

Perbedaan Efektivitas Inkorporasi Platelet Rich Plasma (PRP) Pada Perancah Hidrogel CaCO₃ Dengan Perbandingan Konsentrasi Membran Gelatin - CaCO₃ 5:5, 4:6 Dan 10:0.

Differences In Effectiveness Of Incorporation Of Platelet Rich Plasma (PRP) In CaCO₃ Hydrogel Scaffolding With a Comparison Of Gelatin-CaCO₃ Membrane Concentration 5: 5, 4: 6 And 10:0.

Erlina Sih Mahanani¹

Mutiah Mutmainnah²

Dosen PSKG FKIK UMY¹, Mahasiswa PSKG UMY²

Abstract: *Tissue engineering technology is one of the most advanced procedures in tissue healing methods which are able to initiate and maintain the regeneration process by involving cell regeneration, growth factors, and scaffold. The purpose of this study is to determine the effectiveness incorporation of Platelet Rich Plasma in scaffolds with gelatin-CaCO₃ 5: 5, 4: 6 and 10:0 membrane concentrations.*

The research Is a kind of experimental laboratories, with total samples of 9 scaffolds with 3 scaffold samples from each membrane concentration ratio. Each scaffold is 30 µl Of Platelet Rich Plasma. Calculation of the number of Platelet Rich Plasma using a binocular microscope.

The results of Platelet Rich Plasma calculations were statistically by One-Way ANOVA test with the results of the difference in membrane concentration of 5: 5 ($p = 0.001$), concentration of 4: 6 ($p = 0.000$) and concentration of 10:0 ($p = 0.001$). The results showed an average value of Platelet Rich Plasma in each scaffold with a concentration of 5:5 as many as 970.33, a concentration of 4:6 as many as 1,173.66 and a concentration of 10:0 as much as 740.33 so that there was a significant difference ($p < 0.05$). The conclusion of this study is that there are differences in the number of Platelet Rich Plasma that has been incorcated in the scaffold with a comparison of the concentration of gelatin-CaCO₃ 5: 5, 4: 6 and 10: 0 membranes.

Keywords : *Tissue Engineering, Platelet Rich Plasma, Scaffold, Porosity.*

Abstrak: Teknologi rekayasa jaringan merupakan salah satu prosedur dalam metode penyembuhan jaringan yang cukup mutakhir dimana mampu menginisiasi serta mempertahankan proses regenerasi dengan melibatkan regenerasi sel, *growth faktor*, dan *scaffold*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas inkorporasi *Platelet Rich Plasma* pada perancah dengan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, dengan jumlah seluruh sampel 9 buah perancah dengan 3 sampel perancah dari masing-masing perbandingan konsentrasi membran. Setiap perancah diinkorporasikan *Platelet Rich Plasma* sebanyak 30 µl. Perhitungan jumlah *Platelet Rich Plasma* menggunakan mikroskop binokuler.

Hasil perhitungan *Platelet Rich Plasma* dianalisa secara statistik dengan uji *One-Way ANOVA* dengan hasil uji perbedaan konsentrasi membran 5:5 (p=0.001), konsentrasi 4:6 (p=0.000) dan konsentrasi 10:0 (p=0.001). Hasil menunjukkan nilai rerata jumlah *Platelet Rich Plasma* pada masing-masing perancah dengan konsentrasi 5:5 sebanyak 970.33, konsentrasi 4:6 sebanyak 1.173.66 dan konsentrasi 10:0 sebanyak 740.33 sehingga menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan (p<0,05). Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan jumlah *Platelet Rich Plasma* yang telah diinkorporasikan pada perancah dengan perbandingan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0.

Kata kunci : *Tissue Engineering*, *Platelet Rich Plasma*, Perancah, Porositas.

PENDAHULUAN

Teknologi rekayasa jaringan atau yang biasanya disebut sebagai *tissue engineering* menjadi pilihan ketika penyembuhan pada jaringan yang mengalami luka hanya memperbaiki jaringan non spesifik dibandingkan jaringan spesifik fungsional yang terlibat⁹. Teknologi rekayasa jaringan mampu menginisiasi serta mempertahankan proses regenerasi dengan melibatkan regenerasi sel, *growth faktor*, dan *scaffold* (perancah)¹.

