

SEL PUNCA MESENKIMAL UNTUK LUKA BAKAR

Pada buku ini dijelaskan peran sel punca mesenkimal untuk terapi berbagai penyakit termasuk luka bakar, dan dalam buku ini juga di jelaskan beberapa mekanisme molekuler peran sel punca untuk penyembuhan luka sayat dan luka bakar.

Pertama Menjelaskan tentang macam-macam sel punca terutama sel punca mesenkimal. Penjelasan tentang sel punca mesenkimal mencakup tentang biologi, niche dan homing, dan fungsi dari sel punca mesenkimal dan cara isolasi sel punca mesenkimal.

Kedua menguraikan tentang luka bakar dan proses penyembuhan luka. Uraian tentang luka termasuk derajat dan luasnya luka bakar sedangkan proses penyembuhan luka mencakup 3 fase penyembuhan luka yang terdiri dari fase hemostasis dan inflamasi, proliferasi dan fase remodelling

Ketiga Menjelaskan secara rinci efek sel punca mesenkimal pada fase-fase penyembuhan luka sayat dan luka bakar. Dalam buku ini juga dijelaskan hasil penelitian peran sel punca mesenkimal dalam penyembuhan luka sayat dan luka bakar. Hasil penelitian sel punca mesenkimal untuk luka sayat lebih diuraikan menurut fase-fase proses penyembuhan luka, sedangkan pada luka bakar hanya di jelaskan berdasarkan hasil penelitian dari masing-masing peneliti



ISBN 978-602-6953-64-3



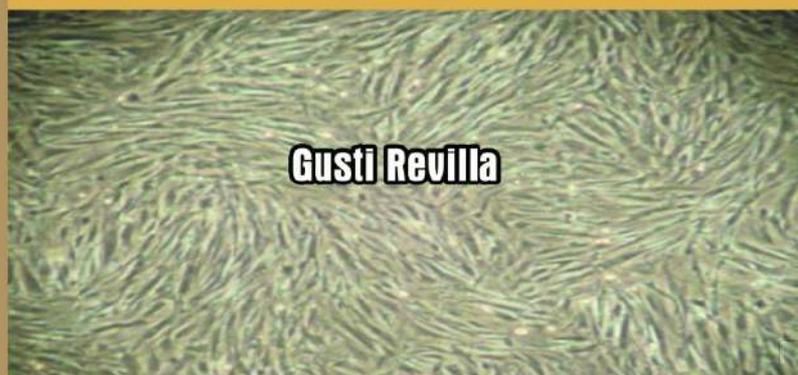
9 786026 953643



Buku Monograf

SEL PUNCA MESENKIMAL UNTUK LUKA BAKAR

Gusti Revilla



Buku Monograf

**SEL PUNCA MESENKIMAL
UNTUK LUKA BAKAR**

Gusti Revilla



Andalas University Press

Buku Monograf

SEL PUNCA MESENKIMAL UNTUK LUKA BAKAR

- Penulis** : Gusti Revilla
- Desain Sampul** : Kei Hiroshi Alvaro Dyrma
- Tata Letak** : Dyans Fahrezionaldo
Ikhsanul Anwar
Syamsul Hidayat
- ISBN** : 978-602-6953-64-3
- Ukuran Buku** : 15,5 x 23 cm
- Tahun Terbit** : April 2019
- Cetakan** : Pertama
- Anggota :** : *Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia
(APPTI)*

Dicetak dan diterbitkan oleh :

*Andalas University Press
Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129
Telp/Faks. : 0751-27066
email : cebitunand@gmail.com*

Hak Cipta Pada Penulis © 2019

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebahagian atau seluruh isi buku tanpa izin tertulis dari penerbit

PRAKATA

Dengan mengucapkan Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah dan inayahNya. seraya mengumandangkan shalawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW dan keluarganya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Buku Monograf Sel Punca Mesenkimal untuk luka bakar

Penulisan buku Monograf ini merupakan salah satu wujud dalam rangka Pengembangan Bahan Penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Buku Monograf ini terdiri atas lima bab. Bab pertama, pendahuluan yang membahas tentang latar belakang, rumusan permasalahan dan tujuan serta metode pemecahan masalah. Bab Kedua membahas tentang sel punca dan jenis sel punca. Bab tiga membicarakan tentang sel punca mesenkimal, luka bakar dan penyembuhan luka, dan bab empat dibicarakan peran sel punca mesenkimal terhadap penyembuhan luka sayat dan luka bakar. Bab lima sebagai penutup yang berisi kesimpulan tentang pengaruh sel punca dapat mempercepat penyembuhan luka.

Harapan penulis buku ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan bagi mahasiswa, pengajar, peneliti atau pihak lain yang berminat mempelajari tentang sel punca mesenkimal

Pendapat dan saran yang bersifat konstruktif dari pembaca, para ahli, dan teman sejawat sangat penulis harapkan.

Semoga tulisan ini bermanfaat bagi yang berminat.

Padang, Maret 2019

Gusti Revilla

DAFTAR ISI

Prakata	iii
Daftar Isi	v
Daftar Singkatan	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Bab I Pendahuluan	1
A Latar Belakang Masalah	1
B Permasalahan dan Tujuan	4
C Metode pemecahan masalah	4
Bab II Sel Punca dan Jenisnya	5
2.1 Definisi dan sejarah sel punca	5
2.2 Jenis-jenis Sel Punca	5
2.2.1 Jenis Sel Punca berdasarkan kemampuan diferensiasi	6
2.2.2 Jenis Sel Punca berdasarkan sumber asal sel	7
Bab III Sel Punca Mesenkimal dan Penyembuhan luka	12
3.1 Sel Punca Mesenkimal	12
3.1.1 Sejarah Sel punca Mesenkimal	12
3.1.2 Biologi Sel punca Mesenkimal	12
3.1.3 Sel Punca Niche dan homing	14
a. Sel Punca Niche	14
b. Homing Sel Punca	15
3.1.4 Fungsi Sel Punca Mesenkimal	17
3.1.5 Isolasi Bone marrow Sel Punca Mesenkimal	21
3.1.5.1. Alat yang diperlukan untuk isolasi	21
3.1.5.2. Zat yang diperlukan untuk isolasi	22
3.1.5.3. Cara Isolasi sel punca mesenkimal	23

3.2	Luka Bakar dan Penyembuhan luka	26
3.2.1	Pengertian dan klasifikasi Luka bakar	26
3.2.2	Patofisiologi Luka bakar	29
3.3	Penyembuhan Luka	31
3.3.1	Fase inflamasi	32
3.3.2	Fase proliferasi	35
	a. Fibroplasia	35
	b. Sintesis matriks ekstraseluler	36
	c. Angiogenesis	36
	d. Pembentukan jaringan granulasi	37
	e. Epitelisasi	38
3.3.3	Fase Remodelling	38
Bab IV	Peran Sel Punca Mesenkimal pada Penyembuhan Luka	42
4.1	Peran Sel Punca Mesenkimal pada Penyembuhan Luka	42
4.1.1	Peran Sel Punca Mesenkimal pada fase inflamasi	42
4.1.2	Peran Sel Punca Mesenkimal pada fase proliferasi	43
4.1.3	Peran Sel Punca Mesenkimal pada fase remodelling	45
4.2	Peran Sel Punca Mesenkimal dalam penyembuhan luka bakar	49
Bab V	Penutup	57
	Daftar Pustaka	58

DAFTAR SINGKATAN

ADSCs	= Adiposa stromal derivat cells
Ang-1	= Angiopoitin
APC	= Antigen presenting cell
ARDS	= Acute respiratory distress syndrome
ASCs	= Adult Stem cells
ASI	= Air susu ibu
BDNF	= Brain-derived neurotrophic factor
BMP	= Bone morphogenic protein
BM-MSC	= Bone marrow mesenchymal stem cell
BSL	= Bio safety level
CD	= Cluster differentiation
COX	= Cyclooxygenase
CTGF	= Connective tissue growth factor
CXCR	= Chemokine receptor
DMCs	= Dermis derivat multipotent cells
DNA	= Deoxyribonucleic acid
ECM	= Extracellular matrix
EDTA	= Ethylen diamin tetra acetic acid
EGF	= Epidermal growth factor
EPC	= Endothelial progenitor cell
EndoMT	= Endothelial to mesenchymal transdifferentiation
FCS	= Foetal calf serum
FGF	= fibroblast growth factor
Flt -ligand	= FMS-related tyrosine kinase ligand
GAG	= Glykosaminoglikan
GDNF	= Glial cell line-derived neurotrophic factor
GRO	= Growth-related oncogene
HGF	= Hepatocyte growth factor
HLA	= Human leucocyte antigen
HSC	= Hematopoietic stem cells

HSP	= Heat shock protein
hUC-BMCs	= human umbilical cord Mesenchymal stem cell
IADMs	= Intelligent acellular dermal matrices
ICAM	= Intercellular adhesion molecule
IFN γ	= Interferon gamma
IGF	= Insuline growth factor
IGF-BP	= IGF binding protein
IHK	= Imunohistokimia
IL-1	= interleukin-1
IL-6	= interleukin-6
KDR	= Kinase insert-domain containing receptor
KGF	= Keratinosit growth factor
LIF	= Leukemia inhibitory factor
MCP	= Macrophage chemotactic protein
α MEM	= Alpha modified Eagle's medium
MIP	= Macrophage inflammatory protein
MHC I	= Mayor histocompability class I
MMP	= Matrix metalloproteinase
MSC	= Mesenchymal stem cell
NAP	= Neutrophil-activating peptide
NK sel	= Natural killer sel
NO	= Nitric oxide
NOS	= Nitric oxide synthase
OPTGRN	= Osteoprotegrin
OSM	= Oncostatin M
PBMCs	= peripheral blood mononuclear cells
PBS	= Phosphat buffer saline
PDGF	= Plateled derived growth factor
PGE	= Prostaglandin E
PMN	= Polimorphonuclear
PODXL	= Podocalyxin-like protein
RNA	= Ribo nucleic acid
ROS	= Radical oxygen species

RPMI	= Roswell park memorial institute
RTK	= Receptor tyrosine kinase
SCF	= Stem cell factor
SCID	= Severe combined immunodeficiency
SDF	= Stromal derivat factors
SSD	= Silver sulfadiazine
TGF- β	= transformingt growth factor -beta
TNF- α	= Tumor necrosis factor-alfa
TIMP	= Tissue inhibitor of Matrix metalloproteinase
TPO	= Thrombopoietin
UV	= Ultra violet
UCB	= Umbilical cord blood
VEGF	= Vascular endothelial growth factor
VCAM	= Vascular cell adhesion molecule
VLA	= Very late antigen
VPF	= Vascualar permeability factor
VU	= Venous ulcer

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Faktor parakrin berupa sitokin (interleukin, chemokin dan faktor pertumbuhan) yang dihasilkan oleh Sel Punca Mesenkimal dan berperan dalam penyembuhan luka	18
Tabel 3.2	Faktor pertumbuhan dan sitokin yang berperan selama penyembuhan luka, sel penghasil dan fungsinya	39
Tabel 4.1	Efek MSC terhadap penyembuhan luka sayat pada berbagai hewan dan manusia	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1	Kemampuan sel punca mesenkimal untuk berdiferensiasi dan beregenerasi menjadi beberapa sel	13
Gambar 3.2	Sel punca dan <i>niche</i> terlihat stem sel tidak aktif dan setelah terjadi trauma maka stem sel menjadi aktif	15
Gambar 3.3	A. Sel punca mesenkimal pasase ke 3 yang mempunyai viabilitas tinggi, ekspresi protein pada permukaan sel CD-105 95%, CD-90 92 %, CD-73 90% dan kemampuan migrasi dan homing tinggi. Sifat sel ini bertahan sampai pada pasase ke 4. B. Sel mesenchymal pasase ke 7 banyak kehilangan molekul protein pada permukaan namun banyak mengekspresikan matriks, sehingga kemampuan migrasi dan homing sel menjadi menurun	17
Gambar 3.4	Peran sitokin, faktor pertumbuhan dan kemokin selama fase penyembuhan luka mulai dari hemostasis, koagulasi sampai ke fase remodeling	21
Gambar 3.5	Klasifikasi luka bakar berdasarkan kedalaman	28
Gambar 3.6	Persentase luas luka bakar menurut usia menurut Wallace of rule nine	29
Gambar 3.7	Zona pada perubahan luka bakar lokal	30
Gambar 3.8	Fase-fase penyembuhan luka dan lamanya masing-masing	32
Gambar 3.9	Awal proses penyembuhan luka terjadi hemostasis dan terjadinya degranulasi platelet	34
Gambar 3.10	Dalam waktu 24 jam terlihat netrofil memasuki daerah luka dan keratinosit migrasi berada dimatriks sementara	34

Gambar 3.11	Terlihat pada hari ke 2 dan 3 makrofag mendominasi dalam jaringan luka dan menghasilkan faktor pertumbuhan sehingga fibroblast dan sel endotel migrasi	35
Gambar 3.12	Fibroblast pada hari ke3 sampai ke 5 fibroblast telah teraktivasi untuk mengeluarkan faktor pertumbuhan sehingga keratinosit migrasi dari tepi luka	36
Gambar 3.13	Proses remodeling terjadi dan terlihat penumpukan kolagen pada bagian dermis	39
Gambar 4.1	Mekanisme kerja dan peran MSCs selama fase penyembuhan luka	45
Gambar 4.2	Perbaikan Luka bakar pada tikus pada Hari ke 7 (a dan b) dan perbaikan pada hari ke 14 (c dan d). Gambar a dan c kelompok kontrol sedangkan b dan d kelompok yang diberi sel punca mesenkimal	54
Gambar 4.3	A. Pulasan rutin hematoksilin eosin pada jaringan granulasi kelompok kontrol. B. Pulasan rutin hematoksilin eosin pada jaringan granulasi kelompok perlakuan Panah biru menunjukkan makrofag, panah merah fibroblas, dan panah hijau kapiler baru	54
Gambar 4. 4	Pewarnaan IHK serat kolagen I pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi BM-MSCs tampak pewarnaan positif berupa serat, intensitas warna lebih coklat (B)	54
Gambar 4. 5	Pewarnaan IHK ekspresi integrin $\alpha 2\beta 1$ pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B)	55

- Gambar 4.6 Pewarnaan IHK ekspresi TGF- β 3 pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B) 56
- Gambar 4.7 Pewarnaan IHK ekspresi MMP 9 pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B) 56

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Terapi luka bakar dan luka kronis yang tidak sembuh telah dilakukan dengan berbagai cara yaitu dengan melakukan pencangkokan kulit, pemberian faktor pertumbuhan, terapi gen dan pemberian biofilm, namun keadaan ini masih belum memberikan hasil penyembuhan yang memuaskan serta memberikan efek negatif terhadap pasiennya sendiri. Untuk itu, diperlukan pengobatan untuk membangun kembali anatomi dan fungsi kulit yang normal. Pada saat ini, perhatian para peneliti sangat terfokus pada penggunaan stem sel untuk pengobatan berbagai penyakit diantaranya luka bakar (Metcalf *et al.*, 2007).

Stem cell di Indonesia dikenal dengan sel punca atau sel induk merupakan sel yang mempunyai kemampuan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi sehingga mempunyai fungsi untuk perbaikan sel, jaringan maupun organ. Secara garis besar sel punca dapat dikelompokkan menjadi sel punca embrionik dan sel punca dewasa. Sel punca embrionik didapatkan dari embrio pada fase blastosit yang berusia 3-5 hari. Sel ini akan mampu berdiferensiasi menjadi banyak sel yang mewakili 3 lapisan germinal embrio (ectoderm, mesoderm dan endoderm). Sel punca dewasa adalah sel yang mampu berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel yang karakteristik dan fungsi khusus.

Perkembangan terapi dengan menggunakan sel punca untuk terapi sel semakin mendapat perhatian dari para peneliti di seluruh dunia. Berbagai kemajuan dan manfaat yang telah dipublikasikan juga telah dirasakan oleh masyarakat. Beberapa terapi dengan sel punca telah dilakukan yaitu untuk terapi beberapa penyakit degeneratif seperti infark jantung, stroke, parkinson, dan diabetes, maupun kelainan lainnya seperti trauma dan keganasan.

Di Indonesia sekarang ini penggunaan sel punca telah dimanfaatkan untuk uji klinis dan pengobatan beberapa penyakit. Terapi sel punca saat ini masih terbatas yang hanya bisa dilakukan di beberapa rumah sakit di Indonesia. Untuk menghadapi kondisi ini maka pada 2014, pihak Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mengeluarkan peraturan menteri yang menyebutkan bahwa tidak semua rumah sakit dan klinik kecantikan dapat melakukan terapi sel punca. Ada 9 Rumah

Sakit yang ditugaskan untuk mengembangkan layanan sel punca dan 2 Rumah Sakit sebagai pembina yaitu RSUD Dr Sutomo Surabaya dan RSCM Jakarta. Terapi sel punca yang telah dilakukan adalah dengan menggunakan sel punca dewasa yang berasal dari sumsum tulang dikenal dengan sel punca mesenkimal atau *Bone marrow mesenchymal stem cell* disingkat dengan BM-MSCs.

Sel punca mesenkimal merupakan sel bersifat potent progenitor dan berperan dalam perbaikan serta regenerasi sel pada jaringan yang rusak, termasuk regenerasi jaringan kulit (Kim *et al.*, 2007 cit Jeon *et al.*, 2010). Sel punca mesenkimal mampu berdiferensiasi menjadi osteoblast, kondrosit, sel endotel, sel neuron dan hepatosit. Penelitian kemampuan diferensiasi sel punca mesenkimal lainnya yaitu menjadi keratinosit yang merupakan sel yang penting dalam penyembuhan luka (Wang *et al.*, 2005; Medina *et al.*, 2006 and Wu *et al.*, 2007).

Penelitian sel punca mesenkimal untuk penyembuhan luka bakar yang dalam pada tikus dan luka insisi yang diberikan secara injeksi ternyata sel punca ini mampu mempercepat penyembuhan luka dengan cara mengurangi infiltrasi sel inflamasi ke dalam luka, mempercepat pembentukan jaringan granulasi dan meningkatkan reepitelisasi (Wu *et al.*, 2007 dan Jeon *et al.*, 2010). Penelitian lain dari sel punca mesenkimal yang ditanamkan dalam *scaffold* pada babi luka bakar partial dalam, ternyata pada minggu ke empat terdapat kepadatan pembuluh darah yang signifikan pada luka bakar yang diberi sel punca mesenkimal yang ditanamkan dalam *scaffold* dibandingkan dengan yang diberi *scaffold* saja. Pada keadaan ini sel punca mesenkimal mungkin mengeluarkan mediator-mediator yang mampu mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel-sel di jaringan luka, sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka (Liu *et al.*, 2008). Namun belum banyak diketahui mekanisme seluler pemberian sel punca mesenkimal ini terhadap proses penyembuhan luka bakar. Untuk itu perlu dilakukan penelitian dan mencari referensi secara meta analisis dari sel punca mesenkimal terhadap luka bakar sehingga penggunaan sel punca mesenkimal bisa disarankan sebagai terapi untuk luka bakar .

Luka bakar merupakan salah satu masalah kesehatan yang serius bagi masyarakat di dunia, karena luka bakar menimbulkan kerusakan fisik dan bahkan ada yang menimbulkan kematian. Kerusakan fisik ini dapat berupa kecacatan yang akan mempengaruhi psikologis penderita (Evers *et al.*, 2010). Berdasarkan data *World Health*

Organization's (WHO) pada tahun 2014, diperkirakan 265.000 orang meninggal akibat luka bakar setiap tahunnya diseluruh dunia. Di Negara Mediterian Timur diperoleh data 187/100.000 orang pertahun, Asia Tenggara 243/100.000 orang pertahun (Othman *et al.*, 2010). Di Indonesia, prevalensi luka bakar pada tahun 2013 adalah sebesar 0.7% dan telah mengalami penurunan sebesar 1.5% dibandingkan pada tahun 2008 (2.2%). Provinsi dengan prevalensi tertinggi adalah Papua (2.0%) dan Bangka Belitung (1.4%) (Depkes, 2013). Sedangkan di Sumatera Barat, berdasarkan data yang didapatkan dari ruangan rawat inap Luka Bakar RSUP DR. M.Djamil Padang, angkanya setiap tahun bervariasi antara 86 sampai 106 kasus dan penyebab luka bakar yang sering terjadi adalah kasus luka bakar akibat sengatan listrik.

Penanganan luka bakar dipengaruhi oleh luas dan derajat luka bakar itu sendiri. Penanganan untuk derajat superficial partial thickness burns dan sebagian dari deep partial thickness burns ditatalaksana dengan pemberian antibiotik topikal tanpa / dengan balutan. Untuk *full thickness burns* di tatalaksana dengan eksisi dan skin graft. Beberapa sediaan *Topical treatment* yang dipakai untuk luka bakar derajat I dan II saat ini adalah *Silver sulphadiazine cream* 1% , *Silver nitrat solution* 0,5% dan *mafenide acetate cream* . *Silver sulphadiazine cream* 1% dan *Silver nitrat solution* merupakan antibiotik topikal berspektrum luas yang efektif menyerang bakteri gram negative (e.g *Pseudomonas*). (Hermans,2005) Tetapi disamping itu mempunyai kelemahan dalam pemakaian. Sediaan ini harus diulangi tiap 2-4 jam dan tempat aplikasi harus dibersihkan dari bekas pemberian sebelumnya. Penelitian dengan menggunakan bahan alam di antaranya propolis dan madu lebah diketahui bahwa SSD1% membutuhkan waktu penyembuhan yang lebih lama dibandingkan dengan propolis dari madu. (Karosghani *et al* 2010 dan Baghel *et al* 2009).

