



Pengaruh *Allogenic Freeze-Dried Platelet-Rich Plasma* (Prp) Dalam Meningkatkan Jumlah Fibroblas dan Neovaskularisasi pada Penyembuhan Luka

Iswinarno Doso Saputro^a, Sitti Rizaliyana^a, Dhitta Aliefia Noverta^{a*}

^aDepartment of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine Universitas Airlangga

*Corresponding author: Dhitta Aliefia Noverta - Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine Universitas Airlangga. Email address: drdhitta07@yahoo.co.id

ARTICLE INFO

Keywords:

Allogenic freeze-dried platelet-rich plasma (PRP), Fibroblas, Neovaskularisasi, *Wound healing*

ABSTRAK

Pendahuluan. Masalah luka adalah masalah yang sering dihadapi oleh setiap dokter, terutama di bidang Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik. Banyak penelitian tentang berbagai produk atau faktor yang dapat mempercepat penyembuhan luka, salah satunya adalah *platelet-rich plasma* (PRP). *Allogenic PRP* dapat menjadi alternatif pada kondisi yang tidak memungkinkan diambilnya *autologus PRP*. Teknik *freeze-dried* dilakukan untuk menurunkan reaksi imun pada sediaan *allogenic PRP*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi efektivitas penggunaan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP) terhadap proses penyembuhan luka *full-thickness* pada hewan coba (kelinci).

Metode Penelitian. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only design, simple randomized*. Variabel terikatnya adalah jumlah fibroblas dan jumlah neovaskularisasi, sedangkan variabel bebas adalah pemberian *Paraffin gauze* dan *Allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP). Lima belas ekor kelinci dirandomisasi ke dalam enam kelompok. Luka *full thickness* dengan kedalaman 2mm dibuat pada punggung setiap kelinci. Luka pada kelompok kontrol diberikan perawatan menggunakan *paraffin gauze* dan diberikan *allogenic freeze-dried PRP* pada kelompok perlakuan, pengamatan dilakukan pada hari ke-3, hari ke-9, dan hari ke-14.

Hasil. Didapatkan perbedaan bermakna rerata jumlah fibroblas antara kelompok kontrol hari ke-3 dengan perlakuan hari ke-3 ($p < 0.05$), kelompok kontrol hari ke-9 dengan perlakuan hari ke-9 ($p < 0.05$), dan kelompok kontrol hari ke-14 dengan perlakuan hari ke-14 ($p < 0.05$). Didapatkan juga perbedaan bermakna rerata jumlah neovaskularisasi antara kelompok kontrol hari ke-3 dengan perlakuan hari ke-3 ($p < 0.05$), kelompok kontrol hari ke-9 dengan perlakuan hari ke-9 ($p < 0.05$), dan kelompok kontrol hari ke-14 dengan perlakuan hari ke-14 ($p < 0.05$).

Kesimpulan. Penggunaan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP) terbukti dapat meningkatkan jumlah fibroblas dan jumlah neovaskularisasi pada proses penyembuhan luka *full thickness* di kelinci.

PENDAHULUAN

Masalah luka adalah masalah yang sering dihadapi oleh setiap dokter, baik luka akibat trauma, gangguan sistemik, atau luka yang dibuat oleh dokter

dalam sebuah tindakan pembedahan. Luka didefinisikan sebagai suatu kerusakan integritas dari kulit atau terputusnya kontinuitas suatu jaringan. Proses penyembuhan luka terjadi melalui fase

hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Luka yang tidak sembuh sesuai dengan fase tersebut akan menimbulkan jaringan parut yang tidak baik secara estetik maupun dapat mengganggu fungsi¹. Lebih dari 6 juta masyarakat per tahunnya di Amerika Serikat mengalami luka yang tidak kunjung sembuh dan menghabiskan sekitar 25 milyar USD anggaran biaya kesehatan per tahun pada tahun 2012². Begitu pentingnya permasalahan luka sehingga banyak memunculkan penelitian tentang berbagai produk atau faktor yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Perawatan luka modern telah mengalami perkembangan sangat pesat di dunia kesehatan, terutama dalam dua dekade terakhir, karena ditunjang dengan kemajuan teknologi kesehatan serta munculnya berbagai inovasi baru. Salah satu alternatif *modern dressing* yang saat ini paling banyak dikembangkan dan menjanjikan adalah produk *dressing* dengan kandungan *platelet-rich plasma* (PRP).

