks ekstraselular ini akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen ini tersusun atas 33% glisin, 25% hidrokisprolin, dan selebihnya berupa air, glukosa, dan galaktosa. Hidrokisprolin berasal dari residu prolin yang mengalami proses hidrosilasi oleh enzim *prolyl hydroxylase* dengan bantuan vitamin C. Hidrokisprolin hanya didapatkan pada kolagen, sehingga dapat dipakai sebagai tolok ukur banyaknya kolagen dengan mengalikan hasilnya dengan 7,8. Selanjutnya kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi. Faktor proangiogenik yang diproduksi makrofag seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF)-2, *angiopoietin-1*, dan *thrombospondin* akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses angiogenesis.

Angiogenesis meliputi urutan peristiwa sebagai berikut :

- a. Terdapat degradasi lokal lamina basal pada kapiler yang telah ada.
- b. Migrasi sel-sel endotel ke tempat pertumbuhan baru.
- c. Proliferasi dan diferensiasi untuk membentuk kuncup kapiler.
- d. Penyusunan kembali sel-sel endotel untuk membentuk lumen.
- e. Anastomosis kuncup-kuncup yang berdekatan untuk membentuk jalinan pembuluh darah.
- f. Pengaliran darah melalui pembuluh darah baru

### 3. Re-Epitelisasi

Secara simultan, sel-sel basal pada epitelium bergerak dari daerah tepi luka menuju daerah luka dan menutupi daerah luka.(T Velnar, 2009). Pada tepi luka, lapisan *single layer* sel keratinosit akan berproliferasi kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan luka. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan

sitoplasma yang panjang. Mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks awal. Sel keratinosit yang telah bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel epitel ini akan bermigrasi di atas matriks provisional menuju ke tengah luka, bila sel- sel epitel ini telah bertemu di tengah luka, migrasi sel akan berhenti dan pembentukan membran basalis dimulai (T Velnar, 2009).

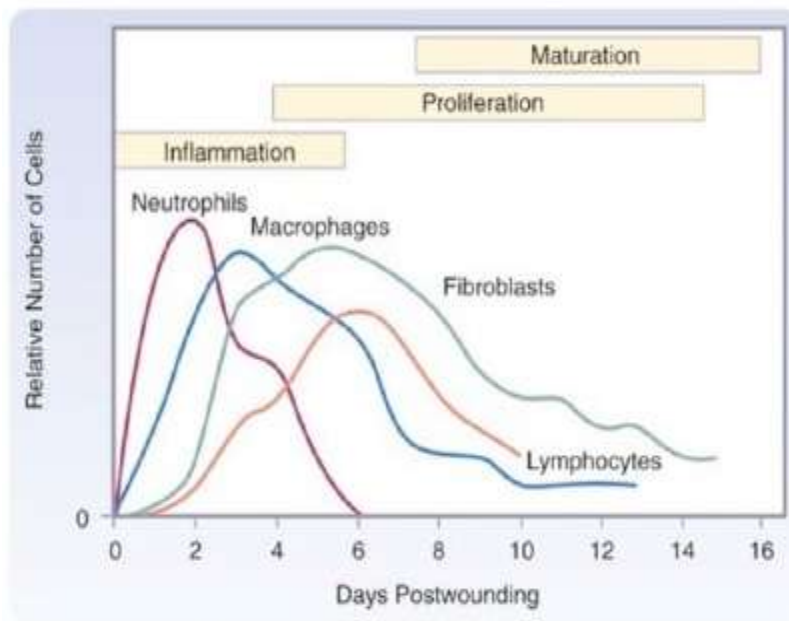
### **c. Fase Remodeling**

Fase remodeling adalah bagian yang paling lama dalam penyembuhan luka dan pada manusia berkisar pada hari ke 21 hingga 1 tahun. Sekali luka telah terisi jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit yang telah mengalami re-epithelisasi, proses remodeling terjadi. Walaupun durasi remodeling yang lama dan hubungannya yang jelas sangat tampak, fase ini masih jauh dari pemahaman tentang penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri atas penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang sudah lenyap. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Udem dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada. (Barret J, Herndon D., 2005; Moenadjat Y, dkk., 2011)

Pada manusia, remodeling ditandai oleh dua proses yaitu kontraksi luka dan remodeling kolagen. Proses kontraksi luka dihasilkan oleh miofibroblast, yang mana fibroblast dengan intraseluler aktin mikrofilamen mampu mendorong pembentukan dan kontraksi matriks. Miofibroblast menghubungkan luka melalui interaksi spesifik secara utuh dengan matriks kolagen. Beberapa growth factor yang menstimulasi sintesis kolagen dan molekul jaringan ikat yang lain juga merangsang sintesis dan aktivasi dari metalloproteinase, enzim yang mendegradasi komponen ECM ini. Matriks metalloproteinase termasuk interstitial collagenases (MMP-1,-2 dan -3) yang membelah menjadi kolagen tipe I, II dan III; gelatinases (MMP-2 dan 9), yang merubah kolagen