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks, terjadi dalam 3 fase yaitu inflamasi, proliferasi dan pematangan (remodelling). Mekanisme proses penyembuhan baik luka bakar maupun luka sayat adalah sama. Fase masing-masing penyembuhan luka ini saling berkaitan/*overlapping*, dan berlangsung sejak terjadinya luka, sampai terjadi resolusi dari luka. Semua luka harus melewati proses seluler dan biokimia yang berkelanjutan, agar tercapai pengembalian integritas jaringan yang sempurna. Proses seluler dapat terjadi jika dibantu oleh faktor pertumbuhan yang akan menstimulasi proses migrasi, proliferasi dan fungsi sel. Faktor pertumbuhan mempengaruhi

aktivitas sel dengan cara berikatan pada reseptor permukaan sel. Jika terdapat gangguan dan perubahan pada pola ekspresi faktor pertumbuhan, menyebabkan terjadinya penyembuhan luka yang tidak adekuat. Pemberian sel punca mesenkimal mempunyai kelebihan karena sel punca ini mensekresi mediator-mediator yang akan mempengaruhi proliferasi, apoptosis dan diferensiasi sel yang ada pada jaringan luka, sehingga penyembuhan luka akan dipercepat dan struktur anatomi kulit sendiri mendekati normal.

B. Permasalahan dan tujuan

Berdasarkan pada latar belakang, maka permasalahan yang akan dikaji dalam tulisan ini adalah Bagaimana peran sel punca mesenkimal terhadap mekanisme fase-fase proses penyembuhan luka bakar yang dilihat secara histologis, ekspresi faktor pertumbuhan dan proteinase secara imunohistokimia dan ketebalan kolagen tipe 1.

Tujuan dari penulisan ini adalah mengkaji peran sel punca mesenkimal terhadap mekanisme proses penyembuhan luka bakar yang dilihat secara histologis, ekspresi faktor pertumbuhan proteinase secara imunohistokimia dan ketebalan kolagen tipe 1.

C. Metode pemecahan masalah

Untuk menjawab permasalahan tentang peran terhadap mekanisme proses penyembuhan luka bakar maka metode pemecahan masalahnya melalui penelitian meta analisis yaitu kajian terhadap beberapa hasil penelitian yang terkait dengan peran sel punca mesenkimal terhadap penyembuhan luka bakar. Beberapa jurnal hasil penelitian tentang penyembuhan luka bakar dikumpulkan dari penerbit publikasi seperti PubMed, Medline Plos One, Google Scholar dan jurnal-jurnal lainnya yang terkait luka bakar dan pengaruh sel punca mesenkimal terhadap penyembuhan luka sayat dan luka bakar.

BAB II SEL PUNCA DAN JENIS-JENISNYA

2.1 Definisi dan Sejarah Sel Punca

Stem cell berasal dari kata *stem* artinya batang, *cell* atau sel yaitu bagian fungsional terkecil dari tubuh. Di Indonesia *Stem cell* dikenal dengan sel punca atau sel induk. Sel punca merupakan sel khusus yang mampu untuk memperbanyak diri dengan cara memperbaharui dirinya sendiri, menghasilkan sel awal atau belum mempunyai fungsi spesifik dan dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel-sel spesifik yang membentuk berbagai jaringan tubuh.

Kata *stem cell* awalnya dikenalkan pada tahun 1908 oleh seorang ahli Histologi dan Embriologi dari Rusia yaitu Alexander Maximow pada kongres hematologi di Berlin. Maximow menemukan bahwa adanya sel punca/sel induk yang membentuk sel darah. Penelitian tentang sel punca berkembang terus, dan pada tahun 1968, telah berhasil melakukan transplantasi sumsum tulang pertama mengobati dua saudara kandung dengan kelainan *severe combined immunodeficiency* (SCID). Penelitian penting sel punca lainnya yaitu pada tahun 1978 ditemukannya sel punca dalam darah tali pusat manusia. Tahun 1981, dua kelompok peneliti yaitu Martin Evans, Matthew Kaufman dari University of Cambridge dan Gail R. Martin dari University of California, San Frasco menemukan sel punca yang berasal dari embrio mencit.

Pada tahun 1995 seorang ilmuwan dari India Dr. B.G. Matapurkar, seorang pelopor dalam penelitian klinis pemanfaatan sel punca dewasa dalam tubuh untuk regenerasi jaringan dan organ dalam tubuh. Pada tahun 1998, Thompson, dari University of Wisconsin dan Gearhart, dari Johns Hopkins University, menemukan sel punca dari embrional yang mempunyai potensi untuk berdiferensiasi menjadi tipe sel sel yang ada dalam tubuh manusia. Thompson mengisolasi sel punca yang berasal dari jaringan fetus yang mengalami aborsi sedangkan Gearhart mengembangkan sel punca yang berasal dari fetus hasil fertilisasi secara *in vitro*. Kemudian, pada tahun 1999 dan 2000, para ilmuwan menemukan bahwa memanipulasi jaringan tikus dewasa bisa menghasilkan jenis sel yang berbeda. Ini berarti bahwa sel-sel dari sumsum tulang dapat menghasilkan sel saraf, sel hati dan dapat menghasilkan jenis sel lainnya. Penemuan-penemuan ini

menarik untuk dilakukan penelitian terhadap sel punca, karena akan memberikan keuntungan yang besar dalam pengobatan dimasa yang akan datang.

Sel punca mempunyai 2 sifat yang khas yaitu

- a. Kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel lain. Sel punca mampu berkembang menjadi berbagai jenis sel yang khas (spesifik) misalnya sel saraf, sel otot jantung, sel otot rangka, sel pankreas dan lain-lain. Sel punca mampu berdiferensiasi menjadi lebih dari 1 jenis sel.
- b. Kemampuan untuk memperbaharui atau meregenerasi dirinya sendiri. Sel punca mampu membuat salinan sel yang persis sama dengan dirinya melalui pembelahan sel.

2.2 Jenis-Jenis Sel Punca

Penggolongan sel punca dapat dibedakan menjadi dua yaitu berdasarkan kemampuannya berdiferensiasi dan berdasarkan sumber asal selnya. Penjelasan mengenai penggolongan masing-masing sel punca dapat dilihat dibawah ini.

2.2.1 Jenis-jenis sel punca berdasarkan kemampuan berdiferensiasi

Kemampuan sel punca untuk berdiferensiasi menjadi lebih dari satu jenis sel disebut plastisitas. Plastisitas dan potensi sel punca bervariasi, dan dibagi atas 4 kelompok yaitu:

a. Totipoten

Totipoten adalah kemampuan dari sel punca membentuk semua jenis sel yang berkontribusi membentuk organisme. Sifat ini hanya dimiliki oleh sel telur yang telah mengalami fertilisasi. Yang termasuk dalam sel punca totipoten adalah zigot dan morula. Sel-sel ini merupakan sel embrionik awal yang mempunyai kemampuan untuk membentuk berbagai jenis sel termasuk sel-sel yang menyusun plasenta dan tali pusat. Karenanya sel punca kelompok ini mempunyai kemampuan untuk membentuk satu individu yang utuh.

b. Pluripoten

Pluripoten adalah kemampuan sel punca membentuk hampir semua jenis sel organisme termasuk sel germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm) tetapi tidak dapat mampu membentuk jaringan ekstraembrionik seperti plasenta dan tali pusat. Yang termasuk sel punca pluripoten adalah sel punca embrionik (*embryonic stem cells*).

c. Multipoten

Multipoten adalah kemampuan sel punca untuk membentuk hampir semua sel pada jaringan tertentu (ektodermal, mesodermal dan endodermal). Sifat ini dimiliki oleh sel punca dewasa. Contohnya sel punca hemopoetik (*hemopoetic stem cells*) yang terdapat pada sumsum tulang, mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang terdapat di dalam darah seperti eritrosit, leukosit dan trombosit. Contoh lainnya adalah sel punca saraf (*neural stem cells*) yang mempunyai kemampuan berdiferensiasi menjadi sel saraf dan sel glia.

d. Unipotent

Unipotent yaitu sel punca yang hanya dapat berdiferensiasi menjadi 1 jenis sel. Sel punca ini mempunyai sifat dapat memperbaharui atau meregenerasi diri sendiri (*self-regenerate/self renew*) Contohnya *erythroid progenitor cells* hanya mampu berdiferensiasi menjadi sel darah merah.

2.2.2 Jenis-jenis sel punca berdasarkan sumber asal sel

Jenis-jenis sel punca berdasarkan sumbernya pada jaringan tubuh dibagi menjadi *embryonic stem cell*, *adult stem cell*, dan *induced pluripotent stem cells (iPSC) fetal stem cell*. *Embryonic stem cell* atau sel punca embrionik merupakan sel yang berasal dari zigot yang belum mengalami implantasi, *adult stem cell* atau sel punca dewasa ditemukan di semua organ tubuh sedangkan pada fetal sel punca ditemukan pada janin.

1. Sel Punca embrionik

Sel punca embrionik adalah sel yang diambil dari *inner cell mass* - suatu kumpulan sel yang terdapat dalam *blastocyst* yang berumur

4-5 hari sebelum implantasi. Sel punca ini merupakan awal dari seluruh jenis sel dalam tubuh manusia. Sel punca embrionik bersifat sebagai pluripotent, memiliki kemampuan proliferasi yang tinggi. Sifat pluripotent sel punca embrionik mempunyai kemampuan untuk membentuk semua jenis sel fetus dan sel dewasa termasuk sel germinal, tetapi tidak mampu membentuk jaringan plasenta. Namun kemampuan proliferasi dari sel punca embrionik yang tinggi menimbulkan resiko terjadinya pembentukan tumor yang mempunyai masalah serius dalam aplikasi klinis sel punca ini. Begitu juga pada banyak negara melarang penggunaan sel punca embrionik karena berhubungan dengan masalah etika dan hukum (Power and Rasko 2011).

Sel punca embrionik mempunyai sifat sebagai berikut

- a. Pluripoten, yaitu sel punca ini mempunyai kemampuan berdiferensiasi menjadi sel-sel yang merupakan turunan dari 3 lapis germinal, tetapi tidak dapat membentuk membran embrio (tali pusat dan plasenta)
- b. Immortal artinya dapat berumur panjang sehingga dapat memperbanyak diri ratusan kali pada media kultur. Mereka merupakan sumber sel-sel yang belum berdiferensiasi. Sel punca embrionik dulu dipikirkan dapat memperbanyak diri sendiri secara tak terbatas, tetapi kini diketahui bahwa usia dan perbanyak diri sendiri sel-sel punca juga ada batasnya. Hal ini disebabkan karena terjadinya mutasi pada gen-gen pada sel punca karena pengaruh nutrisi dalam medium kultur.
- c. Mempunyai karyotipe yang normal
- d. Dapat bersifat tumorigenik artinya setiap kontaminasi dengan sel yang tak berdiferensiasi dapat menimbulkan kanker
- e. Selalu bersifat allogenic sehingga berpotensi menimbulkan terjadinya rejeksi imunitas. Untuk mencegah terjadinya reaksi penolakan jaringan dapat digunakan metoda *somatic cell nuclear transfer* atau terapi kloning.

2. Sel Punca dewasa (*Adult stem cells/ASC*)

Sel punca dewasa adalah sel punca yang terdapat pada seluruh jaringan tubuh, namun tidak semua tempat dapat diambil karena akan menimbulkan morbiditas pada donor dan berada di antara sel-sel lain yang telah berdiferensiasi dalam suatu jaringan yang telah mengalami maturasi. Dengan kata lain, sel punca ini adalah sekelompok sel yang belum berdiferensiasi, bahkan terkadang ditemukan dalam keadaan inaktif pada suatu jaringan yang telah memiliki fungsi spesifik dalam tubuh individu. Keberadaan sel punca jenis ini diperkirakan bertujuan untuk menjaga homeostasis jaringan tempatnya berada.

Sel punca dewasa berperan dalam regenerasi jaringan untuk mengatasi berbagai kerusakan yang selalu terjadi dalam kehidupan dengan cara sel punca berkumpul pada jaringan yang rusak, berdiferensiasi dan melepaskan molekul-molekul signal parakrin untuk merekrut sel-sel inflamasi dan sel progenitor jaringan. Peran yang cukup baik dari sel punca maka penelitian dasar sel punca berkembang lebih pesat dan telah diaplikasikan dalam penyakit degeneratif (Lau *et al.*, 2009).

Sel punca dewasa mempunyai dua karakteristik yaitu

- a. Sel-sel dapat berproliferasi untuk periode yang panjang dan mampu memperbaharui diri.
- b. Sel-sel mempunyai sifat plastisitas artinya selain dapat berdiferensiasi menjadi sel yang sesuai dengan jaringan asalnya, juga dapat berdiferensiasi menjadi sel jaringan lain.

Sel punca dewasa dibedakan menjadi *hematopoietic stem cells* (HSCs) dan *mesenchymal stem cells* (MSCs).

a. ***Hematopoietic stem cells* (HSCs)**

Hematopoietic stem cells (HSCs) adalah sel induk pembentuk darah yang mampu membentuk sel darah merah, sel darah putih, dan keping darah yang sehat. Sumber sel induk hematopoietik adalah sumsum tulang, darah tepi, dan darah tali pusat. Pembentukan sel induk hematopoietik terjadi pada tahap awal embriogenesis, yaitu dari mesoderm dan disimpan pada tempat yang spesifik di dalam embrio (Power and Rasko 2011).

b. *Mesenchymal stem cells* (MSCs) atau sel punca mesenkimal

Mesenchymal stem cells (MSCs) atau sel punca mesenkimal adalah sel induk multipotensi yang dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel tulang, otot, ligamen, tendon, dan lemak. Namun ada beberapa bukti yang menyatakan bahwa sebagian MSCs bersifat pluripotensi sehingga tidak hanya dapat berubah menjadi jaringan mesodermal tetapi juga endodermal.

Sel punca dewasa dapat diambil dari sumsum tulang (*bone marrow stem cells*), jaringan lemak (Gronthos *et al.*, 2001) darah perifer atau tali pusat/*umbilical cord blood stem cells*, UCB (Igura *et al.*, 2004) dan air susu ibu/ASI (Hassiotou *et al.*, 2012).

3. Sel Punca Fetal

Sel punca fetal merupakan sel primitif yang dapat ditemukan pada organ-organ fetus (janin) seperti sel induk hematopoietik fetal dan progenitor kelenjar pankreas. Fetus mengandung sel punca yang bersifat pluripotent dan secepatnya berkembang kedalam jaringan-jaringan tubuh yang berbeda didalam fetus. Sel induk neural fetal yang ditemukan pada otak janin menunjukkan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel neuron dan sel glial (sel-sel pendukung pada sistem saraf pusat). Darah, plasenta, dan tali pusat janin kaya akan sel induk hematopoietik fetal.

4. Induced pluripotent stem cells (sel punca pluripoten yang diinduksi (IPSC)

Para ilmuwan baru-baru ini menemukan cara lain untuk memproduksi sel punca pluripoten tanpa menggunakan embrio. Pada tahun 2006 hingga 2007, para ilmuwan menemukan cara untuk *reprogramme* beberapa sel khusus untuk menjadi pluripotent sehingga mereka kehilangan fungsi khusus mereka dan berperilaku hampir sama seperti sel punca embrionik. Sel-sel awal akan diprogram ke dalam keadaan sel punca pluripoten. Sel punca pluripotent yang dihasilkan dengan cara ini disebut induksi sel punca pluripotent (sel iPS). Sel iPS pertama kali diproduksi pada tikus, dan itu cepat menunjukkan bahwa metode yang sama dapat digunakan untuk membuat sel-sel iPS manusia. Para ilmuwan dapat membuat sel-sel iPS menggunakan segala jenis sel dalam tubuh, tetapi paling sering sel-sel kulit yang digunakan karena mereka mudah didapatkan. Ini bukan sel punca

dewasa, melainkan sel dewasa (misalnya, sel epitel) yang diprogram menghasilkan kemampuan pluripoten. Menggunakan pemrograman genetik dengan faktor transkripsi protein, sel-sel punca pluripoten ini setara dengan sel punca embrionik yang berasal dari jaringan kulit manusia dewasa (Gulotta *et.al.*, 2011).

Teknologi iPSC dipelopori oleh laboratorium Shinya Yamanaka di Kyoto, Jepang, yang menunjukkan pada tahun 2006 bahwa pengenalan empat gen spesifik yang mengkodekan faktor transkripsi dapat mengubah sel-sel dewasa menjadi sel punca pluripoten (Takahashi and Yamanaka, 2006). iPSCs pertama kali diproduksi pada tahun 2006 dari sel-sel tikus dan pada tahun 2007 dari sel manusia dalam serangkaian percobaan oleh tim Shinya Yamanaka di Universitas Kyoto, Jepang, dan oleh tim James Thomson di Universitas Wisconsin-Madison.

BAB III

SEL PUNCA MESENKIMAL DAN PENYEMBUHAN LUKA

3. 1 Sel Punca Mesenkimal

3.1.1 Sejarah Sel Punca Mesenkimal

Sel punca mesenkimal dikenal juga dengan *mesenchymal stromal cells* atau *connective tissue progenitor cells*. Sel punca mesenkimal merupakan sel punca yang bersifat multipotent progenitor sel nonhematopoitik. Penemuan sel punca mesenkimal diawali dengan adanya ilmuwan Ernest A. Mc Culloch dan James E. Till pada tahun 1960 yang pertama mengungkapkan potensi sel sumsum tulang yang bersifat multipoten. Kemudian dilaporkan pada tahun 1970 oleh Friedenstein dan rekan, mereka menjelaskan bahwa dalam sumsum tulang ditemukan sel yang tidak menempel pada cawan kultur dan sel ini menjadi matur, mampu membentuk serta berdiferensiasi menjadi osteoblast (sel tulang). Sel punca mesenkimal dipopulerkan oleh Arnold Caplan yang mengatakan bahwa sel Punca Mesenkimal dapat berdiferensiasi menjadi tulang, khondrosit, adiposit dan mioblast. Sel punca mesenkimal juga membantu proses hematopoisis sel punca endogen.

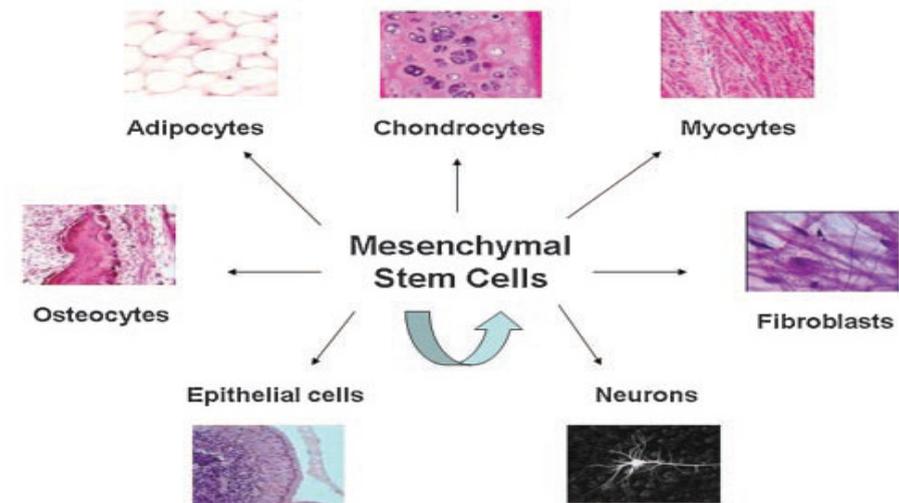
3.1.2 Biologi Sel Punca Mesenkimal

Sel punca mesenkimal telah diidentifikasi dan dapat dengan mudah diisolasi dari sejumlah besar jaringan dewasa. Sel Punca Mesenkimal dapat diekspansi dalam kultur dan berdiferensiasi menjadi sel yang dibutuhkan sesuai dengan stimulus yang cocok dan mempunyai fungsi untuk menggantikan dan meregenerasi sel lokal yang hilang karena kerusakan atau penuaan jaringan normal. Sel Punca Mesenkimal jumlahnya 0.001 – 0.01% dari populasi sel di sumsum tulang. Syarat standar yang harus dipunyai oleh sel punca mesenkimal menurut *International Society of Cytotherapy* ada tiga hal yaitu:

- a. Sel tersebut harus mempunyai sifat *plastic adherent* ketika dipelihara dalam kondisi kultur standar.
- b. Sel harus mengekspresikan CD105, CD73, CD90 dan tidak mengekspresi CD45, CD11b, CD34 atau CD14, CD79 α atau CD19, dan HLA- DR molekul.

