

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tendon Achilles merupakan tendon terbesar dan terkuat dalam tubuh manusia, namun rentan terhadap cedera seperti ruptur atau robekan. Cedera ini sering terjadi pada individu yang aktif secara fisik dan dapat mengakibatkan penurunan fungsi serta kualitas hidup. Proses penyembuhan tendon Achilles secara alami memerlukan waktu yang lama dan seringkali tidak mengembalikan kekuatan serta elastisitas tendon seperti semula. Oleh karena itu, diperlukan intervensi yang dapat mempercepat dan memperbaiki kualitas penyembuhan tendon tersebut.¹

Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Platelet-Rich Fibrin (PRF) adalah dua produk derivat darah autologus yang kaya akan trombosit dan faktor pertumbuhan. Keduanya telah digunakan dalam berbagai aplikasi klinis untuk mempercepat proses penyembuhan jaringan, termasuk pada cedera tendon. PRP merupakan plasma yang mengandung konsentrasi trombosit lebih tinggi dari darah normal, sementara PRF adalah matriks fibrin yang terbentuk dari darah tanpa penambahan antikoagulan, yang juga mengandung trombosit dan leukosit dalam jumlah tinggi.²⁻³

Kedua terapi ini telah diteliti secara luas, dan meskipun banyak yang menunjukkan potensi manfaat dalam penyembuhan tendon, hasil studi mungkin bervariasi. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa PRP dapat mempercepat proses penyembuhan tendon melalui mekanisme seperti angiogenesis, modifikasi peradangan, dan stimulasi sel-sel yang terlibat dalam proses penyembuhan. Di sisi lain, PRF, dengan kemampuannya untuk memberikan matriks yang mendukung, berfungsi tidak hanya untuk mengeluarkan faktor pertumbuhan tetapi juga untuk menjaga kestabilan lingkungan mikro yang dibutuhkan selama proses regeneratif.³⁻⁴

Studi oleh Seprianto (2020) menunjukkan bahwa aplikasi PRP pada tikus Wistar dengan robekan tendon Achilles dapat mempercepat proses penyembuhan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, hasil penelitian mengenai efektivitas PRP pada manusia masih bervariasi. Sebuah tinjauan oleh Andia et al. (2021) menyatakan bahwa meskipun PRP menunjukkan hasil yang bagus dalam terapi ruptur tendon Achilles, namun variasi dalam metode persiapan dan aplikasi PRP menyebabkan inkonsistensi dalam hasil klinis.⁵

PRF sebagai generasi kedua dari produk yang kaya trombosit memiliki keunggulan berupa pelepasan faktor pertumbuhan yang lebih lambat dan berkelanjutan, serta pembentukan matriks fibrin yang dapat berfungsi sebagai scaffold alami untuk regenerasi jaringan. Meskipun demikian, penelitian yang membandingkan efektivitas PRP dan PRF dalam penyembuhan tendon Achilles masih terbatas, terutama pada model *in vivo*.⁶

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas aplikasi PRP dan PRF terhadap penyembuhan tendon Achilles pada tikus Wistar.

1.2. Platelet-rich Plasma

1.2.1. Definisi dari Platelet-rich Plasma (PRP)

Platelet-Rich Plasma (PRP) adalah konsentrat plasma darah yang mengandung jumlah trombosit yang lebih tinggi daripada kadar normal dalam sirkulasi darah. PRP diperoleh melalui proses sentrifugasi darah autologus yang bertujuan untuk memisahkan dan mengonsentrasikan trombosit serta faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses penyembuhan jaringan.⁷

PRP mengandung berbagai faktor pertumbuhan, seperti Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), dan Epidermal Growth Factor (EGF), yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi sel, dan regenerasi jaringan.⁸

Menurut Everts et al. (2006), PRP dapat diklasifikasikan berdasarkan metode persiapan dan kandungan leukositnya, yaitu Leukocyte-Rich PRP (LR-PRP) dan Leukocyte-Poor PRP (LP-PRP). LR-PRP mengandung jumlah leukosit yang lebih tinggi, yang dapat meningkatkan efek proinflamasi, sementara LP-PRP memiliki kandungan leukosit yang lebih rendah, yang dianggap lebih bermanfaat untuk kondisi degenerative.⁹

1.2.2. Faktor Bioaktif dalam PRP

Platelet-Rich Plasma (PRP) adalah konsentrat plasma darah autologus yang mengandung jumlah trombosit lebih tinggi dari kadar normal dalam sirkulasi darah. Trombosit ini mengandung berbagai faktor bioaktif yang berperan penting dalam proses penyembuhan dan regenerasi jaringan. Beberapa faktor bioaktif utama dalam PRP meliputi:^{7,9,10}

1. Platelet-Derived Growth Factor (PDGF): Merangsang proliferasi sel mesenkimal, fibroblas, dan sel otot polos, serta berperan dalam angiogenesis dan pembentukan matriks ekstraseluler.

2. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF): Merangsang angiogenesis dengan meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel, serta meningkatkan permeabilitas vaskular.
3. Epidermal Growth Factor (EGF): Mendorong proliferasi dan diferensiasi sel epitel dan fibroblas, yang penting dalam proses penyembuhan luka.
4. Insulin-Like Growth Factor (IGF): Meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi berbagai jenis sel, termasuk osteoblas dan kondrosit, serta berperan dalam sintesis kolagen.
5. Fibroblast Growth Factor (FGF): Berperan dalam proliferasi dan diferensiasi Sel mesenkimal, serta merangsang angiogenesis dan penyembuhan luka.

