

**KARYA AKHIR**

**ANALISIS KADAR *PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR-BB* PADA *PLATELET RICH PLASMA* DENGAN PENAMBAHAN AKTIVATOR TROMBIN PADA SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA**

***ANALYSIS OF PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR-BB ON PLATELET RICH PLASMA WITH ADDITION OF ACTIVATOR TROMBINE AT DIFFERENT TEMPERATURE AND TIME STORAGE***

**ANTON TRIYADI  
C108216205**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**ANALISIS KADAR *PLATELET-DERIVED GROWTH*  
*FACTOR-BB* PADA *PLATELET RICH PLASMA* DENGAN  
PENAMBAHAN AKTIVATOR TROMBIN PADA SUHU DAN  
WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi  
Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**ANTON TRIYADI  
C108216205**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**KARYA AKHIR**

**ANALISIS KADAR PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR-BB PADA  
PLATELET RICH PLASMA DENGAN PENAMBAHAN AKTIVATOR TROMBIN  
SERTA PENYIMPANAN PADA SUHU DAN WAKTU YANG BERBEDA**


Disusun dan diajukan oleh:


**ANTON TRIYADI**

Nomor Pokok: C108216205


Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 16 Februari 2021  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasehat


  
dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D  
Pembimbing Utama

  
Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK(K)  
Pembimbing Anggota

Ketua Program Studi  
Ilmu Patologi Klinik  
Fakultas Kedokteran Unhas

  
Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK(K)  
NIP. 1969022519990302004

Dekan,  
Fakultas Kedokteran Unhas

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



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : ANTON TRIYADI

Nomor Pokok : C108216205

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, Februari 2021

Yang menyatakan,

  
Anton Triyadi



## PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada ALLAH SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan rahmat, kasih dan berkah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir yang berjudul “**ANALISIS KADAR *PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR-BB* PADA *PLATELET RICH PLASMA* DENGAN PENAMBAHAN AKTIVATOR TROMBIN PADA SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA” sebagai salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di Program Studi Ilmu Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.**

Penulis menyadari bahwa karya akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa karya akhir ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Prof. dr. Budu, Sp.M (K), M.M.Ed, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (FKUH) Makassar.
2. Guru Besar Departemen Ilmu Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FKUH, Alm. Prof. dr. H. Hardjoeno, Sp.PK(K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FKUH.

3. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H. Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) dan dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung pendidikan sejak awal penulis mulai mendaftar di PPDS kemudian mendidik, mengayomi, memberi nasehat dan membimbing dengan penuh ketulusan hati hingga penyempurnaan karya akhir ini.
4. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), M.Kes guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati memberi masukan selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
5. Manajer PPDS FKUH dr. Uleng Bahrhun, Sp.PK(K), Ph.D, guru, Dosen Pembimbing Akademik dan selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama juga sekaligus orang tua kami yang bijaksana senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta memotivasi penulis. Jazakillah khairan katsiran Dokter atas semua ajaran, ilmu, bimbingan, nasehat, bantuan moral dan kasih sayang selama penulis memulai pendidikan, penelitian hingga tahap penyusunan karya akhir ini.
6. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK guru kami yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.

7. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UH, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK, guru dan juga selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing yang penuh pengertian dan senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat, semangat dan mendorong penulis supaya lebih maju serta memberikan bimbingan sejak masa penelitian hingga penyusunan karya akhir ini.
8. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Rachmawati A Muhiddin, Sp.PK(K), guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat.
9. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
10. Pembimbing metodologi Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS yang telah membimbing penulis dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan penyusunan karya akhir ini.
11. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menimba ilmu dan menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
12. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RS Universitas Hasanuddin, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala Instalasi Laboratorium RSUD Labuang Baji, Kepala

Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Direktur RSUD Dayaku Raja Kota Bangun Kalimantan Timur, Kepala PMI, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.

13. Kepala Unit Penelitian FKUH beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
14. Seluruh *volunteer* para residen junior yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
15. Teman-teman sejawat seperjuangan penulis selama pendidikan PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya kepada teman-teman tersayang Troponin: dr. Fika, dr. Putri, dr. Rira, dr. Ivon, dr. Oche, dr. Geby, dr. Marini, dr. Anwar dan dr. Tarau yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga. Aamiin..
16. Senior-senior terbaikku dr. Salmon, Sp.PK, dr. Steven Tiro, Sp.PK, dr. Febrina Rovani Sp.PK, dr. Chelvy Wijaya, Sp.PK, dr. Andi Munawirah, Sp.PK, dr. Evi Andriani, atas ilmu bimbingan dan dukungannya selama penulis menjalani pendidikan.
17. Teman-teman sejawat PPDS junior tersayang, dr. Putri Hidayasyah Purnama, dr. Andi Handayani, dr. Uswatun Hasanah, dr. Ullilifannuri Rachmi, dr. Yunianingsih Selanno, dr. Y. Kusumo Adi Arji Atmanto, dr. Moonika Todingan, dr. Nurjannah, dr. Siti Rahmah, dr. Adel, dr.



Fauzia, dr. Nanda Amelia, dr. Budi Parabang, dr. Tufa, dr. Fierna, dan junior lainnya yang telah membantu selama masa PPDS, terima kasih semoga ALLAH SWT memudahkan masa pendidikan kalian semua. Aamiinn allahumma aamiin.

18. Teman-teman analis RSPTN Universitas Hasanuddin yang turut membantu dalam proses pengumpulan sampel.
19. Nurilawati, SKM atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.
20. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibunda tercinta, dan kakak Tino Ch atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun material selama ini. Terima kasih kepada Istri tercinta, Umi Lestari yang telah memberikan dukungan doa dan semangat, serta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan dukungan serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Melalui kesempatan ini pula, perkenalkan penulis menghaturkan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kekhilafan dan kesalahan yang telah dilakukan baik sengaja maupun tidak sengaja selama masa pendidikan sampai selesainya karya akhir ini. Penulis

berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang. Semoga ALLAH SWT senantiasa menyertai setiap langkah pengabdian kita, Aamiin allahumma aamiinnn.

Makassar, Februari 2021

Anton Triyadi

## ABSTRAK

Anton Triyadi. Analisis Kadar *Platelet Derived Growth Factor*–BB pada *Platelet Rich Plasma* dengan Penambahan Aktivator Trombin pada Suhu dan Waktu Penyimpanan yang Berbeda (dibimbing oleh Uleng Bahrun dan Tenri Esa)

**Latar belakang:** *Platelet Rich Plasma* (PRP) merupakan plasma autologus dengan trombosit konsentrasi tinggi serta diperkaya *growth factor* (GF), kemokin dan sitokin serta memiliki potensi meningkatkan penyembuhan jaringan pada tingkat sel. *Platelet-derived growth factor* (PDGF) adalah GF yang pertamakali disekresikan ketika terjadi luka, meningkatkan proliferasi dan regenerasi sel melalui mitogenesis osteoblas. Tujuan penelitian membandingkan kadar *Platelet Derived Growth Factor*-BB (PDGF-BB) pada PRP dengan penambahan aktivator trombin pada suhu dan waktu penyimpanan yang berbeda.

**Metode:** Penelitian menggunakan desain *experimental laboratory* sebanyak 16 sampel. Pemeriksaan kadar PDGF PRP dengan metode ELISA sebelum aktivasi (PDGF PRP) sebagai pemeriksaan awal. Aktivasi trombosit menggunakan aktivator Trombin dan diinkubasi 4<sup>0</sup>C selama 30 menit. Pemeriksaan kadar PDGF PRP setelah aktivasi 1 jam suhu ruang (t-PRP1), 24 jam suhu 4<sup>0</sup>C (t-PRP2) dan 7 hari suhu -20<sup>0</sup>C (t-PRP3). Data dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon*, *Friedman* dan *post hoc wilcoxon*, bermakna jika  $p < 0,05$ .

**Hasil:** Terdapat kenaikan median PDGF sebesar 1,12 kali setelah aktivasi 1 jam pada suhu ruang ( $p=0,215$ ), penurunan 0,77 kali setelah aktivasi 24 jam pada suhu 4<sup>0</sup>C ( $p=0,679$ ), kenaikan 2,16 kali setelah aktivasi 7 hari suhu -20<sup>0</sup>C ( $p=0,001$ ). Disimpulkan bahwa aktivasi PRP dengan trombin selama 7 hari pada suhu -20<sup>0</sup>C menghasilkan PDGF yang paling tinggi dibandingkan pada suhu ruang dan suhu 4<sup>0</sup>C. Disarankan menghindari penggunaan PRP yang disimpan pada 24 jam suhu 4<sup>0</sup>C.

**Kata kunci:** *Platelet Rich Plasma*, *Platelet Derived Growth Factor*, Trombosit, *Growth factor*, Trombin

## ABSTRACT

Anton Triyadi. Analysis of Platelet Derived Growth Factor-BB Levels on Platelet Rich Plasma with the Addition of Thrombin Activator at Different Temperature and Time Storage (supervised by Uleng Bahrun and Tenri Esa)

**Background:** Platelet Rich Plasma (PRP) is autologous plasma with high platelet concentrations and enriched with growth factor (GF), chemokines, cytokines and has the potential to increase tissue healing at the cellular level. Platelet-derived growth factor (PDGF) is GF which is first secreted when an injury occurs, increasing the proliferation and regeneration of bone cells through osteoblast mitogenesis. The aim of the study was comparing the levels of Platelet Derived Growth Factor-BB (PDGF-BB) in PRP with the addition of thrombin activator at different temperatures and times storage.