tidak berbentuk sebaik fibronectin;stromelysin (MMP-3, 10, dan 11), yang beraksi pada berbagai komponen ECM, termasuk proteoglycans, laminin, fibronectin dan kolagen tak berbentuk; dan ikatan membran MMPs. MMPs diproduksi oleh fibroblast, makrofag, neutrofil, sel synovial, dan beberapa sel epitel. Sekresinya dipicu oleh growth factor (PDGF, FGF), sitokin (IL-1,TNF), dan fagositosis dalam makrofag dan dihambat oleh TGF- $\beta$  dan steroid. Enzim kolagen membelah kolagen di bawah kondisi fisiologis. Mereka disintesis secara tersembunyi (procollagenase) yang diaktivasi secara kimiawi, seperti radikal bebas diproduksi selama oksidasi leukosit, dan enzim proteinase (plasmin). Sekali dibentuk, enzim kolagen yang diaktivasi secepatnya dihambat oleh golongan jaringan spesifik penghambat enzim metalloproteinase, yang diproduksi oleh hampir seluruh sel mesenkimal, hal ini mencegah aksi enzim protease yang tidak terkontrol. Serat kolagen membentuk bagian utama dari jaringan ikat dalam perbaikan dan penting untuk membangun kekuatan penyembuhan luka. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)

Akumulasi jaringan kolagen tergantung tidak hanya peningkatan sintesis kolagen namun juga penurunan degradasi. Ketika jahitan diangkat dari luka, biasanya diakhir minggu pertama, kekuatan luka  $\pm$  10% dari kulit normal. Kekuatan luka segera meningkat hingga 4 minggu kemudian, melambat hingga kira-kira tiga bulan setelah dilakukan luka insisi dan tensile strength mencapai kira-kira 70% – 80% dari kulit normal. Tensile strength pada luka yang lebih rendah mungkin berlangsung seumur hidup. Pemulihan tensile strength merupakan hasil dari sintesis kolagen lebih dari degradasi kolagen selama 2 bulan pertama penyembuhan dan selanjutnya dari modifikasi struktur serat kolagen setelah sintesis kolagen berakhir. (Widjajakusumah, Tanzil A., 2014; McLeod, Mansbridge., 2015)



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

Sumber: Witte MB, Barbul A; 1997

### 2.1.8. Fase Penyembuhan Intestinal

Permukaan traktus gastrointestinal ditutupi oleh sel epitelial yang berfungsi dibawah kondisi fisiologis sebagai lapisan pertahanan yang mencegah antigen luminal masuk ke dalam tubuh. Pada saat terjadi trauma, epitel intestinal akan mengalami proses penyembuhan. Penyembuhan luka intestinal bergantung pada keseimbangan migrasi, proliferasi dan diferensiasi dari struktur sel pada daerah yang terluka. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan beberapa peptida regulator yang beragam, termasuk faktor pertumbuhan dan sitokin, memodulasi epitel intestinal dalam penyembuhan luka. Beberapa penelitian terkini menunjukkan faktor penting, termasuk *toll-like receptors* (TLR), peptida regulator, beberapa faktor makanan dan beberapa agen gastroprotektif, juga turut berperan dalam memodulasi perbaikan epitelial. Sebagai tambahan, telah dibuktikan aktivasi dari beberapa jalur sinyal spesifik terlibat dalam penyembuhan luka intestinal. (Iizuka M, Shiho K. 2011)

Sel epitel intestinal membentuk lapisan pertahanan yang memiliki permeabilitas selektif yang memisahkan konten intraluminal dari jaringan di

bawahnya. Lapisan epitel gastrointestinal terdiri dari lapisan sel kolumnar. Lapisan ini bergerak dengan kecepatan 5-10  $\mu\text{m/h}$  dan diperbaharui tiap 2 hingga 5 hari. Lapisan ini penting dijaga untuk kepentingan pertumbuhan normal, perkembangan dan prevensi penyakit yang mungkin terjadi. Normalnya, lapisan intestinal ini berfungsi sebagai barrier yang mencegah cairan, mikroorganisme, virus dan antigen luminal memasuki tubuh. Beberapa elemen yang turut berpartisipasi dalam fungsi pertahanan termasuk sel epitelial sendiri dengan jaringan penyambung yang erat (*tight junction*), adherens (*adherens junction*) dan sekresi luminal seperti mukus. (Iizuka M, Shiho K. 2011)

*Tight junction* berfungsi sebagai pintu semi permeabel yang meregulasi pergerakan pasif dari cairan intraluminal melalui jalur paraseluler dan membatasi difusi pasif protein dan lipid diantara membran plasma apikal dan basolateral. Sementara adherens junction penting dalam regulasi adhesi interseluler. Baik *tight junction* dan *adherens junction* berada pada ujung apikal dari membran plasma lateral dan terhubung satu sama lain untuk membantu regulasi dan menjalankan fungsinya. Kedua *junction* ini disebut juga dalam *apical junctional complex* (AJC). (Iizuka M, Shiho K. 2011)

Meskipun fungsinya sebagai lapisan pertahanan, lapisan pertahanan ini membolehkan beberapa bakteri usus non patologikal (komensal) mengakses sistem imun, yang kemudian membantu dalam menciptakan maturasi sistem imun dan evolusi dari toleransi imun seperti respon inflamasi dan memelihara fungsi homeostasis. (Iizuka M, Shiho K. 2011)