- c. Mampu berdiferensiasi menjadi osteosit, adiposit dan kondrosit secara *in vitro* (Wu *et al.*, 2010).

Selain kemampuan sel punca mesenkimal untuk berdiferensiasi seperti diatas, sel punca ini juga mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel non mesodermal yaitu fibroblast, myofibroblast sel epitel, endotel dan sel neuron (gambar 3.1). Sel punca mesenkimal juga mensekresi kemokin untuk memperbaiki jaringan yang rusak sehingga terbentuk sitoarsitektur jaringan yang baru.



Gambar 3.1 Kemampuan dari sel punca mesenkimal untuk berdiferensiasi menjadi beberapa sel. (Sumber Liu *et al.*, 2009)

Kemampuan diferensiasi sel punca mesenkimal menjadikan sel punca ini sebagai suatu jenis kandidat sel untuk upaya teknologi jaringan yang bertujuan untuk meregenerasi jaringan yang rusak. Sel punca mesenkimal dapat memberikan suatu efek yang sangat baik pada perbaikan jaringan melalui modulasi lingkungan lokal dan aktivasi sel progenitor endogen, keadaan ini menjadikan terapi sel punca mesenkimal menjadi menarik pada para peneliti.

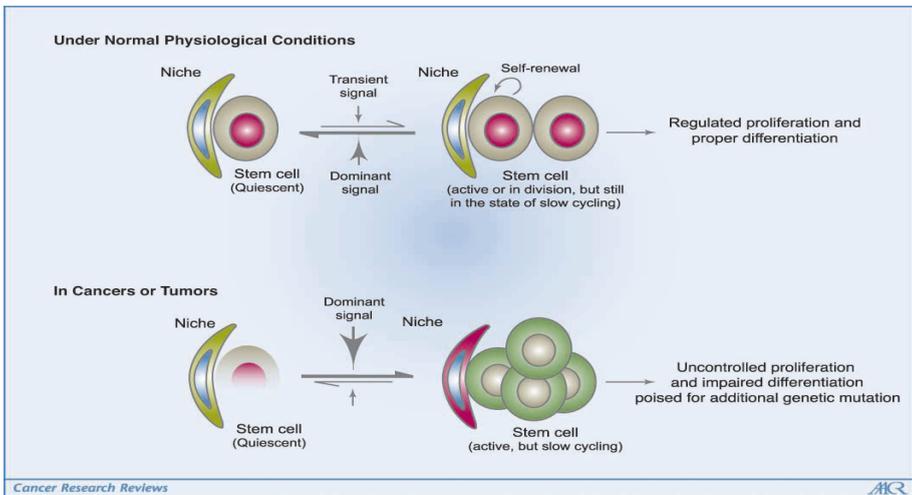
3.1.3 Sel punca " *Niche*" dan *Homing*

a. Sel punca " *Niche*"

Sel punca *niche* merupakan suatu lingkungan mikro yang bersifat dinamis yang memelihara dan mengatur *behavior* sel punca yang tidak aktif (*naive*). Lingkungan ini dapat mempertahankan keseimbangan aktivitas sel punca (hemoeostasis) untuk tidak berdiferensiasi dan ketika ada sinyal ke *niche* maka sel punca akan berdiferensiasi serta dapat meregulasi motilitas sel. *Niche* sel punca mesenkimal terjadi di daerah perivaskular, keadaan ini akan memudahkan sel punca mesenkimal menuju jaringan yang rusak (Morrisos and Spradling. 2008; Ema and Suda. 2012).

Faktor-faktor yang berperan dalam meregulasi karakteristik sel punca dalam *niche* akan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu matrix ekstraselular (ECM), molekul adhesi dan molekul solubel. Molekul adhesi akan mengatur interaksi antara sel punca dengan *niche*, antara sel punca dengan matriks ekstraselular dan molekul solubel diantaranya faktor pertumbuhan akan mempengaruhi proliferasi sel punca. Interaksi antara sel punca dan *niche* akan menciptakan sistem yang dinamis diperlukan untuk menyokong kelangsungan hidup jaringan. Selama perkembangan sel punca dan *niche* bisa saling menginduksi dan selama masa dewasa saling mengirim sinyal secara timbal balik (Watt and Mogan. 2000). .

Selama perkembangan embrio, berbagai faktor *niche* bekerja terhadap sel punca untuk mengubah ekspresi gen, dan menginduksi proliferasi dan diferensiasi perkembangan fetus. Pada waktu dewasa, sel punca *niche* akan dipertahankan dalam keadaan diam, tetapi jika terjadi trauma jaringan, lingkungan mikro sekitarnya akan menjadi aktif untuk mengirimkan sinyal ke sel punca agar memicu peremajaan diri atau diferensiasi membentuk jaringan baru dan sel punca akan mengalami migrasi untuk bisa *homing* di jaringan yang rusak dapat dilihat pada gambar 3.2 (Li and Xie. 2005).



Gambar 3.2 Sel punca dan *niche* terlihat stem sel tidak aktif dan setelah terjadi trauma maka stem sel menjadi aktif (Li and Xie. 2005)

b. Homing Sel Punca

Homing adalah proses migrasi sel, kemudian sel menempel kuat (*engraft*) dalam jaringan yang mengalami injury dan sel akan memberikan efek perbaikan pada jaringan tersebut. Mekanisme sel punca mesenkimal homing ditempat cedera sebagian sudah diketahui, yang terlihat dalam pengaturan penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Pemahaman mekanisme homing penting untuk meningkatkan peran sel punca mesenkimal terutama ketika sel melewati pembuluh darah.

Sel punca mesenkimal yang terdapat dalam sirkulasi mengalami serangkaian peristiwa agar dapat homing menuju ke daerah yang mengalami injury. Beberapa langkah homing sel punca mesenkimal adalah terjadi

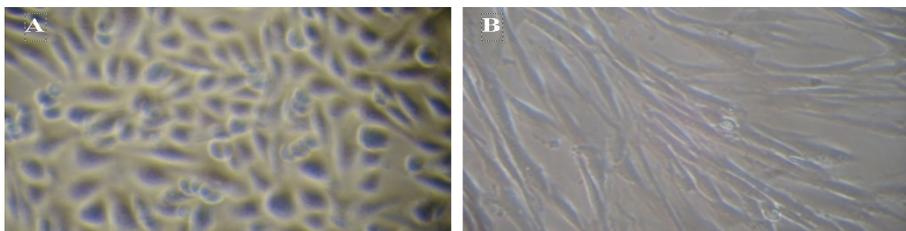
1. *Rolling*. Proses *rolling* merupakan kunci utama terjadinya *homing* yang dipengaruhi karena adanya molekul sinyal yang mengaktivasi sel punca mesenkimal maupun dari *niche stem cell*. Untuk dapat *rolling* sel punca mesenkimal membutuhkan molekul adhesi, diantaranya *selectin*, *intercellular adhesion molecule* (ICAM) dan *integrin*.
2. *Migrasi*. Migrasi dari sel punca mesenkimal ke daerah injury dipengaruhi oleh faktor kemotaktik diantaranya *macrophage*

inflammatory protein (MIP) dan *macrophage chemotactic protein* (MCP). Disamping itu sel punca mesenkimal mengeluarkan protease seperti *Matrix metalloproteinase* (MMP) yang mempunyai kemampuan untuk memecah membran basalis endotel sehingga memungkinkan sel punca mesenkimal migrasi ke daerah yang mengalami injuri dan selanjutnya sel akan terjadi homing.

Homing sel punca mesenkimal juga berperan untuk merekrut sel progenitor endogen disekitar daerah injuri untuk membantu proses penyembuhan. Kemampuan homing sel punca mesenkimal dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu:

1. Optimasi kultur sel punca mesenkimal. Optimasi kultur dapat meningkatkan kemampuan *homing* dari sel punca, jika kondisinya sesuai dengan resipien maka sel sangat atraktif dan cepat untuk migrasi.
2. Kondisi kultur termasuk jumlah pasase sel punca mesenkimal, confluent dan tingkat ekspresi protein permukaan yang dapat mengenali reseptor pada sel target. Sel yang langsung diisolasi mempunyai kemampuan homing lebih besar dibandingkan dengan yang dikultur. Ini disebabkan karena sel punca mesenkimal tidak mengekspresikan *chemocine receptors* (CXCR4) dan *Stromal derivat factors* (SDF-1 α), sehingga sel tidak dapat bermigrasi. Pada sel kultur yang sudah confluent, dapat menghambat migrasi sel punca mesenkimal pada transendotelial karena dihasilkan matriks secara alami yaitu MMP dan TIM3 sedangkan pada kultur dengan pasase dalam waktu yang lama dapat mengurangi karakteristik sel punca mesenkimal, termasuk kapasitas proliferasi, potensi diferensiasi dan aktivitas tropik (Kang *et al.*, 2012).
3. Konsentrasi oksigen, pada keadaan kultur kurang oksigen maka ekspresi CXCR4 dan CX3, dapat meningkatkan konsentrasi oksigen, sehingga kemampuan homing dapat meningkat. Keadaan hipoksia pada biakan sel menjadi sangat efisien untuk digunakan terapi, karena sel dengan prekondisi hipoksia dapat meningkatkan ekspresi sinyal cMet yang akan mempercepat migrasi sel punca mesenkimal .
4. Pertahanan secara fisiologi sangat penting karena faktor tersebut akan berpengaruh dalam terapi sel terutama dalam migrasi seperti kondisi dari kapiler pembuluh darah harus bersih dan tidak ada akumulasi debris vascular.

5. Cara pemberian sel punca mesenkimal , ada beberapa cara pemberian yang telah dilakukan yaitu intra vena, subcutan dan langsung ke lokasi injuri. Sel punca mesenkimal jika diinjeksikan lewat intravena maka kebanyakan terjadi penumpukan di paru, sementara jika dikombinasikan antara sel punca mesenkimal dengan heparin dapat meningkatkan viabilitas sel punca mesenkimal , karena menekan TNF- α dan IFN- γ di daerah injuri. Pemberian langsung ke lokasi injuri adalah memberikan hasil yang paling baik, namun keberhasilan dalam terapi suatu penyakit sangat tergantung pada kesesuaian dengan sifat alami individu (Liu, *et al.*,2011).



Gambar 3.3 A. Sel punca mesenkimal pasase ke 3 yang mempunyai viabilitas tinggi, ekspresi protein pada permukaan sel CD-105 95%, CD-90 92 %, CD-73 90%. dan kemampuan migrasi dan homing tinggi. Sifat sel ini bertahan sampai pada pasase ke 4. B. Sel mesenchymal pasase ke 7 banyak kehilangan molekul protein pada permukaan namun banyak mengekspresikan matriks, sehingga kemampuan migrasi dan homing sel menjadi menurun (Fedik *et al.*, 2014).

3.1.4 Fungsi Sel Punca Mesenkimal

Sel punca mesenkimal mempunyai bermacam-macam fungsi langsung memperbaiki jaringan yang rusak dan membantu memicu sel punca endogen. Sel punca mesenkimal mempunyai kelebihan karena mudah diisolasi dari pasien, dapat berkembang dengan cepat dan berperan dalam perbaikan jaringan. Beberapa fungsi sel punca mesenkimal berdasarkan hasil penelitian dan penggunaan dalam terapi mempunyai efek sebagai berikut:

1. Memperbaiki jaringan yang rusak dengan cara sel *homing* di daerah injuri dan berdiferensiasi menjadi sel yang dibutuhkan didaerah tersebut.
2. Sel punca mesenkimal mempunyai potensi yang kuat dalam regenerasi jaringan kulit (Semon *et al.*, 2010).

3. Efek imunomodulator sel punca mesenkimal dapat sebagai imunostimulan, immunosupresif dan hipoinmunogenik. Sebagai imunostimulanselpuncamesenkimalberperandalamhematoposis untuk menghasilkan sel-sel yang berperan sebagai pertahanan pertama terhadap masuknya benda asing. Sebagai immunosupresi sel punca mesenkimal diketahui dapat menghambat proliferasi dan aktivasi sel T, sel B, NK dan sel dendritik. Sel punca mesenkimal juga diketahui dapat menghambat diferensiasi dan maturasi dari sel *antigen presenting cell* (APC) sehingga mempengaruhi sekresi sitokin proinflamasi dan meningkatkan produksi IL-10 yang bersifat supresif dan tolerogenik (Angoulvant *et al.*, 2004; Di Nicola *et al.*, 2002 and Krampera *et al.*, 2003). Kemampuan hipoinmunogenik terlihat bahwa sel punca mesenkimal tidak menimbulkan respon imun pada inang, hal ini disebabkan karena sel punca mesenkimal sedikit mengekspresikan molekul *major histocompatibility class I* (MHC I) dan tidak mengekspresikan molekul MHC kelas II. Peningkatan ekspresi molekul MHC kelas I dan mentrigger ekspresi MHC kelas II dapat distimulasi ekspresinya oleh interferon-gamma (IFN- γ), tetapi karena sel punca mesenkimal tidak mengekspresikan costimulator CD 80 (B7-1) dan CD 86 (B7-2) sehingga sel punca mesenkimal dapat menghambat aktivasi sel T alloreaktif (Fibbe and Noort . 2003).
4. Mengsekresikan sitokin, yang terdiri dari interleukin, kemokin, faktor pertumbuhan yang mempengaruhi inflamasi, neovaskularisasi dan re-epitelisasi (dapat dilihat pada tabel 3.1)
5. Memobilisasi sel punca endogen

Tabel 3.1 Faktor parakrin berupa sitokin (interleukin, chemokin dan faktor pertumbuhan) yang dihasilkan oleh sel punca mesenkimal dan berperan dalam penyembuhan luka

No	Nama Sitokin	Fungsi
1	EGF	Mengawali proliferasi keratinosit dan meningkatkan migrasi keratinosit dan sel penyokong kulit
	OSM	Inflamasi
	TPO	Mengatur produksi platelet
	VEGF, PDGF-BB, IGF-1	Proangiogenesis dan antiapoptosis

Leptin 6	Faktor angiogenik langsung pada sel endotel
BDNF	Meningkatkan survival dan regenerasi dari sel saraf
FGF-4 FGF-7 FGF-6 FGF-9	Meningkatkan proliferasi sel endothel dan Smooth muscle cells (SMCs)
Flt-3	Proliferasi dari sel hematopoitik dan proliferasi dan diferensiasi progenitor sel darah
Fractalkine (CX3C11)	Kemokin dan molekul adhesi untuk monosit dan membantu angiogenesis
GDNF	Bagian dari transforming growth factor yang berperan dalam angiogenesis
HGF	Anti-apoptosis, imunomodulator dan aktivasi sel hematopoitik
IGFBP-1, IGFBP-3 & IGFBP-4	Memodulasi IGF
LIF	Kemotaktik makrofag, untuk infiltrasi dari sel inflamasi
GRO	Kemokin sel inflamasi dan berperan dalam angiogenesis
IL-6	Mengatur infiltrasi sel inflamasi, mengawali angiogenesis dan migrasi sel epitel
IL-10	Anti inflamasi, mengatur proliferasi dan diferensiasi keratinosit dan endotel
GM-CSF	Sebagai mitogen untuk keratinosit, proliferasi dan migrasi sel endotel, angiogenesis dan mengatur remodelling
MIP-1 α MIP-2, MIP-3 α & MCP-1	Kemotaksis untuk monosit dan limfosit serta berperan dalam infiltrasi makrofag ditempat luka
NAP-2	Kemotaktak dan degranulasi netrofil
OPTGRN	Menghambat pembentukan osteoclast dan calsifikasi pembuluh
TGF- β 2	merekrut sel-sel inflamasi dan fibroblast ke daerah luka

TGF- β 3	merekrut sel-sel inflamasi dan fibroblast ke daerah luka, stimulan yang kuat untuk neovaskularisasi. dan menghambat pembentukan jaringan parut serta mengawali organisasi kolagen
ANGPT	Menstabilkan pembuluh darah dan mengawali penutupan luka

(Chen *et al* 2008, Wu *et al* 2010, Ma *et al* 2014 dan Shaibani *et al* 2016)

Keterangan

ANGPT-1 (angiopoitin-1)

BDNF (brain-derived neurotrophic factor)

EGF (epidermal growth factor)

FGF (fibroblast growth factor)

Flt-3 ligand (FMS-related tyrosine kinase 3 ligand)

GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor)

GRO (growth-related oncogene)

GM-CSF (Granulocyt macrophage-colony stimulating factor)

HGF (hepatocyte growth factor)

IGF (insulin-like growth factor)

IGFBP (IGF binding protein)

IL-6 & IL-10 (interleukin-6 & interleukin-10)

KGF (keratinocyte growth factor)

LIF (leukemia inhibitory factor)

MIP (macrophage inflammatory protein)

NAP-2 (neutrophil-activating peptide)

OPTGRN (osteoprotegrin)

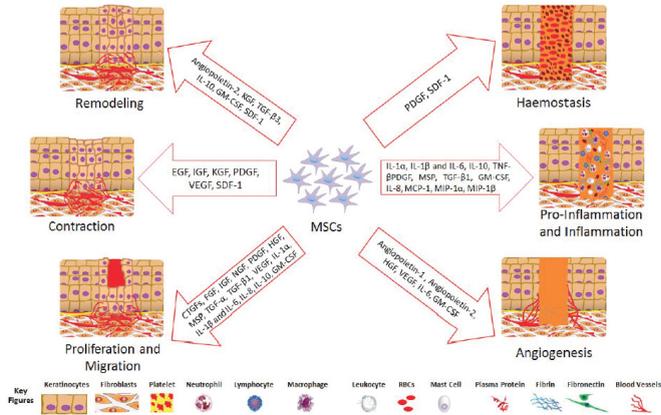
OSM (oncostatin M)

PDGF-BB (platelet-derived growth factor-BB)

TGF (transforming growth factor)

TPO (thrombopoietin).

VEGF (vascular endothelial growth factor)



Gambar 3.4 Peran sitokin, faktor pertumbuhan dan kemokin selama fase penyembuhan luka mulai dari hemostasis, koagulasi sampai ke fase remodeling (Shaibani *et al* 2016)

3.1.5 Isolasi Bone Marrow-Mesenchymal stem cells (BM-MSCs)

Untuk melakukan isolasi bone marrow sel punca mesenkimal dibutuhkan laboratorium atau ruangan, alat-alat dan bahan atau zat kimia yang sudah steril. Ruang merupakan suatu cara isolasi yang membutuhkan

3.1.5.1 Alat yang diperlukan Aspirasi bone marrow pada kelinci atau tikus

Alat yang diperlukan

1. Laminar flow BSL II
2. Sentrifuse refrigtor
3. Inkubator CO2
4. Tangki CO2
5. Freezer – 20°C, - 80°C
6. Autoclav
7. Ruang steril yang dilengkapi dengan UV
8. Pipet otomatis
9. Pipet eppendorf 0 – 200 μ l dan 1000 μ l

10. Mikroskop inverted
11. Pipet gelas ukuran 5, 10 dan 20 ml
12. Erlenmeyer 150 dan 250 ml
13. Becker glass 300 dan 500 ml
14. Filter medium dan filter disposable
10. Yellow tip 0 -20 μ l
15. Blue tip 1000 μ l
16. Petridish 5 cm dan 10 cm
17. Tabung disposable 15 ml, 50 ml
18. Inkubator pengering
19. Kotak atau box yang stabil tidak mudah pecah dan menahan temperatur
20. S spuit 10 cc dengan jarum 16 G
21. Kasa steril
22. Linen berlubang steril

3.1.5.2 Zat yang diperlukan

1. Medium penumbuh sel (alfa-medium) RPMI, TC-199, HEPES
2. Trypsin
3. Foetal calf serum (FCS)
4. Phosphat buffer saline (PBS)
5. Penicilin 100 IU
6. Fungizone
7. Alkohol 70%
8. Aquadest steril
9. EDTA atau heparin
10. Ficol histopaque gradient 0.177
11. Methylen blue
12. Marker spesifik CD45+, CD105, c-kit dan CD35
13. Betadin
14. Ketamin dan Xylazin

Untuk isolasi sel mesenchym ada beberapa cara yaitu

1. Teknik Aspirasi *Bone marrow* tikus

Untuk pengambilan aspirat bone marrow dilaboratorium hewan harus menggunakan jas laboratorium, alat bedah yang steril dan handscoen serta tempat hewan coba sebelumnya sudah diberi antiseptik. Urutan kerja dari aspirasi bone marrow:

1. Tikus atau kelinci dibius dengan ketamin 50 mg/kg dan xylazine 6mg/kg
2. Dilakukan pencukuran pada daerah trochanter femur tungkai atas tikus
3. Diberi disinfektan pada tempat yang akan dilakukan aspirasi bone marrow
4. S spuit diisi dengan heparin sebanyak 1cc
5. Jarum dimasukkan kearah medula tulang femur melalui trochanter mayor, kemudian diaspirasi bone marrow sebanyak 3 ml