Platelet memegang peranan penting dalam proses penyembuhan luka dengan melepas mediator inflamasi dan sebagai sumber alami dari faktor pertumbuhan. Dalam proses penyembuhan luka faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1) akan mendorong fibroblas untuk berproliferasi, migrasi, dan meningkatkan pembentukan matriks ekstraseluler, serta merangsang sel-sel untuk membentuk pembuluh darah baru³. *Platelet-rich plasma* (PRP) merupakan plasma yang mengandung *platelet* terkonsentrasi hingga mencapai 140.000 – 400.000/ μ l. Selain mengandung tinggi *platelet*, PRP juga memiliki konsentrasi *growth factor* yang tinggi yang dapat mempercepat penyembuhan luka. *Platelet-rich plasma* (PRP) didapatkan dari isolasi hasil sentrifugasi *whole blood*⁴. Sumber PRP dalam

jumlah besar dan telah terstandarisasi, aman, serta terjangkau, tersedia di unit transfusi darah. *Platelet* yang dihasilkan unit transfusi mempunyai batas usia 3 – 7 hari, lebih dari itu *platelet* tidak dapat digunakan lagi, sehingga setiap tahunnya banyak unit *platelet* yang terbuang. Pada beberapa studi kasus di beberapa rumah sakit persentase *platelet* yang terbuang berkisar antara 2% hingga 38% dari total produksi *platelet* (Novis, et al., 2002). Seharusnya unit *platelet* yang terbuang ini dapat dikelola sebagai sumber *allogenic PRP* untuk terapi regenerasi jaringan⁴.

Saat ini, *platelet* yang dimanfaatkan untuk aplikasi klinis berasal dari pasien itu sendiri (*autologous*). Penggunaan produk *autologous* dapat menghilangkan kekhawatiran terjadinya reaksi *immunologis* dan penularan penyakit. Namun terapi *autologous* tidak dapat dilakukan pada pasien yang mengalami defisiensi atau kelainan fungsi *platelet*. Beberapa pasien juga tidak memiliki keberanian untuk dilakukan pengambilan darah dalam jumlah yang banyak. Oleh karena itu penggunaan *allogenic* (berasal dari individu lain dalam satu spesies) PRP sangat dibutuhkan sebagai alternatif lain terapi faktor pertumbuhan⁴.

Salah satu metode penggunaan *allogenic PRP* yang pernah diteliti di Instalasi Bank Jaringan RSUD Dr. Soetomo adalah dengan teknik *freeze-drying*. Keunggulan dari metode *freeze-drying* adalah sistem pengeringannya tidak menggunakan panas tinggi, sehingga sangat baik digunakan untuk zat-zat yang rentan terhadap panas. Berbagai faktor pertumbuhan yang terdapat dalam *platelet* merupakan molekul protein yang rentan terhadap panas, sehingga penggunaan metode ini dinilai tepat untuk mengolah produk *allogenic platelet-rich plasma* (PRP). Penggunaan metode ini diharapkan selain menurunkan resiko immunologis juga dapat

mempertahankan kandungan faktor pertumbuhan dalam *platelet-rich plasma* (PRP), yang memegang peranan penting dalam proses penyembuhan luka⁴.

Bagi seorang dokter Spesialis Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik, permasalahan dan penanganan luka ini tentu menjadi hal sangat penting untuk dipelajari. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin mengevaluasi efektivitas penggunaan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP) terhadap proses penyembuhan luka pada hewan coba (kelinci).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *post test only design, simple randomized*. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah fibroblas dan jumlah neovaskularisasi, sedangkan variabel bebasnya adalah pemberian *Paraffin gauze* dan *Allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP). Hewan coba berupa 15 ekor kelinci New Zealand (*Oritolagus cuniculus*) jantan berusia 9 – 12 bulan dengan berat badan 2.500 – 3.000 gram. Besar sampel dihitung menggunakan rumus Federer, sehingga didapatkan sebanyak 30 luka *full thickness* pada punggung kelinci, yang kemudian dibagi menjadi 6 kelompok sampel, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 subjek. Kelompok kontrol adalah subjek yang mendapatkan perawatan menggunakan *paraffin gauze* dan diamati pada hari ke-3, hari ke-9, dan hari ke-14. Kemudian kelompok perlakuan adalah subjek yang mendapatkan perawatan menggunakan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* dan diamati pada hari ke-3, hari ke-9, dan hari ke-14. Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk perlakuan terhadap hewan coba dan di Departemen

Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk evaluasi dan pengumpulan data histologis pada luka. Waktu penelitian dimulai pada bulan Februari 2018 hingga September 2020. Pengolahan data dengan menggunakan uji beda T dua sampel bebas dan Mann Whitney.