Sel epitel intestinal (intestinal epithelial cells; IEC) dapat dicerai oleh substansia toksik intraluminal, digesti normal, inflamasi, interaksi mikroba, stres oksidatif dan farmaka. Penyembuhan intestinal bergantung pada keseimbangan migrasi, proliferasi dan diferensiasi sel epitel pada area luka. Tahap pertama, sel epitelial di sekitar area luka akan kehilangan polaritas selnya sehingga mengalami perubahan morfologi dan melakukan migrasi dengan cepat ke area denudasi untuk tetap menjaga integritas lapisan yang rusak. Proses ini disebut "*epithelial restitution*". Restitusi mulai dalam hitungan menit hingga jam dari trauma dan tidak bergantung pada proses proliferasi. Kemudian, proliferasi epitel mukosa meningkatkan akumulasi eritrosit sehingga dapat menutup defek trauma yang

terjadi dalam hitungan jam hingga hari. Terakhir, maturasi dan diferensiasi sel epitelial dibutuhkan untuk menjaga fungsi lapisan mukosa. (Iizuka M, Shiho K. 2011)

Inflamasi diasosiasikan dengan infiltrasi dari sel imun seperti sel T, makrofag dan neutrofil dan sering juga dikaitkan sebagai penyebab perburukan kerusakan yang terjadi pada jaringan trauma. Pada mukosa intestinal, inflamasi yang berat diikuti dengan hilangnya sel epitel dan degradasi ECM pada lamina propia yang kemudian menyebabkan terjadinya ulserasi. Enzim dan mediator sebagian besar disekresikan oleh monosit, makrofag intestinal dan granulosit. Inflamasi yang berlangsung terus menerus dan degradasi jaringan akan mengarah terjadi fibrosis dan pembentukan striktur. Zat oksidan adalah kontributor penting terhadap destruksi mukosa, submucosa dan jaringan. Metabolit oksigen seperti oksigen atau radikal hidrokksida, diproduksi dalam jumlah besar sebagai akibat dari infiltrasi leukosit pada mukosa yang mengalami inflamasi. Dinding intestinal normal memiliki jumlah enzim anti oksidatif yang relatif kecil. Produksi super oksida dan oksigen reaktif lainnya dikatalisasi oleh *membrane-associated nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase*. Sistem enzim yang bertanggung jawab terhadap pembentukan superoksida membentuk sistem transpor elektron transmembran yang kemudian menjadi oksidasi NADPH pada permukaan sitoplasma dan superoksida pada membran luar sel. Ini adalah bentuk heterodimer yang tersusun dari glikoprotein 91-kDa dan polipeptida 22- kDa. Sebagai tambahan, sitokrom  $\beta$  heterodimer, 4 faktor sitosolik (p47-phox, p67-phox, p40-phox dan p21 Rac) dibutuhkan untuk aktifitas oksidasi NADPH. Enzim ini dorman pada sel yang beristirahat dan aktif bila terjadi stimulasi. Induksi ekspresi oksidasi NADPH dalam makrofag intestinal dalam mukosa yang mengalami inflamasi dihubungkan dengan peningkatan aktivitas oksidatif. (Rieder F, Brenmoehl J, 2007)

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

### **2.2.1 Platelet Rich Plasma (PRP)**

*Platelet Rich Plasma* (PRP) adalah suatu autologous dari trombosit manusia dalam volume yang kecil dalam plasma yang mengandung 1.000.000 trombosit/ $\mu$ l dengan volume 5 ml plasma. PRP mengandung banyak faktor pertumbuhan, sitokin, dan faktor pembekuan dengan jumlah besar. Platelet pada PRP menginisiasi mediator inflamasi 10 menit setelah terbentuk bekuan dan pada 1 jam lebih dari 95% faktor pertumbuhan dihasilkan. PRP tetap stabil, tanpa mengurangi keefektifannya kurang lebih 8 jam setelah persiapan. PRP mengandung banyak mediator berbeda, namun *TGF- $\beta$*  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 sensitive terhadap *PDGFa*, *PDGFb*, *IGF*, *bFGF*, dan *EGF*. *Epidermal growth factor* aksinya sebagai kemotaktik untuk fibroblast dan juga jika diaplikasikan topical meningkatkan regenerasi dan kekuatan 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 $\beta$*  berfungsi sebagai regulator diferensiasi sel, proliferasi, kemotaksis dan sintesis protein matriks ekstraseluler. Efek ini meningkatkan sintesis kolagen, jaringan granulasi, dan kekuatan tegangan luka. *TGF $\beta$*  menginduksi sintesis kolagen dan mempercepat pematangan kolagen pada tahap awal penyembuhan luka. (Ramadhan E., 2018; Kim Yeol et al., 2014).

*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 dan Grimalt, 2016, 2018). Dengan demikian, PRP tidak hanya mengandung trombosit tingkat tinggi tetapi juga komplemen penuh faktor pembekuan diatas kadar fisiologis normalnya. PRP diperkaya oleh berbagai GF, kemokin, sitokin dan protein plasma lainnya(Lynch dan Bashir, 2016; Alves dan Grimalt, 2018).



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 pembentukan skar. (Ramadhan E., 2018; Kim Yeol et al., 2014).