2. Isolasi mononukleat dan kultur sel punca mesenkimal

1. Tiga ml darah bone marrow dimasukan ke dalam 3 ml medium (α MEM + fetal bovine serum + penstrep + antimycoplasma)
2. Campuran diatas kemudian diresuspensi dengan medium alfa MEM lalu dimasukan pelan-pelan melalui tabung sentrifus yang sudah berisi 5 ml ficol histopaque 0.077. Campuran suspensi ini disentrifus dengan kecepatan 1600 rpm pada suhu 10°C selama 5 menit. Hasil sentrifus akan terbentuk beberapa bagian dan yang di ambil adalah bagian 'buffy coat' menggunakan pipet transfer pasteur steril, dan letakan sel-sel tersebut ke dalam tabung sentrifus ukuran 15 ml. Dilusikan sel dengan PBS hingga mencapai volume total 15 ml. Kocok tabung 3 - 5 kali agar tercampur dengan baik. disentrifus lagi dengan kecepatan 1600 rpm pada suhu 10°C selama 10 menit.
3. Hasil sentrifus, supernatannya dibuang, lalu pelet dicuci lagi dengan PBS 3ml, kemudian disentrifus lagi sesuai dengan cara di atas dan supernatannya dibuang.
4. Pelet yang dihasilkan ditambahkan dengan 2 ml medium penumbuh, kemudian diresuspensi lalu dimasukan ke dalam

- petri yang berdiameter 10 cm sebanyak masing-masing 1 ml, lalu ke dalam masing-masing petri ditambahkan medium penumbuh sebanyak 10 ml. Suspensi tersebut digoyang supaya merata dan dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ 5%
5. Hari ke 3 didapatkan pertumbuhan baru mencapai 10%
 6. Hasil kultur kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1600 rpm pada suhu 10°C selama 5 menit, untuk memisahkan antara *hematopoietic stem cell* dan *mesenchymal stem cell*. Hasil sentrifugasi berupa supernatan yang merupakan *hematopoietic stem cell* dan pelet merupakan sel punca mesenkimal .
 7. Pelet diresuspensi dengan 2 ml medium penumbuh, kemudian dimasukan dalam 2 petridish berdiameter 5 cm dengan masing-masing 1 ml. Kedalam masing-masing petridish yang berisi *mesenchymal stem cell* ditambahkan 5 ml medium penumbuh. Suspensi tersebut digoyang supaya merata dan dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ 5%.
 8. Kira- kira 24 jam setelah kultur, buang medium. Tambahkan 5 ml PBS yang sudah di hangatkan ke dalam kultur, kocok perlahan hingga memenuhi seluruh area permukaan, lalu buang PBS nya. Ulangi pencucian sebanyak 2 x lagi.
 9. Tambahkan 10ml α medium segar ke dalam cawan petri dan masukan ke dalam inkubator.
 10. Setiap 3 hari, buang medium, cuci sel dengan PBS yang sudah dihangatkan, sebanyak 5 ml atau 10 ml, buang PBS, lalu tambahkan 10 ml α medium segar. Lanjutkan hingga sel-sel menyatu sampai 60-80%.
 11. Sel punca mesenkimal bila telah memenuhi cawan petri sekitar 80% dilakukan pemisahan (*splitting*) untuk dilakukan pasase. Pasase MSC dilakukan untuk mendapat jumlah MSC lebih banyak sehingga memenuhi kebutuhan untuk terapi MSC serta fungsi MSC cukup matur untuk dipakai.
 12. Untuk penelitian biasanya kultur yang digunakan adalah sampai pasase 3 atau 4.

3. Pasase sel punca mesenkimal dilakukan dengan cara:

- a. Dua buah petridish berdiameter 5 cm yang berisi sel dan medium diambil dari inkubator
- b. Mediumnya diambil dengan pipet, kemudian dicuci dengan PBS 5 ml sebanyak 2 kali dengan cara memasukkannya melewati pinggir pinggir petri
- c. Diberi 1.5 ml tripsin pada masing petri d, kemudian dimasukan dalam inkubator selama 5 menit (agar sel yang menempel dalam petri terlepas).
- d. Setelah 5 menit dikeluarkan dari inkubator, kemudian tripsin dalam petri dikurangi 1 ml, ditambahkan 10 ml medium. Dari 1 petri awal dijadikan 2 petri diameter 5 cc.
- e. Pasase ini dilakukan tiap 5 sampai 7 hari, agar sel tidak terlalu tua.

Catatan. 24 jam setelah penyemaian sel punca mesenkimal dalam tabung kultur, sel yang tidak menempel dibuang, dan sel sel yang paling menempel diekspansi menggunakan pasase secara serial. Untuk membedakan antigen permukaan sel punca mesenkimal C menggunakan flow cytometri. Sel punca mesenkimal juga mengekspresikan reseptor hialuronat (CD44), antigen T-cell utama (Thy-1 ; CD90), endoklin (CD105), vascular cell adhesion mollecule-1 (CD106), dan antigen kuman leukocyteclass 1 (HLA-ABC) dalam jumlah banyak. Sel-sel ini juga mengekspresikan reseptor transferin (CD71), P-selectin (CD62P), 3 intergrin (CD61), neural cell adhesion mollecule (CD56), dan protein kofaktor permukaannya

4. Identifikasi dan karakterisasi sel punca mesenkimal

Sel punca mesenkimal sebelum dipakai untuk terapi penyembuhan luka dilakukan identifikasi sesuai dengan criteria International Society of Celluler Terapy. Identifikasi MSC dilakukan dengan cara :

1. Sel MSC melekat pada cawan petri waktu dilakukan kultur
2. Memeriksa ekspresi CD 105 sebagai tanda karakteristik MSC
3. Memeriksa ekspresi CD 45 sebagai tanda negatif karena CD 45 merupakan tanda stem cell hematopoitik.

Sel punca mesenkimal dari kultur dibuat menjadi sel tunggal. MSC dari kultur 1 dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 9100 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, ditambah PBS dan dilakukan resuspensi. Sentifugasi dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit dengan suhu 20^o C. Pelet yang diperoleh ditambah α medium. Kemudian dimasukkan kedalam sumur tempat kultur menjadi sel manolayer. setelah tumbuh menjadi sel monolayer dilakukan pemeriksaan dengan metode imunohistokimia (IHK).

5. Pelabelan sel punca mesenkimal dengan PKH

1. MSC yang dalam kondisi monolayer ditripsinasi untuk menjadi single sel dengan cara sentrifugasi selama 5 menit pada 2100 rpm dan supernatannya dibuang
2. Pelet yang didapatkan berada tabung ditambahkan dengan diluent A dan PKH2 kemudian diinkubasi selama 2 - 5 menit (kalau lebih akan menyebabkan toksik pada sel) dan distop dengan BSA 1%.
3. Kemudian dilakukan inkubasi lagi selama 1 menit dan BSA dicuci dengan medium kompleks dan distop dengan cara disentrifus selama 10 menit 2100 rpm. Pencucian ini dilakukan 3 kali.
4. Hasil sentrifus dicuci dengan medium (α MEM) tanpa serum dan medium yang digunakan dibuang dan sel yang sudah ada label siap dipakai

3.2 Luka Bakar dan Penyembuhan Luka

3.2.1 Pengertian dan Klasifikasi Luka Bakar

Luka bakar adalah luka yang disebabkan oleh pengalihan energi oleh suatu sumber panas kepada tubuh. Panas dapat dipindahkan lewat hantaran atau radiasi elektromagnetik. Luka bakar terjadi akibat suhu ekstrim (suhu panas/ thermal atau dingin/ frostbite), radiasi dan zat kimia (Lin *et al.*, 2010).

Luka bakar dapat diklasifikasikan berdasarkan kedalaman dan luas luka bakar. Berdasarkan kedalaman luka dibagi menjadi tiga derajat yaitu:

1. Derajat satu (*superficial*)

- a. Etiologi : paparan sinar matahari, cairan panas dengan viskositas rendah dan paparan tidak lama sebentar
- b. Kerusakan sebatas pada bagian epidermis kulit. Perlekatan epidermis dan dermis (*dermal-epidermal junction*) masih utuh
- c. Gambaran kulit : eritema, kering, hiperemis dan belum terdapat bula
- d. Intensitas nyeri : sedang sampai berat
- e. Waktu penyembuhan luka : 3-7 hari

2. Luka bakar derajat II A (*Superficial Partial*)

- a. Etiologi : cairan panas, zat kimia asam atau basa lemah
- b. Kerusakan sudah mengenai 1/3 bagian lapisan superfisial (*papillary*) dermis. *Dermal-epidermal junction* mengalami kerusakan, sehingga terjadi epidermolisis yang diikuti terbentuknya lepuh (bula, *blister*). apendises kulit (integumen dan adneksa kulit) seperti folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea masih utuh. Bula terbentuk akibat akumulasi serum diantara superfisial dermis yang telah terlepas dari bagian dalam dermis.
- c. Gambaran kulit : warna merah, basah dan terdapat bula
- d. Intensitas nyeri : berat
- e. Waktu penyembuhan luka : 1-3 minggu

3. Luka bakar derajat II B (*Deep Partial*)

- a. Etiologi : terbakar api, zat kimia, listrik, cairan panas dengan viskositas tinggi
- b. Kerusakan sudah mengenai hampir seluruh (2/3 bagian superfisial) dermis atau lapisan lebih dalam (*reticular*) dari dermis. Apendises kulit (integumen) seperti folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea sebagian utuh
- c. Gambaran kulit : kering, warna putih, kehilangan seluruh lapisan epidermis
- d. Intensitas nyeri : minimal
- e. Waktu penyembuhan luka : 3-6 minggu dengan adanya scar

4. Luka bakar derajat III (*deep / full thickness*)

- a. Etiologi : terbakar api, zat kimia, listrik, ledakan
- b. Kerusakan sudah mengenai seluruh ketebalan kulit (epidermis dan dermis) bahkan mencapai jaringan lemak di subkutan, tendon atau tulang. Apendises kulit (adneksa, integumen) seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea mengalami kerusakan
- c. Gambaran kulit : kulit kasar, kering, warna putih atau merah dengan trombosis pembuluh darah, terbentuk eskar
- d. Nyeri tidak ada, karena ujung serabut saraf sensorik mengalami kerusakan
- e. Tidak bisa penyembuhan primer

(Evers *et al.*, 2010; Sheridan, 2012; Moenadjat, 2009)



Gambar 3.5 Klasifikasi luka bakar berdasarkan kedalaman (Evers *et al.*, 2010).

B. Berdasarkan Luasnya Luka Bakar

Berdasarkan luas permukaan tubuh yang mengalami luka bakar dapat dibagi menjadi beberapa area dan usia menurut metode *rule of nine* dari Wallace. Area luka bakar ditubuh orang dewasa mempunyai persentase yang berbeda seperti pada daerah kepala dan leher 9%, lengan masing-masing 9%, badan depan 18%, badang belakang 18%, tungkai masing-masing 18% dan genitalia/perineum 1%. Pada anak-anak karena memiliki daerah permukaan yang berbeda seperti pada kepala dan leher 18%, badan depan 18%, badang belakang 18%, lengan masing-masing 4.5% dan anggota gerak bawah 7%. Kriteria dan persentase luas bakar dapat dilihat pada Gambar 3.6.

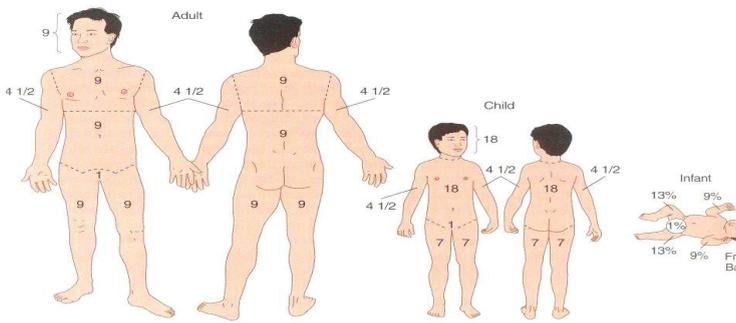


Figure 16-3 "The rule of nines."

Gambar 3.6 Persentase luas luka bakar menurut usia menurut Wallace of rule nine

3.2.2 Patofisiologi Luka Bakar

Luka bakar akan menyebabkan terjadinya respon fisiologis secara lokal dan sistemik. Respon lokal luka bakar akan terjadi perubahan sirkulasi dan perubahan histologi pada kulit (Evers *et al.*, 2010). Perubahan lokal dari luka bakar pada kulit diklasifikasikan atas adanya tiga zona yang berbeda yaitu:

a. Zona koagulasi

Zona koagulasi menunjukkan terjadinya kerusakan (koagulasi protein) akibat pengaruh panas atau terjadi nekrosis pada jaringan yang bersifat ireversibel.

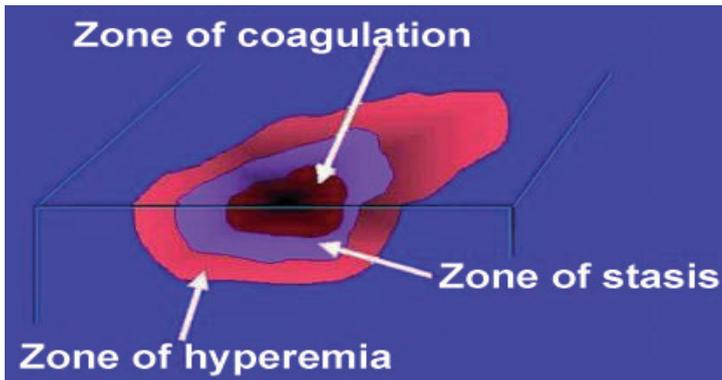
b. Zona stasis.

Zona ini berada pada jaringan berdekatan sekitar dengan daerah nekrosis luka bakar, namun mempunyai risiko untuk terjadinya nekrosis yang menyebabkan peningkatan derajat luka bakar.

Kondisi ini disebabkan karena terjadinya iskemik, peningkatan apoptosis jaringan dan ketidakseimbangan dari mediator inflamasi.

c. Zona hiperemi.

Zona ini terdiri dari kulit normal dengan sedikit cedera seluler, terjadi vasodilatasi dan inflamasi dan tidak menimbulkan kerusakan. Perubahan lokal yang terjadi pada kulit dengan zona-zona yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 3.7.



Gambar 3.7 Zona-zona pada perubahan luka bakar lokal (Evers *et al.*, 2010)

Respon tubuh terhadap keadaan luka bakar pada dua zona terluar yang mengalami gangguan pada pembuluh darah akan menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler, yang diikuti dengan kebocoran intrakapiler ke intersisial sehingga terjadi udem dan bula yang banyak mengandung elektrolit. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya iskemia lebih lanjut di dasar luka (Hasibuan *et al.*, 2010).

Respon sistemik yang terjadi menimbulkan perubahan pada sistem kardiovaskular, pernapasan, metabolisme dan imunologi. Perubahan sistem kardiovaskular bermula dari peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga terjadi kehilangan protein dan cairan ke ruang interstitial, terjadi vasokonstriksi perifer dan splanchnic. Kontraktilitas miokardium akan menurun sehingga menimbulkan pengeluaran *tumour necrosis factor α* (TNF α) keadaan ini terjadi bersamaan dengan kehilangan cairan akibat luka bakar sehingga menimbulkan hipotensi sistemik dan hipoperfusi organ. (Hettiaratchy *et al.*, 2004).

Pada sistem pernafasan luka bakar dapat menyebabkan cedera pada saluran pernapasan dan paru sehingga mengancam kehidupan

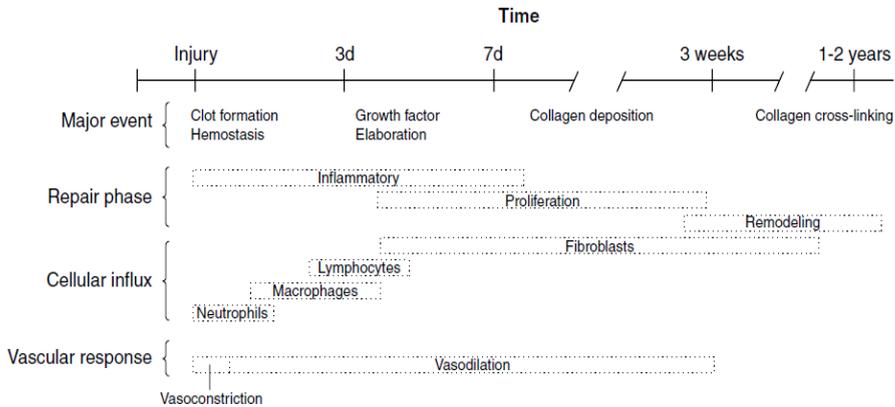
penderita, jika cedera luka bakar terjadi pada daerah kepala dan leher. Cedera ini sering terjadi akibat kebakaran pada kendaraan, rumah, mobil atau pesawat terbang yang memaksa penderita menghirup udara panas dan gas beracun. (Williams et al, 2008).

Luka bakar juga dapat mengganggu sistem pencernaan yang disebabkan oleh hipoperfusi yang lambat sehingga terjadi tukak dimukosa lambung atau duodenum dengan gejala yang sama dengan gejala tukak peptik. Kelainan ini dikenal dengan tukak Curling atau *stress ulcer*. Aliran darah ke lambung berkurang, sehingga terjadi iskemia mukosa. Akibat dari iskemia akan memicu pembentukan stres oksidatif yang merupakan mediator untuk terjadinya nekrosis dan apoptosis.

Respon imun yang ditimbulkan akibat luka bakar derajat dalam atau tingkat parah adalah terjadinya keadaan immunosupresi baik respon imun alamiah maupun adaptif. Luka bakar akan menginisiasi terjadinya reaksi inflamasi lokal dan sistemik. Akibat dari reaksi inflamasi juga dihasilkan radikal bebas yang akan merusak sel. Luka bakar meningkatkan kaskade proinflamasi dan aktivitas makrofag, sehingga akan mempengaruhi terjadinya disfungsi imun. Terjadinya disfungsi imun salah satunya disebabkan oleh peningkatan pembentukan mediator inflamasi baik yang dihasilkan oleh kulit dan sel inflamasi. Mediator yang bersifat proinflamasi adalah IL-1, 6 dan IL-8 serta TNF- α , mediator ini secara normal berfungsi dalam penyembuhan luka dalam kadar yang rendah (Marano. *et al.* 1990 cit Andrzejewska, *et al.* 2000). Bukti terbaru menunjukkan bahwa aktivasi dari kaskade proinflamasi memainkan peran penting dalam komplikasi utama akibat luka bakar.

3.3 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis yang melibatkan interaksi antara sel dan mediator yang berbeda. Proses ini terbagi dalam 3 fase yaitu fase hemostasis dan inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi atau remodelling dan fase-fase tersebut saling tumpang tindih. Pada fase-fase tersebut ada beberapa mediator yang terlibat yaitu sitokin (interleukin, kemokin, faktor pertumbuhan) dan molekul adhesi serta *protein extracellular matrix* (ECM). Faktor pertumbuhan dan sitokin dapat berkerja sebagai autokrin (untuk sel sendiri) dan parakrin (pada .sel lain) pada proses penyembuhan luka.