Tahap Persiapan

Tahap persiapan dibagi menjadi 2 bagian yaitu persiapan hewan coba, kemudian persiapan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma*. Pada persiapan hewan coba, terdapat 15 kelinci yang dipersiapkan sebagai hewan coba. Tiap kelinci dipelihara pada kandang yang sama dan ruangan yang sama serta diberi makan dengan jumlah dan jenis yang sama. Hewan coba yang telah dikorbankan akan dihilangkan dengan proses kremasi. Kelinci betina tidak digunakan untuk menghindari pengaruh hormon progesteron dan esterogen terhadap proses penyembuhan luka.

Persiapan *allogenic platelet-rich plasma* (PRP) diperoleh dari sampel darah diambil dari kelinci donor yang khusus dikorbankan untuk diambil darahnya, ditambahkan antikoagulan sodium sitrat 0,15 cc untuk setiap 5 cc *whole blood*, yang dimasukkan dalam tabung steril bervolume 5 cc, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan *platelet-rich plasma* (PRP) yang diperoleh dibekukan dalam *freezer* -83°C selama 12 jam, selanjutnya dimasukkan dalam mesin liofilisasi selama 8 – 12 jam. Proses pengeringan beku dengan alat *freeze dryer* ini berlangsung selama 8 – 12 jam. Proses *freeze-drying* adalah proses pengeringan dengan metode dibekukan kemudian dikeringkan dengan teknik pengeringan sublimasi, sehingga *allogenic* PRP akan terliofilisasi. Pengeringan beku ini dapat meninggalkan kadar air 1%⁴. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan plasma dan sel-

sel darah. Plasma yang diperoleh disentrifugasi lagi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan plasma yang kaya *platelet* (PRP)⁴.

Prosedur Penelitian

Masing-masing kelinci diberi nomer pada kakinya untuk identifikasi. Kelinci dibius menggunakan Ketamin 50 mg / kg berat badan dan Xylasine 5 mg / kg berat badan intramuskular hingga tertidur. Masing-masing kelinci mendapat profilaktik antibiotik Penicillin procain 100 mg / kg berat badan intramuskuler. Desinfeksi menggunakan Povidon Iodine 10% dan Savlon 1 : 30. Selanjutnya kelinci dicukur bulunya pada bagian punggung. Dibuat luka *full-thickness* dengan ukuran 3 x 3 cm sedalam 2 mm pada punggung kanan dan kiri kelinci menggunakan *scalpel blade* no. 15. Luka *full-thickness* pada punggung kanan kelinci mendapat perawatan luka dengan *paraffin gauze* dan ditutup dengan *transparent dressing* untuk menjaga kondisi tetap *moist* pada luka. Luka *full-thickness* pada punggung kiri kelinci mendapat perawatan luka dengan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP) lalu ditutup juga dengan *transparent dressing*. Pada hari ke-3 perawatan, luka *full-thickness* kelinci yang termasuk kelompok kontrol hari ke-3 dan kelompok perlakuan hari ke-3 diambil biopsi kulitnya dan kelinci tersebut akan dikorbankan (sesuai pada tahapan pengumpulan data). Luka *full-thickness* kelinci yang termasuk kelompok kontrol hari ke-9 dan ke-14 serta kelompok perlakuan hari ke-9 dan ke-14 akan mendapat perawatan luka sekaligus eksisi jaringan mati setiap 3 hari sekali dengan menggunakan Savlon 1 : 30 dan NaCl 0,9%. Luka *full-thickness* kontrol pada punggung kanan kelinci dirawat luka dengan *paraffin gauze* dan ditutup dengan *transparent dressing*, sedangkan luka *full-thickness* perlakuan pada punggung kiri