PRP diperoleh dari darah 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 dan Grimalt, 2018).

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 dan 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 dan Suresh, 2014).

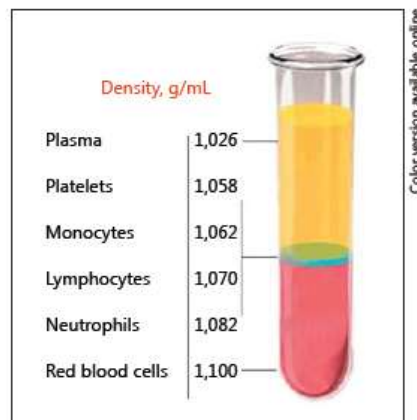
Terdapat 2 teknik pengambilan PRP (Alves R, 2016; Alves dan Grimalt, 2018):

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 sentrifuge) di mana produk tidak terpapar ke lingkungan.

Seluruh darah diperoleh dengan venipuncture 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 dan Grimalt, 2018).

Setelah dilakukansentrifugasi, tabung akan menunjukkan tiga 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 dan Kumaran, 2014).



Gambar 4 Gambar darah setelah disentrifugasi untuk memperoleh PRP(Alves dan Grimalt, 2018)

Pada tahun 2009, Dohan Ehrenfest et al. [38] mengusulkan klasifikasi PRP menjadi 4 bagian utama berdasarkan tidak adanya konten sel (seperti leukosit) dan arsitektur fibrin(Alves dan Grimalt, 2018):

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.

### 2.2.2 *Stromal Vascular Fraction (SVFs)*

*Stromal vascular fraction cell* (SVFs) berasal dari jaringan adiposa autologous, dengan aktivitas regeneratif jaringan potensial. SVFs diperoleh melalui sedot lemak dan mengandung beberapa jenis sel, termasuk sel induk yang diturunkan dari *adiposa derivate stem cell* (ADSCs), sel mesenchymal dan sel progenitor endotel, subtype 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 cedera (Josh, 2012). 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).

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 dan Boyd, 2018).

Ketika SVFs ditumbuhkan ke dalam kultur, sebagian sel mulai menempel pada plastik kultur jaringan. Sel-sel ini dapat dimurnikan lebih lanjut dengan menggunakan kombinasi langkah pencucian dan ekspansi kultur dengan media yang serupa dengan yang digunakan untuk *mesenchymal stromal cell* (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, 2012).

Studi menunjukkan bahwa SVFs menurunkan tingkat inflamasi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, seperti dilihat pada rendahnya ekspresi sitokin inflamasi contohnya *IL-6* dan *TNF- $\alpha$* , 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- $\alpha$* , *IL-6* dan *Matriix Metalloproteinase* (MMP-1), dan inhibitor jaringan MMP (TIMP-1). (Zhu dkk, 2019).

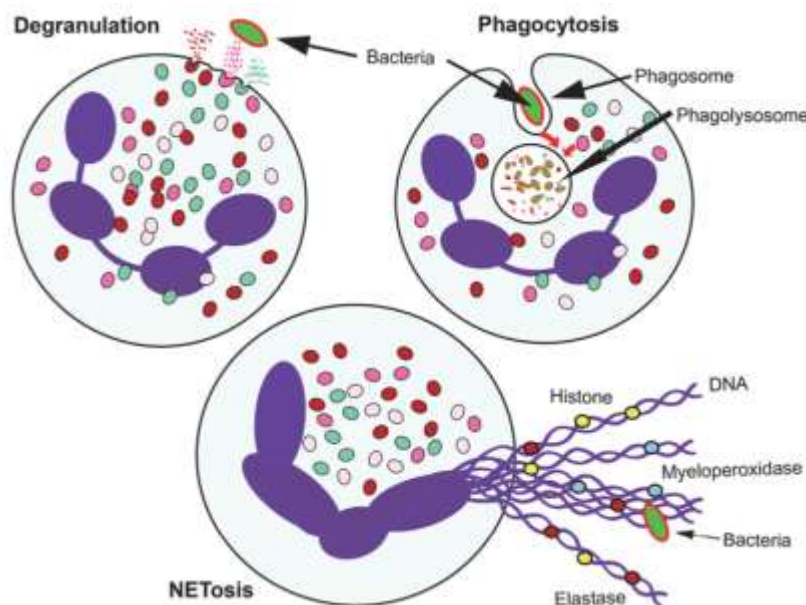
Adapun penelitian Cardoso dkk yang menunjukkan bahwa infiltrasi mononuklear pada pemberian SVFs secara klasik mengaktivasi makrofag M1 yang telah diketahui mengekspresikan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6 dan IL-23 dan dibawah pengaruhnya, sel Th17 yang dikeluarkan oleh IL-17 yang akan 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, 2016).