Faktor-faktor bioaktif ini bekerja sinergis dalam proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Mereka merangsang proliferasi, migrasi, dan diferensiasi sel, serta angiogenesis, yang semuanya penting untuk perbaikan jaringan yang efektif.¹¹

1.2.3. Formulasi dari PRP

Platelet-Rich Plasma (PRP) adalah konsentrat plasma darah autologus yang mengandung trombosit dalam jumlah yang lebih tinggi dari kadar normal dalam sirkulasi darah. PRP mengandung berbagai faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses penyembuhan dan regenerasi jaringan. Proses persiapan PRP melibatkan beberapa langkah utama.^{7,9,10}

1. Pengambilan Darah: Darah diambil dari pasien, antara 20 hingga 60 ml, tergantung pada kebutuhan terapi.
2. Sentrifugasi: Darah yang diambil kemudian disentrifugasi untuk memisahkan komponen-komponennya. Proses ini dapat dilakukan dengan satu atau dua tahap sentrifugasi:
 - Sentrifugasi Tunggal: Darah disentrifugasi sekali untuk memisahkan plasma kaya trombosit dari sel darah merah dan lapisan buffy coat.
 - Sentrifugasi Ganda: Setelah sentrifugasi pertama, plasma dan lapisan buffy coat dikumpulkan dan disentrifugasi lagi untuk meningkatkan konsentrasi trombosit.
3. Aktivasi PRP: Setelah sentrifugasi, PRP dapat diaktifkan dengan menambahkan agen seperti kalsium klorida atau trombin untuk merangsang degranulasi trombosit dan pelepasan faktor pertumbuhan.

1.2.4. Efek PRP pada Jaringan Lunak

Jaringan ikat, seperti tendon, ligament, dan otot sembuh melalui 3 fase: inflamasi, proliferasi, dan renovasi. Berbagai sitokin aktif selama masing-masing fase penyembuhan luka ini. Sitokin memainkan peran mendasar dalam penyembuhan luka dengan mengikat reseptor transmembrane pada sel pada luka dan sel yang bersirkulasi, mengawali intracellular signaling yang pada akhirnya mempengaruhi nuclear gene expression. Hasilnya adalah ekspresi protein yang mengatur proliferasi sel, kemotaksis sel, angiogenesis, diferensiasi seluler, dan produksi matriks ekstraseluler. Sitokoin dan faktor bioaktif lainnya yang dilepaskan dari PRP diketahui mempengaruhi proses metabolisme dasar di jaringan lunak sistem musculoskeletal termasuk tendon, ligament, dan otot.¹²

Efek pada Tendon dan Ligamen : Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa PRP dapat meningkatkan proses penyembuhan pada cedera tendon dan ligamen. Faktor pertumbuhan dalam PRP, seperti PDGF dan TGF- β , merangsang proliferasi dan migrasi sel-sel tenosit, meningkatkan sintesis kolagen, dan mempercepat remodeling jaringan. Studi oleh Zhang dan Wang (2010) menunjukkan bahwa PRP dapat mendorong diferensiasi sel punca tendon menjadi tenosit aktif, yang berkontribusi pada perbaikan jaringan tendon.¹³

Efek PRP pada Otot. Beberapa sitokin yang terkandung di dalamnya PRP memiliki efek positif pada penyembuhan otot. Misalnya, basic FGF (bFGF) dan IGF-I meningkatkan penyembuhan otot gastrocnemius pada kasus laserasi di Wistar. Otot yang diobati dengan IGF-I dan bFGF menunjukkan peningkatan penyembuhan dan secara signifikan meningkatkan kedutan cepat dan kekuatan tonus.¹⁴ Autologous Conditioned Serum disuntikkan pada 2, 24, atau 48 jam setelah cedera pada cedera kontusio gastrocnemius pada Wistar menghasilkan aktivasi sel satelit yang dipercepat dan peningkatan regenerasi diameter myofibers.¹⁵

1.2.5. PRP pada Cedera Akut Ligamen

Penggunaan PRP dalam pengobatan cedera ligament akut pada atlet beberapa tahun ini mendapatkan popularitas di kalangan spesialis kedokteran olahraga. Jika terjadi cedera ligament, perawatan medis pada atlet difokuskan pada pengembalian atlet ke dalam kompetisi yang aman dan cepat. Cedera pada ligament medial kolateral adalah masalah paling umum ditemukan pada olahraga seperti sepak bola dan rugby. Dua penulis (B.R.M dan M.B.G) menyelesaikan studi yang tidak

dipublikasikan yang mengevaluasi sekelompok pemain sepak bola profesional dengan cedera ligament medial kolateral akut tingkat II yang diterapi dengan injeksi PRP tunggal dan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diobati dengan istirahat standar dan rehabilitasi. Injeksi PRP diberikan pada kelompok dengan waktu 72 jam setelah cedera. Didapatkan waktu atlet dapat bermain kembali berkurang sebesar 27% dibandingkan dengan kelompok kontrol.¹⁵

1.3. Platelet-Rich Fibrin

1.3.1. Definisi dari Platelet-rich Fibrin (PRF)

Platelet-Rich Fibrin (PRF) adalah generasi kedua dari konsentrat trombosit autologus yang mengandung trombosit dan leukosit dalam matriks fibrin kompleks. PRF diperoleh melalui proses sederhana tanpa penggunaan antikoagulan, di mana darah pasien diambil dan segera disentrifugasi. Hasilnya adalah matriks fibrin yang mengandung trombosit dan faktor pertumbuhan, yang berfungsi sebagai scaffold alami untuk mendukung proses penyembuhan dan regenerasi jaringan.¹⁶

Pada PRF terdapat beberapa faktor pertumbuhan antara lain Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1), Insulin Growth Factor (IGF), dan Epithelial Growth Factor (EGF). Faktor-faktor ini berperan penting dalam mempercepat proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan.^{17,18}

1.3.2. Formulasi dari PRF

Platelet-Rich Fibrin (PRF) adalah generasi kedua dari konsentrat trombosit autologus yang digunakan untuk mempercepat penyembuhan dan regenerasi jaringan. Formulasi PRF melibatkan proses sederhana tanpa penggunaan antikoagulan. Darah vena pasien diambil dan segera disentrifugasi dalam tabung tanpa antikoagulan. Proses sentrifugasi ini menghasilkan tiga lapisan: lapisan bawah berisi eritrosit, lapisan tengah berupa bekuan fibrin yang kaya akan trombosit (PRF), dan lapisan atas berupa plasma aselular. Bekuan PRF kemudian dipisahkan dan dapat digunakan sebagai membran atau matriks untuk mendukung regenerasi jaringan.¹⁹