kelinci dirawat luka dengan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma* (PRP) lalu ditutup dengan *transparent dressing*. Pada hari ke-9 perawatan, luka *full-thickness* kelinci yang termasuk kelompok kontrol hari ke-9 dan kelompok perlakuan hari ke-9 diambil biopsi kulitnya dan kelinci tersebut akan dikorbankan. Pada hari ke-14 perawatan, luka *full-thickness* kelinci yang termasuk kelompok kontrol hari ke-14 dan kelompok perlakuan hari ke-14 diambil biopsi kulitnya dan kelinci tersebut akan dikorbankan. Pengorbanan kelinci dilakukan dengan menyuntikkan Phenobarbital 60 – 100 mg/kg berat badan intraperitoneal pada daerah sedikit midlateral antara *processus xyphoideus* dan *tuberculum pubicum*.

Spesimen diambil dari setiap luka dengan cara dieksisi pada bekas luka *full-thickness* di punggung kanan dan kiri kelinci, berukuran masing-masing 4 x 4 cm sedalam fascia. Spesimen disimpan segera dalam larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan dikirim untuk pemeriksaan histologi ke Departemen Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Pengukuran Variabel

Jumlah fibroblas diperoleh dengan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan Mallory-azan, dengan ciri ciri berkelompok membentuk suatu garis sejajar dengan sitoplasma berwarna kemerahan, berada di antara sabut kolagen berwarna kebiruan dan kepadatannya. Jumlah fibroblas dihitung secara

Kelompok	Jumlah Fibroblas		
	Hari ke-3	Hari ke-9	Hari ke-14
Kontrol	37,58 ± 2,90	45,60 ± 6,74	49,06 ± 5,84
Perlakuan	45,50 ± 3,78	56,14 ± 4,93	74,08 ± 4,61

manual menggunakan alat bantu mikrometer graticule pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

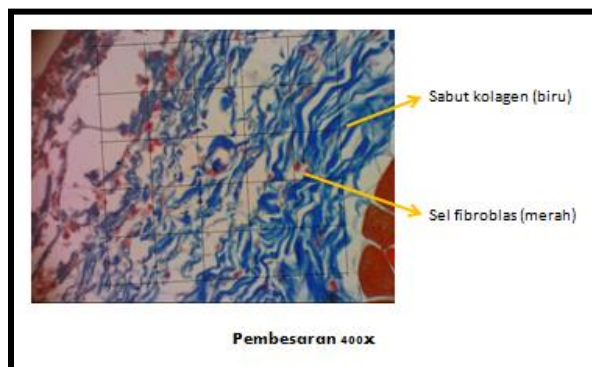
Neovaskularisasi diamati secara histologik dengan pemeriksaan Mallory-azan dengan melihat jumlah lumen pembuluh darah. Jumlah lumen yang berhasil diidentifikasi yaitu berupa gambaran lumen dengan lapisan endotel pada dindingnya dan bisa ditemui adanya sel eritrosit di dalam lumen.

HASIL

Jumlah fibroblas

Variabel jumlah fibroblas didapatkan dari jumlah rerata fibroblas yang diamati pada preparat histologi dengan pewarnaan Mallory-azan yang dilihat pada pembesaran 400x dibawah mikroskop cahaya pada 10 lapang pandang.

Dalam pewarnaan Mallory-azan, fibroblas nampak sebagai sel dengan sitoplasma berwarna kemerahan, dan berada di antara sabut kolagen berwarna kebiruan, sebagai nampak pada Gambar 1.



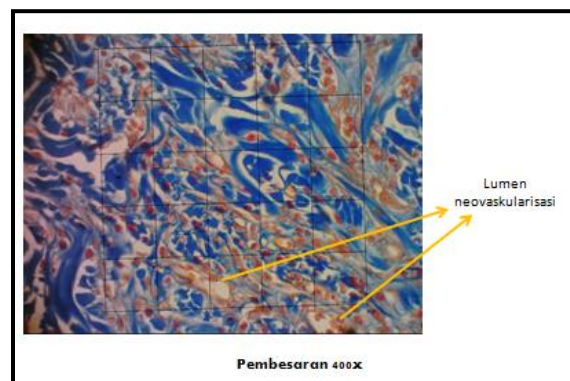
Gambar 1. Gambaran mikroskopik sel fibroblas

Hasil hitung rerata jumlah fibroblas dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-3, ke-9, dan ke-14.