## **2.3 Polymorphonuclear Neutrophils (PMNs)**

### **2.3.1 Definisi**

Neutrofil atau yang lebih dikenal dengan nama sel polimorfonuklear (PMN) adalah sel yang sangat berlimpah pada darah manusia. Sel PMN ditemukan pada sumsum tulang dengan jumlah yang berlimpah  $\sim 10^{11}$  sel perhari. Dalam keadaan hemostasis, neutrofil memasuki sirkulasi, berpindah ke jaringan dan melakukan fungsi dan terakhir akan dieliminasi oleh makrofag. Neutrofil merupakan sel efektor yang sangat penting

pada sistem imun (Mayadas.,2014). Neutrofil akan melakukan tugasnya mencari potensi infeksi pada tubuh dan saat ditemukan maka akan cepat melakukan invasi untuk membunuh patogen. Terdapat tiga fungsi antimikroba pada neutrofil yaitu fagositosis, degranulasi dan melepaskan beberapa materi dari dalam sel PMN dan dilepaskan untuk membunuh patogen (gambar). Neutrofil akan merespon terhadap berbagai sinyal dan akan berespon terhadap memprdulsi berbagai sitokin dan faktor inflamasi yang mengatur dan mempengaruhi proses inflamasi dan sistem imun (Nauseef dan Bprregaard, 2014; Scapini dan Cassatella, 2014) yang memproduksi sitokin (Tecchio dan Cassatella, 2016), mencetuskan aktivasi sel-sel lainnya yang mencetuskan inflamasi (greenlee-Wacker, 2016). mengatur makrofag dalam respon lebih lama imunitas (Chen, 2014) aktivasi beberapa penyakit seperti kanker (Uribe-Querol dan Rosales, 2015; Mishalian, 2017) dan bahkan memori imunitas (Netea, 2016)



Gambar 5 : Gambar mekanisme antimikroba pada neutrofil

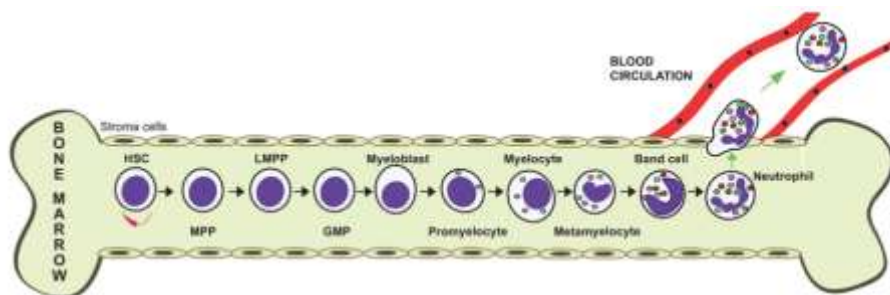
### 2.3.2 Siklus hidup Neutrofil

Neutrofil berjumlah kurang lebih 70% dari seluruh leukosit dan lebih dari  $10^{11}$  sel yang diproduksi setiap hari (Dancey, 1976). Neutrofil akan memasuki darah dimana mereka akan bersirkulasi hingga memasuki jaringan. Saat Neutrofil mencapai akhir hidup pada jaringan, maka akan dibersihkan oleh makrofag melalui proses fagositosis (Bratton dan Henson, 2011). Jumlah yang seimbang pada sirkulasi disebabkan baiknya keseimbangan antara produksi dan degradasi neutrofil (Vietinghoff dan Ley, 2008).

### 2.3.3 Granulopoiesis

Neutrofil diproduksi dalam jumlah yang besar di sum sum tulang melalui stem sel (Gorgen, 2013). Sel tersebut akan berdiferensiasi menjadi progenitor multipotent (MPP) yang tidak dapat diperbaharui oleh sel itu sendiri. MPP akan bertransformasi menjadi lymphoid primered multipotent progenitor (LMPPs), yang akan berdiferensiasi menjadi granulocyte - monocyte progenitor (GMPs). GMP dibawah kendali oleh granulocyte colony -stimulating factor (G-CSF) akan bertanggung jawab terhadap pembentukan neutrofil menjadi myeloblast (**gambar**). Sel tersebut akan mengikuti proses maturasi menjadi promyelocyte, myelocyte, metamyelocyte, band cell dan akhirnya menjadi neutrofil (von Vietinghoff dan Ley, 2008) (Gambar). Saat proses diferensiasi neutrofil akan mengalami bentuk dari nukleus dari bulat menjadi bentuk memanjang dan akan mengekspresikan beberapa reseptor. Integrin  $\alpha 4\beta 1$  (VLA4) dan CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) akan mengalami penurunan regulasi sedangkan CXCR2 dan Toll-like receptor (TLR4) akan mengalami peningkatan regulasi. sel stroma pada sum sum tulang akan mengekspresikan vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1), sebuah ligand dari VLA4 dan kemokin stromal derived factor-1 SDF-1 (CXCL12), sebuah ligand untuk CXCR4 sebagai progenitor sel pada sum sum tulang. Neutrofil juga mengandung granula dan mengsekresikan vesikel yang mengandung protein-protein tertentu dengan berbagai fungsi (Hager, 2010).

Granul-granul dibentuk pada beberapa staging. Granul primer (Azurophil) ditemukan pada myeloblast hingga stase promyelocyte. Granul sekunder dideteksi pada stase myelocyte dan metamyelocyte. Granul tersier (Gelatinase) ditemukan pada stase *band cell*. Hingga vesikel sekretori dideteksi pada neutrofil mature (Gambar). Granul tersebut berisi enzim antimikroba termasuk elastase, myeloperoksidase, cathelicidines, defensins dan matrix metalloproteinase yang berfungsi menghancurkan patogen.