Inovasi terbaru dalam formulasi PRF adalah Injectable Platelet-Rich Fibrin (i-PRF), yang memiliki konsistensi cair dan dapat disuntikkan langsung ke area

target. i-PRF diperoleh dengan sentrifugasi darah pada kecepatan dan waktu tertentu tanpa antikoagulan, menghasilkan konsentrat trombosit yang dapat digunakan untuk meningkatkan penyembuhan jaringan.²⁰

1.3.3. Penanganan dan Penerapan PRF

Membran PRF dapat dengan mudah dilepaskan dari lokasi pembedahan. Karena memiliki konsistensi yang elastis, dokter dapat membuat lubang pada membran untuk menutupi area penyembuhan. PRF merupakan jaringan hidup yang berasal dari darah, sehingga harus ditangani dengan hati-hati. Karena PRF tidak mengandung antikoagulan, sampel darah akan menggumpal setelah bersentuhan dengan permukaan kaca tabung. Penanganan yang cepat diperlukan untuk memperoleh matriks PRF yang dapat digunakan. Jika terdapat keterlambatan antara pengambilan darah dan proses sentrifugasi, konsistensi PRF dapat berubah. Dengan mengeluarkan cairan yang terperangkap dalam matriks fibrin, dapat diperoleh membran fibrin autologus yang lebih kuat dan tahan lama.²¹

1.3.4. Faktor Pertumbuhan pada PRF

PRF mengandung berbagai faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses penyembuhan luka, antara lain:^{19,20}

- **Platelet-Derived Growth Factor (PDGF):** Merangsang proliferasi sel dan migrasi, serta memainkan peran kunci dalam angiogenesis dan pembentukan jaringan baru.
- **Transforming Growth Factor Beta (TGF- β):** Mengatur proliferasi sel, diferensiasi, dan produksi matriks ekstraseluler, yang penting untuk regenerasi jaringan.
- **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF):** Mendorong pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), yang esensial untuk suplai nutrisi dan oksigen ke area yang mengalami penyembuhan.
- **Epidermal Growth Factor (EGF):** Merangsang pertumbuhan dan migrasi sel epitel, mempercepat proses epitelisasi pada luka.
- **Fibroblast Growth Factor (FGF):** Mendukung proliferasi fibroblas dan angiogenesis, yang berkontribusi pada pembentukan jaringan ikat baru.
- **Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1):** Mempromosikan pertumbuhan dan diferensiasi berbagai jenis sel, termasuk sel otot dan tulang.

1.3.5. Penggunaan PRF

PRF mengandung matriks fibrin tiga dimensi yang kaya akan trombosit, leukosit, dan berbagai faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Penelitian menunjukkan bahwa PRF dapat digunakan sebagai terapi injeksi intra-artikular untuk mengurangi nyeri dan meningkatkan fungsi pada pasien dengan osteoarthritis lutut. Studi perbandingan antara PRF dan asam hialuronat menunjukkan bahwa PRF mungkin lebih efektif dalam mengurangi gejala osteoarthritis.²²

PRF telah digunakan dalam perawatan tendinopati kronis dan cedera ligamen. Meskipun beberapa penelitian menunjukkan perbaikan dalam penyembuhan dan pengurangan nyeri, bukti ilmiah masih terbatas dan diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi efektivitasnya.²³

1.4. PRP dan PRF

Kelebihan yang ditunjukkan PRF dibandingkan dengan PRP :

- **Tidak memerlukan antikoagulan**, sehingga lebih alami dan mengurangi risiko reaksi terhadap bahan tambahan.
- **Melepaskan faktor pertumbuhan secara bertahap**, memberikan efek regeneratif yang lebih berkelanjutan.
- **Memiliki matriks fibrin yang mendukung pembentukan jaringan baru**, meningkatkan stabilitas jaringan pada area yang mengalami regenerasi.
- **Lebih mudah digunakan dan diproses**, karena tidak memerlukan aktivasi tambahan setelah sentrifugasi.

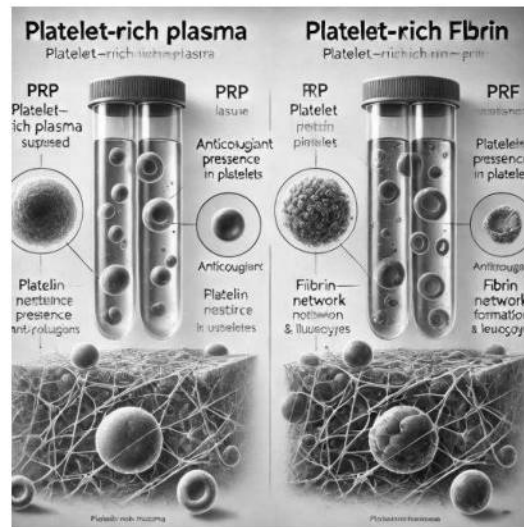
1.5. Generasi platelet konsentrat PRF vs PRP

Platelet konsentrat merupakan biomaterial yang kaya akan faktor pertumbuhan dan sitokin, yang berperan dalam regenerasi jaringan. Dua jenis utama yang sering digunakan adalah Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Platelet-Rich Fibrin (PRF). Seiring dengan perkembangan teknologi, berbagai generasi platelet konsentrat telah dikembangkan untuk meningkatkan efektivitasnya dalam berbagai aplikasi klinis, seperti kedokteran regeneratif, ortopedi, dan kedokteran gigi.²⁴

Perkembangan platelet konsentrat dapat dikategorikan ke dalam beberapa generasi berdasarkan metode persiapan dan karakteristik biologisnya:

- [illegible]

penggunaan antikoagulan, memungkinkan pembentukan matriks fibrin yang lebih kaya akan trombosit dan leukosit.²⁷



Gambar 2. Perbandingan antara PRP dan PRF

Pada struktur dan komposisinya didapatkan adanya perbedaan. Pada PRP berbentuk cair dan harus diaktifkan dengan trombin atau kalsium klorida sebelum digunakan. PRP mengandung konsentrasi tinggi trombosit tetapi lebih sedikit leukosit dan fibrin dibandingkan PRF. Sedangkan PRF membentuk matriks fibrin yang kaya trombosit dan leukosit, memungkinkan pelepasan faktor pertumbuhan yang lebih bertahap dan mendukung regenerasi jaringan dalam jangka panjang.