**Methods:** This study used an experimental laboratory design with 16 samples was performed by measuring PDGF PRP levels by ELISA method before activation (PDGF PRP) as the initial examination. Platelets were activated using thrombin activator at 4<sup>0</sup>C for 30 minutes, and PDGF PRP level measured after activation for 1 hour at room temperature (t-PRP1), 24 hours at 4<sup>0</sup>C (t-PRP2) and 7 days at -20<sup>0</sup>C (t-PRP3). Data were analyzed using the Wilcoxon, Friedman and post hoc Wilcoxon tests, significant if  $p < 0.05$ .

**Results:** There was a median PDGF increase of 1.12 times after 1 hour of activation at room temperature ( $p=0,215$ ), a decrease of 0,77 times after 24 hours of activation at 4<sup>0</sup>C ( $p=0,679$ ), an increase of 2,16 times after 7 days of temperature activation -20<sup>0</sup>C ( $p=0,001$ ). It was concluded that PRP activation with trombin for 7 days at -20<sup>0</sup>C produced the highest PDGF compared to room temperature and 4<sup>0</sup>C. It is recommended to avoid using PRP stored at 24 hours at 4<sup>0</sup>C.

**Keywords:** Platelet Rich Plasma, Platelet Derived Growth Factor, Platelets, Growth factor, Thrombin

## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I .....	1
PENDAHULUAN .....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. RUMUSAN MASALAH .....	4
C. TUJUAN PENELITIAN.....	5
1. Tujuan Umum.....	5
2. Tujuan Khusus .....	5
D. MANFAAT PENELITIAN .....	5
BAB II .....	7
TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. TROMBOSIT .....	7
1. Definisi Trombosit .....	7
2. Struktur Trombosit .....	7
3. Fungsi Trombosit .....	9
a. Fungsi Hemostasis .....	9
b. Fungsi Non Hemostasis .....	14
B. <i>PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR</i> .....	17
1. Definisi PDGF .....	17
2. Fungsi PDGF .....	18
C. <i>PLATELET RICH PLASMA</i> .....	20
1. Definisi PRP .....	20
2. Aplikasi Klinis PRP .....	21
3. Metode PRP.....	23
4. Aktivasi Trombosit pada PRP.....	24

BAB III .....	28
KERANGKA PENELITIAN .....	28
A. KERANGKA TEORI .....	28
B. KERANGKA KONSEP .....	29
BAB IV .....	30
METODE PENELITIAN.....	30
A. DESAIN PENELITIAN.....	30
B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN .....	30
1. Tempat Penelitian .....	30
2. Waktu Penelitian .....	30
C. POPULASI PENELITIAN DAN SAMPEL PENELITIAN .....	30
1. Populasi Penelitian.....	30
2. Sampel Penelitian .....	30
3. Perkiraan Besar Sampel .....	31
D. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI .....	32
1. Kriteria Inklusi.....	32
2. Kriteria Eksklusi.....	32
E. IZIN SUBYEK PENELITIAN .....	32
F. CARA KERJA.....	33
1. Alokasi Subyek.....	33
2. Cara Penelitian.....	33
G. PROSEDUR LABORATORIUM.....	36
1. Perhitungan kadar trombosit menggunakan tabung ACD .....	36
2. Kadar PDGF-BB.....	38
H. DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBJEKTIF .....	42
I. METODE ANALISIS.....	43
J. SKEMA ALUR PENELITIAN.....	45
BAB V .....	46
A. HASIL PENELITIAN.....	46
1. Karakteristik Subyek Penelitian .....	46
2. Perbedaan jumlah Trombosit Pra PRP dan Trombosit PRP .....	47
3. Perbedaan Kadar PDGF-BB PRP sebelum aktivasi dan setelah aktivasi 1 jam pada suhu ruang, 24 jam pada suhu 4 <sup>0</sup> C, dan 7 hari pada suhu -20 <sup>0</sup> C .....	47

4. Perbedaan Kadar PDGF-BB PRP setelah aktivasi 1 jam pada suhu ruang, 24 jam pada suhu 4 <sup>0</sup> C, dan 7 hari pada suhu -20 <sup>0</sup> C .....	49
B. PEMBAHASAN .....	51
C. RINGKASAN PENELITIAN.....	55
BAB VI.....	57
SIMPULAN DAN SARAN.....	57
A. SIMPULAN .....	57
B. SARAN .....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN .....	64

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian.....	46
Tabel 2. Perbandingan Jumlah Trombosit Pra PRP dan Trombosit PRP .	47
Tabel 3. Perbedaan Kadar PDGF-BB PRP sebelum aktivasi dan setelah aktivasi 1 jam pada suhu ruang, 24 jam pada suhu 40C, dan 7 hari pada suhu -200C .....	48
Tabel 4. Perbedaan Kadar PDGF-BB PRP setelah aktivasi pada Suhu dan Waktu Penyimpanan yang Berbeda .....	49



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1 Struktur Trombosit (Abshire & Jobe, 2013) .....	9
Gambar 2 Peran faktor von Willebrand (vWf) dalam adhesi trombosit (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014) .....	12
Gambar 3 Adhesi Trombosit (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014) .....	14
Gambar 4 Proses penyembuhan luka pada kulit yang cedera (Fernandez- Moure et al., 2017) .....	17
Gambar 5 Komponen dan Fungsi PRP (Ramaswamy Reddy et al., 2018) .....	21
Gambar 6 Platelet Rich Plasma (Sánchez et al., 2019) .....	24
Gambar 7 Aktivasi trombosit oleh trombin yang dimediasi reseptor (Brass, 2003) .....	26
Gambar 8 <i>Teoretical computer modeling of a t-PRP gel</i> (Du et al., 2018)	27
Gambar 9 Perbedaan Kadar PDGF-BB PRP teraktivasi pada Lama Waktu Penyimpanan dan Suhu yang Berbeda .....	50

## DAFTAR SINGKATAN

ACD	<i>Acid Citrate Dextrose</i>
ADP	Adenosin diphosphate
CaCl <sub>2</sub>	<i>Calcium Chloride</i>
CXCL 1	CXC chemokine ligand 1
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i>
GF	<i>Growth factor</i>
gp	Glikoprotein
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor 1</i>
IL	Interleukin
KEPK	Komisi Etik Penelitian Kesehatan
LROs	<i>Lysosome related organelles</i>
NSAID	<i>Non Steroid Anti Inflammatory Drug</i>
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PF3	<i>Platelet Factor 3</i>
PF4	<i>Platelet Factor 4</i>
PGI <sub>2</sub>	Prostaglandin I <sub>2</sub>
PLT	Platelet
PRP	<i>Platelet-Rich Plasma</i>
RTK	Reseptor tirosin kinase
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor- $\alpha$
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vWF	<i>von Willebrand Factor</i>

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. LATAR BELAKANG

Trombosit adalah salah satu komponen sel darah yang berukuran paling kecil dengan jumlah 150 sampai  $400 \times 10^9/L$  pada individu sehat. Selain berperan dalam terbentuknya trombosis dan hemostasis, trombosit juga diketahui memiliki peranan penting dalam berbagai proses patofisiologi lainnya termasuk inflamasi, antimikroba, pertumbuhan dan perkembangan, angiogenesis, dan metastasis kanker. Fenomena ini dimediasi oleh pelepasan faktor pertumbuhan, sitokin, dan modulator matriks ekstraseluler. Untuk alasan ini, turunan *platelet-rich plasma* (PRP) digunakan dalam pengobatan regeneratif untuk berbagai kondisi klinis termasuk ulkus, luka bakar, perbaikan otot, penyakit tulang, dan pemulihan jaringan setelah operasi (Etulain *et al.*, 2018; Gremmel, Frelinger, & Michelson, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

*Platelet Rich Plasma* adalah produk biologis sebagai bagian dari plasma autologus dengan trombosit konsentrasi tinggi dan volume plasma yang rendah serta diperkaya oleh berbagai *growth factor* (GF), kemokin, sitokin dan protein plasma lainnya. Setelah trombosit dalam PRP teraktivasi, granula- $\alpha$  mengalami degranulasi dan melepaskan GF dan sitokin. Beberapa GF penting yang dilepaskan oleh trombosit dalam PRP termasuk *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Epidermal Growth*

*Factor* (EGF), *Hepatocyte Growth Factor*, *Insulin-like Growth Factor 1, 2* (IGF-1, IGF-2) dan interleukin 8 (Alves & Grimalt, 2018).

*Platelet-derived growth factor* (PDGF) merupakan *growth factor* yang pertamakali disekresikan pada saat terjadi luka dan proses awal penyembuhan jaringan ikat melalui pembentukan kolagen dan sintesis protein kemudian meningkatkan proliferasi sel tulang dan meningkatkan regenerasi tulang melalui mitogenesis osteoblas. Setelah terjadi *adhesi* pada luka, reseptor trombosit akan teraktivasi sehingga terjadi degranulasi trombosit yang akan mensekresikan PDGF (Everts et al., 2006; Moore et al., 2017).

Penggunaan antikoagulan merupakan faktor yang sangat penting dalam menjaga fungsi, integritas, dan morfologi trombosit. Beberapa peneliti berpendapat bahwa penggunaan antikoagulan *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) dapat merusak membran trombosit, dan merekomendasikan penggunaan *Acid Citrate Dextrose* (ACD). Studi Munawirah tahun 2019 menunjukkan bahwa pada penggunaan antikoagulan ACD, peningkatan trombosit dan kadar PDGF menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan antikoagulan EDTA (Munawirah & Esa, 2020).