Tissue engineering terdiri dari perancah (*Scaffold*), *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan sel induk. Perancah itu sendiri merupakan kerangka dimana fungsinya sebagai struktur tiga dimensi dalam memandu migrasi sel, proliferasi dan diferensiasi. Perancah yang ideal mempunyai sifat diantaranya adalah ; biokompatibel, merangsang terjadinya *osteogenesis*, *sementogenesis* dan pembentukan ligamen periodontal, tidak

toksik, serta tidak pula bersifat antigen. Perancah juga harus mengalami degradasi untuk memungkinkan penggantian bahan utama perancah dengan rekayasa jaringan tulang yang baru terbentuk³. Selain itu perancah yang ideal harus memiliki tingkat porositas yang tinggi pada jaringan pori-porinya sehingga dapat saling berhubungan untuk pertumbuhan sel dan transportasi aliran nutrisi serta sisa metabolik. Porositas didefinisikan sebagai prosentase ruang kosong pada padatan seluler yang disebut perancah dalam aplikasi rekayasa jaringan tulang. Pori-pori digunakan untuk pembentukan jaringan tulang karena memungkinkan dalam migrasi, proliferasi mesenkim dan sel osteoblast, serta vaskularisasi².

Perancah yang digunakan berbahan dasar gelatin dan kalsium karbonat. Gelatin merupakan hasil dari hidrolisis parsial kolagen oleh produk alami dan merupakan

protein yang mampu larut serta terbuat dari kulit maupun tulang hewan, dan jenis gelatin yang digunakan adalah gelatin tipe B berasal dari kulit dan tulang hewan yang sudah tua serta perendamannya menggunakan larutan basa serta butuh waktu yang cukup lama dalam proses perendaman, sehingga dari keseluruhan bahan gelatin dimana kandungannya berkaitan dengan adanya protein sangat tinggi sehingga memiliki fungsi sebagai pengikat, pemer kaya gizi, dapat membentuk lapisan tipis yang elastis, dan membentuk film yang transparan serta kuat⁴. ber bahan dasar CaCO_3 (kalsium karbonat) digunakan karena strukturnya yang menyerupai matriks tulang dengan ukuran porus mencapai 150 μm dari ukuran normal porus antara 100-800 μm sehingga dapat memfasilitas sel dalam proses proliferasi maupun perlekatan².

Platelet Rich Plasma merupakan bagian dari teknologi rekayasa jaringan yang dihasilkan dari sentrifugasi outologous dari seluruh darah yang telah disiapkan dan di gabungkan dengan thrombin maupun kalsium sehingga memiliki konsentrasi akan platelet yang cukup tinggi. Platelet merupakan sel yang pertama kali merespon akan adanya luka pada jaringan serta member efek prokoagulan. Platelet kaya akan faktor penting dalam pertumbuhan contohnya adalah mengandung *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Transforming Growth Factor-B* (TGF-b) 1 dan 2 serta *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dimana berperan penting dalam penyembuhan jaringan lunak maupun jaringan keras. *Platelet-Derived Growth Factor* menstimulasi kemoskisis, mitogenesis dan mereplikasi sel induk di area jaringan yang mengalami kerusakan, selain itu PDGF juga menstimulasi dalam produksi *fibronectin* yang merupakan sel

molekul adhesi untuk proses proliferasi sel dan migrasi dalam proses penyembuhan. *Transforming Growth Factor-b* (TGF-b) 1 dan 2 berfungsi dalam menstimulasi kemoskisis fibroblast dalam produksi kolagen serta fibronectin dengan menurunkan protease dan meningkatkan inhibitor protease⁸.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris dan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit AMC, MMT Lab Rumah Sakit AMC. Bahan yang digunakan yaitu *Platelet Rich Plasma* dan perancah gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0.

