

Perbandingan Efektivitas Metode Preparasi *Platelet-Rich Plasma* (PRP) Dalam Menghasilkan Konsentrasi Platelet Yang Besar

Puspa Wardhani¹, Erlina Sih Mahanani²

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

² Dosen Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstrak

Trombosit merupakan faktor utama yang berperan dalam pembekuan darah, dimana didalam trombosit terdapat banyak sekali faktor-faktor pertumbuhan. Faktor-faktor pertumbuhan tersebut dapat ditemukan di dalam *Platelet-Rich Plasma*. *Platelet-Rich Plasma* adalah plasma kaya trombosit atau platelet yang didalamnya terdapat banyak faktor pertumbuhan yang berguna untuk penyembuhan luka, angiogenesis, dan pembentukan jaringan. Pembuatan *Platelet-Rich Plasma* bisa dilakukan dengan berbagai metode dengan cara sentrifugasi untuk menghasilkan platelet yang besar. **Tujuan umum** dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui metode preparasi *Platelet-Rich Plasma* dalam menghasilkan konsentrasi platelet dalam jumlah yang besar. **Metode dan bahan** yang digunakan dalam penelitian ini adalah Metode Matsui-Tabata (2011) dan Metode Nugraha *et.al.*, (2012) dan bahan antiokoagulan yang digunakan adalah *Acid Citrate Dextrose* (ACD) dan *Citrate Phosphate Dextrose* (CPD) dan proses pembuatannya dilakukan dengan dua kali sentrifugasi. Data dianalisis menggunakan Independent Sampel T-Test. **Hasil** analisis data menggunakan Independent Sampel T-Test menunjukkan nilai $p < 0.05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kedua metode dalam menghasilkan jumlah *Platelet-Rich Plasma*. **Kesimpulan** dari penelitian ini yaitu kedua metode sama-sama dapat digunakan dalam preparasi PRP (*Platelet-Rich Plasma*).

Kata kunci : *Platelet-Rich Plasma* (PRP), ACD (*Acid Citrate Dextrose*), CPD (*Citrate Phosphate Dextrose*)

Abstract

Thrombocyte or platelet plays an important role in blood clotting, because it is rich of several different growth factors. The growth factors are found in Platelet-Rich Plasma. Platelet-Rich Plasma is blood plasma that has been enriched with platelets or thrombocytes which contain different growth factors that promote wound healing, angiogenesis, and tissue remodeling. Platelet-Rich Plasma can be prepared through several centrifugation methods to produce large amount of platelets. The general purpose of this study was to determine the preparation methods of Platelet-Rich Plasma which produce large quantity of PRP. Matsui-Tabata (2011) and Nugraha et.al. (2012) methods have been used in this study. Acid Citrate Dextrose (ACD) and Citrate Phosphate Dextrose (CPD) were used as coagulants. Technique of double centrifugation was performed in the preparation. Independent T-test was carried out to analyze data. The result of data analysis using Independent Sample T-test indicates value of $p < 0.05$ which means no significant differences found on both methods in yielding the quantity of Platelet-Rich Plasma. Therefore, both methods may be used in PRP preparation.

Keyword : Platelet-Rich Plasma (PRP), ACD (Acid Citrate Dextrose), CPD (Citrate Phosphate Dextrose)

Pendahuluan

Pengobatan menggunakan *Platelet-Rich Plasma* (PRP) akhir-akhir ini telah menjadi terobosan terbaru sebagai perangsang pertumbuhan tulang dan penyembuhan jaringan lunak yang berkaitan dengan perkembangan ilmu bioteknologi dalam peningkatan minat terhadap teknik rekayasa jaringan (*tissue engineering*) meskipun berita tentang penggunaan PRP masih terdapat banyak perbedaan pendapat dan kesalahfahaman dalam dunia klinis¹. Komponen yang berperan penting dalam perkembangan teknik rekayasa jaringan antara lain sel, faktor pertumbuhan yang didapatkan dalam PRP, dan perancah². *Platelet-Rich Plasma* (PRP) merupakan plasma kaya platelet yang diperoleh dari darah *autologous* (dari tubuh yang sama) yang ditempatkan di

dalam plasma dan mengandung banyak faktor pertumbuhan³.