Banyak protokol yang digunakan untuk aktivasi PRP, diantaranya dengan menambahkan trombin dan atau kalsium klorida (CaCl<sub>2</sub>). Cavallo, melakukan penelitian sebagai pilihan metode aktivasi yang mempengaruhi pelepasan molekul bioaktif PRP yang diaktivasi dengan CaCl<sub>2</sub>, trombin dan CaCl<sub>2</sub>/trombin. Aktivasi dengan trombin dan CaCl<sub>2</sub> / trombin

menghasilkan kadar PDGF yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan CaCl<sub>2</sub>, sedangkan kombinasi CaCl<sub>2</sub>/trombin menginduksi pelepasan PDGF yang lebih tinggi daripada CaCl<sub>2</sub> (Cavallo *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Fufa, menggunakan kolagen tipe I atau bovine trombin sebagai aktivator PRP. Bovine trombin dan kolagen tipe I merangsang pelepasan PDGF-AB dan VEGF antara 1 sampai 10 hari. (Fufa, Shealy, Jacobson, Kevy, & Murray, 2008). Meskipun PRP telah banyak digunakan sebagai *growth factor* dalam pengobatan regeneratif, tetapi efektifitasnya masih kontroversial, disebabkan karena belum adanya baku emas dalam protokol pembuatan PRP (Chahla *et al.*, 2017). Julia, melakukan penelitian dengan mengoptimalkan protokol pembuatan PRP dengan menganalisis sifat angiogenik dan regeneratif PRP dengan mengevaluasi efek *cold preconditioning* pada pelepasan *growth factor*. Sekresi total hanya tercapai ketika PRP diinkubasi pada suhu 4<sup>0</sup>C, menunjukkan bahwa efek *cold preconditioning* memaksimalkan molekul pro-angiogenik (Etulain *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Lisdiana (2020) dengan membandingkan perbedaan kadar TGF-β yang terdapat di dalam PRP setelah penambahan aktivator CaCl<sub>2</sub> yang disimpan pada suhu ruang, suhu 4<sup>0</sup>C dan suhu -80<sup>0</sup>C serta waktu penyimpanan yang bervariasi dan didapatkan hasil peningkatan kadar TGF-β tertinggi pada produk PRP yang diaktivasi dengan CaCl<sub>2</sub> yang disimpan selama 1 jam pada suhu ruang (meningkat 212 %), dan menurun 28% setelah penyimpanan selama 7 hari pada suhu -80<sup>0</sup>C. Akan tetapi, pada tahap aplikasi perlu pertimbangan terhadap penyimpanan

pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  karena tidak semua rumah sakit atau laboratorium klinik memiliki fasilitas penyimpanan seperti itu. (Amin Asri Lisdiana, 2020)

*Platelet derived growth factor* merupakan *growth factor* yang pertamakali disekresikan ketika terjadi luka dan proses penyembuhan sehingga memiliki peranan aplikatif yang cukup penting dalam berbagai bidang kedokteran. Atas dasar latar belakang ini peneliti tertarik untuk membandingkan kadar *Platelet Derived Growth Factor-BB* (PDGF-BB) pada PRP dengan penambahan aktivator trombin pada suhu dan waktu penyimpanan yang berbeda.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian adalah bagaimana perbedaan kadar PDGF-BB pada PRP sebelum aktivasi dan PRP setelah aktivasi dengan menggunakan aktivator trombin pada suhu dan waktu penyimpanan yang berbeda?

### **C. TUJUAN PENELITIAN**

#### **1. Tujuan Umum**

Mengetahui perbedaan kadar PDGF-BB pada *Platelet-Rich-Plasma* (PRP) sebelum dan sesudah aktivasi dengan menggunakan aktivator trombin, pada perlakuan yang berbeda (suhu dan waktu penyimpanan).

#### **2. Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui kadar PDGF-BB pada PRP sebelum aktivasi
- b. Mengetahui kadar PDGF-BB pada PRP setelah aktivasi menggunakan aktivator trombin yang disimpan pada suhu ruang selama 1 jam
- c. Mengetahui kadar PDGF-BB pada PRP setelah aktivasi menggunakan aktivator trombin yang disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 24 jam
- d. Mengetahui kadar PDGF-BB pada PRP setelah aktivasi menggunakan aktivator trombin yang disimpan pada suhu -20<sup>0</sup>C selama 7 hari

### **D. MANFAAT PENELITIAN**

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai waktu penyimpanan dan suhu optimal untuk memperoleh kadar PDGF-BB yang tinggi pada PRP.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektifitas aktivator trombin terhadap peningkatan kadar PDGF-BB pada PRP.

3. Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan sebagai acuan dalam melakukan persiapan dan penanganan PRP yang efektif dan efisien.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. TROMBOSIT**

##### **1. Definisi Trombosit**

Trombosit merupakan komponen darah yang tidak memiliki inti dan bersama sel darah merah berada dalam sirkulasi, yang diproduksi oleh megakariosit di sumsum tulang (Heijnen & Korporaal, 2017). Pada tahun 1881 Giulio Bizzozero, untuk pertama kalinya mengidentifikasi trombosit sebagai bagian dari morfologi darah yang tidak terkait dengan eritrosit atau leukosit. Bizzozero menggambarkan trombosit sebagai sel-sel diskoid tanpa inti, yang terdiri dari membran dan matriks, memiliki granula, transparan dan tidak berwarna, berdiameter sekitar 2-3  $\mu\text{m}$  (Costa-Filho & Bozza, 2017). Kadar trombosit normal adalah  $150-400 \times 10^9/\text{L}$ , dengan ketebalan 1  $\mu\text{m}$  dan diameter 4  $\mu\text{m}$ , berbentuk cakram bikonveks dengan masa hidup pada sirkulasi darah selama 7-10 hari. Sekitar  $100 \times 10^9/\text{L}$  sel trombosit dilepaskan ke sirkulasi oleh megakariosit matang setiap hari untuk mempertahankan kadar trombosit normal (Budak, Polat, & Huysal, 2016; Heijnen & Korporaal, 2017; Unay Demirel, Ignak, & Buyukuysal, 2018).

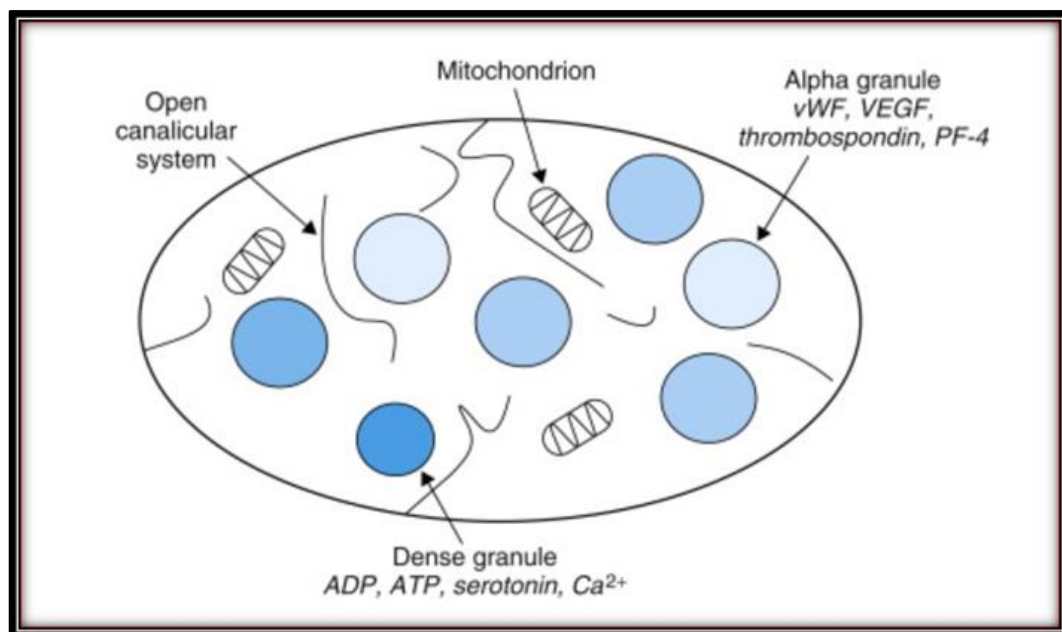
##### **2. Struktur Trombosit**

Trombosit adalah komponen sitoplasma megakariosit yang terdapat pada sumsum tulang, dengan diameter 2-4  $\mu\text{m}$  dan volume 4,5-11 Fl (Budak *et al.*, 2016). Struktur dan komposisi trombosit dibawah

mikroskop elektron dibagi menjadi tiga komponen yaitu membran sel, mikrotubulus dan sitoplasma. Trombosit dilapisi oleh membran trilaminar dengan ketebalan 6 nm yang mengandung lipid (fosfat, kolesterol dan glikolipid), karbohidrat, protein dan glikoprotein. Glikoprotein membentuk lapisan permukaan trombosit yang mencegah terjadinya adhesi trombosit pada endotel normal dan mempercepat *adhesi* trombosit pada kolagen dan endotel pembuluh darah yang rusak. Fosfolipid mengandung *platelet factor 3* (PF3) yang berperan pada proses pembekuan darah. Mikrotubulus dibentuk oleh protein polimer yaitu tubulin yang membentuk diskoid trombosit dalam sirkulasi darah. Sitoplasma mengandung apparatus golgi, retikulum endoplasma, mitokondria, granula, glikogen, lisosom, protein enzim dan hormon. Retikulum endoplasma berperan dalam sintesis enzim dan penyimpanan kalsium. Mitokondria berperan dalam pembentukan ADP dan ATP. Kontraktin protein termasuk aktin, miosin dan trombostenin menyebabkan kontraksi trombosit dan berfungsi untuk retraksi bekuan darah. Protein lain yang terdapat dalam sitoplasma antara lain *fibrin stabilizing factor* yang berperan penting dalam proses koagulasi, *growth factor* dan *von Willbrand Factor* yang berperan dalam *adherence* trombosit (Khurana, Khurana, & Kowlgi, 2019).