Gambar 6 : Proses Granulopoiesis

#### **2.3.4 Migrasi Neutrofil dari sum sum tulang**

Saat neutrofil matur, neutrofil akan meninggalkan sum sum tulang ke sirkulasi darah. Neutrofil yang matur di sum sum tulang belakang diatur oleh dua reseptor kemokin yaitu CXCR2 dan CXCR4. Osteoblast dan sel stroma pada sum sum akan menghasilkan CXCL12 dan tetap menjaga CXCR4 untuk tetap diekspresikan di sum sum tulang. H-CSF akan menginduksi neutrofil keluar dari sum sum tulang melalui mekanisme interaksi CXCR4 dan CXCR12 (Summers, 2010). Sebagai tambahan ligand untuk CXCR2 seperti CXCL1, CXCL2, CXCL5 dan CXCL8 (pada manusia) diekspresikan pada sel endotel diluar dari sum sum tulang ketika neutrofil bermigrasi ke sirkulasi darah (Eash, 2010; Kohler, 2011). G-CSF menginduksi pelepasan neutrofil dengan cara meningkatkan respon CXCR2 ligand terhadap megakaryocyte (Kohler, 2011), berkurangnya ekspresi CXCL12 oleh sel stroma dari sum sum tulang (Petit, 2002; Semerad, 2005) dan berkurangnya ekspresi CXCR4 pada neutrofil (Kim, 2006).

Diluar dari sum sum tulang, produksi dari neutrofil diregulasi oleh sitokin seperti interleukin(IL)-23 yang diproduksi oleh fagosit dan IL-17 yang diproduksi oleh Limfosit T. Mekanisme tersebut, makrofag dan sel dendritik memfagosit neutrofil yang apoptosis (Gordy, 2011; Jiao, 2014) yang mengakibatkan berkurangnya IL-23 (Stark, 2005) yang akan menimbulkan ekspresi IL-17 oleh sel limfosit (Gaffen, 2014). Karena IL-17 menginduksi granulopoiesis dan neutrofil dilepaskan bergantung regulasi G-CSF (von Vietinghoff dan Ley, 2008), rendahnya level IL-17 akan menimbulkan berkurangnya ekspresi G-CSF dan pelepasan neutrofil. Saat inflamasi, IL-1 bisa mengstimulasi produksi neutrofil melalui IL-17-G-CSF axis (Ueda, 2009) dan retraksi neutrofil. Neutrofil juga bisa memproduksi IL-17 (Eskan, 2012) dan mencetuskan limfosit T memproduksi IL-17 (sel Th17) (Weaver, 2013). Selanjutnya Th17 akan memanggil neutrofil lain (Pelletier,2010;Zenobia dan Hajishengalis, 2015). Yang terbaru ditemukan bahwa microbiota dapat menginduksi produksi neutrofil dengan meningkatkan produksi IL17 (Deshmukh, 2014).

#### **2.3.5 Agregasi Neutrofil dan Clearence**

Neutrofil dari darah akan bermigrasi ke tempat infeksi dan inflamasi melalui mekanisme leukocyte adhesion cascade (Ley, 2007;Chavakis, 2009). Sel endotel pada pembuluh darah akan mengaktivasi reseptor seperti E-, dan P-selectins. Reseptor tersebut

akan berikatan dengan ligand glikoprotein pada neutrofil yang akan menempel pada endotel. Berikutnya neutrofil akan teraktivasi dikarenakan kemokin yang akan menginduksi tingginya  $\beta 2$  integrins. Ikatan integrin dan ligand seperti intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) dan ICAM-2 pada sel endotel akan menimbulkan adhesi neutrofil. Berikutnya neutrofil akan bermigrasi ke jaringan perifer (Hajishengallis dan Chavakis, 2013). Saat neutrofil pada jaringan perifer, neutrofil akan mengikuti chemoattractans seperti formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLF) dan anaphylatoxin C5a untuk berfungsi secara sempurna (kolaczowska dan Kubes, 2013).

Jumlah neutrofil pada sirkulasi dikontrol oleh sinyal sentral oleh sistem saraf simpatik. Saraf adrenergik menginduksi ekspresi molekul pada endotel yang mengakibatkan neutrofil berikatan dengan endotel dan meninggalkan sirkulasi (Scheiermann, 2012). Regulasi dari migrasi neutrofil mengikuti siklus sirkadian (Scheiermann, 2013).