Sampel terbagi dalam 3 kategori, yaitu sampel untuk perbandingan konsentrasi membran gelatin – CaCO_3 5:5, 4:6 dan 10:0. Pada masing-masing perancah terdapat 3 sampel yang sama.

Sampel tersebut diinkorporasikan *Platelet Rich Plasma* untuk pengamatan jumlah *Platelet Rich Plasma* yang menempel pada setiap perancah. Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit AMC. Sampel perancah berasal dari bahan gelatin- CaCO_3 dengan diameter 16 mm, dimana terdapat 9 buah sampel yang dibagi menjadi 3 kategori perancah. Kategori pertama yaitu perbandingan konsentrasi 5:5 sebanyak 3 buah, kategori kedua perbandingan konsentrasi 4:6 sebanyak 3 buah dan kategori ketiga perbandingan konsentrasi 10:0 sebanyak 3 buah.

Sampel selanjutnya dibawa ke MMT Lab Rumah Sakit AMC untuk dilakukan pengamatan terhadap jumlah *Platelet Rich Plasma* pada perancah gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan

10:0 menggunakan mikroskop binokuler. Pengamatan dilakukan pada setiap perancah dengan 5 lapang pandang berbeda dan perbesaran yang digunakan sebesar 4x perbesaran. Pada setiap lapang pandang dilakukan perhitungan sebanyak 3 kali perhitungan.

HASIL

Table 1. Jumlah *Platelet Rich Plasma* pada setiap perancah

Kelompok	Gelatin–CaCO ₃		
	5:5(A)	4:6(B)	10:0(C)
1	1000	1143	756
2	988	1186	787
3	923	1192	678

Hasil data penelitian secara laboratoris mengenai perhitungan jumlah *Platelet Rich Plasma* setelah diinkorporasikan pada perancah dengan perbandingan konsentrasi membran gelatin–CaCO₃ terdapat pada Tabel 1.

Perbedaan efektivitas inkorporasi *Platelet Rich Plasma* pada setiap perancah kemudian diuji secara statistik *one way ANOVA*.

Tabel 2. Analisis one-way ANOVA

	Sig.
Gelatin – CaCO ₃	.000*

Data tabel 2 menunjukkan signifikansinya 0.000 (<0.05) maka hipotesis awal(H0) diterima. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara masing-masing perancah berbahan

dasar gelatin-CaCO₃. Pada data hasil perhitungan didapatkan rata-rata perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi membran 4:6 1,173.66, sedangkan konsentrasi membran 5:5 rata-ratanya berjumlah 970.33 dan konsentrasi membrane 10:0 rata-ratanya berjumlah 740.33.

PEMBAHASAN

Berdasarkan uji statistic menggunakan *One-Way ANOVA* yang dilakukan, hasil menunjukkan bahwa dari perhitungan jumlah *Platelet Rich Plasma* pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0 terdapat perbedaan yang signifikan. hasil pengamatan jumlah *Platelet Rich Plasma* saat inkorporasi pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan 4:6 memiliki jumlah paling tinggi dibandingkan dengan perancah gelatin -CaCO₃ perbandingan 5:5 dan 1:0. Selanjutnya perancah gelatin-CaCO₃ perbandingan 5:5 memiliki jumlah *Platelet Rich Plasma* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perancah gelatin - CaCO₃ perbandingan 10:0. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah efektivitas dari *Platelet Rich Plasma*, bahan dasar perancah serta metode yang digunakan saat melakukan inkorporasi.

Platelet Rich Plasma merupakan kumpulan dari beberapa faktor pertumbuhan yang diantaranya adalah PDGF $\alpha\alpha$, 4 PDGF $\beta\beta$, PDGF $\alpha\beta$, TGF- β , TGF- β 2, VEGF, dan EGF. Pada proses pembuatan *Platelet Rich Plasma* melibatkan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas dari *Platelet Rich Plasma* yang di antaranya ialah penggunaan metode sentrifugasi, suhu, dan bahan antikoagulan⁸.