Terdapat dua jenis granula dalam sitoplasma, yaitu granula padat (*dense granule*) yang mengandung fosfolipid, trigliserida, kolesterol, ATP, ADP, serotonin (5HT) dan granula- $\alpha$  yang mensekresikan protein seperti faktor pembekuan maupun *growth factor*. Granula- $\alpha$  lebih banyak terdapat pada trombosit, dengan jumlah sekitar 50-80 per trombosit, dengan

diameter 200-500 nm. Granula- $\alpha$  terutama mengandung protein, yaitu reseptor terkait membran ( $\alpha$ IIb $\beta$  dan P-selectin) dan protein terlarut (*platelet factor 4* [PF4] dan fibrinogen). Lebih dari 300 protein terlarut terlibat dalam berbagai fungsi (Gambar 1), termasuk hemostasis (misalnya faktor von Willebrand [ $\nu$ WF] dan faktor 5), inflamasi (chemokine, seperti CXCL 1 dan interleukin 8) dan penyembuhan luka (*Platelet-Derived Growth Factor* [PDGF], *Vascular Endothelial Growth Factor* [VEGF] dan *Fibroblast Growth Factor* [FGF]). Lisosom, dikenal juga dengan granula T dan terdapat sekitar 1-3 lisosom per trombosit (Khurana *et al.*, 2019; Sharda & Flaumenhaft, 2018).



**Gambar 1** Struktur Trombosit (Abshire & Jobe, 2013).

### 3. Fungsi Trombosit

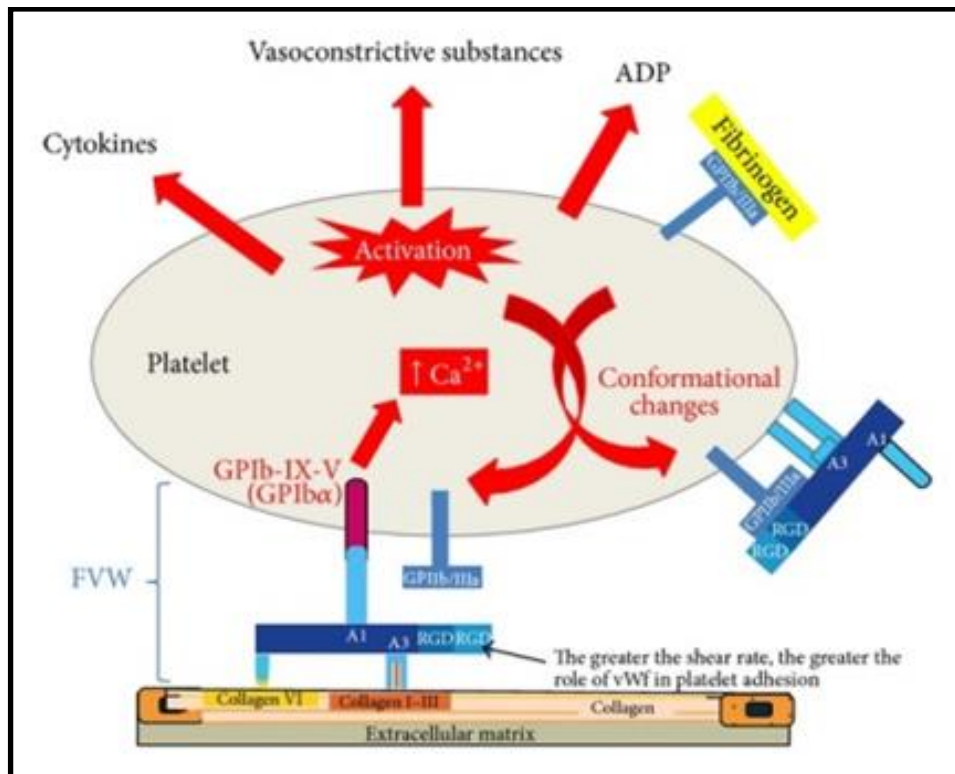
#### a. Fungsi Hemostasis

Peran utama trombosit adalah mempertahankan hemostasis primer dalam sirkulasi darah (Holinstat, 2017).

Trombosit berperan dalam serangkaian proses akumulasi trombosit yaitu *adhesi*, aktivasi dan sekresi, serta agregasi trombosit dan aktif terlibat dalam pembentukan trombin yang memperkuat kaskade koagulasi (Hou *et al.*, 2015). Hemostasis adalah proses penghentian kehilangan darah pada pembuluh darah yang rusak. Koagulasi dicapai dengan serangkaian reaksi enzimatik, yang melibatkan beberapa faktor diantaranya adalah zymogens prekallikrein, prothrombin, faktor VII, IX, X, XI, dan XII, yang dikonversi menjadi protease aktif dengan hidrolisis. Dua jalur utama sebagai mediasi koagulasi yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik (Blanco & Blanco, 2017). Hemostasis dibagi menjadi hemostasis primer, hemostasis sekunder, dan fibrinolisis. Trombosit mencegah kehilangan darah pada hemostasis primer, proses fisiologis yang menghentikan pendarahan pada pembuluh darah yang terluka, sambil mempertahankan aliran darah normal di tempat lain dalam sirkulasi, dengan pembentukan sumbat trombosit. Hemostasis sekunder mengacu pada deposisi fibrin yang tidak larut yang dihasilkan oleh kaskade koagulasi. Fibrinolisis menghasilkan pemecahan gumpalan darah selama penyembuhan luka yang melibatkan interaksi sejumlah enzim. Endotel yang sehat memberikan permukaan yang tidak lengket terhadap trombosit. Namun, di daerah cedera vaskular, subendotel terpapar dan trombosit dapat dengan cepat melekat pada berbagai komponen matriks ekstraseluler, dan kemudian membentuk

sumbat trombosit. Proses ini dicapai melalui tiga proses yang berbeda yaitu adhesi, aktivasi dan sekresi trombosit, serta agregasi trombosit. (Twomey *et al.*, 2018)

*Adhesi* trombosit ke matriks ekstraseluler adalah langkah pertama dalam hemostasis primer. Molekul *adhesi* trombosit,  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  integrin dan glikoprotein (gp) Ib-IX-V, sangat penting untuk proses ini. Molekul *adhesi* lainnya, seperti P-selectin, GPVI dan cadherin, juga terlibat. Peran penting molekul *adhesi* dalam hemostasis normal telah ditunjukkan dengan baik pada gangguan perdarahan, misalnya, Glanzmann thrombasthenia (defisiensi  $\beta\text{3}$  integrin) dan sindrom Bernard-Soulier (defisiensi GPIb-IX-V) (Xu *et al.*, 2016; Yun, Sim, Goh, Park, & Han, 2016). Cedera di dinding pembuluh darah mengaktifkan trombosit untuk memulai koagulasi, yang juga dikenal sebagai hemostasis. Trombosit siap diaktifkan atau dihambat oleh beberapa rangsangan endogen dan eksogen. Trombosit memulai hemostasis primer dengan menempel pada dinding pembuluh yang rusak. Reseptor GPIb-V-IX dan GPIIa-IIb dan senyawa subendotelial seperti vWF dan kolagen saling berinteraksi untuk memediasi prosedur ini dalam mengikat ligan ke reseptor gp untuk mengubah bentuk trombosit serta memicu pelepasan konten granulnya, yang pada akhirnya mengarah pada pembentukan agregat yang juga dikenal sebagai sumbat trombosit (Gambar 2).



**Gambar 2** Peran faktor von Willebrand (vWf) dalam adhesi trombosit (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014).

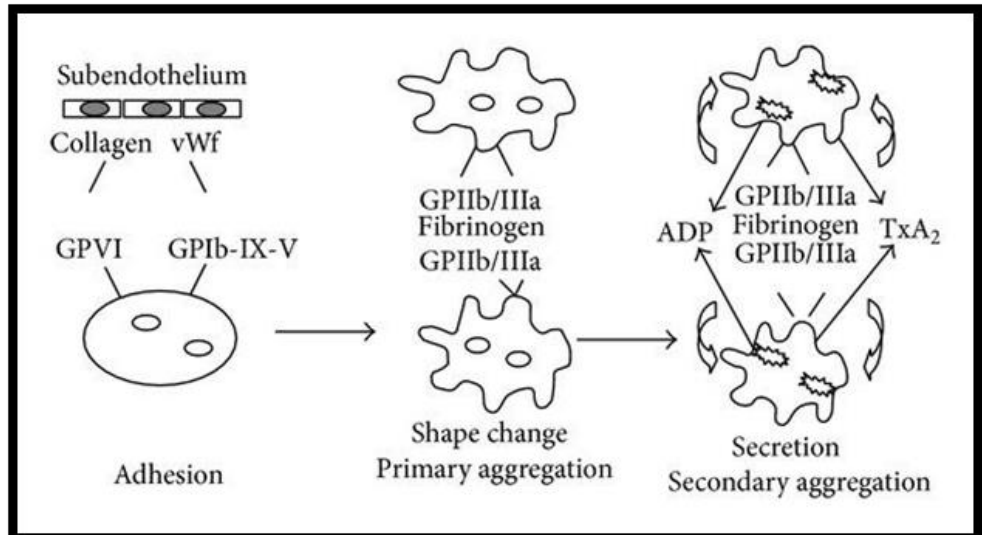
Setelah cedera dinding pembuluh, aktivasi trombosit terjadi dan menyebabkan *adhesi* ke permukaan subendothelium. Interaksi antara reseptor seperti GPIb-V-IX, GPIa-IIa, dan senyawa subendotelial seperti vWF dan kolagen memicu pelepasan kandungan granula trombosit yang mempercepat pembentukan agregat (Gambar 3) (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014; Hosseini, Mohtashami, & Ghasemzadeh, 2019).