PRP melepaskan faktor pertumbuhan dengan cepat setelah aktivasi, yang menguntungkan dalam kasus yang membutuhkan respons penyembuhan segera tetapi kurang efektif untuk perbaikan jangka panjang. Sedangkan PRF melepaskan faktor pertumbuhan secara perlahan dalam beberapa hari, mendukung regenerasi jaringan yang lebih stabil dan berkelanjutan.

Tabel 1. Perbandingan Tiga Generasi Produk Konsentrat Trombosit.

Blood products	PRF (2004)	PRGF (2001)	PRP (1998)
Protocol	Easy	Complex	Very complex
Speed-rate	Fast	Very Slow	Slow
Reproducibility	No Bias	Possible Bias	Possible Bias
Use of anticoagulants	No	Yes	Yes
Amount obtainable	Good	Poor	Enough
Costs of the protocol	Low	High	Moderate
Amount of fibrin obtainable	High	Low	Low
Speed of fibrin formation	Physiological	High	High
Fibrin morphology	Trimolecular	Tetramolecular	Tetramolecular
Leukocytes amount	65%	0%	0-50%
Immunomodulatory properties	Yes	No	Poor
Neo-angiogenic potential	+++++	++	+
Osteoconductive potential (scaffolding)	High	Poor	Poor
Mechanical properties (sol-gel-membrane)	Good	Poor	Enough
Presence of MSCs	Yes	Yes	Yes

1.7. Tendon Achilles

Tendon Achilles adalah tendon terbesar dan terkuat dalam tubuh manusia, menghubungkan otot gastrocnemius dan soleus ke tulang kalkaneus. Struktur ini berperan penting dalam aktivitas lokomotor seperti berjalan, berlari, dan melompat dengan memungkinkan plantar fleksi kaki pada pergelangan kaki.²⁹

Tendon ini tersusun dari serat kolagen tipe I, proteoglikan, dan sel tenosit yang memberikan kekuatan dan elastisitasnya. Tendon Achilles terdiri dari serat kolagen yang tersusun paralel, memberikan kekuatan tarik yang tinggi. Selain itu, tendon ini memiliki sifat viskoelastis, memungkinkan penyimpanan dan pelepasan energi elastis selama aktivitas fisik, yang berkontribusi pada efisiensi mekanisme gerak. Fungsi utama tendon ini adalah memungkinkan plantar fleksi pergelangan kaki, yang esensial untuk pergerakan seperti berjalan, berlari, dan melompat.³⁰

1.8. Ruptur Tendon Achilles

Kejadian ruptur tendon Achilles mengalami peningkatan akibat meningkatnya aktifitas fisik dan olah raga, terutama pada usia 30 dan 40 tahunan. Secara statistik, 18 dari 100,000 ruptur tendon Achilles terjadi setiap tahunnya. Ruptur tendon Achilles akut umumnya terjadi pada laki-laki pada dekade 3 dan 4 yang melakukan aktifitas fisik dan olahraga secara intermiten.³¹

Ruptur tendon Achilles merupakan cedera yang sering terjadi, terutama pada individu yang aktif secara fisik. Ruptur dapat terjadi secara parsial atau total akibat trauma langsung, kontraksi eksentrik mendadak, atau degenerasi tendon sebelumnya.³² Faktor risiko utama mencakup usia di atas 30 tahun, aktivitas olahraga dengan gerakan eksplosif seperti sprint dan lompat, penggunaan antibiotik fluoroquinolon, dan injeksi kortikosteroid local.³³

Pasien dengan ruptur akut umumnya menggambarkan perasaan nyeri tiba-tiba pada tumit, terkadang disertai dengan bunyi hentakan, selama olahraga atau berlari. Mereka mungkin salah percaya bahwa pasien merasa telah ditendang atau dipukul di bagian belakang tendon tumit dengan bola atau raket. Mereka mengalami nyeri betis sisa, memar ringan, bengkak, dan kelemahan dalam "mendorong" dengan kaki yang terkena.^{34,35}

Pemeriksaan fisik yang dapat dilakukan yaitu Squeezed test Simmonds atau Thompson, Tes O'Brien, tes matles atau fleksi lutut, Tes copeland atau sphygmomanometer.^{36,37} Pencitraan biasanya tidak diperlukan, karena diagnosis dapat dibuat secara klinis. Ultrasonografi atau magnetic resonance imaging (MRI) dapat membantu jika diagnosis tidak jelas (ruptur parsial atau tendonopati). Namun, bila diduga terjadi ruptur achilles akut, pasien lebih baik dirujuk pada hari yang sama ke ahli bedah ortopedik daripada meminta pemeriksaan penunjang yang dapat menunda pengobatan.³⁵

1.9. Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu jenis hewan laboratorium yang paling umum digunakan dalam penelitian biomedis. Tikus ini pertama kali dikembangkan oleh Wistar Institute di Amerika Serikat pada awal abad ke-20 dan telah menjadi model standar dalam berbagai bidang penelitian, termasuk farmakologi, toksikologi, biologi molekuler, dan ilmu kedokteran.³⁸

Tikus Wistar memiliki beberapa karakteristik yang membuatnya ideal sebagai hewan model penelitian, yaitu:³⁹

- **Ukuran tubuh** yang relatif kecil, memungkinkan penanganan yang mudah.
- **Masa hidup** yang relatif pendek (2-3 tahun), memungkinkan studi jangka panjang dalam waktu yang lebih singkat.
- **Sistem reproduksi** yang cepat dengan masa kehamilan sekitar 21 hari dan jumlah anak per kelahiran yang banyak.
- **Stabilitas genetik**, membuatnya cocok untuk studi yang memerlukan hasil yang dapat direproduksi.
- **Respons fisiologis yang mirip dengan manusia**, terutama dalam penelitian farmakologi dan toksikologi.