Gambar 3.8 Fase-fase penyembuhan luka dan lamanya masing-masing fase (Lorenz *et al.*, 2003)

3.3.1 Fase Inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai sampai hari ke 5 pasca luka. Pada fase ini terjadi proses hemostasis dan inflamasi. Proses hemostasis melibatkan 3 langkah utama, yaitu spasme vaskular, pembentukan sumbat trombosit, dan koagulasi darah (Hasibuan *et al.*, 2010; Sherwood, 2011).

a. Spasme vaskular

Proses hemostasis diawali dengan spasme vaskular untuk mengurangi aliran darah melalui pembuluh darah yang cedera. Mekanisme ini dipicu oleh komponen inflamasi seperti histamin yang menyebabkan vasokonstriksi sesaat dan kemudian menyebabkan vasodilatasi (Sherwood, 2011).

b. Pembentukan sumbat trombosit

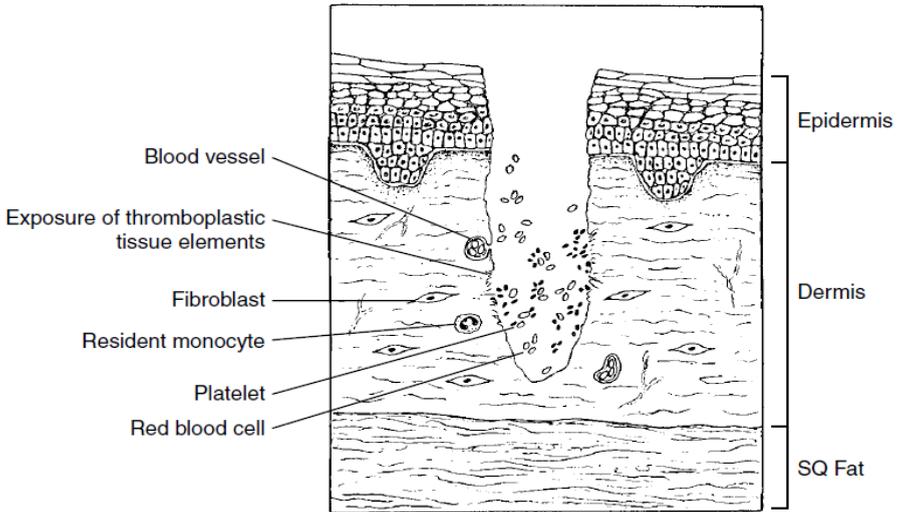
Ketika terjadi kerusakan endotel pembuluh darah, maka trombosit akan menjadi aktif oleh kolagen yang terpajan. Trombosit ini akan melekat ke kolagen dan membentuk sumbat trombosit di tempat cedera (Sherwood, 2011).

c. Koagulasi darah

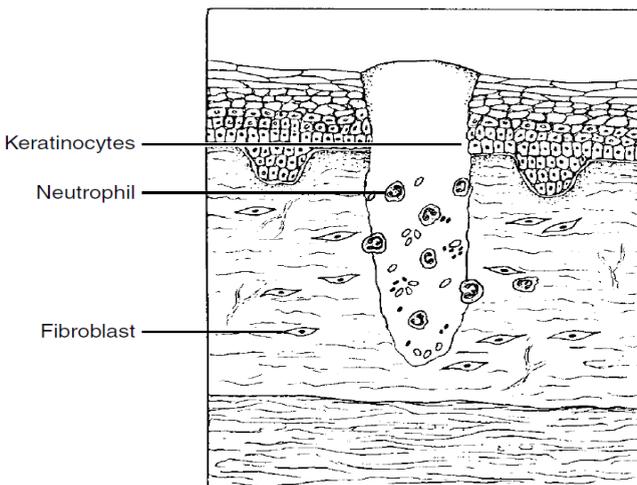
Kerusakan sel endotel ini juga dapat mengaktifkan faktor XII (faktor Hageaman) yang merupakan tahap awal pada jalur instrinsik untuk koagulasi darah. Selain kerusakan endotel pembuluh darah, kerusakan jaringan juga dapat memicu pelepasan tromboplastin jaringan yang dapat mengaktifkan faktor X yang merupakan tahap awal jalur ekstrinsik pada proses koagulasi. Kedua jalur pada proses koagulasi darah ini, akan mengaktifkan trombin yang berfungsi untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengaktifkan faktor XIII (*fibrin-stabilizing factor*) yang berperan dalam menstabilkan jala fibrin, memberi umpan balik positif untuk meningkatkan pengaktifan trombin dan meningkatkan agregasi trombosit. Agregasi trombosit yang sudah terbentuk tadi bersama jala fibrin akan membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Sherwood, 2011).

Setelah proses hemostasis, proses koagulasi juga akan mengaktifkan kaskade komplemen yang akan mengeluarkan bradikinin dan anafilatoksin C3a dan C5a yang menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskular sehingga terjadi eksudasi dan infiltrasi sel-sel inflamasi. Untuk infiltrasi sel-sel inflamasi trombosit akan menghasilkan faktor pertumbuhan yaitu platelet derived *growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF) dan *transforming growth factor* TGF- β . Hal inilah yang menyebabkan munculnya klinis reaksi radang seperti dolor, rubor, calor dan tumor (Hasibuan *et al.*, 2010). PDGF bersama dengan sitokin proinflamasi seperti IL-1 penting dalam menarik polymorphonuclear (PMN/netrofil) ke daerah luka untuk mengawasi proses inflamasi dan sel ini berada di jaringan luka relatif pendek yaitu 24-48 jam. Dalam waktu singkat netrofil akan mengadakan adhesi pada sel-sel endotel dan menembus dinding pembuluh darah dan fungsi utama netrofil adalah mencegah infeksi pada luka dan fagositosis jaringan bekas luka. Proses inflamasi dilanjutkan oleh sel monosit dengan bantuan dari TGF- β , berubah menjadi makrofag. Makrofag berperan penting dalam meningkatkan respon inflamasi setelah 48 - 72 jam (Falanga, *et al.* 1998 cit Baum, *et al.* 2005), dan sel ini dapat berada lama (berminggu-minggu) di jaringan luka. Makrofag juga melepaskan enzim proteolitik, kalagenase untuk *tissue debridement*. Depleksi dari sirkulasi monosit dan makrofag di jaringan dapat menyebabkan debridasi jaringan menjadi buruk, proliferasi fibroblast lambat, angiogenesis yang tidak adekuat dan menimbulkan fibrosis yang buruk. Kondisi ini juga akan menyebabkan terjadi respon inflamasi yang lebih lama. Sel darah lainnya yang ada

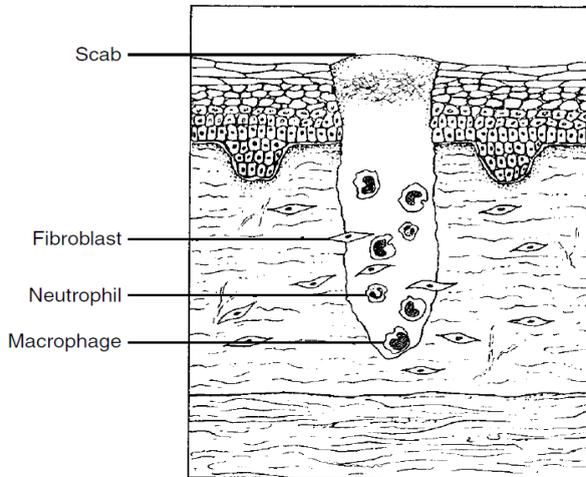
pada fase inflamasi pada hari ke 3 adalah limfosit yang migrasinya dipengaruhi oleh IL-1, IgG dan komplemen. IL-1 berperan penting dalam regulasi koleganase dan limfosit mungkin berperan pada pembentukan kolagen (Enoch and Price. 2004).



Gambar 3.9 Awal proses penyembuhan luka terjadi hemostasis dan terjadinya degranulasi platelet (Lorenz *et al.*, 2003)



Gambar 3.10 Dalam waktu 24 jam terlihat netrofil memasuki daerah luka dan keratinosit migrasi berada dimatriks sementara (Lorenz *et al.*, 2003)



Gambar 3.11 Terlihat pada hari ke 2 dan 3 makrofag mendominasi dalam jaringan luka dan menghasilkan faktor pertumbuhan sehingga fibroblast dan sel endotel migrasi (Lorenz *et al.*, 2003)

3.3.2 Fase Proliferasi atau Fibroplasia

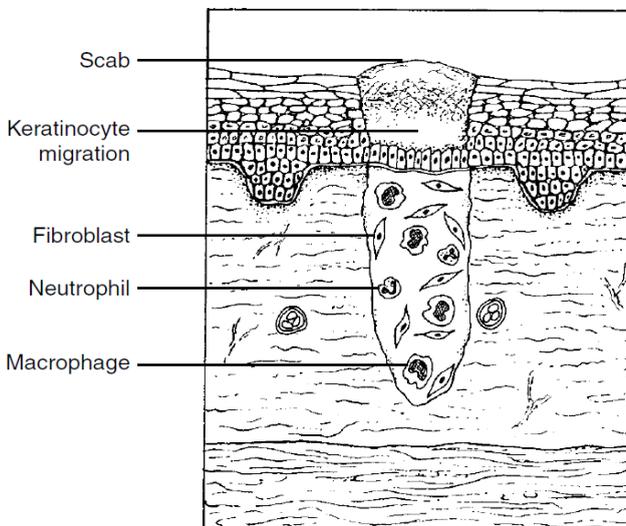
Fase proliferasi dimulai sekitar hari ke 3-4 dan berlanjut sampai minggu ke 2 - 4. Proliferasi sel pada fase ini dipicu oleh sekresi mediator selama proses inflamasi. Fase ini merupakan fase yang penting ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi. Jaringan granulasi terdiri dari fibroblast pembentukan pembuluh darah baru dan kolagen. Pada fase proliferasi juga akan terjadi epitelisasi, beberapa proses yaitu:

a Fibroplasia

Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena pada fase ini terjadinya proses proliferasi fibroblast. Fibroplasia dipicu oleh beberapa *growth factor* yang dihasilkan oleh trombosit dan makrofag seperti PDGF, IGF-1, EGF, TGF- β dan *growth factor* lain seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF). Fibroblast kemudian bermigrasi ke sisi terjadinya inflamasi sebagai respon dari pelepasan zat kemoatraktan seperti C5, trombin, serta *growth factor* (PDGF dan TGF- β). TGF- β secara tidak langsung juga merangsang proliferasi fibroblast melalui pelepasan PDGF. Fibroblast nantinya akan mensekresikan serat kolagen dan proteoglikan yang merupakan komponen matriks ekstraseluler (Hasibuan *et al.*, 2010; Leong, 2012; Franz, 2010).

b. Sintesis matriks ekstraseluler

Matriks ekstraseluler pada luka terdiri atas glikosaminoglikan dan protein fibrosa yang terdiri dari kolagen, elastin, fibronektin dan laminin. Jaringan matriks inilah yang berperan dalam menyatukan pinggir luka (Franz, 2010; Leong, 2012). Serat kolagen dibentuk dan dihancurkan kembali untuk menyesuaikan dengan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini bersama sifat kontraktile miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan mencapai 25% jaringan normal. Nantinya, dalam proses *remodelling*, kekuatan serat kolagen bertambah karena ikatan intramolekul dan antarmolekul menguat (Hasibuan *et al.*, 2010).



Gambar 3.12 Fibroblast pada hari ke3 sampai ke 5 fibroblast telah teraktivasi untuk mengeluarkan faktor pertumbuhan sehingga keratinosit migrasi dari tepi luka (Lorenz *et al.*, 2003)

c. Angiogenesis

Angiogenesis merupakan suatu proses pembentukan pembuluh kapiler baru, proses ini dapat terjadi pada semua fase didalam penyembuhan luka. Selama fase ini, sel yang berperan adalah makrofag dan sel endotel. Sel endotel akan mengawali angiogenesis dengan migrasinya sel tersebut yang dipengaruhi oleh PDGF dan TGF- β , sehingga menarik makrofag dan granulosit untuk memulai angiogenesis. Sel endotel membelah sangat ekstensif dan migrasinya sel endotel dari venula terdekat dengan luka juga dipengaruhi

oleh integrin $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, dan $\alpha 5\beta 1$. Migrasi, replikasi dan formasi tubuli kapiler baru sangat dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan dan sitokin. Faktor pertumbuhan ini akan berikatan dengan reseptor pada permukaan sel endotel di *pre-existing venule (parent vessels)*, yang akan mengaktifkan sinyal ke dalam sel endotel. Sel endotel yang aktif akan melepaskan enzim proteolitik yang melarutkan membran basalis *parent vessels*. Kemudian sel endotel berproliferasi atau tumbuh keluar melalui membran basalis dan bermigrasi ke daerah luka (Leong, 2012; Li *et al.*, 2003).

Pada bagian depan pembuluh darah yang tumbuh, melepaskan enzim *matrix metalloproteinase (MMPs)* yang berfungsi untuk melarutkan matriks jaringan sekitarnya. Vaskular yang tumbuh akan membentuk saluran tubular yang saling terhubung dan membentuk loop vaskuler. Loop vaskuler kemudian berdiferensiasi menjadi arteri dan vena. Dan akhirnya aliran darah pada daerah luka kembali normal (Li *et al.*, 2003).

d. Pembentukan jaringan granulasi

Pembentukan jaringan granulasi merupakan pusat dari fase proliferasi dari pembuluh darah. Pembentukan jaringan granulasi diawali pada 48 jam pasca luka dan sampai 96 jam pasca luka. Jaringan granulasi secara makro terlihat seperti granu-granul pink dari banyak kapiler yang menginvasi stroma jaringan luka. Setiap granula tersusun atas *loop* kapiler yang mudah rusak jika ada trauma. Pembentukan jaringan granulasi melibatkan sel makrofag, fibroblast, kolagen dan pembuluh darah baru. Peran makrofag pada pembentukan jaringan granulasi adalah mengsekresi faktor pertumbuhan yaitu PDGF dan TGF- β untuk dapat meningkatkan migrasi dan proliferasi fibroblast di daerah luka. Fibroblast berperan untuk deposit, sintesis dan merombak ECM. ECM sementara secara bertahap akan diganti dengan matriks kolagen. Setelah matriks kolagen terdeposit dalam luka, fibroblast berhenti memproduksi kolagen. Pembuluh darah baru akan mengeluarkan enzim litik untuk memecah fibrin yang menyebabkan hemostasis dan memungkinkan pembentukan anyaman pembuluh darah. Anyaman pembuluh darah ini kemudian mengalami kanalisasi dan membentuk lengkung vaskular yang menghasilkan penyediaan darah yang kaya zat gizi dan oksigen (Cruse dan McPhedran, 1995).

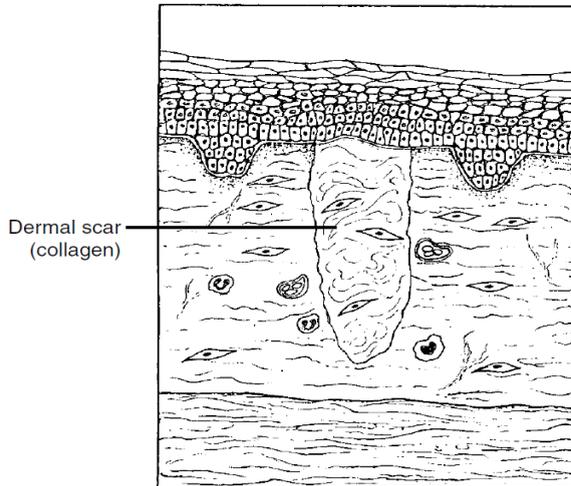
e. Epitelisasi

Dalam waktu beberapa jam setelah terjadinya luka, perubahan-perubahan morfologi pada keratinosit pada tepi luka terjadi. Pada kulit yang luka, epidermal menebal, dan sel-sel basal marginal melebar dan bermigrasi memenuhi defek pada luka yang kehilangan epidermis, keadaan ini dikenal dengan *epiboli*. Satu kali sel bermigrasi, sel tersebut tidak akan membelah hingga kontinuitas epidermal diperbaiki. Sel-sel basal yang telah diperbaiki pada area dekat potongan luka terus membelah, dan sel-sel yang dihasilkan merata dan bermigrasi ke seluruh matriks luka membentuk suatu lembaran. Adhesi sel glikoprotein seperti fibronectin, vitronectin, dan tenascin menyediakan “jalan” untuk memfasilitasi migrasi sel epitelial ke matriks luka (Lorenz *et al.*, 2003). Kecepatan penutupan epitel akan meningkat jika luka tidak memerlukan debridement, dan kelembaban luka terjaga. Luka yang kering akan memperlambat re-epitelisasi. Untuk migrasi dan proliferasi sel epitel dipengaruhi oleh EGF, bFGF dan KGF (Enoch *et al.*, 2004).

3.3.3 Fase Remodelling

Fase remodelling merupakan fase yang terakhir dan terpanjang pada proses penyembuhan luka. Fase ini dimulai pada minggu ke-3 setelah perlukaan dan berakhir sampai kurang lebih 12 bulan. Fase ini diinisiasi oleh perkembangan jaringan granulasi dan terjadi pematangan matriks, fibronectin serta gelendong serabut kolagen bertambah sehingga meningkatkan kekuatan tensil jaringan. Fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan dari jaringan mulai berkurang karena pembuluh mulai regresi dan serat fibrin dari kolagen bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut. Kekuatan dari jaringan parut akan mencapai puncaknya pada minggu ke-10 setelah perlukaan. Untuk mencapai penyembuhan yang optimal diperlukan keseimbangan antara kolagen yang diproduksi dengan yang dipecahkan (Enoch, *et al.* 2004). Proses sintesis, deposi dan degradasi kolagen (kolagenolisis) terus menerus terjadi selama remodelling. Keseimbangan antara proses ini tercapai sekitar hari ke 21 pasca terjadinya luka. Kolagenolisis adalah hasil dari aktivitas kolagenase, suatu *matriks metalloproteinase* (MMP) yang diproduksi oleh fibroblast, granulosit dan makrofag. Selama fase remodelling berlanjut aktivitas MMP semakin ditekan. Baik sintesis maupun lisis kolagen diatur oleh sitokin dan faktor pertumbuhan diantaranya

TGF- β yang berperan meningkatkan sintesis kolagen, juga menekan aktivitas MMP dengan aktivasi inhibitor MMP. Keseimbangan antara deposit dan degradasi kolagen adalah penentu kekuatan dan integritas jaringan luka (Brunicardi, 2005). Sebagai hasil dari fase remodelling ini adalah jaringan parut yang tipis, lemas dan pucat serta mudah digerakkan dari dasarnya. Kecepatan kekuatan luka meningkat dengan baik pada minggu 1 sampai minggu 8, kemudian kecepatan kekuatan tarik luka pada minggu selanjutnya akan menurun. Berdasarkan fase-fase penyembuhan luka di atas dapat disimpulkan bahwa faktor pertumbuhan dan molekul adhesi sangat berperan pada penyembuhan luka. Ini dapat dilihat pada tabel 3.2



Gambar 3.13 Proses remodeling terjadi dan terlihat penumpukan kolagen pada bagian dermis (Lorenz *et al.*, 2003)

Tabel 3.2 Faktor pertumbuhan dan sitokin yang berperan selama penyembuhan luka, sel penghasil dan fungsinya

No	Faktor Pertumbuhan dan sitokin	Sel Penghasil	Luka akut	Fungsi	Luka Kronis
1.	<i>Epidermal growth factor</i> (EGF),	Platelet, makrofag dan fibroblast	Meningkat	Reepitelisasi	Menurun

Buku Monograf
SEL PUNCA MESENKIMAL UNTUK LUKA BAKAR

	<i>Transforming growth factor-beta (TGF-β),</i>	Keratinosit, Platelet, makrofag fibroblast, sel endotel dan limfosit	Meningkat	Inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks dan remodelling	Menurun
	<i>Fibroblast growth factor (FGF),</i>	Keratinosit, sel mast, fibroblast, sel endotel, sel otot polos dan chondrosit	Meningkat	pembentukan jar granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks dan remodelling	Menurun
	<i>Bone morphogenic protein s-5 (BMP5),</i>	Keratinosit dan fibroblast	Meningkat	Regenerasi keratinosit & diferensiasi keratinosit	Meningkat
	<i>Vascular endothelial growth factor (VEGF),</i>	Netrofil, Platelet, makrofag, endotel, sel otot polos fibroblast	Meningkat	pembentukan jaringan granulasi	Menurun
	<i>Granulocyte macrophage –colony stimulating factor (GB-CSSF)</i>	Makrofag sel mast, fibroblast, sel endotel, sel T, keratinosit	Meningkat	Inflamasi(Me jumlah & fungsi netrofil di luka) & reepitelisasi	Meningkat
	<i>Platelet derivated growth factor (PDGF)</i>	Keratinosit, Platelet, makrofag fibroblast, dan sel endotel	Meningkat	pembentukan jar granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks dan remodelling	Menurun
	<i>Connective tissue growth factor (CTGF)</i>	Fibroblast	Meningkat	pembentukan jar. granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks dan remodelling	Meningkat
	<i>Interleukin-1 (IL-1)</i>	Netrofil, makrofag, monosit dan keratinosit	Meningkat	Inflamasi dan reepitelisasi	Meningkat

	<i>Interleukin-6 (IL-6)</i>	Netrofil, dan makrofag	Meningkat	Inflamasi dan reepitelisasi	Meningkat
	<i>Tumor necrosis factor α (TNF-α)</i>	Netrofil, dan makrofag	Meningkat	Inflamasi dan reepitelisasi	Meningkat

Sumber Barrientos *et al* (2008)

BAB IV

PERAN SEL PUNCA MESENKIMAL PADA PENYEMBUHAN LUKA

Penelitian pemberian sel punca mesenkimal yang telah dilakukan dari banyak peneliti terhadap luka sayat baik itu eksisi dan insisi maupun luka bakar diketahui bahwa MSCs dapat mempercepat penutupan luka dan secara histologis meningkatkan parameter histologis. Parameter histologis yang telah diketahui adalah terjadinya peningkatan deposit kolagen, neovaskularisasi (angiogenesis), infiltrasi seluler (makrofag) dan perbaikan pada glandula sebacea dan folikel rambut (Isakson *et al.*, 2015).

Hasil penelitian pemberian MSCs pada berbagai penyebab luka dan derajat luka diketahui bahwa MSCs berperan dalam ke 3 fase penyembuhan luka (gambar 4.1). Penjelasan dibawah ini akan membicarakan hasil penelitian peran MSCs yang dijelaskan berdasarkan fase-fase dari penyembuhan luka.