Bahan dasar perancah yang digunakan ialah gelatin dan kalsium karbonat (CaCO₃).

kalsium karbonat memiliki kemampuan biodegradasi secara natural yang lebih baik dibandingkan dari kalsium fosfat dan *Hydroxyapatite* (HA). Semakin tinggi kandungan kalsium karbonat maka kemampuan dalam biodegradasi suatu perancah juga akan semakin tinggi⁶. Gelatin menciptakan struktur berpori melalui proses *freeze-drying* dengan penggunaan suhu yang cukup tinggi terbakarnya bahan-bahan organik dan membentuk struktur berpori, tidak hanya membentuk pori namun metode *freeze-drying* mampu memstabilkan jaringan⁵.

Perancah dengan permukaan yang kasar mendukung dalam proses perlekatan, proliferasi dan diferensiasi dari sel-sel pembentuk tulang. Permukaan perancah diharapkan membentuk topografi nanometer dengan karakteristik yang mendekati ukuran protein disertai permukaan yang kasar dan bersifat kimiawi sehingga memungkinkan adanya proses transkripsi oleh lapisan protein menjadi informasi yang dapat dipahami oleh sel disekitarnya sehingga ikatan antar jenis sel tertentu dapat langsung ditargetkan¹⁰.

Mechanical properties atau kemampuan perancah dalam mempertahankan dimensi bentuk agar perancah tidak mudah berubah, Pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan 4:6 memiliki kekuatan tekan 3,2 MPa dimana kekuatan tersebut masuk dalam kriteria kekuatan tekan yang ada pada *cancellous bone* berkisar antara 2 – 12 MPa. Kekuatan tekan akan meningkat maksimal jika prosentase kalsium karbonat ada pada angka 15% dan jika lebih dari 15% maka kekuatan tekan pada suatu perancah akan menurun⁶.

KESIMPULAN

Berdasarkan data diatas, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0. Perancah dengan konsentrasi 4:6 jumlah *Platelet Rich Plasma* rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan perancah dengan konsentrasi 5:5 dan 10:0.

SARAN

Dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai mikrostruktur pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0 untuk mengamati lebih dalam terkait gambaran dari pengikatan antara perancah dengan PRP.

Daftar Pustaka

1. *Bone Tissue Engineering: A Literature Review*. **Motamedian, S. R., Iranparvar, P., Nahvi, G., & Khojasteh, A.** 2016, Research Gate.
2. *Scaffold of Calcium Phosphat Cement Containing Chitosan and Gelatin*. **Reno, C. O., Lima, B., Sousa, E., Bertran, C., & Motisuke, M.** 2013, Materials Research, hal. 1362.
3. *Benefit and Risk in Tissue Engineering*. **William, David.** 2004, Elsevier, hal. 24.
4. *Pengenalan dan Proses Pembuatan Gelatin*. **Hastuti, D., & Sumpe, I.** 2007, MEDIAGRO VOL. 3, hal. 39-48.
5. *Characterization of Porous Scaffold from Chitosan-Gelatin/Hydroxiapatite for Bone Grafting*. **Wattanuchariya, W., & Changkowchai, W.** 2014, IMECS.
6. *Biodegradation and Compressive Strength Test of Scaffold with Different Ratio as Bone Tissue Engineering Biomaterial*. **Fadhlallah, P. M., Yuliati, A., Soesilawati, P., & Loka, P. P.** 2018, Journal of International Dental and Medical Research.
7. *Perbandingan Efektivitas Metode Preparasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dalam Menghasilkan Konsentrasi Platelet yang Besar*. **Wardhani, P., & Mahanani, E. S.** 2012.
8. *Platelet-Rich Plasma (PRP) in Dental and Oral Surgery: from the Wound Healing to Bone Regeneration*. **Albanese, A., Licata, M. E., Polizzi, B., & Campisi, G.** 2013, Immunity and Ageing, hal. 5.
9. *Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering*. **Wang.** s.l. : American Journal of Biochemistry and Biotechnology 2(2), 2006.
10. *Bone Regeneration Based On Tissue Engineering Conception-A 21st Century Perspective*. **Henkel, J., Woodruff, M. A., Epari, D. R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I. C., et al.** 2013, *Bone Research*, 1, 223-224.