Tikus Wistar sering dipilih sebagai model penelitian karena memiliki beberapa keunggulan, seperti: Ketersediaan banyak dan harga yang relatif terjangkau, Mudah dikembangbiakkan dalam kondisi laboratorium yang terkendali, Sensitivitas terhadap berbagai agen farmakologis dan toksikologis, memungkinkan penggunaannya dalam studi efek obat dan zat kimia, dan Struktur organ dan sistem metabolisme yang cukup serupa dengan manusia, memungkinkan ekstrapolasi hasil penelitian ke dalam aplikasi klinis.⁴⁰

Penggunaan tikus sebagai bahan percobaan lebih menguntungkan daripada mencit karena ukurannya yang lebih besar dan bulu tikus yang tidak tebal sehingga memudahkan

penelitian pada saat pemberian bahan topikal pada kulit tikus maupun pemisahan epidermis dari dermis.

1.10. Rumusan masalah

Adakah perbedaan hasil dari pemberiaan PRP atau PRF terhadap penyembuhan tendon Achilles pada tikus Wistar.

1.11. Hipotesa

Pemberian PRF memiliki efektifitas yang lebih baik secara klinis dan statistik daripada PRP dalam penyembuhan tendon Achilles

1.12. Tujuan Penelitian

1.3.6. Tujuan Umum :

- Untuk membandingkan efektivitas aplikasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dan Platelet-Rich Fibrin (PRF) dalam penyembuhan tendon Achilles

1.3.7. Tujuan Khusus :

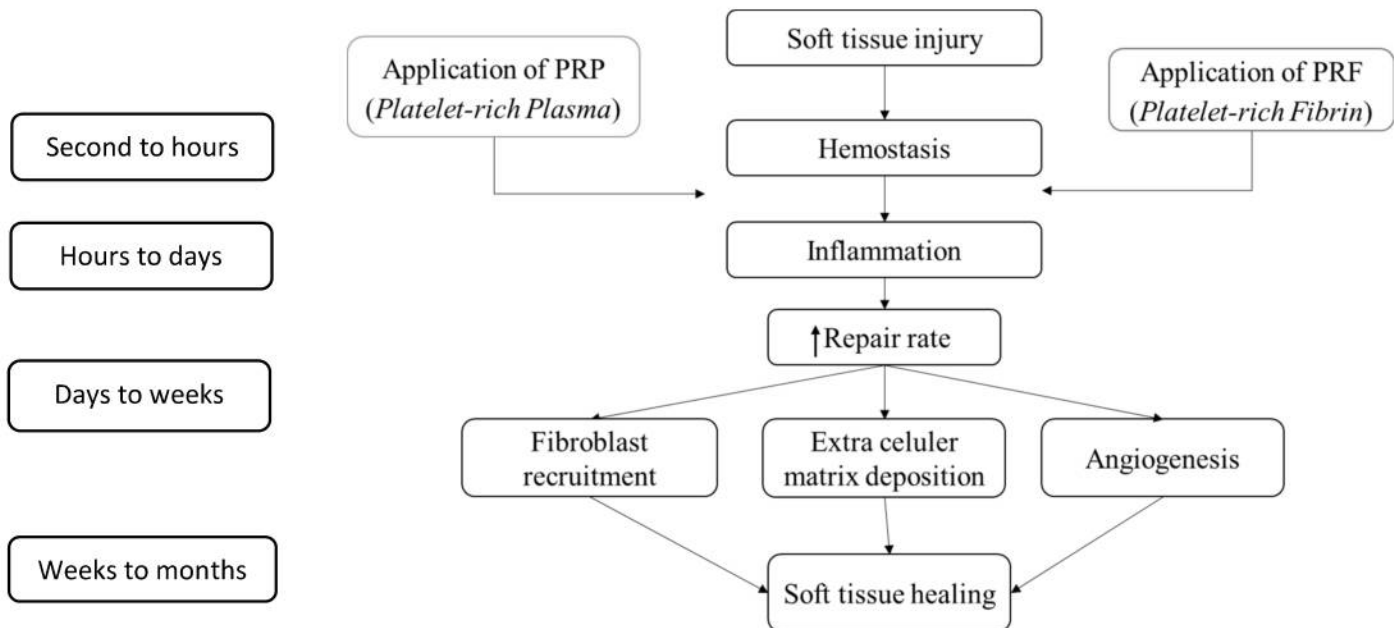
- Membandingkan gambaran makroskopis tendon Achilles pada pemberian PRF dan PRP
- Membandingkan gambaran histopatologis tendon Achilles pada pemberian PRF dan PRP
- Membandingkan *biomechanical tensile* tendon Achilles pada pemberian PRF dan PRP.

1.13. Manfaat Penelitian

- Dalam Bidang Akademik
 - Memberikan informasi mengenai hubungan pemberian PRP dan PRF pada penyembuhan tendon Achilles
- Dalam Bidang Masyarakat
 - Memberikan informasi mengenai potensi terapi baru bagi penyembuhan tendon Achilles.
- Dalam Bidang Penelitian

- Menjadi dasar penelitian yang dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut yang menggunakan rancangan dan metode penelitian yang lebih kompleks.