Jumlah neovaskularisasi

Variabel jumlah neovaskularisasi didapatkan dari jumlah rerata lumen pembuluh darah yang diamati pada preparat histologi dengan pewarnaan Mallory-azan yang dilihat pada pembesaran 400x dibawah mikroskop cahaya pada 10 lapang pandang. Neovaskularisasi tampak sebagai lumen dengan dinding endotel berwarna kemerahan, dan disertai sel darah bergerombol di dalam lumen, seperti nampak di bawah ini pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambaran mikroskopik lumen neovaskularisasi

Hasil hitung rerata jumlah neovaskularisasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata jumlah neovaskularisasi pada kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-3, ke-9, dan ke-14.

Kelompok	Jumlah Neovaskularisasi		
	Hari ke-3	Hari ke-9	Hari ke-14
Kontrol	18,54 ± 1,85	26,30 ± 3,13	32,96 ± 1,72
Perlakuan	27,60 ± 7,70	44,90 ± 3,59	60,96 ± 2,18

Uji Normalitas

Pada uji normalitas dengan Shapiro-Wilk satu sampel, didapatkan sampel rerata jumlah fibroblas ini berdistribusi normal, kecuali pada kelompok kontrol hari ke 3. Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik dan non parametrik. Uji analisis kelompok kontrol hari ke-3 dilanjutkan dengan menggunakan Mann Whitney. Sedangkan pada kelompok lainnya menggunakan uji T dua sampel bebas untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada tiap sampel.

Pada uji normalitas dengan Shapiro-Wilk satu sampel, didapatkan sampel rerata jumlah neovaskularisasi ini berdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan analisis dengan uji parametrik yaitu dengan uji t 2 sampel bebas.

Uji Hipotesis

Hasil analisis uji beda dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 3 Hasil analisis uji beda jumlah fibroblas

Kelompok	Jumlah Fibroblas		Nilai p
	Kontrol	Perlakuan	
Hari ke-3	37,58 ± 2,90	45,50 ± 3,78	0,009
Hari ke-9	45,60 ± 6,74	56,14 ± 4,93	0,023
Hari ke-14	49,06 ± 5,84	74,08 ± 4,61	< 0,001

Dari hasil uji T dua sampel bebas didapatkan perbedaan bermakna jumlah fibroblas antara kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-3, ke-9, dan ke-14. Kelompok kontrol memiliki rerata jumlah fibroblas dan neovaskularisasi yang lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan.

Tabel 4 Hasil analisis uji beda jumlah neovaskularisasi

Kelompok	Jumlah Neovaskularisasi		Nilai p
	Kontrol	Perlakuan	
Hari ke-3	18,54 ± 1,85	27,60 ± 7,70	0,034
Hari ke-9	26,30 ± 3,13	44,90 ± 3,59	< 0,001
Hari ke-14	32,96 ± 1,72	60,96 ± 2,18	< 0,001

Dari hasil uji T dua sampel bebas didapatkan perbedaan bermakna jumlah neovaskularisasi antara kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-3, ke-9, dan ke-14. Kelompok kontrol memiliki rerata jumlah fibroblas dan neovaskularisasi yang lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan.

DISKUSI

Platelet rich plasma (PRP) dipilih sebagai agen perlakuan karena pada beberapa uji klinis menunjukkan hasil yang sangat baik pada penyembuhan luka. Pada penelitian ini yang diukur dan dibandingkan adalah berupa pengamatan mikroskopik, yaitu jumlah fibroblas dan neovaskularisasi antara kelompok kontrol dan perlakuan. Pengamatan fibroblas dan neovaskularisasi dipilih sebagai parameter penelitian karena parameter ini dianggap yang paling mudah untuk diolah dan diamati dengan pemeriksaan yang sederhana.

Pada penelitian lain mengenai *platelet rich plasma (PRP)* disebutkan bahwa sel makrofag yang teraktifasi akan menghasilkan lebih dari 30 jenis faktor pertumbuhan (*growth factor*) serta menginduksi faktor inflamasi lebih cepat dari penyembuhan luka normal^{1,6}. Pada beberapa literatur disebutkan bahwa platelet akan menginduksi makrofag sebagai faktor inflamasi awal yang teraktifasi dan akan menginduksi proses kompleks penyembuhan luka (Marx, 2004). Kadar platelet yang 3 – 5 kali lebih besar daripada kadar platelet pada umumnya secara teori akan menginduksi proses inflamasi lebih cepat, sehingga secara tidak langsung proses penyembuhan luka akan terstimulasi lebih cepat daripada penyembuhan luka biasa⁷.