4.1 Peran Sel Punca Mesenkimal pada Penyembuhan luka

4.1.1 Peran Sel Punca Mesenkimal pada Fase Inflamasi

Sel punca mesenkimal (MSCs) endogen dan eksogen berperan dalam fase-fase penyembuhan luka yaitu pada fase inflamasi dengan cara mempengaruhi diferensiasi sel progenitor hematopoetik, prekursor sel mast dan menghasilkan sitokin. Sel progenitor hematopoetik mengalami proses mielopoiesis awal sehingga terbentuk leukosit dalam jumlah tertentu yang membantu dalam proses inflamasi, namun masih belum jelas peran peningkatan sel progenitor ini pada fase inflamasi (Li *et al.*, 2008). Prekursor sel mast yang berasal dari sumsum tulang akan berada/niche di folikel rambut, sel mast akan berproliferasi karena adanya *stem cell factor* (SCF) yang diproduksi lokal oleh sel folikel rambut dan menyebabkan prekursor sel mast ini dapat menjadi matur dan akan berperan dalam fase inflamasi penyembuhan luka (Peters *et al.*, 2003 cit Lau *et al.*, 2009). Selama fase inflamasi, MSCs menghasilkan sitokin berupa interleukin, kemokin, faktor pertumbuhan dan mediator lainnya. Sitokin yang dihasilkan adalah meningkatkan ekspresi IL-4 dan IL-10 yang berperan sebagai antiinflamasi dan mengurangi ekspresi dari IL-2, IL-6, TNF α dan IFN γ yang bersifat sebagai proinflamasi (Aggarwal dan Pittenger

2005), namun sitokin proinflamasi juga berperan dalam pengaturan MSCs untuk bisa *homing* dan migrasi. Peningkatan ekspresi sitokin anti-inflamasi mendorong fibroblast untuk meningkatkan ekspresi matriks metalloproteinase (MMPs) dan mengatur ekspresi berbagai jenis kolagen, sehingga pembentukan jaringan padat dan fibrosis granulasi pada luka berkurang. Ini menunjukkan bahwa aktivitas MSC mendukung penyembuhan luka dengan mengurangi terjadinya inflamasi berlebihan dan mengawali regenerasi jaringan fase proliferasi. Kemokin yang dihasilkan adalah MIP-1 α , MIP-2, MIP-3 α , MCP-1 dan SDF sebagai kemoatraktan yang menarik monosit/makrofag untuk infiltrasi selama penyembuhan luka namun tidak merubah jumlah dari granulosit. MSCs dapat mempengaruhi mediator inflamasi yaitu dengan mengaktivasi COX2 yang menyebabkan peningkatan regulasi prostaglandin E2 (PGE2). PGE2 juga mempengaruhi behavior leukosit dan mengurangi infiltrasi sel inflamasi kedalam luka sehingga mengurangi ekspresi dari IL-2 dan IFN γ dan meningkat ekspresi IL-4 dan IL-10.

4.1.2 Peran Sel Punca Mesenkimal pada Fase Proliferasi

Pada fase proliferasi sel punca eksogen mempengaruhi pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi dan angiogenesis. MSCs dapat menyokong regenerasi jaringan selama fase proliferasi. Pembentukan jaringan granulasi merupakan tahap yang penting dalam penyembuhan luka karena jaringan ini akan membawa nutrisi di jaringan luka. MSCs mengekspresikan beberapa faktor pertumbuhan yaitu bFGF, VEGF-A, angiopoitin dan adrenomedullin yang mengawali proliferasi sel endotel mikrovaskuler, stabilitas vaskular, dan pembentukan jaringan pembuluh darah. MSCs juga mengekspresikan *hepatic growth factor* (HGF), IL-10, adrenomedullin, dan MMP-9. Faktor-faktor ini berperan dalam mengawali penggantian ECM, proliferasi keratinosit dan penghambatan diferensiasi myofibroblast, ini menunjukkan kontribusi MSCs dalam pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan reepitelisasi dari luka, dan mengurangi pembentukan jaringan parut di daerah luka.

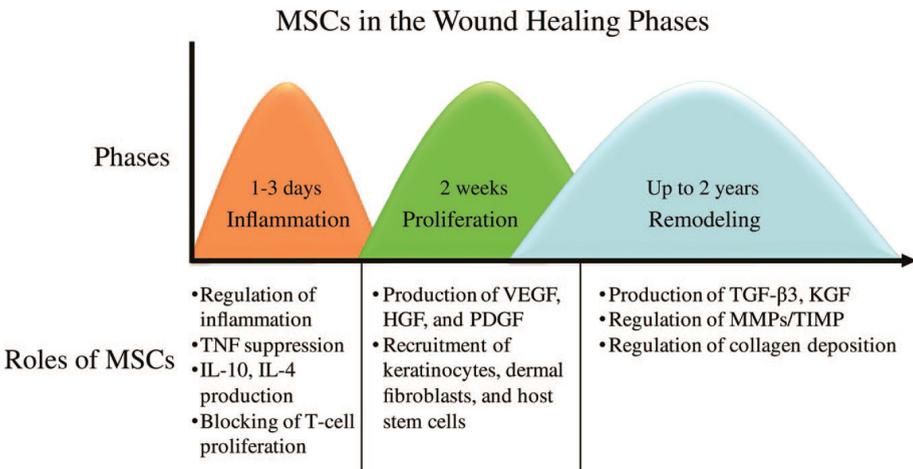
Pada reepitelisasi keratinosit endogen berasal dari 2 populasi stem sel epitel kulit dan yang berasal dari folikel rambut. Mereka dapat memperbaiki diri/beregenerasi dengan cara sel berproliferasi dan berdiferensiasi. Sebagai respon terhadap kerusakan, ke dua sel epitel ini menghasilkan keratinosit yang akan merekonstruksi barier

epidermis (Taylor *et al.*, 2000 cit Lau *et al.*, 2009). Transdiferensiasi MSCs menjadi keratinosit telah banyak dibuktikan dan keratinosit terbentuk dalam jumlah yang banyak (Medina *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2005 dan Wu *et al.*, 2007). Hasil penelitian MSCs pada luka insisi dengan cara injeksi diketahui dapat mempercepat penutupan luka dengan kualitas penyembuhan yang baik, sehingga pemberian MSCs sangat dibutuhkan dalam perbaikan luka kulit (Wu *et al.*, 2007). Pada fase reepitelisasi MSCs ditemukan pada bagian epidermis tikus percobaan. Peran MSCs pada epidermis kulit luka tersebut selain mampu berdiferensiasi menjadi sel epitel pada penyembuhan luka normal juga terjadi fusi sel antara MSCs dan sel epitel dengan cara meningkatkan epitelisasi melalui signal parakrin, namun transdiferensiasi merupakan bersifat predominan dari MSC.

MSCs pada angiogenesis diketahui dapat meningkatkan densitas dari kapiler dan ini dapat dihubungkan dengan pembentukan pembuluh darah baru. MSCs yang diberikan akan menuju ke pembuluh darah yang rusak dan membentuk kembali pembuluh darah tersebut. Pembentukan pembuluh darah baru dipengaruhi oleh kemampuan dari MSCs untuk berdiferensiasi menjadi sel endotel, mengeluarkan faktor solubel diantaranya faktor angiogenik (Oswald *et al.*, 2004) dan pembentukan otot polos pembuluh yang berperan dalam menyatukan endotel dinding pembuluh (Al-Khaldi *et al.*, 2003). Pada penelitian terdapat peningkatan yang signifikan kadar faktor angiogenik -1 (Ang-1) dan VEGF (Wu *et al.*, 2007). MSC juga dapat meningkatkan proliferasi sel endotel dan permeabilitas pembuluh darah. Proliferasi sel endotel dan permeabilitas dari pembuluh darah akan dipengaruhi oleh VEGF (Salvolini *et al.*, 2010). VEGF diketahui berperan penting dalam angiogenesis dengan menstimulasi proliferasi sel, migrasi sel dan pengorganisasian sel endotel untuk membentuk tubulus pembuluh (Ferrara. 2009). Penelitian lain dari MSCs yang ditanamkan dalam *scaffold* pada babi luka bakar partial dalam ternyata pada minggu ke empat terlihat kepadatan pembuluh darah yang signifikan dibandingkan dengan yang diberi *scaffold* saja dan MSC berdiferensiasi menjadi sel endotel dan mempercepat penyembuhan luka (Liu *et al.*, 2008).

4.1.3 Peran Sel Punca Mesenkimal pada fase *Remodelling*

Pada *remodelling* terjadi pembentukan ECM dari jaringan luka atau dari sel lain yang direkrut ke jaringan luka seperti *endothelial cells undergoing endothelial to mesenchymal transdifferentiation* (EndoMT) dan fibrosit. Sel-sel ini dengan adanya TGF- β 1 ditempat luka akan berdiferensiasi menjadi myofibroblast dan menghasilkan protein ECM dalam jumlah yang besar. MSC seperti telah dijelaskan di atas akan mengekspresikan HGF dan PGE2, yang berperan menghambat EndoMT dan diferensiasi myofibroblastik fibroblast, sehingga memberikan kualitas penyembuhan luka yang baik. MSCs dapat bertransdiferensiasi menjadi sel epidermis, keratinosit, kelenjar keringat, folikel rambut dan sel dendrit. MSC juga mengawali pembentukan ECM yang lebih mirip dengan jaringan dermal luka



Gambar 4.1 Mekanisme kerja dan peran MSCs selama fase penyembuhan luka (Maxson *et al.*, 2012)

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap penggunaan MSCs pada luka sayat pada hewan coba dan manusia dengan berbagai tipe luka, cara pemberian yang berbeda dan pengaruhnya terhadap penyembuhan luka (Tabel 4.1). Pada tabel terlihat kesimpulan atau ringkasan penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh MSCs pada penyembuhan luka, serta efeknya pada fase penyembuhan luka dan penelitiannya.

Tabel 4.1 Efek MSC terhadap penyembuhan luka sayat pada berbagai hewan dan manusia

Spesies	Type Luka	Type terapi	Cara Pemberian	Efek	Peneliti
Mencit	Sayat	Alogenik MSC	Subkutan & topical	Mempercepat penutupan luka, meningkatkan rekrutmen makrofag & endotelial	Chen et al., 2008
Mencit	Sayat	Alogenik MSC	Sistemik	Mempercepat penyembuhan luka dengan mengalami diferensiasi menjadi sel yang ada pada kulit	Sasaki et al., 2008
Mencit	Sayat	Alogenik MSC	Topical dan scaffold	Mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan angiogenesis & restorasi dari folikel rambut	Rustad et al., 2012
Mencit diabetes	Sayat	Alogenik MSC	Injeksi Subkutan	Mempercepat penutupan luka, meningkatkan jar. Granulasi angiogenesis & restorasi folikel rambut	Wu et al., 2007
Mencit diabetes	Sayat	Alogenik MSC	Topical	Mempercepat penutupan luka, meningkatkan jaringan Granulasi angiogenesis	Javazon et al., 2007
Tikus	Sayat	Alogenik MSC	Sistemik & intradermal injeksi	Meningkatkan kekuatan luka dan komposisi kolagen	Mc Farlin et al., 2006
Tikus diabetes	Sayat	Alogenik MSCs	Sistemik & intradermal injeksi	Meningkatkan kekuatan luka & komposisi kolagen	Kwon et al., 2008
Manusia	Kronik	Autologous bone marrow & MSCs (BM-MSC)	Subkutan & topical	Penutupan luka kompleks, me ningkatkan respon inflamasi & angiogenesis	Badiavas dan Falanga 2003

Mencit	Sayat DM	Autologous		Meningkatkan ketebalan kolagen tipe I dan IV	Argolo-Neto et al., 2012
Kelinci	Sayat DM	Autologous	Topical & injeksi sekeliling luka	Menurunkan inflamasi, Meningkatkan neovaskularisasi	Borena et al., 2010
Mencit	Sayat	Alogenik	Intradermal dan topikal	MSCs ada ditempat luka dan kelenjar pada hari ke 14	Chen et al., 2009
Mencit	Sayat	Alogenik	Injeksi ditempat luka	Meningkatkan skor histologi kulit	Cho et al., 2010
Mencit	Insisi	Alogenik	Intravena & intramuskular	Mengawali reepitelisasi & angiogenesis	Ebrahimian et al., 2009
Tikus	Sayat	Alogenik	Topikal	Meningkatkan densitas kapiler pembuluh darah, kadar VEGF & bFGF	Heo et al., 2011
Mencit	Sayat	Alogenik	Injeksi ditempat luka	Meningkatkan densitas kapiler pembuluh darah	Hou et al., 2013
Tikus	Sayat	Alogenik	Topikal	Meningkatkan neovaskularisasi	Kim et al., 2011
Mencit	Sayat	Alogenik	Injeksi sekitar luka	Signifikan berdiferensiasi dalam sel kulit	Kim et al., 2007
Manusia	Sayat	Autologous	Transplantasi	Meningkatkan epitelisasi & pembentukan jaringan granulasi	Kim et al., 2012
Tikus	Insisi	Alogenik	Sistemik & lokal	Meningkatkan neovaskularisasi, kolagen & ekspresi VEGF, EGF, PDGF-BB, TGF- β	Kwon et al., 2008
Manusia dan hewan	Sayat			Mengurangi area luka dan menga tur sekresi FGF dan VEGF	Lee et al., 2009

Mencit	Sayat	Alogenik	Intradermal	Meningkatkan jumlah fibroblast	Lim and Yoo, 2010
Mencit	Sayat	Alogenik	Topikal	Meningkatkan densitas kapiler pembuluh darah	Lin et al., 2013
Mencit/ murine	Sayat	Alogenik	Subkutan	Meningkatkan angiogenesis pembuluh darah	Liu et al., 2011
Tikus	Sayat	Alogenik	Subkutan	Meningkatkan angiogenesis, dan akumulasi kolagen	Maharlooeei et al., 2011
Manusia	Sayat	Alogenik	Scaffold	Meningkatkan epitelisasi dan MSCs berdiferensiasi menjadi epitel	Nakagawa et al., 2005
Tikus	Sayat	Alogenik	Scaffold	Meningkatkan jaringan granulasi dan pembentukan kapiler	Nambu et al., 2007
Tikus	Sayat		Subkutan disekitar luka	Meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru, kadar VEGF, HGF & FGF-2	Nie et al., 2011
Mencit	Sayat	Alogenik	Subkutan	Meningkatkan neovaskula risasi	Tian et al., 2011
Kelinci	iskemik	Alogenik	Subkutan	Meningkatkan jaringan granulasi dan mengawali neo vaskularisasi	Volk et al., 2007
Tikus	iskemik	Alogenik	Subkutan	Mengawali neo vaskularisasi Meningkatkan kadar bFGF dan VEGF	Yang et al., 2010
Mencit	Sayat			Meningkatkan kadar EGF, FGF, VEGF, IL-1, IL-4 dan TNF- α	Yeum et al., 2013

4.2 Peran Sel Punca Mesenkimal dalam Penyembuhan Luka Bakar

Penggunaan sel punca untuk penyembuhan luka bakar mulai dilaporkan pada tahun 2003 oleh Shumakov *et al.* Pada tahun selanjutnya para peneliti juga melakukan penelitian penggunaan BM-MSCs untuk terapi luka bakar dan ditemukan ada 21 penelitian yang telah dilakukan, namun penelitian luka bakar yang banyak dilakukan adalah luka bakar akibat radiasi. Di negara berkembang diantaranya Indonesia kejadian luka bakar sering di akibatkan oleh sengatan listrik, siraman air panas, kompor gas atau dari bencana alam seperti meletusnya gunung merapi, sehingga penderita mengalami luka bakar derajat ringan, sedang dan berat serta ada yang menimbulkan kematian.

Penelitian yang dilakukan oleh Shumakov *et al.* (2003) adalah menggunakan alogenik dan autogenik fibroblast-like BM-MSCs dibandingkan dengan fibroblast embrionik pada tikus yang mengalami luka derajat dalam. Hasil penelitian menunjukkan ke dua perlakuan tersebut mampu menurunkan infiltrasi sel inflamasi ditempat luka, mempercepat pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi, tetapi proses regenerasi dengan pemberian alogenik dan autogenik lebih cepat mengurangi luas permukaan luka bakar dan diferensiasi juga lebih sedikit dibandingkan dengan fibroblast embrionik.

Penelitian penggunaan sel punca terhadap luka bakar selanjutnya dilakukan oleh Chunmeng *et al.* (2004) menggunakan sel punca yang ada pada bagian dermis kulit yang bersifat multipotent. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian secara sistemik dan topikal dermis derivat multipotent cell (DMCs) dapat mempercepat penyembuhan luka bakar tikus akibat radiasi, namun penyembuhan luka lebih cepat terjadi pada pemberian secara topikal. Selanjutnya dilakukan penelitian mekanisme proses penyembuhan luka bakar setelah diberi DMCs, dan diketahui bahwa DMCs mengawali proliferasi dari fibroblast dan sel epidermis dan mengekspresikan faktor pertumbuhan, molekul adhesi dan matriks ekstraselular. Faktor pertumbuhan yang ditemukan adalah VEGF, PDGF, HGF dan TGF- β , molekul adhesi adalah ICAM-1 dan VCAM-1 serta fibronektin yang semuanya berperan dalam penutupan luka selama proses penyembuhan.

Pada tahun 2004 Rasulov *et al.* melaporkan penggunaan BM-MSCs pada wanita yang mengalami luka bakar derajat III dengan luas 30%

dari permukaan tubuh. Hasil penggunaan sel punca ini mempercepat penyembuhan luka dan mengaktifasi angiogenesis. Rasulov *et al* (2006) melanjutkan penelitian terhadap hewan percobaan tikus dengan pemberian BM-MSCs dibandingkan dengan fibroblast fetal dipermukaan luka bakar kedalaman penuh pada hari ke 2 setelah luka. Hasil penelitian pada hari ke 7 terlihat setelah pemberian BM-MSCs terbentuk jaringan granulasi baru dengan mengurangi infiltrasi dari sel inflamasi sedangkan pemberian fibroblast fetal terlihat pada jaringan granulasi yang terbentuk ditemukan banyak infiltrasi leukosit. Ini menunjukkan bahwa pemberian BM-MSCs lebih mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan fibroblast fetal.

Liu *et al* (2008) melakukan penelitian luka bakar pada babi dengan pemberian kombinasi MSCs dengan tissue engineering sebagai scaffold dihasilkan bahwa BM-MSCs autologous merupakan induksi yang baik untuk mempercepat penyembuhan luka bakar dengan mengurangi kontraksi luka, meningkatkan neovaskularisasi, keratinisasi dan pembentukan jaringan yang baru.

Lataillade *et al* (2007) dan Bey *et al* (2010) melaporkan penggunaan BM-MSCs secara autologous pada pasien yang mengalami luka bakar akibat radiasi didapatkan bahwa BM-MSCs dapat mengurangi derajat inflamasi dan mengawali penyembuhan luka dengan baik.

Hao *et al* (2009) dan Zong *et al* (2010) meneliti terapi secara topikal sel BM-MSCs dan kombinasi dengan gen terhadap luka bakar pada kulit akibat radiasi didapatkan bahwa terapi bersifat sebagai antibakteri pada luka bakar yang mengalami infeksi, mempercepat penyembuhan luka, pembentukan atau pematangan jaringan granulasi dan mempercepat pembentukan kelenjar yang ada pada kulit.

Ha *et al* (2010) melakukan penelitian pada tikus dengan luka bakar partial dengan 4 perlakuan yaitu diberi BM-MSCs (kelompok A), diberi HGF (kelompok B), kombinasi BM-MSC (kelompok C) dengan HGF dan diberi NaCl fisiologis (kontrol). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi BM-MSCs dengan hepatocyt growth factor (Ad-HGF) pada minggu pertama terjadi peningkatan signifikan reepidermialisasi dan penebalan epidermis yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang lain. Pada minggu ke 3 juga terlihat penurunan ketebalan kolagen tipe I. Terhadap kadar HGF pada minggu ke 2 terlihat peningkatan pada kelompok C, namun tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok lain.

Agay *et al* (2010) pemberian autologous BM-MSCs secara intradermal sebanyak 2 atau 3 kali pada hari ke 27 sampai hari ke 96 pada babi yang mengalami luka bakar radiasi. Kerusakan pada kulit yang terkena, akan mengalami nekrosis selama 81-222 hari. Immunohistologi mengungkapkan bahwa kerusakan kulit yang parah di semua hewan terdapat pada kelompok kontrol. Pada hewan dicangkokkan dengan BM-MSCs menyebabkan terjadinya akumulasi lokal limfosit pada dermis / subkutis perbatasan dan peningkatan vaskularisasi.

Riccobono *et al* (2012), membandingkan efisiensi dari tiga perawatan dari luka bakar akibat radiasi. Pemberian adiposit stem sel bersifat alogenik dan autologus pada hewan percobaan. Pemberian secara autologus kelompok stem sel adiposit menunjukkan penyembuhan kulit tanpa nekrosis atau mengurangi rasa nyeri, namun penggunaan stem sel adiposit alogenik tidak berbeda dibandingkan dengan kontrol. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian autologous stem sel adiposit dapat meningkatkan penyembuhan luka akibat radiasi.