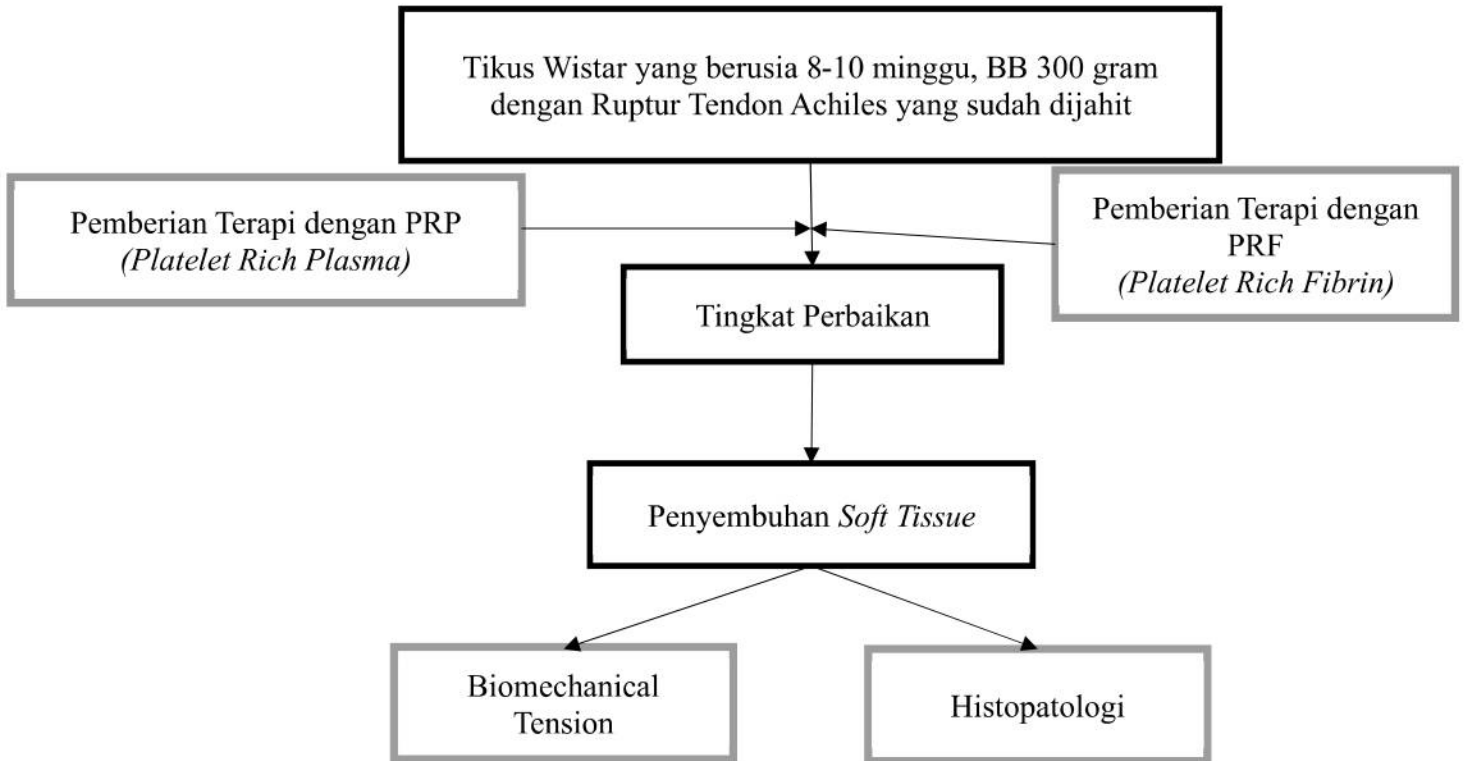
1.14. Kerangka Teori



BAB II

KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL

2.1. Kerangka Konsep



Keterangan :



= Variabel Bebas



= Variabel terikat

2.2. Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Cara Ukur	Jenis Variabel	Skala Ukur
VARIABEL BEBAS						
1	<i>Platelet rich plasma (PRP)</i>	Darah yang telah melalui sentrifugasi awal untuk memisahkan sel darah merah (RBC) kemudian sentrifugasi kedua untuk mengonsentrasikan trombosit, yang tersuspensi dalam volume plasma akhir terkecil.	Tabung/pipet ukur	Kuantitatif	Numerik	milliliter
2	<i>Platelet rich fibrin (PRF)</i>	Produk darah tanpa antikoagulan yang telah disentrifugasi pada 2700 rpm (60 g) selama 3 menit dan kemudian ditampung dalam tabung plastic tanpa pelapis apapun.	Tabung/pipet ukur	Kuantitatif	Numerik	milliliter
VARIABEL TERIKAT						
1	<i>Biomechanical testing</i>	Jumlah gaya yang dapat ditahan oleh jaringan untuk mencegah terjadinya ruptur	Intron / alat uji tarik	Kuantitatif	Numerik	Newton
2	Histopatologi	Respon seluler	Mikroskop	Kualitatif	Nominal	Hipertrofi kondrosit Baik (ada) / Buruk (tidak ada)
		Inflamasi dan Kualitas Matriks	Mikroskop	Kualitatif	Nominal	Baik (ada) / Buruk (tidak ada)

		Vaskularisasi	Mikroskop	Kualitatif	Nominal	Baik (ada) / Buruk (tidak ada)
		Orientasi Seluler	Mikroskop	Kualitatif	Nominal	Reguler / Irreguler
		Vakuolisasi	Mikroskop	Kualitatif	Nominal	Baik (ada) / Buruk (tidak ada)

2.3. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental randomisasi dimana pengambilan data dilakukan dalam kurun waktu tertentu dan dilakukan *follow up* berkala dengan metode *single blind study*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data mengenai gambaran mikroskopis, *biomechanical tensile* dari tendon achilles setelah pemberian PRP dan PRF

2.4. Populasi Dan Teknik Sampel

2.4.1. Populasi Penelitian

- Populasi Target : Semua Wistar *Rattus norvegicus*
- Populasi Terjangkau : Semua Wistar *Rattus norvegicus* yang dipelihara di laboratorium klinik hewan Sunu Makassar pada periode April 2025
- Sampel Penelitian : Wistar *Rattus norvegicus* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu, purposive sampling

2.4.2. Sampel penelitian

Sampel Penelitian ini adalah Wistar *Rattus norvegicus* yang diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi pada penelitian ini

Kriteria Inklusi:

- Wistar *Rattus norvegicus* jantan usia 8-10 minggu
- Berat badan rata rata 250-300 gram
- Sehat (rambut tidak kusam, botak, rontok, gerak aktif, konsumsi pakan lancar)

Kriteria Eklusi:

- Wistar nampak sakit (gerak tidak aktif)
- Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium,
- Wistar mati selama penelitian

2.4.3. Besar sampel penelitian

Sebagai penelitian experimental laboratoris, jumlah sampel penelitian ini

dihitung berdasarkan rumus Federer.