Ketika konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler melebihi ambang batas tertentu, trombosit membentuk pseudopodia. Selama perubahan bentuk, reseptor fibrinogen (GPIIb / IIIa) diekspos dan diaktifkan

sehingga terjadi agregasi trombosit dan dikenal sebagai agregasi primer yang *reversible*.

Adenosin diphospat (ADP) adalah aktivator trombosit penting lainnya. P2Y<sub>12</sub> yang merupakan reseptor spesifik ADP, terdapat pada membran trombosit dan digabungkan untuk menghambat protein G dan memediasi pelepasan Ca<sup>2+</sup> yang diinduksi ADP, menghambat adenilat siklase dan mengaktifkan reseptor GPIIb / IIIa yang mengarah pada agregasi trombosit. Tromboxane A<sub>2</sub>, ADP, dan zat-zat lain seperti serotonin, dilepaskan dari trombosit yang teraktivasi, memberikan umpan balik positif untuk memperkuat bekuan yang kaya trombosit untuk memulai agregasi sekunder yang *irreversible*. Respon trombosit diperkuat melalui zat yang dilepaskan oleh granul trombosit. Sumbat trombosit yang awalnya terbentuk pada hemostasis primer relatif tidak stabil, kaskade koagulasi dan pembentukan trombin dan fibrin memperpanjang hemostasis sekunder. Selama aktivasi trombosit, fosfolipid membran trombosit menjadi bermuatan negatif, yang memfasilitasi aktivasi koagulasi (seperti FV, FVIIIa, FIXa, dan FX). Pengikatan kompleks *prothrombinase* (FXa, FVa, Ca<sup>2+</sup>, dan protrombin) ke membran trombosit terjadi pada langkah ini. Aktivasi trombosit lebih lanjut dimulai oleh pembentukan trombin. Endotel pembuluh darah yang utuh melepaskan dua *antiaggregant* mayor, yaitu prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) dan nitrat oksida, yang mencegah pembentukan trombus di dalam pembuluh darah (Ghoshal &

Bhattacharyya, 2014; Rucker & Dhamoon, 2019; Thon & Italiano, 2012).



**Gambar 3** Adhesi Trombosit (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014).

#### b. Fungsi Non Hemostasis

Meskipun trombosit secara luas diakui memiliki peran penting dalam hemostasis primer dan trombosis, peningkatan bukti eksperimental dan klinis mengidentifikasi sel-sel berinti ini sebagai modulator yang relevan dari proses fisiopatologis lainnya termasuk peradangan dan regenerasi jaringan. Fenomena ini dimediasi melalui pelepasan faktor pertumbuhan, sitokin, dan modulator matriks ekstraseluler yang akan meningkatkan revaskularisasi jaringan yang rusak melalui induksi terhadap migrasi, proliferasi, diferensiasi, dan stabilisasi sel endotel di pembuluh darah baru, pemulihan jaringan ikat yang rusak melalui migrasi, proliferasi, dan aktivasi fibroblas, serta proliferasi dan diferensiasi sel punca mesenkim menjadi tipe sel spesifik jaringan. Untuk alasan ini, PRP

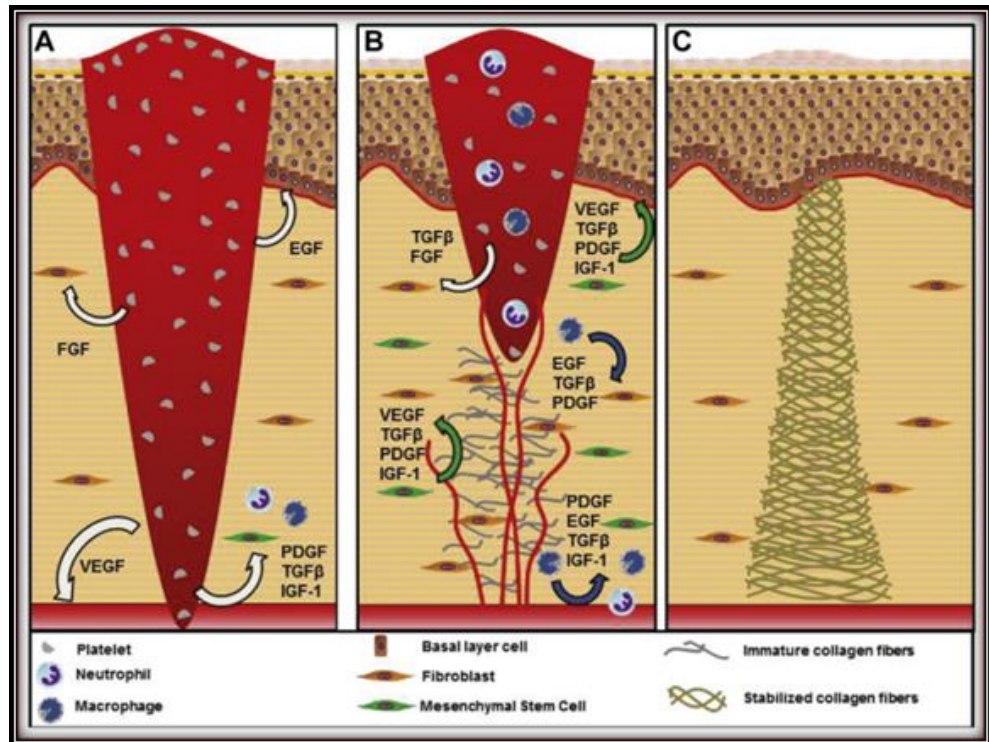


digunakan dalam pengobatan regeneratif pada beberapa kondisi klinis termasuk ulkus, luka bakar, perbaikan otot, penyakit tulang, dan pemulihan jaringan setelah operasi (Etulain, 2018). *Growth factor* pada trombosit berperan dalam mengatur urutan kompleks migrasi, pembelahan, diferensiasi, dan ekspresi protein selama proses penyembuhan luka (Gabriel, 2018; Laiva, O'Brien, & Keogh, 2018).

Penyembuhan luka merupakan suatu proses dinamis yang sebagian besar diatur oleh instruksi seluler dari lingkungan mikro dalam bentuk kemokin, sitokin, dan *growth factor*, yang bersama-sama mengatur proses penyembuhan pada tingkat yang berbeda. Kemokin merupakan sitokin dengan sifat kemotaksis yang sangat penting untuk rekrutmen sel imun pada proses penyembuhan luka. Kemokin diproduksi dan disekresikan oleh sel-sel yang diaktifkan dan mengatur aksi sel melalui pensinyalan parakrin dan autokrin. Berdasarkan strukturnya, kemokin dibagi menjadi kemokin CC-, CXC-, C-, dan CX3C. *Growth factor* adalah polipeptida yang memiliki beragam fungsi dan pada reseptor yang sama dapat mengaktifkan jalur yang berbeda sehingga akan menginduksi respon yang berbeda tergantung pada jenis sel target serta lingkungan mikro. *Growth factor* terlibat dalam pertumbuhan sel, proliferasi, diferensiasi, dan migrasi yang sangat penting untuk penyembuhan luka normal dan peningkatan ekspresi GF tertentu pada luka akut, termasuk *epithelial growth factor* (EGF), *basic*

*fibroblast growth factor* (bFGF), TGF- $\beta$ , PDGF, dan VEGF. Selain itu, ekspresi dari *growth factor* akan tertekan pada luka kronik, sehingga *growth factor* diharapkan dapat digunakan untuk meningkatkan proses penyembuhan luka. Sebagai contoh, kadar PDGF ditemukan berkurang pada luka kronik dibandingkan dengan kadar PDGF pada luka bedah akut (Öhnstedt, Lofton Tomenius, Vågesjö, & Phillipson, 2019).

Tiga fase yang tumpang tindih menjadi ciri penyembuhan luka pada kulit yaitu inflamasi, proliferasi, dan renovasi (Gambar 4). Trombosit merespon cedera dengan membentuk sumbat hemostatik untuk mencegah perdarahan lebih lanjut. Melalui sekresi faktor koagulasi, akan terbentuk bekuan kaya fibrin yang berfungsi sebagai matriks untuk mendukung sel proliferasi dan migrasi. *Growth factor* diperlukan untuk pergerakan sel menuju luka. Interaksi yang kompleks dari *chemokine* dan migrasi sel-sel inflamasi menjadi ciri awal proses penyembuhan luka. Ketika neutrofil dan makrofag mulai mengubah bentuk sumbat trombosit, *growth factor* berperan pada proses regeneratif dengan merangsang angiogenesis dan renovasi kolagen. Sebagai hasilnya, pada permukaan luka akan terbentuk epitelisasi dengan fibril kolagen yang stabil (Fernandez-Moure *et al.*, 2017).