Yan *et al* (2011), melakukan penelitian penggunaan BM-MSCs dengan skin derivat keratinosit (SK) pada luka bakar akibat radiasi pada babi, menunjukkan pemberian BM-MSCs dengan SK akan mempercepat waktu penyembuhan luka, pembentukan jaringan granulasi, epitelisasi dan deposit kolagen. Kepadatan pembuluh darah pada hari ke 7 juga lebih tinggi pada kelompok BM-MSCs dengan SK (15.4%) dibandingkan dengan hanya pemberian BM-MSCs saja (10.3%) dan kontrol (5.7%)

Collawn *et al* (2012), menggunakan adiposa stroma derivat cells (ADSCs) dari dinding abdomen dan dermal equivalent/DE (yang terdiri keratinosit dan fibroblast) yang di ambil dari kulit kemudian diuji kemampuan terhadap penyembuhan luka bakar akibat radiasi secara *in vitro*. Kulit yang terpapar radiasi akan diletakan dalam media yang berisi ADSCs dan DE. Dua hari setelah terpapar radiasi kultur kulit yang pada media ADSCs terjadi migrasi keratinosit kepermukaan luka dan ukuran luka berkurang dan pada kultur yang tidak berisi ADSCs tidak terjadi migrasi keratinosit dan ukuran luka juga tidak berkurang. Pada penelitian didapatkan bahwa ADSCs mempercepat penyembuhan luka dan tidak menimbulkan rejeksi/penolakan.

Xia *et al* (2014), pada penelitian ini digunakan kombinasi dari hVEGF dan defensin beta 3 yang digunakan sebagai media transjeksi

untuk BM-MSCs tikus. Stem sel ini diberikan secara intradermal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BM-MSCs mengawali proliferasi dan migrasi sel endothelial, mempendek waktu penyembuhan luka. Juga BM-MSCs meningkatkan pembentukan/pematangan jaringan granulasi, jaringan penyokong kulit dan kolagen tipe I.

Xue *et al* (2013), melakukan penelitian efek BM-MSCs alogenik dari manusia yang diberikan pada luka bakar yang disebabkan oleh air panas pada kaki depan mencit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BM-MSCs dapat mempercepat penyembuhan luka bakar dibandingkan dengan kontrol. Pada hari ke 14 luas penyembuhan luka bakar setelah diberi BM-MSCs 68.32% dan kontrol 54.23%. Pemberian MSCs pada jaringan luka dapat mengalami diferensiasi menjadi epidermis kulit, terjadi pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis dan densitas pembuluh darah jauh lebih padat ($532/\text{mm}^2$) dibandingkan dengan kontrol ($425/\text{mm}^2$).

Mansila *et al* (2010), melakukan penelitian pemberian MSCs dengan menggunakan *scaffold intelligent acellular dermal matrices* (IADMs) pada hewan percobaan babi dengan luka bakar yang dalam dan luas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan MSCs dalam proses reparasi seperti penutup luka yang utuh, perbaikan fungsional kulit dengan terbentuknya folikel rambut dan pelengkap kulit lainnya serta secara estetika tidak banyak terbentuk jaringan parut. Berdasarkan penelitian ini, dapat diusulkan penggunaan MSCs dengan scaffold IADMs secara autologous, alogenik atau xenogeneic, sebagai paradigma baru untuk pengobatan luka bakar masa depan dan kelainan dermatologis lainnya atau untuk kosmetik.

Liu *et al* (2014), melakukan penelitian terhadap sel punca *human umbilical cord-mesenchymal stem cell* (hUC-MSCs) yang diberikan secara intravena pada tikus luka bakar yang berat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hUC-MSCs dapat mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan epitelisasi dan tidak menimbulkan infeksi. Penelitian ini juga mengukur kadar sitokin pro inflamasi, anti inflamasi, VEGF dan kolagen tipe I dan III. Kadar sitokin proinflamasi (IL-1, IL-6 dan TNF α) menurun pada tikus luka bakar setelah diberi hUC-BMCs dan sitokin anti inflamasi (IL-10 dan TSG) meningkat. Kadar VEGF juga meningkat pada tikus luka bakar setelah diberi hUC-BMCs dan faktor pertumbuhan ini berperan dalam proses angiogenesis dan pada penelitian ini juga ditemukan peningkatan pembentukan pembuluh darah baru. Akumulasi dan kadar kolagen tipe I dan III pada tikus luka

bakar setelah pemberian hUC-BMCs mampu meregulasi ratio dari kolagen ini sehingga mempercepat penyembuhan luka.

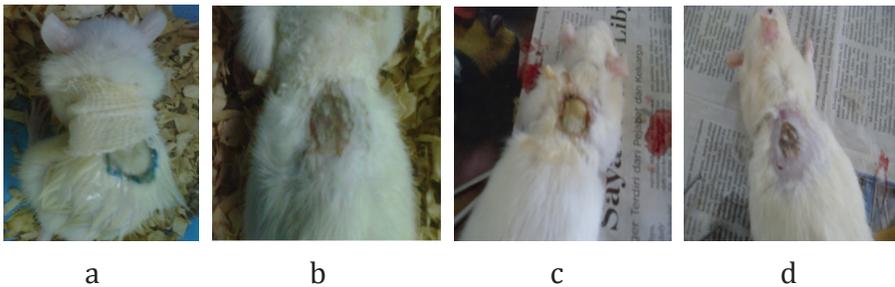
Singer *et al* (2013), pemberian MSCs secara intravena pada ekor tikus dengan model luka bakar seperti sisir diketahui bahwa MSCs dapat mengurangi secara signifikan progres nekrosis diantara ruang kulit yang mengalami luka bakar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terhadap jaringan penyokong diantara ruang kulit yang mengalami luka bakar terlihat bahwa masih aktif seperti folikel rambut, sel inflamasi dan stratum corneum.

Xu *et al* (2014), melakukan penelitian tentang kemampuan kontraksi luka dengan cara mencangkakan kulit luka bakar yang diberi BM-MSCs secara autologous. Hasil penelitian diketahui bahwa BM-MSCs mempunyai kemampuan yang menjanjikan untuk mengurangi kontraksi dari kulit yang dicangkakan.

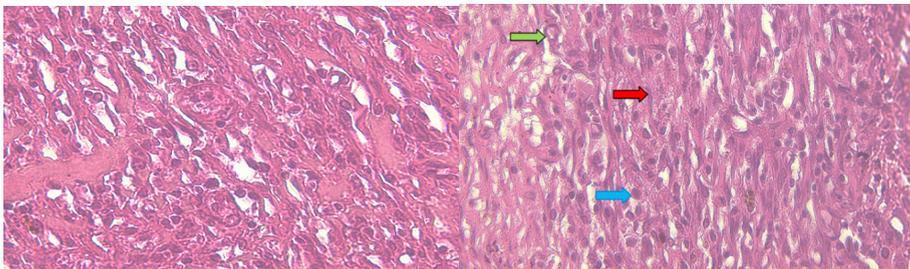
Yang *et al* (2014), mendapatkan bahwa pemberian alogenik sel punca mesenkimal dengan scaffold fibrin diletakan diatas luka bakar pada tikus dapat mempercepat penyembuhan luka melepuh dibandingkan dengan 2 kelompok kontrol. Secara histopatologi pada kelompok yang diberi stem sel didapatkan bahwa kelenjar sebaceous mengalami proliferasi di pinggir jaringan baru dan secara bertahap meluas ke lapisan dermal jaringan kulit yang baru. BMSCs berperan aktif dalam mengawali perbaikan jaringan kulit dan menghasilkan jaringan penyokong kulit.

Gusti Revilla *et al* (2014, 2018a dan 2018b)) meneliti tentang pemakaian alogenik sel punca mesenkimal yang diberikan secara subkutan disekeliling luka bakar kedalaman penuh (*fullthickness*) didapatkan bahwa pada minggu pertama dan minggu kedua terjadi perbaikan luka bakar pada tikus yang lebih baik dan sudah terbentuk folikel rambut dan luas luka bakar juga sudah berkurang dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 4.2). Pada hari ke 14 dilakukan pemeriksaan jaringan kulit luka bakar dengan pewarnaan HE terlihat bahwa jumlah sel-sel inflamasi pada kelompok control masih ada sedangkan pada kelompok yang diberi sel punca mesenkimal terlihat sel inflamasi sedikit dan pembentukan jaringan granulasi lebih banyak (gambar 4.3). Untuk pengamatan secara imunohistokimia terhadap ekspresi ketebalan kolagen tipe I, persentase integrin $\alpha 2\beta 1$ dan ekspresi TGF- β 3 serta MMP9. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal mampu meningkatkan jumlah ekspresi dan ketebalan serat kolagen I. Perbedaan ketebalan kolagen ini bermakna

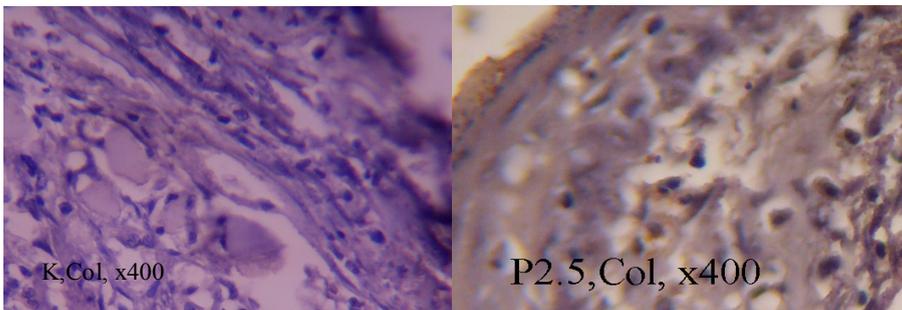
dibandingkan dengan kontrol dan memperlihatkan warna yang positif kecoklatan yang lebih jelas dan ekspresi serat kolagen I pada perlakuan ini dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.2 Perbaikan Luka bakar pada tikus pada Hari ke 7 (a dan b) dan perbaikan pada hari ke 14 (c dan d). Gambar a dan c kelompok kontrol sedangkan b dan d kelompok yang diberi sel punca mesenkimal

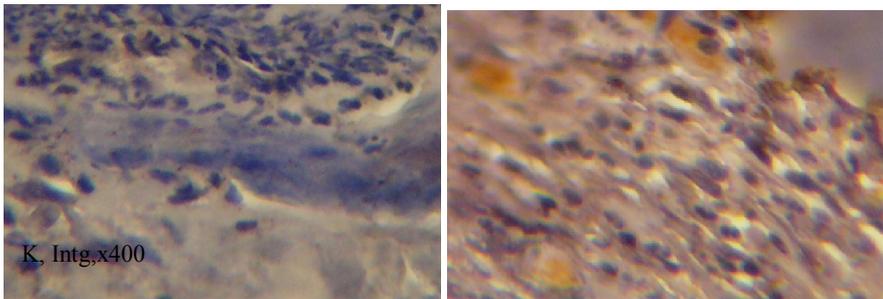


Gambar. 4.3 A. Pulasan rutin hematoxilin eosin pada jaringan granulasi kelompok kontrol. B. Pulasan rutin hematoxilin eosin pada jaringan granulasi kelompok perlakuan (p2.6). Panah biru menunjukan makrofag, panah merah fibroblas, dan panah hijau kapiler baru (400X).



Gambar 4.4 Pewarnaan IHK serat kolagen I pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif berupa serat, intensitas warna lebih coklat (B)

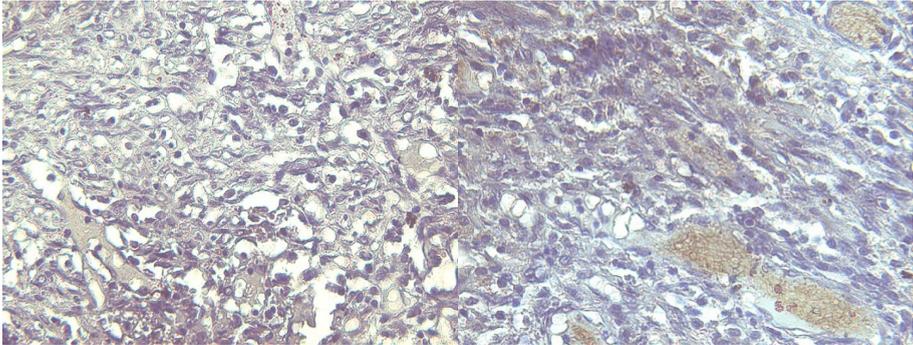
Persentase ekspresi integrin $\alpha 2\beta 1$ setelah diberikan sel punca mesenkimal pada tikus luka bakar diketahui bahwa terjadi peningkatan secara angka ekspresi integrin $\alpha 2\beta 1$ dibandingkan dengan kelompok control, namun tidak bermakna. Integrin $\alpha 2\beta 1$ digunakan untuk dapat *homing* stem sel ini ditempat luka dan membantu pengaturan sinyal dari faktor pertumbuhan. Untuk *homing* sel dari *niche* sel punca membutuhkan integrin sehingga sel punca baik endogen atau eksogen akan mampu *homing* pada jaringan yang rusak. Ekspresi integrin $\alpha 2\beta 1$ pada jaringan kulit dapat dilihat pada gambar 4. 5.



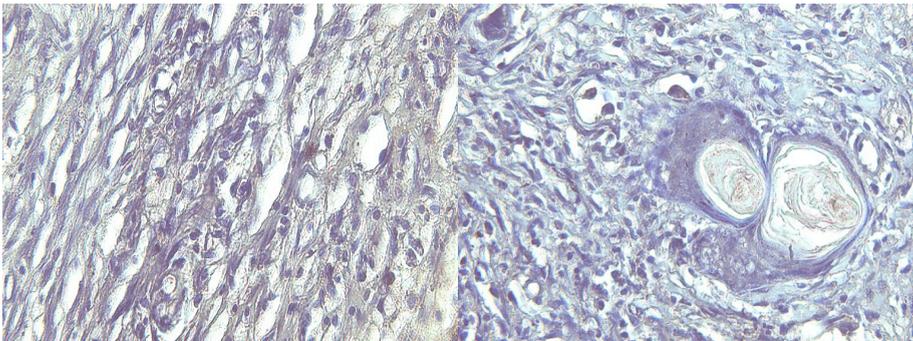
Gambar 4. 5 Pewarnaan IHK ekspresi integrin $\alpha 2\beta 1$ pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B)

Untuk ekspresi TGF- $\beta 3$ dan MMP9 setelah diberi sel punca mesenkimal terjadi peningkatan persentase yang signifikan dibandingkan dengan kontrol. Keadaan ini menunjukkan bahwa kemampuan parakrin dari sel punca mesenkimal yang mengsekresi TGF- $\beta 3$ dan factor pertumbuhan ini berperan dalam menghambat pembentukan jaringan parut serta mampu mengawali organisasi kolagen. Ekspresi MMP-9 pada jaringan kulit tikus luka bakar pada kelompok yang diberi sel punca mesenkimal alogenik, diketahui bahwa jumlah sel yang terpulas lebih banyak dibandingkan dengan kontrol, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Peran dari MMP-9 selama penyembuhan luka adalah mulai dari fase inflamasi dan fase proliferasi yaitu untuk angiogenesis dan degradasi dari ECM. Proses angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru, MMP 9 berperan untuk melarutkan matriks jaringan sekitar pembuluh, sehingga pembuluh membentuk saluran tubular yang saling terhubung dan membentuk loop vaskuler. Loop vaskuler kemudian

berdiferensiasi menjadi arteri dan vena, sehingga aliran darah pada luka akan kembali normal dan mempercepat proses penyembuhan luka. Ekspresi TGF- β 3 dan MMP9 dapat dilihat pada gambar 4.6 dan 4. 7.



Gambar 4. 6 Pewarnaan IHK ekspresi TGF- β 3 pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B)



Gambar 4.7 Pewarnaan IHK ekspresi MMP 9 pada kelompok kontrol tampak pewarnaan positif tipis hanya berupa bayangan kecoklatan (A). Kelompok diberi sel punca mesenkimal tampak pewarnaan positif kecoklatan di sitoplasma, intensitas warna lebih coklat (B)

BAB V PENUTUP

Penggunaan sel punca mesenkimal untuk penyembuhan luka dapat disimpulkan bahwa:

1. Sel punca mesenkimal diketahui mampu mempercepat waktu penyembuhan luka baik luka sayat dan luka bakar
2. Percepatan penyembuhan luka setelah diberi sel punca mesenkimal melibatkan fase inflamasi, proliferasi dan fase remodelling penyembuhan luka
3. Pada fase inflamasi sel punca mesenkimal berperan menurunkan infiltrasi sel inflamasi, meningkatkan kadar sitokin antiinflamasi. Mekanisme secara molekuler terlihat pemberian sel punca mesenkimal dapat meningkatkan sitokin antiinflamasi yaitu IL-10 dan menurunkan kadar sitokin proinflamasi yaitu IL-1 dan TNF- α
4. Pada fase proliferasi pemberian sel punca mesenkimal mampu meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru dengan densitas pembuluh darah yang padat, jaringan granulasi, epitelisasi, perbaikan fungsional kulit dengan terbentuknya folikel rambut, mempercepat pembentukan kelenjar, dan pelengkap jaringan kulitnya Mekanisme secara molekuler terlihat pemberian sel punca mesenkimal dapat meningkatkan sekresi kadar VEGF, FGF, TGF β , EGF, HGF dan PDGF dan meningkat ekspresi dari integrin $\alpha 2\beta 1$.
5. Pada fase remodeling terlihat bahwa pemberian sel punca mesenkimal dapat meregulasi antara sintesis dan degradasi kolagen, sehingga mempercepat penyembuhan luka. Mekanisme molekuler penyembuhan luka bakar setelah pemberian sel punca mesenkimal adalah dengan meningkatkan ekspresi penebalan kolagen tipe I, TGF $\beta 3$, dan MMP9.

DAFTAR PUSTAKA

- Agay D, Scherthan H, Forcheron F et al. 2010. Multipotent mesenchymal stem cell grafting to treat cutaneous radiation syndrome: development of a new minipig model," *Experimental Hematology*, vol. 38, no. 10, pp. 945–956
- Aggarwal S and Pittenger MF. 2005. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*; 105(4):1815–1822.
- Al-Khaldi A, Al-Sabti H, Galipeau J and Lachapelle K. 2003. Therapeutic Angiogenesis Using Autologous Bone Marrow Stromal Cells: Improved Blood Flow in a Chronic Limb Ischemia Model. *Ann Thorac Surg* 2003;75:204-209
- Angoulvant D, Clerc A, Benchalal S, Galambrun C, Farre A, Bertrand Y and Eljaafari A. 2004. Human mesenchymal stem cells suppress induction of cytotoxic response to alloantigens. *Biorheology* 41: 469-476
- Argôlo Neto NM; Del Carlo RJ; Monteiro; Nardi NB; Chagastelles PC; . de Brito AFS and Reis AMS. 2012. Role of autologous mesenchymal stem cells associated with platelet-rich plasma on healing of cutaneous wounds in diabetic mice. *Clinical and Experimental Dermatology Volume 37, Issue 5, pages 544–553*
- Badiavas, E.V., and Falanga, V. (2003). Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. *Arch. Dermatol.* 139, 510–516.
- Baghel PS, Shukla S, Mathur RK, Randa R. A comparative study to evaluate the effect of honey dressing and silver sulfadiazene dressing on wound healing in burn patients. *Indian Journal of Plastic Surgery* 2009;42(2):176-81.
- Baum CL and Christopher JA. 2005. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation cellular and molecular evend. Review Article. *J Dermatol Surg*, 31: 674-678.
- Bey E, Prat M, Duhamel P, Benderitter M, Brachet M, Tromprier F, et al. 2010.
- Emerging therapy for improving wound repair of severe radiation burns using local bone marrow-derived stem cell administrations. *J Wound Rep Reg*, 18:50–58

- Bongso A and Lee EH. Stem cells: their definition, classification and sources stem cells: *Exp Neurol* 161: 67-84
- Borena BM; Pawde AM; Amarpal; Aithal HP; Kinjavdekar P : Singh R and Kumar D. 2010. Evaluation of autologous bone marrow-derived nucleated cells for healing of full-thickness skin wounds in rabbits. *International Wound Journal*
Volume 7, Issue 4, pages 249–260, August 2010
- Brunnicardi, F Charles. 2005. *Schwartz's Principles of surgery*. 8 th Ed: Wound healing. New York. McGraw-Hill Health Professions Division.
- Chen L, Tredget EE, Wu PY et al. 2008. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS ONE* 3:e1886 Chen 2008
- Chen L; Tredget EE; Liu C and Wu Y. 2009. Analysis of allo- genicity of mesenchymal stemcells in engraftment and wound healing in mice. *PLoS ONE* 4:e7119.doi: 10.1371/journal.pone.0007119
- Cho JW; Kang MC and Lee KS. 2010. *TGF- β 1-treated ADSCs-CM promotes expression of type I collagen and MMP-1, migration of human skin fibroblasts, and wound healing in vitro and in vivo*. *International Journal of Molecular Medicine Volume 26, Issue 6, Pages 901-906*
- Chunmeng S, Tianmin C, Yongping S et al. 2004. Effects of dermal multipotent cell transplantation on skin wound healing," *Journal of Surgical Research*, vol. 121, no. 1, pp. 13–19.
- Collawn SS, Banerjee NS, de La Torre J, Vasconez L, and Chow LT. 2012. Adipose-derived stromal cells accelerate wound healing in an organotypic raft culture model," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 68, no. 5, pp. 501–504.
- Cruse PJ, McPhedran NT (1995). Penyembuhan dan penatalaksanaan luka. Dalam: Sabiston DC. Buku ajar bedah. Jakarta: EGC, pp: 145-148.
- Di Nicola M; Carlo-Stella C; Magni M; Milanese M; Longoni P.D; Matteucci P; Grisanti S and Gianni A.M. 2002. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 99: 3838-3843
- Dulchavsky D; Gao X; Liu YB; Deeb D; Arbab A.S; McIntosh K; Dulchavsky S.A and Gautam S. C. 2008. Bone marrow-derived stromal cells (BMSCs) interact with fibroblasts in accelerating wound healing. *J Invest Surg*. Sep-Oct;21(5):270-9.