Proses penyembuhan luka diawali oleh fase inflamasi yang dipengaruhi oleh aktifasi platelet, neutrofil dan makrofag yang kadarnya meningkat sampai dengan hari 5 atau 7 hari setelah terjadi luka. Kemudian pada fase proliferasi, faktor ini akan digantikan oleh faktor pertumbuhan sel penyembuhan luka, antara lain pertumbuhan fibroblas dan sel pembuluh darah baru (endotel), sel fibroblas yang baru akan tampak menjelang akhir fase inflamasi dan awal dari fase proliferasi⁸.

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan rerata jumlah fibroblas yang

berdistribusi normal (uji Shapiro-Wilk $p > 0.05$) kecuali pada kelompok kontrol hari ke-3. Pada uji Mann Whitney didapatkan bahwa rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol hari ke 3 dengan kelompok perlakuan hari ke-3, didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Dengan uji T dua sampel bebas rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol hari ke-9 dengan kelompok perlakuan hari ke-9 juga didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Demikian juga rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol hari ke-14 dengan kelompok perlakuan hari ke-14 didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$).

Pada kelompok perlakuan hari ke-3 didapatkan rerata jumlah fibroblas yang mendekati rerata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol hari ke-9. Begitu pula dengan kelompok perlakuan hari ke-9 memiliki rerata jumlah fibroblas yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol hari ke-14. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan Platelet-rich Plasma (PRP) dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka. Hal tersebut sesuai dengan teori dan penelitian terdahulu, yaitu:

- a. *Platelet rich plasma (PRP)* memiliki konsentrasi tinggi beberapa *growth factor* dan faktor-faktor yang dapat merangsang migrasi fibroblast, di antaranya adalah PDGF, TGF- β , *Epidermal Growth Factor (EGF)*, dan fibronektin. PRP dapat memicu proliferasi fibroblas melalui aktivasi jalur *Extracellular Signal Regulated Kinase (ERK) 1/2*⁹.
- b. Fibroblas sangat menonjol perannya pada fase proliferasi penyembuhan luka. Fibroblas akan mensintesis kolagen. Serat kolagen yang terbentuk menyebabkan adanya kekuatan untuk bertautnya tepi luka. Selama fase ini, granulasi mengisi luka

dan keratinosit bermigrasi untuk menyatukan epitel⁶.

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan rerata jumlah neovaskularisasi yang berdistribusi normal (uji Shapiro-Wilk $p > 0.05$). Pada uji T dua sampel bebas, didapatkan bahwa rerata jumlah neovaskularisasi pada kelompok kontrol hari ke-3 dengan kelompok perlakuan hari ke-3, didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Rerata jumlah neovaskularisasi pada kelompok kontrol hari ke-9 dengan kelompok perlakuan hari ke-9 juga didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Demikian rerata jumlah neovaskularisasi pada kelompok kontrol hari ke-14 dengan kelompok perlakuan hari ke-14 juga didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$).

Pada kelompok perlakuan hari ke-3 didapatkan rerata jumlah neovaskularisasi yang lebih tinggi dari rerata jumlah neovaskularisasi pada kelompok kontrol hari ke-9. Begitu pula dengan kelompok perlakuan hari ke-9 memiliki rerata jumlah neovaskularisasi yang lebih tinggi dari kelompok kontrol hari ke-14. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan Platelet-rich Plasma (PRP) dapat meningkatkan jumlah neovaskularisasi pada proses penyembuhan luka. Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu, yaitu:

- a. PRP memiliki konsentrasi tinggi *Vascular Epidermal Growth Factor* (VEGF) yang dapat meregulasi pembentukan pembuluh darah baru dan vaskularisasi dengan menstimulasi proliferasi sel endotel pembuluh darah serta meningkatkan permeabilitas pembuluh darah^{9,10}

- b. PRP dapat menginduksi angiogenesis karena mengandung berbagai macam growth factor antara lain *Stromal Cell Derivat Factor 1 α* (SDF-1 α), Platelet-derived Growth Factor BB (PDGF-BB), *Insulin like Growth Factor-1* (IGF-1), *Vascular Epidermal Growth Factor* (VEGF), dan *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF)¹¹.
- c. PRP dapat lebih meningkatkan kadar *Vascular Epidermal Growth Factor* (VEGF) dan *Stromal Cell Derivat Factor 1* (SDF1) pada luka *full thickness* di tikus bila dibandingkan dengan perawatan luka menggunakan cairan *saline* pada hari ke 1, 3, dan 7 ($p < 0,001$)²³.