**Gambar 4** Proses penyembuhan luka pada kulit yang cedera (Fernandez-Moure et al., 2017).

## B. PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR

### 1. Definisi PDGF

*Platelet derived growth factor* (PDGF) ditemukan sebagai komponen turunan serum yang diperlukan untuk pertumbuhan sel otot polos, fibroblas, dan sel glial dan merupakan glikoprotein dengan berat molekul sekitar 30 kD, dengan dua polipeptida terikat disulfida, disebut sebagai rantai A dan B. *Family* PDGF terdiri dari empat produk gen (PDGFA, PDGFB, PDGFC, PDGFD) yang terdiri dari lima isoform yaitu dimer PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC, PDGF-DD, dan heterodimer PDGF-AB (Kazlauskas, 2017; Kodama et al., 2010; Roskoski, 2018). Dua jenis reseptor PDGF yaitu PDGFR $\alpha$  dan PDGFR $\beta$ , termasuk dalam

reseptor tirosin kinase (RTK) kelas III dan memiliki pola ekspresi dan peran fisiologis yang berbeda. PDGFR $\alpha$  mengendalikan gastrulasi dan perkembangan beberapa organ seperti paru-paru, usus, kulit, testis, ginjal, tulang, dan jaringan saraf. PDGFR $\beta$  lebih dikenal sebagai regulator penting untuk hematopoiesis awal dan pembentukan pembuluh darah (Chen, Chen, & He, 2013; Kardas *et al.*, 2020). Reseptor PDGF yang berbeda,  $\alpha$  dan  $\beta$ , memediasi efek PDGF pada sel target. Rantai PDGF-A dan -C secara selektif mengikat reseptor  $\alpha$ , sedangkan PDGF-D mengikat reseptor  $\beta$  dan PDGF-B menampilkan afinitas yang sama untuk kedua reseptor (Casati *et al.*, 2014). Pengikatan spesifik *growth factor* pada reseptornya akan mengaktifkan jalur transduksi sinyal intraseluler yang mengatur berbagai aspek fisiologi subseluler dan fungsi seluler (Park, Hwang, & Yoon, 2017).

## 2. Fungsi PDGF

*Platelet derived growth factor* berperan dalam proses penyembuhan luka. PDGF dilepaskan dari degranulasi trombosit pada cedera sehingga akan menstimulasi mitogenesis dan kemotaksis neutrofil, makrofag, fibroblas, dan sel otot polos menuju lokasi luka untuk membantu inisiasi respons inflamasi. Studi *in vivo* menunjukkan bahwa PDGF penting dalam merekrut *pericytes* dan sel otot polos ke kapiler sehingga meningkatkan integritas struktural kapiler. Selama fase epitelisasi penyembuhan luka, PDGF meningkatkan produksi *insulin growth factor 1* (IGF-1) dan trombospondin-1. Selain itu, IGF-1 telah

terbukti meningkatkan motilitas keratinosit dan trombospondin-1, yang melindungi degradasi proteolitik dari PDGF dan meningkatkan pertumbuhan fibroblas *in vitro*. PDGF juga meningkatkan proliferasi fibroblas untuk membangun matriks kolagen (Barrientos, Brem, Stojadinovic, & Tomic-Canic, 2014; Pavlovic, Milan, Vladimir, & Stojanovic, 2016).

*Growth factors* mengikat reseptor yang sesuai pada permukaan sel dan akan mengaktifkan molekul pensinyalan yang relevan untuk dapat mengaktifkan protein sitoplasma atau menginduksi transkripsi protein baru. Kondisi-kondisi seperti tipe sel dan lingkungan mikro, *growth factor* dan reseptor yang sama dapat mengaktifkan jalur transduksi sinyal yang berbeda dan menunjukkan respons seluler yang berbeda. *Growth factor* berperan dalam memodulasi respon peradangan yang dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi, dan menginduksi angiogenesis yang penting dalam pembentukan matriks selama proses penyembuhan luka. Defisiensi faktor pertumbuhan, termasuk penurunan kadar FGF, PDGF, EGF, dan TGF- $\beta$ , telah dilaporkan pada ulkus kronik yang dibandingkan terhadap luka akut, dan ekspresi PDGF terbukti lebih rendah pada ulkus dermal kronis dibandingkan pada luka akut pasca pembedahan (Park *et al.*, 2017).

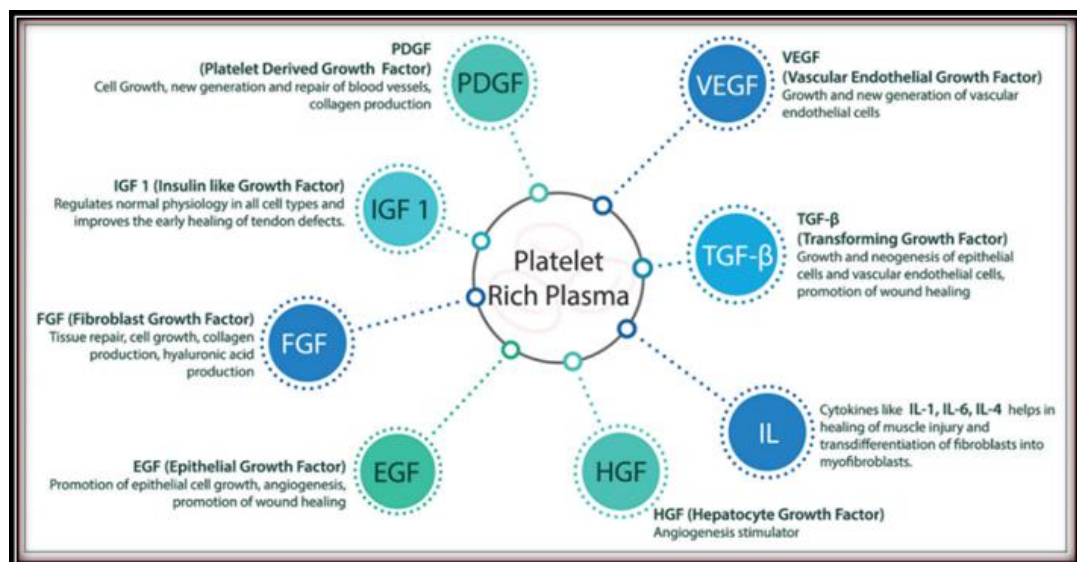
### C. PLATELET RICH PLASMA

#### 1. Definisi PRP

*Platelet rich plasma* adalah bentuk autologus dari produk turunan darah yang disertai dengan peningkatan konsentrasi trombosit yang kaya *growth factor* dan memiliki potensi untuk meningkatkan penyembuhan jaringan pada tingkat sel (Ahmad *et al.*, 2012; Fernandez-Moure *et al.*, 2017). PRP adalah komponen darah (plasma) yang mengandung konsentrasi trombosit lima kali lebih tinggi di atas nilai normal (Ramaswamy Reddy, Reddy, Babu, & Ashok, 2018).

Peningkatan jumlah trombosit menghasilkan peningkatan jumlah *growth factor* yang disekresikan, sehingga meningkatkan proses penyembuhan. Fenomena ini berkaitan dengan peningkatan mitogenesis sel dan angiogenesis dalam jaringan. Dengan adanya *growth factor*, yang juga mengandung molekul *adhesi* yang meliputi fibrin, fibronektin dan vitronektin akan membantu meningkatkan regenerasi jaringan. Persiapan PRP juga berperan dalam revaskularisasi jaringan yang rusak dengan meningkatkan migrasi sel, proliferasi, diferensiasi dan stabilisasi sel endotel dalam pembuluh darah baru. Tujuan utama penggunaan PRP untuk terapi berawal dari ide untuk memberikan *growth factor*, sitokin, dan granula- $\alpha$  pada cedera, yang bertindak sebagai pengatur siklus sel, dan mendorong proses penyembuhan di berbagai jaringan (Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018). Beberapa GF penting yang dilepaskan oleh trombosit dalam PRP (Gambar 5) termasuk *Vascular Endothelial Growth Factor*

(VEGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Hepatocyte Growth Factor*, *Insulin-like Growth Factor 1, 2* (IGF-1, IGF-2) dan interleukin 8 (Alves & Grimalt, 2018; Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018).



**Gambar 5** Komponen dan Fungsi PRP (Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018).

## 2. Aplikasi Klinis PRP

Selama beberapa tahun terakhir, penggunaan PRP sebagai alat terapi telah membuat kemajuan yang signifikan dalam bidang kedokteran regeneratif khususnya di bidang penyembuhan luka dan regenerasi kulit, kedokteran gigi, pencangkakan lemak, regenerasi tulang, tendinopati, oftalmologi, pemulihan hepatosit, bedah estetika, ortopedi, ulkus jaringan lunak dan cedera otot rangka. Penerapan PRP dalam dermatologi terutama dalam regenerasi jaringan, penyembuhan luka, perbaikan bekas luka dan efek peremajaan kulit (Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018; Shin, Woo, & Kang, 2017; Suruchi, Shweta, & Chandi, 2018). Dalam

dermatologi kosmetik, PRP digunakan untuk merangsang proliferasi fibroblas kulit dan meningkatkan sintesis kolagen tipe I. Selain itu, injeksi PRP ke lapisan kulit akan menginduksi augmentasi jaringan lunak, aktivasi fibroblas, deposisi kolagen baru, pembuluh darah baru dan pembentukan jaringan adiposa. *Growth factor* yang ada di area folikel rambut, merangsang perkembangan folikel baru dan meningkatkan vaskularisasi yang akan mengaktifasi proliferasi dan transferensiasi rambut untuk menghasilkan unit folikel baru. *Growth factor* meningkatkan proliferasi sel papilla *in vitro*, berperan dalam perpanjangan batang rambut. PRP yang teraktivasi dapat meningkatkan proliferasi dan mencegah apoptosis sel papiler kulit (Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018).