Platelet mempunyai banyak sekali faktor pertumbuhan (*growth factor*) yang mempunyai peran sangat penting. Faktor pertumbuhan yang dikeluarkan oleh trombosit mengawali dan mengatur penyembuhan luka pada jaringan lunak dan keras³ dan faktor-faktor pertumbuhan itu dapat ditemukan dalam pembuatan *Platelet-Rich Plasma* (PRP) dalam jumlah yang besar⁴.

Platelet-Rich Plasma (PRP) telah dipergunakan secara klinis sebagai campuran faktor pertumbuhan yang mudah disiapkan yang dapat membantu penyembuhan luka, angiogenesis, dan pembentukan jaringan⁵. *Platelet-Rich Plasma* (PRP) mempunyai tujuh faktor pertumbuhan yaitu PDGF $\alpha\alpha$,

PDGF $\beta\beta$, PDGF $\alpha\beta$, TGF- β , TGF- β_2 , VEGF, dan EGF¹. Ada berbagai jenis metode dalam pembuatan PRP mulai dari yang canggih yaitu dapat dilakukan di rumah sakit menggunakan peralatan mutakhir, hingga metode sederhana yang dapat dilakukan secara langsung di klinik⁴.

Pembuatan PRP yang akan dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode yang dibuat oleh Yasuhiko Tabata dan Makoto Matsui (2011) yang akan dibandingkan dengan metode yang dibuat oleh Hans Kristian Nugraha *et.al.*, (2012) dengan cara sentrifugasi ganda dengan kecepatan, waktu, suhu, dan antikoagulan yang telah ditetapkan masing-masing.

Bahan dan Metodologi Penelitian

Penelitian ini akan membandingkan antara Metode

Matsui-Tabata dan Metode Nugraha *et.al.*, dalam penghasilan pembuatan PRP. Darah yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tiga orang pendonor yaitu mahasiswa Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Pendidikan Dokter GIGI Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Setiap pendonor akan diambil darahnya sebanyak 20 ml lalu dimasukkan kedalam vacutainer. Darah 20 ml tersebut akan digunakan 2ml untuk menghitung *whole blood* (darah murni) dan sisanya 18 ml akan digunakan untuk preparasi pembuatan PRP dengan kedua metode. Darah 18 ml akan dibagi menjadi dua yaitu 9 ml untuk Metode Matsui-Tabata dan 9 ml untuk Metode Nugraha *et.al.*, sehingga total sampel berjumlah enam. Untuk tiga sampel Metode

Matsui-Tabata akan diberikan antikoagulan *Acid Citrate Dextrose* (ACD) sedangkan tiga sampel Metode Nugraha *et.al.*, diberikan antikoagulan *Citrate Phosphate Dextrose* (CPD). Tahap selanjutnya ke enam sampel yang telah dipindahkan ke dalam mikrotube dimasukkan ke dalam mesin sentrifuga untuk dilakukan sentrifugasi sebanyak dua kali. Pada sentrifugasi pertama Metode Matsui-Tabata diatur dengan kecepatan 450 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius dalam waktu 7 menit, dan pada sentrifugasi kedua diatur dengan kecepatan 1600 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius dalam waktu 5 menit. Metode Nugraha *et.al.*, dilakukan sentrifugasi pertama dengan kecepatan 1300 rcf/g dalam waktu 5 menit dan suhu 4 derajat celcius dan pada sentrifugasi kedua dengan

kecepatan 2300 rcf/g dalam waktu 7 menit dan suhu 4 derajat celcius.

Setelah proses sentrifugasi akan nampak tiga lapisan yaitu plasma darah, *buffycoat* (cairan ditengah antara plasma dan eritrosit), dan eritrosit. *Buffycoat* itulah yang akan diambil dan hitung dengan pewarnaan giemsa untuk mengetahui jumlah PRP.

Jenis penelitian yang dilakukan termasuk penelitian laboratorium yang bersifat eksperimental dengan *Post Test Design*. Analisis data yang digunakan adalah Uji Independent Sample T-Test menggunakan program SPSS 15.0.

Hasil dan Pembahasan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya kenaikan jumlah platelet dari *whole blood*

semula hingga sesudah preparasi dengan kedua metode. Data yang diperoleh bisa dilihat pada tabel I dibawah ini.