- Ebrahimian TG; Pouzoulet F; Squiban C; Buard V; Andre´M; Cousin B *et al.* 2009. Cell Therapy Based on Adipose Tissue-Derived Stromal Cells Promotes Physiological and Pathological Wound Healing Arterioscler Thromb Vasc Biol. ;29:503-510
- Emadedin M, Aghdami N, Taghiyar L, Fazeli R, Moghadasali R et al. 2012. Intra articular injection of autologous mesenchymal stem cells in six patient with knee osteoarthritis. Arch. Iran. Medicine. 15: 422-428
- Enoch, S and Price, P. 2004. Cellular, mollecular and biochemical differences in the pathophysiology of healing between acute wounds, chronic wounds and wounds in the age. Available at <http://www.worldwidewounds.com>. Tanggal 2011
- Evers, L H; Bhavsar, D; and Maila`nder, P. 2010. The biology of burn injury. Experimental Dermatology, 19: 777-783.
- Fathke C; Wilson L; Hutter J; Kapoor V; Smith A; Hocking A and Isik F. 2004.
- Contribution of Bone Marrow-Derived Cells to Skin: Collagen Deposition and Wound Repair. Stem Cells 2004;22:812-822
- Fedik AR; Purwati; Ferdiansyah dan Candra Bumi. 2014. Homing Mesenchymal Stem Cells (MSCs). Makalah Unpublished
- Ferrara N. 2009. Vascular Endothelial Growth Factor. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 29:789-791.
- Fibbe W.E and Noort W.A. 2003. Mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells transplantation. Ann NY Acad Sci 996: 235-244
- Greaves NS; Ashcroft KJ; Bagune M and Bayat A. 2013. Review article Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. Journal of Dermatological Science 72 206-217
- Gullota V, Kovacevic D, Packer D, Deng H and Rodeo S. 2011. Bone marrow derived mesenchymal stem cells transduced with scleraxis improve rotator cuff healing a rat model. Am. J. Sports Med. 39: 1282-1289
- Gusti R; Darwin E; Yanwirasti and Rantam FA. 2015. The therapy of burn wound healing in Rat (Wistar) by using the combination of peri pheral blood mono nuclear cells (PBMC) and bone marrow BM-derived mesen chymal stem cell. African Journal of Internal Medicine ISSN: 2326-7283 Vol. 3 (5), pp. 162-167,

- Gusti R; Darwin E; Yanwirasti and Rantam FA. 2016. Effect of allogeneic Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells (BM-MSCs) to accelerate burn healing of rat on the expression of collagen type I and integrin $\alpha 2\beta 1$. Pak. J.Biol.Sci.19. 345- 351.
- Gusti R; Afriani N and Rusnita D. 2018. Effects of Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell to the expression of Transforming Growth Factor beta 3 and Matrix Metalloproteinase-9 in burn wound rat. Journal Medical Sciences: 18 (4). 164-171.
- Ha X-Q, L`u T-D, Hui L, and Dong F. 2010. Effects of mesenchymal stem cells transfected with human hepatocyte growth factor gene on healing of burn wounds," *Chinese Journal of Traumatology*, vol. 13, no. 6, pp. 349-355.
- Hall, H. 2007. Modified Fibrin Hydrogel Matrices: Both, 3D-Scaffolds and Local and Controlled Release Systems to Stimulate Angiogenesis. *Current Pharmaceutical Design*, 13, 3597-3607 Bentham Science Publishers Ltd.
- Hao L, Wang J, Zou Z et al. 2009. Transplantation of BMSCs expressing hPDGF-A/hBD2 promotes wound healing in rats with combined radiation-wound injury," *GeneTherapy*, vol. 16, no. 1, pp. 34-42.
- Heo SC; Jeon ES; Lee H; Kim HS; Kim MB and Kim JH. 2011. Tumor Necrosis Factor- α -Activated Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Accelerate Cutaneous Wound Healing through Paracrine Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology* 131, 1559-1567
- Hermans MHE. 2005. A General Overview of Burn Care. *Int Wound J* 2:206-220
- Hou C; Shen L; Mi J; Wu Y Yang M; Zeng W; Li L and Chen W. 2013. The effect of heme oxygenase-1 complexed with collagen on MSC performance in the treatment of diabetic ischemic ulcer. *Biomaterial* ; Vol 34 p. 112-120.
- Isakson M; de Blacam C; Whelan D; McArdle A and Clover AJV. 2015. Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing current evidence and future potential. *Stem Cell International* Vol 2015 Article ID 831095, 12 p

- Javazon EH; Keswani SG; Badillo AT; Crombleholme TM; Zoltick P W; Radu AP; Kozin E D; BeggsK; Malik AA and Flake AW. 2007. Enhanced epithelial gap closure and increased angiogenesis in wounds of diabetic mice treated with adult murine bone marrow stromal progenitor cells. *WoundRepairRegen.* 15, 350–359.
- Jeon, Y K; Jang, Y H; Yoo, D R; Kim, S N; Lee, S K and Nam, M J. 2010. Mesenchymal stem cells' interaction with skin: Wound-healing effect on fibroblast cells and skin tissue. *Wound Rep Reg* 18 655–661
- Khorasgani EM, et al A comparison of healing effect of propolis and silver sulfadiazine of full thickness skin wound in rats, in *Pakistan Veterinary journal*; 2010: 30(2) 72-74
- Kang II, S.K., Shin, S., Ko,M.S., Jo, J.Y., and Ra.J.C. 2012. Journey of Mesenchymal Stem Cells for Homing: Strategies to Enhance Efficacy and Safety of StemCell Therapy. *Stem Cells International*. Ed 2012, Article ID 342968, 11 pages
- Kim WS; Park B S; Sung, J H.; Yang JM; Park SB; Kwak SJ and Park J S. 2007. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: A critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.* 48: 15–24.
- Kim CH; Lee JH; Won JH and Cho MK. 2011. Mesenchymal Stem Cells Improve Wound Healing In Vivo via Early Activation of Matrix Metalloproteinase-9 and Vascular Endothelial Growth Factor. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 726-733
- Kim H; Choi K; Kweon OK and Kim WH. 2012. Enhanced wound healing effect of canine adipose-derived mesenchymal stem cells with low-level laser therapy in athymic mice. Published online DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2012.09.013>
- Kim, S S; Song, C K; Shon, S K; Lee, K Y; Kim C H; Lee, M J and Wang, L. 2009.
- Effects of human amniotic membrane grafts combined with marrow mesenchymal stem cells on healing of full-thickness skin defects in rabbits. *Cell Tissue Res* 336:59–66
- Krampera M; Glennie S; Dyson J; Scott D; Laylor R; Simpson E and Dazzi F. 2003. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of native and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 101: 3722-3729.

- Kumar S. and Ponnazhagan, S. 2007 Bone homing of mesenchymal stem cells by ectopic $\alpha 4$ integrin expression, *FASEB Journal*, vol. 21, no. 14, pp. 3917–3927
- Kwon DS; Gao X; Liu YB; Dulchavsky DS; Danyluk AL; Bansal M; Chopp M; McIntosh K; Arbab AS; Dulchavsky SA; and Gautam SC. 2008. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats. *Int. Wound J.* 5, 453–463. Kwon 2008
- Lataillade JJ, Doucet C, Bey E et al. 2007. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy," *Regenerative Medicine*, vol. 2, no. 5, pp. 785–794
- Lau K; Paus, R; Tiede, S; Day, P: and Bayat, A. 2009. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Experimental Dermatology* 18: 921–933
- Lee EY; Xia Y; Kim WS; Kim TH; Kim KJ; Park BS and Sung JH. 2009. Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: Increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair and Regeneration*. Vol. 17. p. 540-547
- Leong M, Phillips LG (2012). Wound healing. Dalam: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston textbook of surgery*. Edisi ke 19. Canada: Elsevier, pp: 151-160
- Li WW, Dimitris T, Vincent WL (2003). Angiogenesis: a control point for normal and delayed wound healing. *Contemporary Surgery*: 5-11.
- Li Y; Paczesny S; Lauret E et al. 2008. Human mesenchymal stem cells license adult CD34+ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the notch pathway. *J Immunol*: 180: 1598–1608.
- Lim JS and Yoo G. 2010. Effects of Adipose-derived Stromal Cells and of their Extract on Wound Healing in a Mouse Model. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 746-51
- Lin YC; Grohovac T; Oh SJ; Leraci M; Rubin JP and Marra KG. 2013. Evaluation of a multi-layer adipose-derived stem cell sheet in a full-thickness wound healing model. *Acta Biomaterialia*. Vol 9. p. 5243-5250.

- Lin H and Burd A. 2012. An update review of stem cell applications in burns and wound care. *Indian J Plast Surg.* May-Aug; 45(2): 229–236
- Liu Z. J; Zhuge Y and Velazquez O.C. 2008. Trafficking and Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Biochemistry* 106:984–991
- Liu, P; Deng, Z; Han, S; Liu, T; Wen, N et al. 2008. Tissue-Engineered Skin Containing Mesenchymal Stem Cells Improves Burn Wounds. *Artificial Organs* 32(12):925–931, Wiley Periodicals, Inc.
- Liu Z. J; Zhuge Y and Velazquez O.C. 2009. Trafficking and Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Biochemistry* 106:984–991
- Liu, Y., Wang, L., Kikuri T. 2011. Mesenchymal stem cell based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN- γ and TNF- α ,” *Nature Medicine*, vol. 17, no. 12, pp. 1594–1601.
- Liu L; Yu Y; Hou Y. et al. 2014. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 2
- Lorenz, H.P and M T. Longaker. 2003. *Wounds: Biology, Pathology, and Management*
- Dalam *Essential Practice of Surgery Basic Science and Clinical Evidence*. Edited by Jeffrey A. Norton, MD. Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg
- Ma S; Xie N; Li W; Yuan B; Shi Y and Wang Y. 2014. Immunobiology of mesenchymal stem cells. *Cell Death and Differentiation* 21, 216–225
- Maharlooie MK; Bagheri M; Solhjoui Z; Jahromi BM; Akrami M; Rohani L; Monabati A Noorafshan A and Omrani GR. 2011. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell (AD-MSC) promotes skin wound healing in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*;93: 228–234
- Mansilla E, Spretz R, Larsen G et al. 2010. Outstanding survival and regeneration process by the use of intelligent acellular dermal matrices and mesenchymal stem cells in a burn pig model,” *Transplantation Proceedings*, vol. 42, no. 10, pp. 4275–4278..
- Maxson S; Lopez E.A; Yoo D; Miagkova A.D and Leroux M.A. 2012. Concise Review: Role of Mesenchymal Stem Cells in Wound Repair. *Stem cells translational medicine*; 1:142–149

- McFarlin K; Gao X; Liu YB; Dulchavsky DS; Kwon D; Arbab AS et al. 2006. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells accelerate wound healing in therat. *Wound Repair Regen.* 14, 471–478.
- Medina, R.J; Kataoka, K; Miyazaki, M. et al. 2006. Efficient differentiation into skin cells of bone marrow cells recovered in a pellet after density gradient fractionation. *Int J Mol Med* ;17:721–727
- Metcalfe, A.D; Ferguson M.W.J. 2007. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *Journal Royal Society interface.* 4. 413-437.
- Moenadjat, Y. 2009. Efektifitas dan keamanan aplikasi stem cells pada luka bakar derajat dua dalam. Unit Luka Bakar FKUI. "Penelitian Multisenter Sel Punca di Indonesia" yang diselenggarakan oleh Asosiasi Sel Punca Indonesia (ASPI). Jakarta
- Nakagawa H; Akita S; Fukui M; Fujii M and Akino K. 2005. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing. *Br J Dermatol* ;153:29 –36.
- Nambu M, Ishihara M, Nakamura S, Mizuno H, Yanagibayashi S, Kanatani Y, Hattori H, Takase B, Ishizuka T, Kishimoto S, Amano Y, Yamamoto N, Azuma R, Kiyosawa T. 2007. Enhanced healing of mitomycin C-treated wounds in rats using inbred adipose tissue-derived stromal cells within an atelocollagen matrix. *Wound Repair Regen* 15:505–510.
- Nie C; Yang D; Xu J; Si Z; Jin X and Zhang J. 2011. Locally Administered Adipose-Derived Stem Cells Accelerate Wound Healing Through Differentiation and Vasculogenesis. *Cell Transplantation*, Vol. 20, pp. 205–216
- Oswald, J; Boxberger, S; Jorgensen, B; Feldmann, S; Ehninger G et al. 2004. Mesenchymal Stem Cells Can Be Differentiated Into Endothelial Cells In Vitro. *Stem Cells* ;22:377-384
- Rantam, F.A ; Ferdiansyah ; Nasronudin and Purwati. 2009. Stem cell exploration methods of isolation and culture. First edition. Airlangga University Press.
- Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA et al. 2005. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns," *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 139, no. 1, pp. 141–144,

- Rasulov MF, Vasilenko VT, Zaidenov VA, and Onishchenko NA.2006. Cell transplantation inhibits inflammatory reaction and stimulates repair processes in burn wound," *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 142, no. 1, pp. 112–115.
- Riccobono D, Agay D, Scherthan H et al. 2012. Application of adipocyte-derived stem cells in treatment of cutaneous radiation syndrome," *Health Physics*, vol. 103, no. 2, pp. 120–126.
- RSUP M.Djamil. 2011. Data laporan pasien yang dirawat di RSUP M. Djamil Padang dari tahun 2009 sampai 2010.
- Rustad KC; Wong VW ; Sorkin M; Glotzbach JP; Major MR; Rajadas J; Longaker MT; and Gurtner GC. 2012. Enhancement of mesenchymal stem cell angiogenic capacity and stemness by biomimetic hydrogel scaffold. *Biomaterials* 33, 80–90.
- Salvolini, E; Lucarini, G; Zizzi, A; Orciani, M; Di Benedetto, G and Di Primio, R. 2010 Human skin-derived mesenchymal stem cells as a source of VEGF and nitric oxide. *Arch Dermatol Res* 302:367–374
- Sasaki M; R Abe; Y Fujita; S Ando; D Inokuma and Hiroshi Shimizu. 2008. Mesenchymal Stem Cells Are Recruited into Skin Cell Type Repair by Transdifferentiation into Multiple Wounded Skin and Contribute to Wound J Immunol 2008; 180:2581-2587
- Semon J.A ; Nagy L. H; Llamas C. B ; Tucker H. A; Lee R. H; Darwin J. 2010. Integrin expression and integrin-mediated adhesion in vitro of human multipotent stromal cells (MSCs) to endothelial cells from various blood vessels. *Prockop Cell Tissue Res* 341: 147–158
- Shaibani MBH, wang X, Lovat PE and Dickinson AN. 2016. Cellular therapy for wound: Application of Mesenchymal Stem Cells in wound healing. Chapter 5. In *Ne Insight* www:http//dx.doi.org/10.5772/63963.
- Sheridan RL (2012). Thermal injuries. Dalam: Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. Edisi ke 8. USA: The McGraw-Hill Companies, pp: 189-191
- Shumakov V I; Onishchenko NA; Rasulov MF; Krashennikov ME and V. A. Zaidenov. 2003. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts," *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 136, no. 2, pp. 192–195.

- Singer AJ and Clark RAF.1999. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* ; 341:738-746.
- Singer DD; Singer AJ; Gordon C and Brink P. 2013. The effects of rat mesenchymal stem cells on injury progression in a rat model," *Academic Emergency Medicine*, vol. 20, no. 4, pp. 398–402.
- Syamsuhidayat, R. 1997. Buku ajar ilmu bedah. Edisi Revisi. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Takashi K and Yamanaka S. 2006. Induction of pluripotent Stem Cell from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676
- Tian H; Lu Y; Shah SP and Hong S. 2011. 14S,21R-Dihydroxydocosahexaenoic Acid Remedies Impaired Healing and Mesenchymal Stem Cell Functions in Diabetic Wounds. *The Journal of Biological Chemistry*. VOL. 286, NO. 6, pp. 4443–4453
- Vern, A.K and B.A Latense. 2001. Specimen collection and analysis burn wound. *Methods in molecular medicine wound healing*. Edited by Luisa D and Aime, L.B. Vol. 78. Human Press Inc. Totowa, N.J
- Volk SW; Radu A; Zhang L and Liechty. 2007. Stromal progenitor cell therapy corrects the wound-healing defect in the ischemic rabbit ear model of chronic wound repair. *Wound Repair and Regeneration*. Vol 15 p. 736-747
- Wang, G; Bunnell, B.A; Painter, R.G et al. 2005. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: Potential therapy for cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*;102:186 –191.
- Werner, S and Grose, R. 2003.Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Zurich, Switerland. *American Physiological Society*; 83: 835 - 870
- Wolfe, M; Pochampally, R; Swaney, W. and Reger, R.L. 2008. Isolation and Culture of Bone Marrow-Derived Human Multipotent Stromal Cells (hMSCs). *Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols*. *Methods in Molecular Biology*, vol. 449. Edited by D.J. Prockop, D.G. Phinney, and B.A. Bunnell. Humana Press
- Wu Y, Chen L, Scott PG et al. 2007. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells* 25:2648–59
- Wu Y; Wang J.F; Scott P.G and Tredget E.E. 2010. Concise review Bone marrow-derived stem cells in cutaneous repair and regeneration. *Stem cells* 28. 910-915.

- Xia Z, Zhang C, Zeng Y, Wang T, and G. Ai. 2012. Transplantation of BMSCs expressing hVEGF/hBD3 promotes wound healing in rats with combined radiation-wound injury," *International Wound Journal*, vol. 11, no. 3, pp. 293–303.
- Xu Y, Huang S, and Fu X. 2012. Autologous transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells: a promising therapeutic strategy for prevention of skin-graft contraction," *Clinical and Experimental Dermatology*, vol. 37, no. 5, pp. 497– 500.
- Xue L, Xu Y-B, Xie J-L. et al. 2013. Effects of human bone marrow mesenchymal stem cells on burn injury healing in a mouse model," *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, vol. 6, no. 7, pp. 1327–1336, 2013.
- Yan G, Sun H, Wang F et al. 2011. Topical application of hPDGF-A modified porcine BMSC and keratinocytes loaded on acellular HAM promotes the healing of combined radiation-wound skin injury in minipigs," *International Journal of Radiation Biology*, vol. 87, no. 6, pp. 591–600.
- Yang Y, Zhang W, Li Y, Fang G, and Zhang K. 2014. Scalded skin of rat treated by using fibrin glue combined with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells," *Annals of Dermatology*, vol. 26, no. 3, pp. 289–295.
- Yeh E,T.H; Zhang S; Wu H.D; Körbling M; Willerson J.T; Estrov Z. 2003. Transdifferentiation of Human Peripheral Blood CD34₊-Enriched Cell Population Into Cardiomyocytes, Endothelial Cells, and Smooth Muscle Cells In Vivo. *Circulation*. 2003;108:2070-2073
- Yeum CE; Park EY; Lee SB; Chun HJ and Chae GT. 2013. Quantification of MSCs involved in wound healing: use of SIS to transfer MSCs to wound site and quantification of MSCs involved in skin wound healing. *J Tissue Eng Regen Med* ; 7: 279–291.
- Zhang L; Tran N. Chen, H O; Kahn C J F; Marchal S; Groubatch F and Wang X. Time- related changes in expression of collagen types I and III and of tenascin-C in rat bone mesenchymal stem cells under co-culture with ligament fibroblasts or uniaxial stretching. 2008. *Cell Tissue Res* 332:101–109
- Zong ZW, Li N, Xiao TY, Tao-Yuan et al. 2010. Effect of hBD2 genetically modified dermal multi potent stem cells on repair of infected irradiated wounds," *Journal of Radiation Research*, vol. 51, no. 5, pp. 573–580.

- Zhou, P; Hohm, S; Capoccia, B; Wirthlin, L; Hess, D; Link, D and Nolta, J. 2008. Immunodeficient Mouse Models to Study Human Stem Cell-Mediated Tissue Repair. *Methods in Molecular Biology*, vol. 430: Hematopoietic Stem Cell Protocols Edited by: K. D. Bunting © Humana Press, Totowa
- Zwaginga J.J and Doevendaus P. 2003. Stem cell: derived angiogenic/vasculogenic cells: possible therapies for tissue repair and tissue engineering. *Clinical and experimental Pharmacology and physiology*. 30. 900-908.