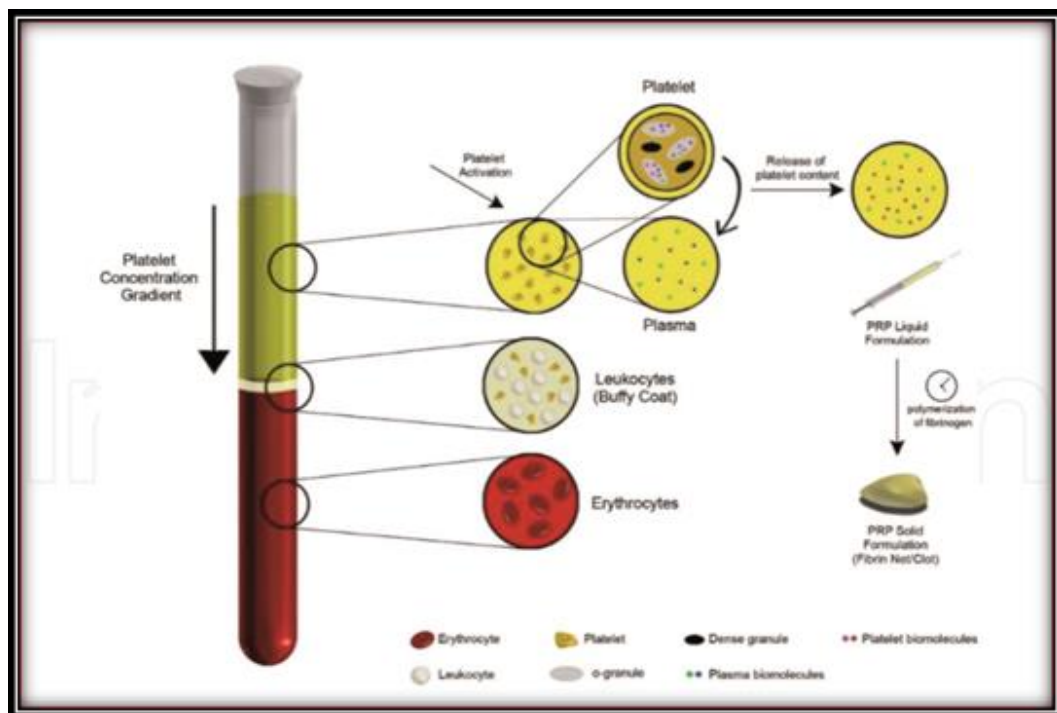
*Platelet rich plasma* juga telah digunakan untuk regenerasi muskuloskeletal yang disebabkan cedera olahraga (Jain & Gulati, 2016). Tendinopati patella adalah penyebab paling umum pada nyeri lutut anterior para atlet. Aplikasi PRP dimanfaatkan dalam meningkatkan perbaikan cedera dan mengurangi peradangan. Tendinopati *achilles* termasuk cedera olahraga yang mengakibatkan rasa sakit yang berat dan pembengkakan di insersi tendinous. Saat ini, latihan penguatan otot dan obat anti inflamasi adalah satu-satunya pilihan perawatan, namun penggunaan PRP telah diusulkan sebagai pilihan terapi (Navani, Li, & Chrystal, 2017; Ramaswamy Reddy *et al.*, 2018).



### 3. Metode PRP

Berbagai teknik digunakan dalam memperoleh PRP untuk mencapai kadar trombosit plasma yang lebih tinggi daripada dalam darah. Langkah pertama terdiri dari pengumpulan volume darah perifer dari pasien menggunakan tabung dengan antikoagulan. Berbagai jenis antikoagulan dapat digunakan seperti natrium sitrat dan *asam etilenadiaminetetraasetat* (EDTA), yang mengikat kalsium dan mencegah kaskade koagulasi, atau heparin yang menghambat trombin. Namun, natrium sitrat adalah antikoagulan yang paling direkomendasikan karena memastikan pelestarian trombosit yang lebih baik. Setelah pengambilan darah, dilakukan proses sentrifugasi yang kekuatan dan waktunya bervariasi sesuai dengan metode yang digunakan. Sentrifugasi harus menghasilkan kekuatan yang cukup untuk membuat gradien yang memisahkan darah menjadi fraksi yang berbeda tanpa merusak komponennya (Gambar 6). Sentrifugasi ini dapat tunggal atau ganda, dengan gaya sentrifugal antara 350 dan 2000 g dan waktu sentrifugasi 3 hingga 15 menit tergantung pada metode yang digunakan. Banyak cara yang bisa digunakan dalam preparasi PRP diantaranya dengan metode PRP atau metode *buffy-coat*. Dalam metode PRP, sentrifugasi awal untuk memisahkan ke sel darah merah diikuti sentrifugasi kedua yang bertujuan untuk memusatkan trombosit, yang akan tersuspensi dalam volume plasma. Dengan demikian, darah dibagi menjadi fraksi dari yang paling bawah yaitu sel darah merah, lapisan tipis leukosit atau *buffy coat*, dan terakhir fraksi plasma dengan trombosit. Lapisan terakhir ini akan

membentuk PRP, dan tergantung pada proses sentrifugasi, jumlah trombosit dapat bervariasi. Namun, kadar trombosit yang lebih tinggi tidak signifikan dengan peningkatan efek PRP. Bahkan, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa kadar trombosit yang berlebihan dapat memiliki efek penghambatan pada proliferasi atau diferensiasi sel. Dengan demikian, kadar trombosit untuk fungsi yang optimal dianggap dua hingga tiga kali lipat dibandingkan kadar dalam darah (Dhurat & Sukesh, 2014; Sánchez *et al.*, 2019).



**Gambar 6** Platelet Rich Plasma (Sánchez *et al.*, 2019).

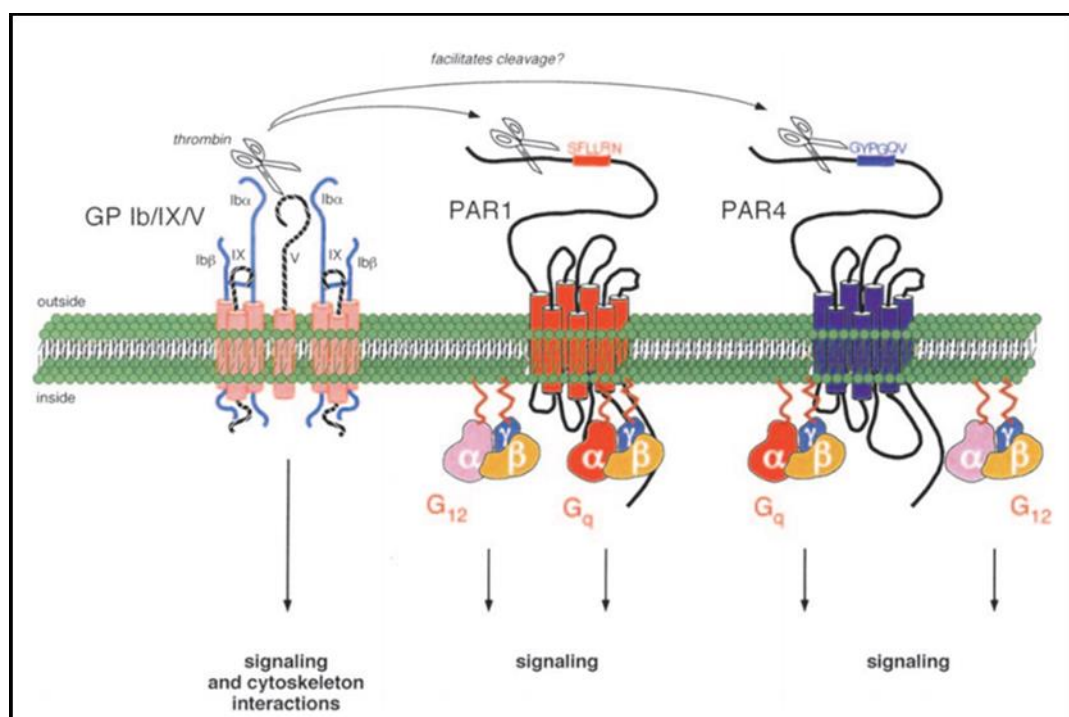
#### 4. Aktivasi Trombosit pada PRP

Proses akhir untuk mendapatkan PRP adalah dengan aktivasi trombosit, dengan kandungan trombosit yang tidak hanya dilepaskan tetapi juga akan memicu polimerisasi fibrinogen dalam jaring fibrin. Istilah aktivasi mengacu pada dua proses utama yang dimulai selama preparasi

PRP yaitu degranulasi trombosit untuk melepaskan GF dari granula- $\alpha$  dan pembelahan fibrinogen untuk memulai pembentukan matriks, proses pembekuan yang memungkinkan pembentukan suatu *gel platelet*. Aktivasi dapat dilakukan dengan penambahan zat tertentu seperti kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) dan trombin. Beberapa metode menggunakan aktivasi endogen dimana PRP diberikan tanpa aktivasi sebelumnya dan trombosit akan diaktifkan secara fisiologis di dalam tubuh. Namun, penggunaan aktivasi eksogen memungkinkan PRP lebih fleksibel, dan tergantung pada waktu sejak aktivasi yang akan menghasilkan formulasi yang berbeda pada saat perawatan (Cavallo *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2019).