Cara menghitung sampel:

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(3-1) \times (n-1) \geq 15$$

$$(n-1)2 \geq 15$$

$$n-1 \geq 7,5$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 9$$

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan perhitungan diatas jumlah sampel minimum sebanyak 9 sampel pada setiap kelompok. Karena ada 3 kelompok perlakuan maka total sampel yang digunakan adalah 27 ekor Wistar. Sampel dilebihkan 10 persen menjadi total sampel 30 ekor Wistar.

2.5. Persiapan Dan Tahapan Penelitian

2.5.1. Persiapan Penelitian

2.5.1.1. Alat dan Bahan

Alat dan bahan untuk pemeliharaan Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan:

- Kandang tikus dengan ukuran 31x10x40 cm dan atap bedding kawat
- Tempat minuman plastik khusus tikus yang dibeli dari *petshop*.

Alat dan bahan untuk membuat PRF :

- Sentrifuge
- Tabung BD 1 buah tanpa koagulan
- Pipet mikrohematokrit
- Kapas
- Eter
- Steril Container untuk PRF
- Rak untuk tabung darah
- Wadah anastesi inhalasi

Alat & bahan untuk Perlakuan Hewan coba:

- Alat & bahan sedasi dan anastesi (ketamin & xylazine) 0.15 ml/tikus
- Spoit 1 cc untuk anastesi Spoit 10 cc untuk irigasi
- Larutan irigasi (salin & metronidazole infus 500 mg)

- d. Mikromotor
- e. Round bur diamond diameter dan kedalaman 3 mm
- f. Hand piece *Low speed*
- g. Alat kondensor *bone graft*
- h. Blade 15
- i. Kapas dan kasa
- j. Alcohol 70%
- k. Sarung tangan
- l. Masker
- m. Periosteal elevator
- n. Gunting
- o. Needle holder
- p. Eter
- q. Botol steril
- r. Betadin solution

2.5.2. Prosedur Penelitian

- **Pemeliharaan Hewan Coba Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan**

Sebelum perlakuan, semua tikus diadaptasikan (aklimatisasi) dan dipelihara secara berkelompok. Adaptasi hewan dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan untuk mengkondisikan hewan dalam lokasi penelitian. Makanan berupa pakan standar tikus wistar dengan jumlah 20 gram yang diberikan 2x sehari, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*. Temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran alamiah (suhu ruang). Pembersihan sekam kandang dilakukan setiap dua hari sekali untuk mencegah sekam lembab, kotor, dan berbau

- **Perlakuan Pada Hewan Coba.**

- 1. Pengambilan PRF pada hewan coba
 - a. Hewan terlebih dahulu dianestesi inhalasi menggunakan eter, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan darah setelah hewan terlihat teranestesi.

- b. Diambil 3 cc darah dari *Plexus infraorbitalis*, masukkan dalam tabung tanpa antikoagulan (Non-EDTA). Sentrifuge 2700 rpm selama 12 menit. Tampak 3 lapisan yaitu :
 - Lapisan atas berisi PPP
 - Lapisan ke-2 berisi PRF
 - Lapisan bawah berisi endapan darah merah.
- c. Keluarkan lapisan atas dengan menggunakan spoit, kemudian ambil lapisan kedua yang menggumpal dengan menggunakan pinset untuk mendapatkan PRF. Gunting perbatasan PRF dengan sel darah merah. Letakkan di atas kasa dan siap untuk digunakan.

2. Protokol ekstraksi PRP

- a. Hewan terlebih dahulu dianastesi inhalasi menggunakan eter, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan darah setelah hewan terlihat teranastesi.
- b. Diambil 3 cc darah dari *Plexus infraorbitalis*, masukkan dalam tabung dengan koagulan (EDTA)
- c. Sentrifugasi pertama dengan kecepatan rekomendasi : 3000 rpm selama 3 menit → menjadi 3 lapisan : RBC paling bawah, *buffy coat*, dan plasma aselular (PPP / platelet-poor-plasma) di lapisan paling atas. Platelet sudah terkonsentrat
- d. Pindahkan lapisan PPP dan *buffy coat* ke tabung steril kosong dan lakukan sentrifugasi
- e. Sentrifugasi kedua dengan kecepatan rekomendasi : 3000 rpm selama 10 menit → hanya menyisakan lapisan *buffy coat*
- f. Platelet konsentrat diaktivasi dengan thrombin dan atau kalsium klorida 10% dengan perbandingan 9: 1 untuk mengaktivasi platelet dan polimerasi fibrin.

3. Proses Pembedahan

- a. Penelitian dilakukan di Lab Terpadu Prodi Kedokteran Hewan dibantu oleh dokter hewan dan asisten. Sebelum masuk dalam tahap operasi bedah pembuatan defek pada tulang femur tikus,

dilakukan pemilihan tikus yang sudah diadaptasikan selama 7 hari dan berat badan ditimbang dengan range 300-400 gram.