Donor	Whole Blood	Jumlah	Jumlah
		Trombosit Metode Nugraha et.al., 2012 (Ribu/mmk)	Trombosit Metode Matsui-Tabata, 2011 (Ribu/mmk)
1	196	454	442
2	294	1582	1198
3	224	1002	574

Tabel I. Hasil perhitungan PRP dengan pewarnaan giemsa pada apusan darah.

Hasil perhitungan dari tabel I menunjukkan bahwa adanya kenaikan jumlah platelet mulai dari *whole blood* dan setelah dilakukan preparasi dengan kedua metode. Pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa Metode Nugraha *et.al.*, yang

menggunakan antikoagulan CPD menghasilkan angka yang lebih besar dibandingkan dengan Metode Matsui-Tabata yang menggunakan antikoagulan ACD.

Berdasarkan data diatas dapat dijabarkan bahwa pada proses pembuatan PRP dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor tersebut dibagi menjadi 2 tinjauan yaitu secara metodologi dan secara komposisi kimia. Faktor tinjauan secara metodologi melingkupi kecepatan sentrifugasi, lama waktu pemutaran saat sentrifugasi dan suhu sedangkan untuk faktor tinjauan secara komposisi kimia melingkupi jenis antikoagulan dan buffer.

1. Sentrifugasi dan waktu

Sentrifugasi adalah proses pemisahan campuran heterogen berdasarkan perbedaan massa jenis menggunakan gaya sentrifugal.

Sentrifugasi dapat dilakukan pada fase padat cair yang tersuspensi atau terlarut dengan perbedaan rapat massa jenis. Sebuah benda dengan massa yang berputar dalam sebuah orbit dengan kecepatan sudut yang konstan disebut gaya sentrifugal. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa gaya sentrifugasi berbanding lurus dengan kecepatan pemutaran, semakin besar kecepatan pemutaran pada mesin sentrifuga maka akan semakin besar pula tingkat pemisahan senyawa-senyawa dalam campuran (koloid) berdasarkan massa jenisnya. Apabila waktu yang digunakan saat pemutaran semakin lama, tentunya pemisahan senyawa berdasarkan massa jenisnya akan semakin baik.

2. Suhu

Suhu sangat berpengaruh untuk menjaga viabilitas dan

kestabilan komponen yang ada didalam darah. Suhu yang digunakan adalah 4 derajat celcius karena pada kondisi ini seluruh aktivitas bakteri dan aktivitas enzimatik berhenti sehingga senyawa dan pH tidak mengalami perubahan kondisi.

3. Antikoagulan dan buffer

Antikoagulan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Acid Citrate Dextrose* (ACD) dan *Citrate Phosphate Dextrose* (CPD). Komposisi penyusun ACD antara lain *Citric Acid Anhydrous*, *Dextrose Monohydrate*, *Sodium Citrate Dihydrate*, dan *Aquades*, sedangkan komposisi penyusun CPD adalah *Citric Acid Anhydrous*, *Dextrose Monohydrate*, *Sodium Citrate Dihydrate*, *Aquades*, dan *Natrium Hydrophosphate* (NaH_2PO_4). Pada dasarnya kandungan antara kedua

antikoagulan adalah sama, yang membedakan adalah pada CPD terdapat *Natrium Hydrophosphate* yang berfungsi sebagai buffer basa. Buffer sendiri berfungsi untuk menjaga kestabilan harga pH dengan menambahkan asam atau basa konjugasinya.

Tidak terdapat hubungan secara langsung antara penggunaan CPD dengan besarnya hasil yang didapat dalam pembuatan PRP, tetapi bisa ditemukan secara berantai. Kandungan sitrat berguna untuk mengikat kalsium sehingga tidak terjadi aktivitas koagulasi, artinya sitrat berfungsi sebagai buffer asam yang menjaga nilai pH. Dextrosa menyediakan sumber energi untuk sel darah merah agar tidak mengalami kerusakan. Fosfat berfungsi sebagai buffer basa yang memelihara kadar 2,3-

diphosphoglycerate (2,3-DPG) dan meningkatkan produksi *adenosine triphosphate* (ATP) sehingga meningkatkan viabilitas eritrosit⁶. Berdasarkan uraian diatas kita mendapatkan poin penting yaitu dalam meningkatkan metode penyimpanan ada tiga hal yang harus difokuskan yaitu pengoptimalan penghasil energi ATP untuk viabilitas eritrosit, indikator kalium agar tidak terjadi penggumpalan, dan tingkat kestabilan pH.