Saat di jaringan, neutrofil akan mengalami apoptosis dan akan dibersihkan melalui fagosit oleh makrofag dan sel dendritik. Neutrofil pada darah diregulasi oleh ekspresi CXCR4 dan akan kembali sum sum tulang untuk pembersihan akhir (Martin, 2003), Pembersihan neutrofil yang apoptosis akan memicu respon anti inflamasi yang dicirikan dengan berkurangnya IL-23 oleh makrofag. Seperti digambarkan diatas, berkurangnya IL-23 akan mengurangi IL-17, produksi G-CSF akan menurun dan akhirnya akan mengurangi proses granulopoiesis (Stark, 2005)

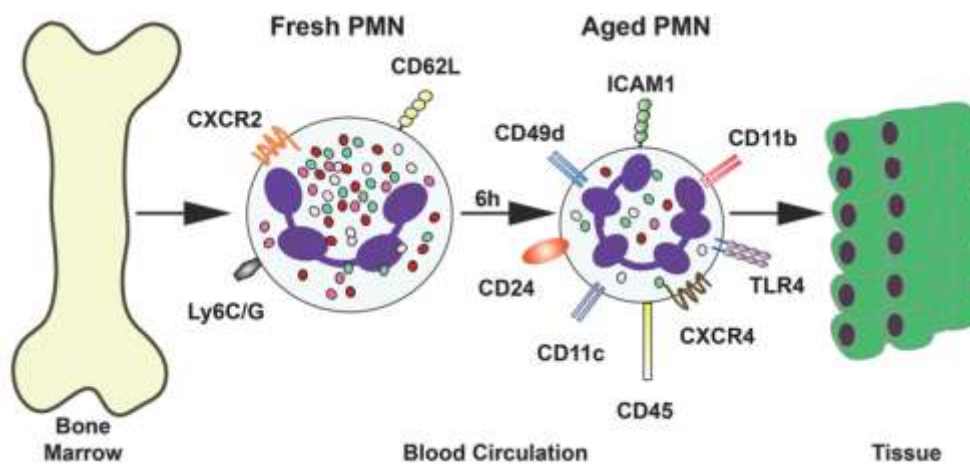
### **2.3.6 Jumlah neutrofil**

Pada kondisi normal, neutrofil tetap pada sirkulasi hanya beberapa jam dengan half life kurang lebih (6-12 jam) sebelum meninggalkan jaringan (Summers, 2010). Pada waktu tersebut neutrofil akan mengalami perubahan fenotipe. Neutrofil pada sirkulasi darah tikus akan mengalami perubahan fenotipe tiap 4 jam (Casanova-Acebes, 2013). Neutrofil pada darah segar akan menunjukkan peningkatan CXCR4 setelah 4 jam diperiksa (Nagase, 2002). Sebelumnya dijelaskan bahwa kemokin CXCL12 yang diproduksi oleh sum-sum tulang berfungsi sebagai retensi signal untuk netrofil. ekspresi berulang dari CXCR4 pada netrofil akan membuat netrofil kembali ke sum sum tulang (Martin, 2003). Pada tikus dengan defisiensi sel myeloid CXCR4 menunjukkan tidak adanya perubahan signifikan dari clearance netrofil (Eash, 2009) yang menunjukkan



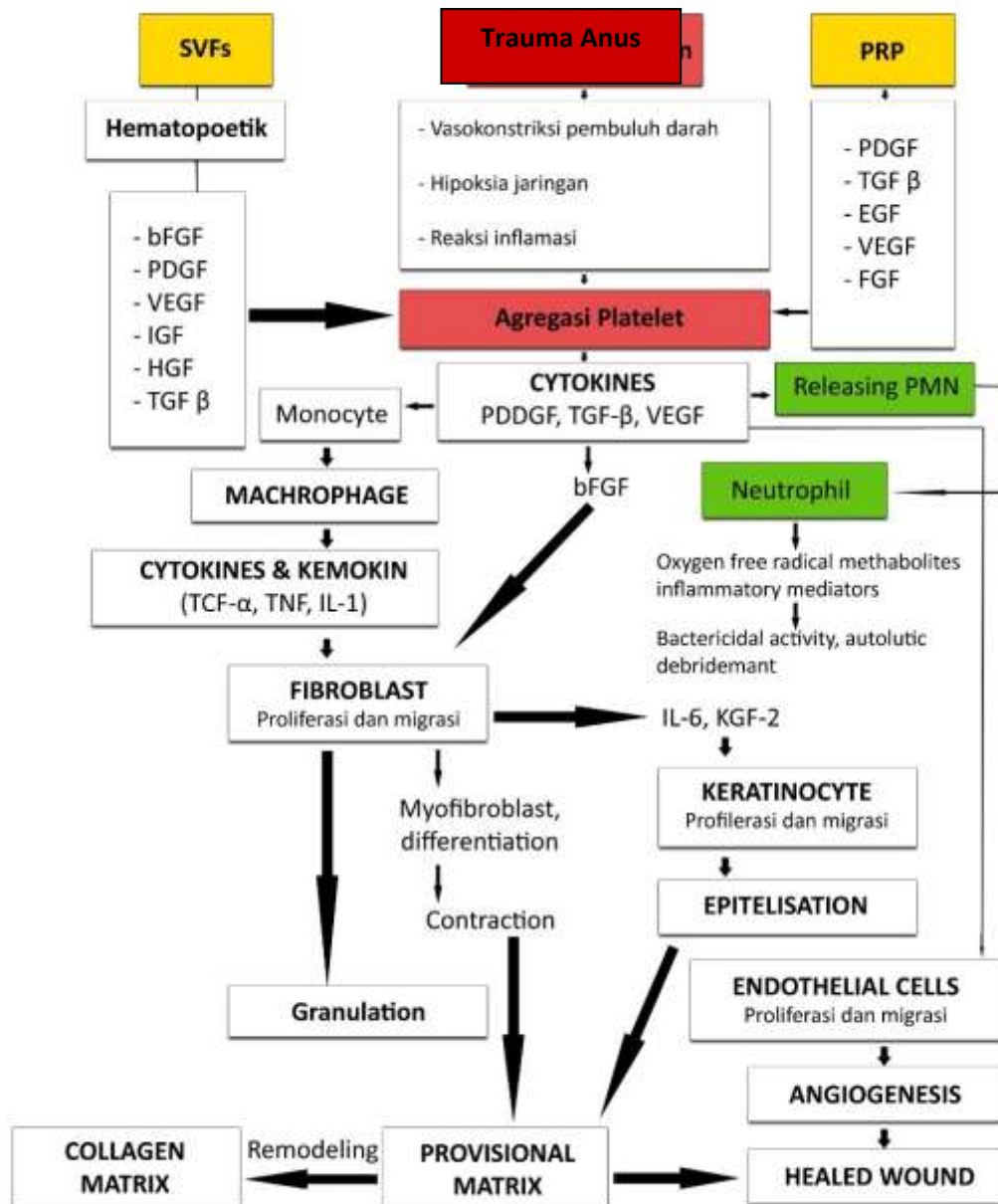
adanya organ lain selain sum sum tulang yang berkontribusi untuk clearance netrofil. (Adrover, 2016).