Beberapa agonis trombosit memiliki lebih dari satu reseptor, dan aktivasi trombosit optimal yang disebabkan oleh agonis ini sering membutuhkan sinergi antara jalur reseptor yang berbeda. Untuk aktivasi trombosit, ADP yang dilepaskan dari granul padat trombosit atau kerusakan sel dan jaringan, membutuhkan pensinyalan baik dari *Gq-coupled P2Y1* maupun *Gi-coupled P2Y12*. Aktivasi trombosit akan terganggu jika salah satu dari kedua reseptor atau protein G yang terkait dihambat atau tidak mencukupi. Aktivasi trombosit yang diinduksi trombin melibatkan reseptor dan jalur pensinyalan yang lebih kompleks (Gambar 7). Trombin memiliki setidaknya tiga reseptor pada permukaan trombosit, yaitu PAR1, PAR4, dan GPIb-IX. Setelah stimulasi trombin, PAR1 membentuk heterodimer dengan PAR4 yang akan meningkatkan pembelahan PAR4. PAR4 dan P2Y12 mengalami dimerisasi, dan berinteraksi dalam meningkatkan pensinyalan PAR. PAR1 dan PAR4

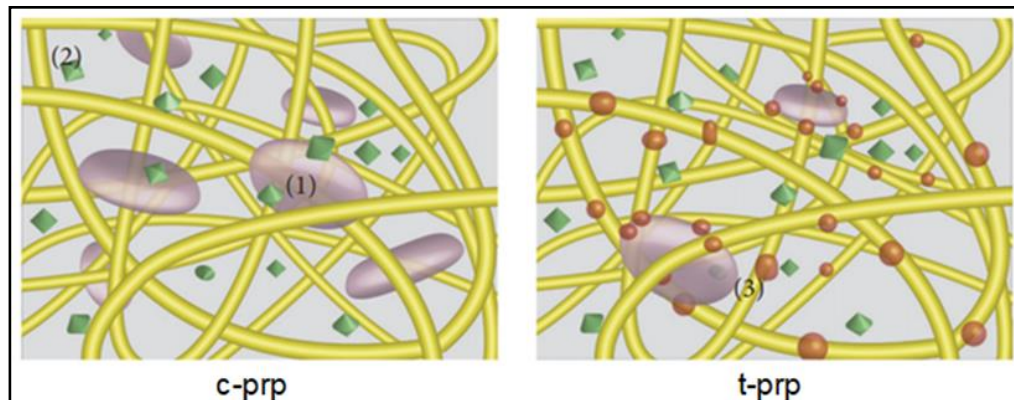
keduanya bergabung ke jalur Gq dan G12/13. Trombin mengikat dan memotong *G-protein-coupled receptors* (GPCR) ini untuk membentuk urutan terminal NH2 baru, yang berfungsi sebagai ligan *internal* yang akan berinteraksi dan mengaktifkan pensinyalan reseptor. Kerjasama timbal balik antara pensinyalan GPIb-IX yang diinduksi trombin dan pensinyalan PAR diperlukan untuk respon trombosit yang optimal (Brass, 2003; Estevez & Du, 2017).



**Gambar 7** Aktivasi trombosit oleh trombin yang dimediasi reseptor (Brass, 2003)

Aktivasi trombosit selama preparasi PRP dapat mengakibatkan pelepasan granul lebih awal dan hilangnya *growth factor* selama proses aglutinasi. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui bahwa setiap metode preparasi PRP mungkin berbeda dalam hal kadar trombosit, tingkat aktivasi dan profil *growth factor* (Sonker & Dubey, 2015).

Penurunan kadar *growth factor* juga dapat terjadi setelah dilakukan aktivasi (Gambar 8), hal ini meningkatkan kemungkinan *growth factor* lebih banyak terjebak di dalam serat fibrin setelah teraktivasi sehingga terjadi pelepasan dan degradasi *growth factor* yang lebih lambat (Du, Miao, Li, Shi, & Hu, 2018).

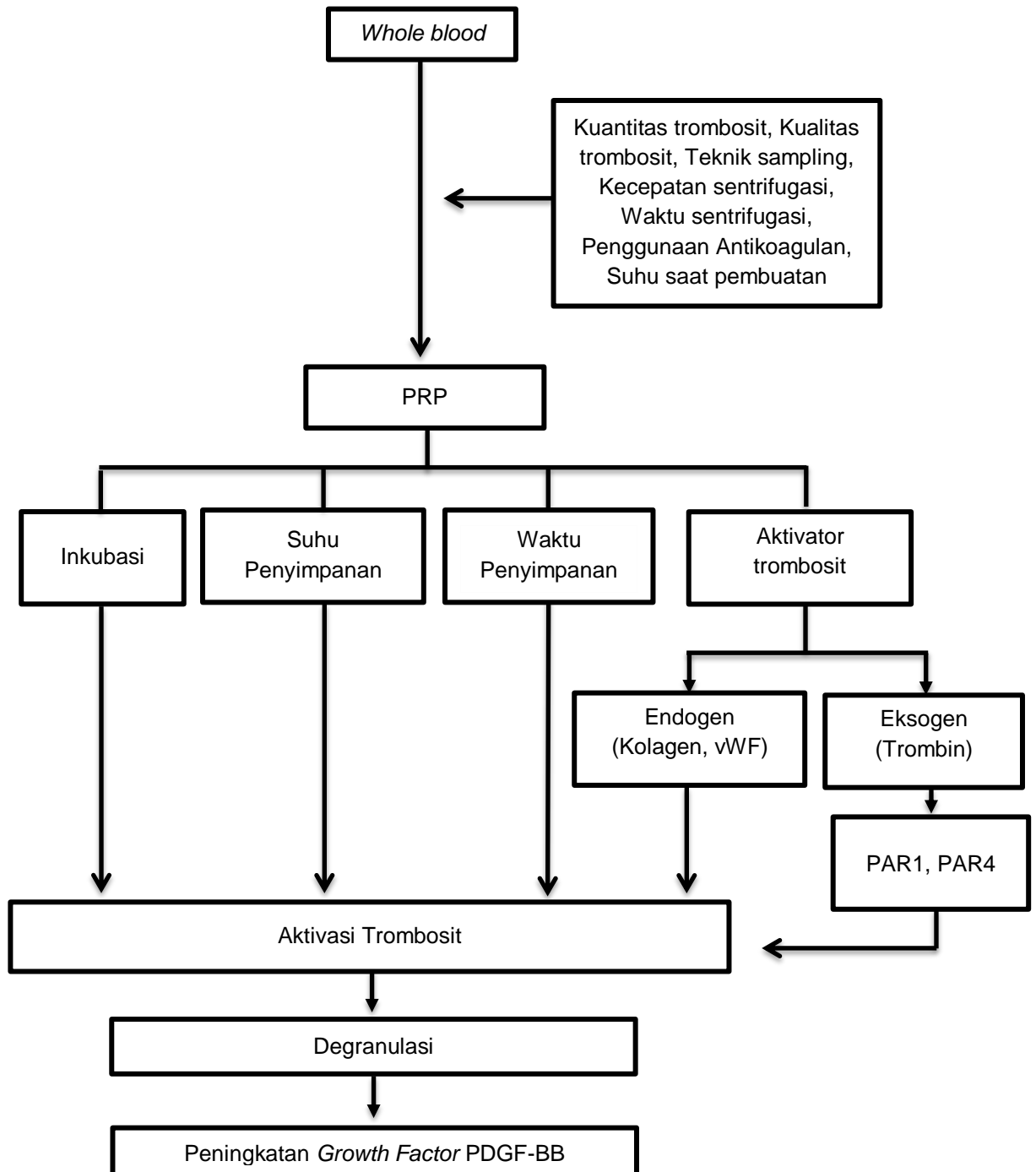


**Gambar 8** Teoretical computer modeling of a t-PRP gel (Du et al., 2018).

### BAB III

#### KERANGKA PENELITIAN

##### A. KERANGKA TEORI



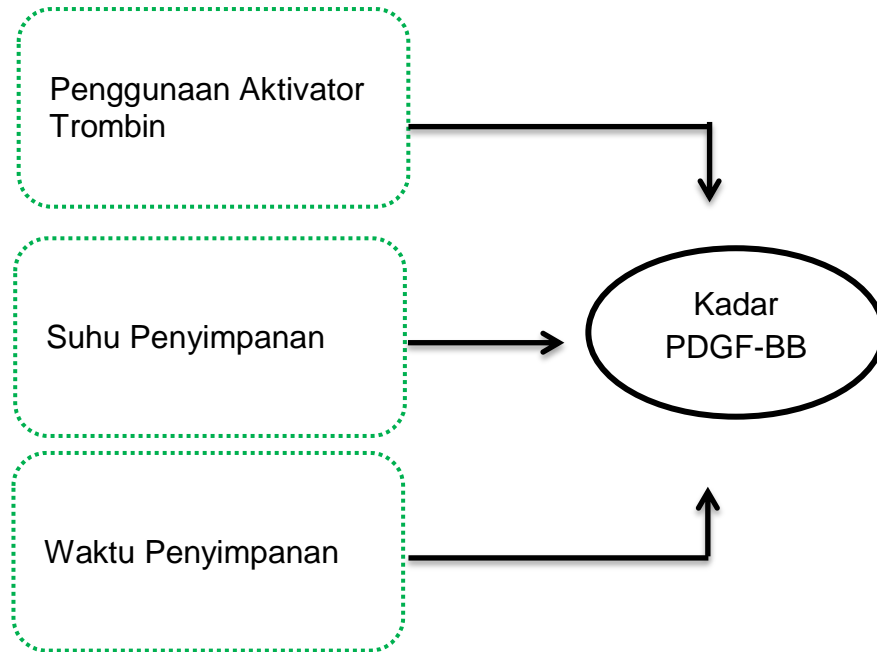
Keterangan




PRP : *Platelet Rich Plasma*

PDGF-BB : *Platelet Derivated Growth Factor-BB*

PAR : *Protease Acivated Receptor*

vWF : *von Willbran Factor*

**B. KERANGKA KONSEP**

Keterangan :  : Variabel tergantung  
 : Variabel bebas  
 : Pengaruh