Darah harus dijaga kestabilannya pada kisaran pH 7,4 - 7,6. Apabila keadaan pH tidak stabil diluar sistem tubuh maka sistem koloid darah akan mengalami penggumpalan. Hal ini sesuai dengan fungsi antikoagulan yang mempunyai peran mencegah antikoagulasi, menjaga viabilitas sel, dan mengoptimalkan pH selama

penyimpanan (Battaglia, 2001). Didalam tubuh manusia terdapat buffer alami yang cenderung bersifat basa yaitu pada cairan intrasel adalah pasangan *dihydrogenphosphate-monohydrogenphosphate* dan pada cairan ekstrasel adalah pasangan asam karbonat-bikarbonat. Pada antikoagulan CPD memiliki buffer basa yang serupa dengan buffer alami didalam tubuh dan mendekati nilai pH darah yang bersifat basa (7,4-7,6) yaitu buffer *phosphate*, sedangkan pada ACD hanya mengandung buffer asam yaitu *acid citrate*. Berdasarkan uraian diatas dapat analisis bahwa ACD hanya memiliki satu buffer asam yaitu *acid citrate* sedangkan CPD memiliki dua buffer yaitu *acid citrate* dan *natrium phosphate* sehingga CPD bisa lebih stabil menjaga darah pada kondisi

diluar tubuh dalam kondisi asam maupun basa.

Hubungan antara antikoagulan ACD dan CPD tidak didapatkan langsung dalam menghasilkan jumlah PRP, tetapi dari penjelasan diatas dapat diambil kesimpulan bahwa semakin baik antikoagulan (zat pengawet darah) maka semakin baik pula untuk darah bisa bertahan dikondisi yang ekstrim (pH, sentrifugasi, energi, dan kalium). Apabila darah sudah bisa bertahan dengan kondisi ekstrim maka darah mampu untuk bertahan pada proses sentrifugasi dengan kecepatan yang tinggi sehingga platelet yang dihasilkanpun tidak banyak yang rusak, dalam hal ini CPD lebih baik dalam mempertahankan kondisi darah dibandingkan dengan ACD.

Hasil analisis data menggunakan Independent Sampel T-Test diketahui bahwa nilai signifikansi $p < 0.05$ sehingga pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kedua metode sama-sama dapat digunakan dalam preparasi pembuatan *platelet-rich plasma*, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata pada hasilnya.

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang berjudul perbandingan efektivitas metode preparasi *platelet-rich plasma* (PRP) dalam menghasilkan konsentrasi platelet yang besar dapat diambil kesimpulan bahwa kedua metode tersebut dapat digunakan dalam preparasi PRP untuk menghasilkan konsentrasi platelet yang besar.

Daftar Pustaka

1. Marx, R. E. 2001. Platelet-Rich Plasma (PRP) : What is PRP and What is not PRP? *IMPLANT DENTISTRY vol 10*, 225-228.
2. Matsui, M., & Tabata, Y. 2012. Enhance angiogenesis by multiple release of platelet-rich plasma contents and basic fibroblast growth factor from gelatin hydrogels. *Elsevier*, 1-10.
3. Eppley, B. L., & Woodell, J.E. 2004. Platelet Quantification and Growth factor Analysis from Platelet-Rich Plasma : Implications for Wound Healing. *American Society of Plastic Surgeon vol 114(6)*, 1502-1508.
4. Nugraha, H. K., Muljanti, M., Hernaningsih, Y., & Nugraha, J. 2012. Platelet-Rich Plasma Preparation Protocols : A Preliminary Study. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease vol 3(2)*, 104-107.
5. Araki, J., Jona, M., Eto, H., Aoi, N., Kato, H., Suga, H., Doi, K., Yatomi, Y., & Yoshimura, K. 2011. Optimized Preparation

Method of Platelet-Concentrated Plasma and Noncoagulating Platelet-Derived Factor Concentrates : Maximization of Platelet Concentration and Removal of Fibrinogen. *TISSUE ENGINEERING vol 00(00)*.

6. Putri, P. R., & Triakoso, N. (2012). Perbandingan Packed Cell Volume Darah Anjing Sebelum dan Sesudah Penyimpanan Menggunakan Citrate-phosphate-dextrose vol 1, No.1. *VetMedika J Klin Vet*.