Pada penelitian *in vivo* mengidentifikasi perubahan fenotipe pada neutrofil. Pada tikus neutrofil yang dipaksa untuk bertahan lebih lama akan menunjukkan rendahnya ekspresi L selektin (CD62L), bersama dengan tingginya ekspresi CXCR4 (Casanova-Acebes, 2013). Molekul lain juga akan menunjukkan kadar yang tinggi pada membran sel neutrofil seperti CD11b ( $\alpha$ M) and CD49d ( $\alpha$ 4), yang termasuk subunit alpha untuk integrin Mac-1 dan VLA4. Integrin tersebut akan membantu proses adhesi untuk mengaktifasi sel endotel didaerah yang mengalami inflamasi. Hal sebaliknya terjadi dengan adanya ekspresi dari CD47 yang berperan sebagai sinyal apoptosis sel (Jaiswal, 2009) berkurang pada membran neutrofil. Pada penelitian terbaru menyatakan bahwa neutrofil yang sudah tua sangat mudah di fagositosis oleh makrofag namun tidak ada berkurangnya ekspresi dari CD47 (Zhang, 2015) (Gambar). Berlawanan dengan hal tersebut, marker neutrofil pada tikus ebrupa Ly6G berkurang pada sel yang sudah tua (Zhang, 2015). Neutrofil yang tua memiliki ukuran lebih kecil, bergranul lebih sedikit dan memiliki nukleus multilobuler (Casanova-Acebes, 2013).

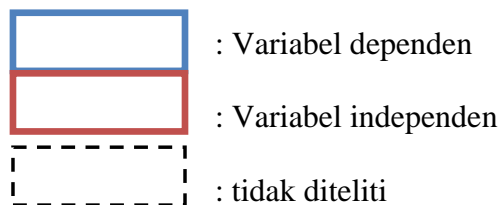
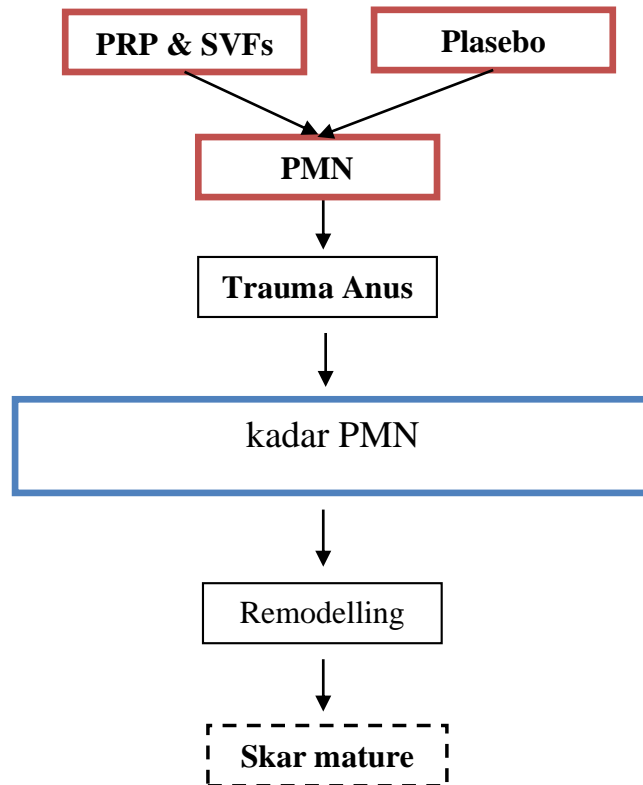


Gambar 7 : Fenotipe dari Neutrofil

## 2.4 Kerangka Teori



## 2.5 Kerangka Konsep



## 2.6 Hipotesis

- Terdapat perbedaan jumlah leukosit PMN (Polimorfonuklear) pada penyembuhan trauma anus pada penggunaan kombinasi SVFs + PRP
- Kombinasi SVFs + PRP dapat mempercepat manifestasi klinis penyembuhan trauma anus.