- b. Tikus dicukur bulunya pada bagian femur untuk mensterilkan daerah operasi, kemudian didesinfeksi dengan betadine dan selanjutnya tikus disedasi dan anestesi menggunakan kombinasi ketamin dan xylazine (0,15-0.2 ml/tikus)
- c. Selanjutnya setiap tikus masuk dalam tahap pembedahan pada salah satu femur, daerah bedah dilakukan insisi horizontal dengan kauter untuk mengurangi perdarahan dan dilakukan insisi pada Achilles
- d. 30 ekor tikus wistar jantan dilakukan PR dan PRF dan diberi label no.1 – 30. Enam ekor wistar jantan dengan berat paling ringan sebagai cadangan.
- e. Dilakukan penjahitan dengan silk untuk menyatukan kulit, serta diberi kasa dan ditutup dengan hypafix
- f. Diberikan antibiotik long acting injectable suspension (itramox-150 LA) 1- 7 hari setelah pembedahan. Analgesik tidak diberikan dengan pertimbangan analgesik dapat mempengaruhi proses inflamasi.

4. Protokol pemeliharaan post operasi

- a. Tikus wistar Jantan sebagai hewan coba dipantau kesadarannya dengan melakukan pengecekan berkala.
- b. Setelah hewan dipastikan sadar 100%, pemantauan dilanjutkan untuk melihat respon pemulihan yang dapat dilihat dari keinginan tikus untuk makan dan minum sendiri.
- c. Pemberian antibiotik dilakukan setiap hari selama 5-7 hari untuk mencegah adanya infeksi sekunder post operasi
- d. Pemberian pakan diberikan sebanyak 2 kali sehari yakni pagi dan sore hari, sedangkan pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum*.
- e. Kandang dibersihkan setiap hari selama seminggu untuk mencegah adanya penumpukan mikroorganisme yang dapat

menjadi pemicu infeksi sekunder, kemudian dilanjutkan dengan pembersihan kandang setiap 2 hari sekali.

5. Protokol euthanasia

- a. Tikus wistar sebagai hewan coba dianastesi terlebih dahulu menggunakan eter.
- b. Setelah hewan mulai tidak sadarkan diri, dilakukan emboli jantung menggunakan spuit 3 cc.
- c. Setelah hewan dipastikan mati, dilanjutkan dengan proses pembedahan/nekropsi.

6. Protokol Biomechanical testing

- a. Dilakukan pembedahan hewan dengan mengambil jaringan tulang femur dan tulang tibia dengan mempertahankan jaringan uji
- b. Jaringan tersebut dimasukkan ke dalam tabung ukur berisi akuades dan dibawa ke fakultas Teknik UNHAS
- c. Fiksasi tabung pada alat intron untuk persiapan uji Tarik
- d. Dilakukan proses uji tarik dan data didokumentasikan dan dimasukkan ke dalam computer
- e. Jaringan kemudian dinekropsi menggunakan formalin 10% untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi

7. Protokol pemeriksaan histopatologi

- a. Preparasi Sampel

Pertama – tama dilakukan preparasi organ/sampel kemudian masukkan ke dalam formalin 10% (sediaan botol sample). Proses pengawetan dilakukan dengan menggunakan Formalin 10%. Kemudian potongan sample dimasukkan dalam tissue cassette, selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan Alkohol 70% (tahapan dehidrasi bertingkat).

- b. Proses Histopat :

- Dehidrasi Bertingkat

- Alkohol 70%, 80%, 90%, 95% selama 24 jam

- Alkohol 100% I, II, III, masing² selama satu jam
- Clearing
 - Xylol I selama satu jam
 - Xylol II selama 30 menit
 - Xylol III selama 30 menit (15 menit pertama dibiarkan disuhu ruang, 15 menit berikutnya di dalam inkubator) dengan suhu 56°
- Perendaman parafin dan embedding
- Pemotongan dengan menggunakan microtom
- c. Tahap Pewarnaan HE :
 - Deparafinisasi
 - Xylol I
 - Xylol II
 - Alkohol 100% I
 - Alkohol 100% II
 - Alkohol 95%, 90%, 80%, 70%
 - Direndam Air/Aquadest
 - Pewarnaan Hematoxylin 10 menit
 - Aquadest
 - Pewarnaan Eosin 10-30 menit 20 menit
 - Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, Xylol
 - Tutup dengan cover glass menggunakan Entellan

2.6. Rencana Pengolahan Data

Pengolahan data akan dilakukan dengan menggunakan program komputer yaitu SPSS versi 22.0 dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. *Editing*

Data yang terkumpul pada kuesioner diperiksa kelengkapan, relevansi, dan keseragaman jawaban pada lembar kuesioner.

2. *Coding*

Data tersebut kemudian dipindahkan ke dalam kartu kode sehingga menjadi data yang dapat dengan mudah dianalisis lebih lanjut.

3. *Entry*

Data gambaran makroskopis dan mikroskopis (immunohistokimia dan histopatologis), biomechanical tensile selanjutnya diinput dengan menggunakan alat bantu software SPSS 22.0

4. *Clean Up*

Setelah data dimasukkan ke dalam komputer, langkah selanjutnya adalah melakukan pemeriksaan data terhadap adanya kesalahan saat melakukan *coding* dan *entry data*.

5. Melakukan analisa data

Analisa akan dilakukan uji asumsi, normalitas dan homogenitas data. Jika asumsi terpenuhi dan sebaran data normal dan varian data homogen, maka untuk data makroskopis dan mikroskopis dengan variable kategorik akan menggunakan uji analisa non-parametric Kolmogorov-smirnov dengan syarat tabel BxK, untuk data mikroskopis dengan variabel numerik dan biomechanical tensile akan menggunakan One Way Anova dengan jika asumsi terpenuhi dengan alternatif Kruskal wallis jika asumsi tidak terpenuhi. Jika data memenuhi signifikansi maka uji akan dilanjutkan dengan uji korelasi spearman untuk membandingkan gambaran makroskopis dan mikroskopis terhadap data biomechanical tensile dengan menggunakan uji non parametrik spearman analysis. Test penelitian ini dianalisis dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$)

6. Menulis laporan penelitian

2.7. Alur Penelitian