Dengan adanya penelitian ini, membuktikan bahwa secara mikroskopik jumlah fibroblas dan neovaskularisasi pada pemberian *platelet-rich plasma* (PRP) mengalami peningkatan dibandingkan dengan perawatan terstandar, diharapkan dapat menjadi bukti mengenai peran PRP dalam proses penyembuhan luka, dimana *allogenic* PRP yang diberikan mengaktifasi berbagai *growth hormon* seperti PDGF, TGF- β , EGF, dan VEGF yang dapat merangsang migrasi fibroblas dan menginduksi angiogenesis, sehingga peningkatan jumlah fibroblas dan neovaskularisasi yang terjadi akan mendorong percepatan penyembuhan luka.

Penelitian mengenai keamanan penggunaan *allogenic freeze-dried platelet rich plasma (PRP)* telah dilakukan sebelumnya oleh Rachmawati (2015), didapatkan bahwa tidak ditemukan adanya respon inflamasi dan peningkatan level IgM pada subyek yang diberikan *allogenic freeze-dried PRP*. Pada penelitian tersebut membandingkan penggunaan autologus dengan *allogenic PRP* yang diinjeksikan secara intramuskular ke kelinci.

Keterbatasan penelitian ini adalah peneliti hanya mengamati variabel yang dilihat secara histologi saja, sedangkan untuk melihat efektifitas pemberian *allogenic freeze-dried platelet rich plasma (PRP)* dapat juga ditambahkan pengamatan secara imunohistokimia, yang dapat mendeteksi keberadaan dan lokasi protein spesifik untuk melihat ekspresi *growth hormon* yang mempercepat penyembuhan luka pada subjek yang diberikan *allogenic freeze-dried PRP*. Pemeriksaan imunohistokimia ini memerlukan reagen dengan harga yang mahal

KESIMPULAN

Penggunaan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma (PRP)* terbukti dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada luka *full thicknes*. Penggunaan *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma (PRP)* terbukti dapat meningkatkan jumlah neovaskularisasi pada luka full thickness. Pada penelitian yang akan datang diharapkan untuk menggali lebih dalam pengaruh *allogenic freeze-dried platelet-rich plasma (PRP)* dalam penyembuhan luka dapat dilanjutkan pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perdanakusuma, D.S., 2006. *Struktur Kulit Skin Grafting*. Surabaya: Airlangga University Press, pp.
2. Baquerizo Nole, K.L., Yim, E., Van Driessche, F., Davidson, J.M., Martins-Green, M., Sen, C. K., Tomic-Canic, M., & Kirsner, R.S., 2014. Wound research funding from alternative sources of federal funds in 2012. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 22(3): pp. 295–300. doi: 10.1111/wrr.12175.
3. Harrison, P., & Keeling, D., 2007. Clinical tests of platelet function. In: Michelson, A.D., ed., *Platelets*, 2nd ed., Philadelphia: Elsevier, pp. 445 – 466.
4. Rachmawati, T., 2015. *Efek penggunaan allogenic freeze dried platelet rich plasma terhadap respon imunologis kelinci*. Tesis. Universitas Airlangga.
5. Novis, D.A., Renner, S., Friedberg, R.C., Walsh, M.K., & Saladino, A.J., 2002. Quality indicators of fresh frozen plasma and platelet utilization. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 126(5): pp. 527 – 532. doi:10.1043/00039985(2002)126<0527:Q IOFFP>2.0.CO;2.
6. Gurtner, G.C., & Wong, V.W., 2014. Wound healing: Normal and abnormal. In: Thorne, C.H., Chung, K.C., Gosain, A.K., Gurtner, G.C., Mehrara, B.J., ed., *Grabb and Smith's Plastic Surgery*, 7th ed., Philadelphia: Lippincott-William and Wilkins, pp. 13 – 19.
7. Marx, R.E., 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(4): pp. 489 – 496. doi: 10.1016/j.joms.2003.12.003.
8. Lima, C.C., Pereira, A.P.C., Silva, J.R.F., Oliveira, L.S., Resck, M.C.C., Grechi, C.O., Bernardes, M.T.C.P., Olimpio, F.M.P., Santos, A.M.M., Incerpi, E.K., & Garcia, J.A.D., 2009. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Brazilian Journal of Biology*, 69(4): pp. 1195 – 201. doi: 10.1590/s1519.69842009000500026.
9. Hara, T., Kakudo, N., Morimoto, N., Ogawa, T., Lai, F., & Kusumoto, K., 2016. Platelet-rich plasma stimulates human dermal

- fibroblast proliferation via a ras-dependent extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *Journal of Artificial Organs*, 19(4): pp. 372 – 377. doi: 10.1007/s10047-016-0913-x.
10. Kurita J, Miyamoto M, Ishii Y, Aoyama J, Takagi G, Naito Z, Tabata Y, Ochi M, Shimizu K., 2011. Enhanced vascularization by controlled release of platelet-rich plasma impregnated in biodegradable gelatin hydrogel. *Ann Thorac Surg*. Sep;92(3): pp. 837 – 44; discussion 844. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.04.084.
 11. Chandra Bir, S., Esaki, J., Marui, A., Yamahara, K., Tsubota, H., Ikeda, T., & Sakata, R., 2008. Angiogenic properties of sustained release platelet-rich plasma: characterization in-vitro and in the ischemic hind limb of the mouse. *Journal of Vascular Surgery*, 50(4): pp. 870 – 879.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2009.06.016.
 12. Boyan, B.D., Weesner, T.C., Lohmann, C.H., Andreacchio, D., Carnes, D.L., Dean, D.D., Cochran D.L., & Schwartz, A., 2000. Porcine metal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft in vivo. *Journal of Periodontology*, 71(8): pp. 1278 – 1286. doi: 10.1092/jop.2000.71.8.1278.
 13. Canalis, E., 1992. *Clinical review 35: growth factors and their potential clinical value. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 75(1): pp. 1 – 4. doi: 10.1210/jcem.75.1.1618994.
 14. Ernesto, C., 1992. Clinical Review 35: Growth Factors and their Potential Clinical Value. *J. Clin Endocrinology Metabol.* 75:1-4.
 15. Hardjono, T., 2011. *Buku Ajar Histologi*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
 16. Harmon, K., Hanson, R., Bowen, J., Greenber, S., Magaziner, E., Vandenbosch, J., Harshfield, D., Shiple, B., & Audley, D., 2012. *Guidelines for the use of platelet-rich plasma*. Las Vegas: The International Cellular Medical Society.
 17. Heo, S.Y., Lee, H.D., Lee, K.C., Kim, M.S., Na, C.S., & Kim, N.S., 2009. Biomechanical assesment of freeze dried allograft cortical bone plate graft in canine bone defect models. *Veterinarni Medicina*, 54(4): pp. 183 – 190.
 18. Kiernan, J.A., 2008. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practices*, 4th ed., Bloxham, UK: Scion.
 19. Rivera, A.E., & Spencer, J.M., 2007. Clinical aspects of full-thickness wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1): pp. 39 – 48. doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.10.001.
 20. Saputro, I.D, 2014. *Dasar-dasar Biomolekuler Penyembuhan Luka*. Surabaya: Global Persada Press.
 21. Sarabahi, S., 2010. Anatomy of the skin. In: Sarabahi, S., ed., *Principles and Practice of Burn Care*, New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd.
 22. Seller 3rd, J.G., & Johnson, J., 2000. Iliac crest autogenous bone grafting: donor site complications. *Journal of the Southern Orthopaedics Association*, 9(2): pp. 91 – 97.
 23. Hersant, B., Sid-Ahmed, M., Braud, L., Jourdan, M., Baba-Amer, Y., Meningaud, J., Rodriguez, A., 2019. Platelet-Rich Plasma Improves the Wound Healing Potential of Mesenchymal Stem Cells through Paracrine and Metabolism Alterations. *Stem Cells International*, vol.2019, Article ID 1234263, 14 pages