

Efektivitas Heterologous Platelet Rich Plasma (PRP) Krim dari Darah Sapi Pada Kesembuhan Luka Incisi Tikus

Rahmad Dwi Ardiansyah^{*1)}, Muhammad Nuriy Nuha Naufal¹⁾, Riefky Pradipta Baihaqie²⁾, Muhamad Atabika Farma Nanda³⁾, Kurnia Rahmawati⁴⁾, Dwijayanti Ngesthi Utami⁴⁾, Yuda Heru Fibrianto⁴⁾

- 1) Klinik Hewan Grha Petcare Yogyakarta
 - 2) Rumah Sakit Hewan Provinsi Jawa Barat
 - 3) Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Blitar
 - 4) Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
 - 5) Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
- *Email: drhardhi@gmail.com

Intisari

Darah sapi selama ini hanya digunakan sebagai pengambilan sampel dan masih belum dimanfaatkan. Darah memiliki salah unsur yaitu *Platelet Rich Plasma* (PRP), PRP ini mampu mempercepat penyembuhan tulang dan jaringan lunak dikarenakan memiliki *Growth Factor* dengan jumlah yang banyak. Pembuatan PRP (*Platelet Rich Plasma*) dari darah sapi dilakukan dengan metode sentrifus. Tujuan penelitian adalah membuktikan bahwa *heterologous* PRP mampu menyembuhkan luka pada tikus. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 ekor tikus galur wistar. Setiap tikus diberi 5 luka berbeda yaitu kontrol negatif dengan *placebo* (N), kelompok positif dengan diberi obat komersil yang mengandung *kloramfenikol basa* 20 mg + *prednisolon* 2,5 mg (P), kelompok PRP 10%, kelompok PRP 20%, dan kelompok PRP 30%. Parameter yang dipakai untuk mengetahui tingkat kesembuhan luka adalah diameter luka. Analisis data dengan *Anova One Way* pada derajat signifikansi 95%. Kelompok PRP 20% dan PRP 30% memiliki tingkat kesembuhan luka yang lebih baik daripada kelompok PRP 10%, P, dan N. Krim PRP 20% dan PRP 30% yang dihasilkan dari darah sapi mampu memberikan kesembuhan luka pada tikus.

Kata kunci: *Platelet Rich Plasma*, heterologous, luka *incisi*

PENDAHULUAN

Kesembuhan luka pada jaringan lunak saat ini menjadi menjadi target beberapa penelitian berdasarkan kepentingan klinis, ilmiah dan ekonomi (DeRossi dkk., 2009). Penyembuhan luka pada jaringan lunak merupakan peristiwa dinamis melibatkan reaksi dan interaksi antara sitokin dan *Growth Factor* (GF) yang berupaya memperbaiki area luka secara cepat setelah adanya cedera atau luka (Suzuki dkk, 2013; Mehta, 2010).

Platelet dikenal sebagai sumber beberapa GF dengan efek menguntungkan dalam penyembuhan jaringan, termasuk didalamnya terdapat *transforming growth factor-beta* (TGF- β), *insulin like GF I* (IGF-I), *platelet-derived GF* (PDGF), *vascular endothelial GF* (VEGF), *fibroblast GF* (FGF), *epidermal GF* (EGF) dan masih banyak GF lainnya. Platelet yang terkonsentrasi akan meningkatkan kadar pengiriman GF ke lokasi cedera atau jaringan

yang rusak dan mampu meningkatkan proses perbaikan jaringan (Yin dkk, 2014; Anitua, 2012).

Penelitian Lacci dan Dardik (2010) menyatakan bahwa *autologous* PRP meningkatkan kesembuhan luka. PRP juga banyak digunakan untuk pengobatan sendi, tulang dan kulit. *Autologous* PRP telah terbukti dalam berbagai penelitian, meskipun demikian jenis pengobatan lain seperti *homologous* dan *heterologous* juga aman digunakan untuk kesembuhan luka. Penelitian terbaru Suzuki, dkk. (2013) menggunakan darah *heterologous* untuk produksi PRP karena mereka kesulitan mengambil darah dari hewan kecil. Efek positif ditunjukkan menggunakan *heterologous* PRP pada tulang sendi, dan penyembuhan ulkus kornea dicapai pada kelinci menggunakan *heterologous* PRP.

Berdasarkan keterangan tersebut diatas, *heterologous* PRP dalam bentuk krim bila dioleskan pada luka *incisi* dapat memperbaiki jaringan tersebut. Penelitian ini akan mengamati panjang luka *incisi* pada tikus setiap hari dan dibandingkan pada masing-masing kelompok untuk mengetahui tingkat kesembuhan masing-masing kelompok.

MATERI DAN METODE

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Ilmu Hewan Laboratorium, dan Laboratorium Hewan Coba Pusat Studi Antar Universitas UGM.

Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *gloves*, tabung reaksi, mikropipet, sentrifugator, kandang tikus, container box, mikroskop, pH meter, mikrohematokrit, skalpel, *blade*, *object glass*, spuit, mikropipet, *spectrofotometer*, dan penggaris. Bahan yang digunakan adalah tikus, darah sapi, pakan tikus, alkohol, *ACD-A*, *ketamine*, *xylazin*, dan *atropin sulfat*.

Metode Penelitian

1. Pembuatan Krim *Platelet Rich Plasma* (PRP)

Darah sapi diambil dari rumah potong hewan Giwangan di Yogyakarta. Darah sapi ditampung menggunakan *Acid Citrate Dextrose Anticoagulant* (ACD-A). Darah disentrifus sebanyak dua kali untuk mendapatkan konsentrasi terapi. Darah yang sudah ditampung dalam *ACD-A Tube* disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifuse diambil bagian plasma hingga *buffy coat*. Plasma disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm

selama 15 menit. Hasil sentrifus plasma kemudian dipisahkan dari bagian *Platelet Rich Plasma* dengan membuang bagian *Platelet Poor Plasma* menggunakan spuit (Talha dkk, 2022; Shan dkk, 2013; Caruana dkk, 2019). *Platelet Rich Plasma* (PRP) yang sudah didapat selanjutnya dapat dicampurkan dengan basis krim agar mudah untuk menggunakannya saat dioleskan ke kulit tikus.

2. Pengujian Pada Hewan Coba

Tikus dipuasakan dahulu selama 12 jam. Tikus ditimbang berat badannya untuk menentukan dosis yang paling tepat. Tikus dianestesi menggunakan *ketamine* dengan dosis 90mg/KgBB secara intramuskular diantara muskulus *semitendineus* dan *semimembranosus*. Setelah tikus teranestesi, tikus dilukai secara menggunakan blade dengan panjang luka 1 cm. Tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif dengan pemberian *placebo* (N), kelompok kontrol positif diberi obat komersil yang mengandung *kloramfenikol* basa 20 mg + *prednisolon* 2,5 mg (P), kelompok perlakuan PRP 10%, kelompok perlakuan PRP 20%, dan kelompok perlakuan PRP 30%. Tikus diberi perlakuan selama 8 Hari dan dilihat panjang lukanya.

3. Analisis Hasil

Parameter yang dipakai dalam evaluasi kesembuhan luka adalah panjang luka. Analisis data yang digunakan adalah *Anova One Way* dengan derajat signifikansi 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil pengukuran luka dihitung setiap hari panjang lukanya menggunakan penggaris dapat dilihat pada Tabel 1. dan Gambar 1. dibawah ini.

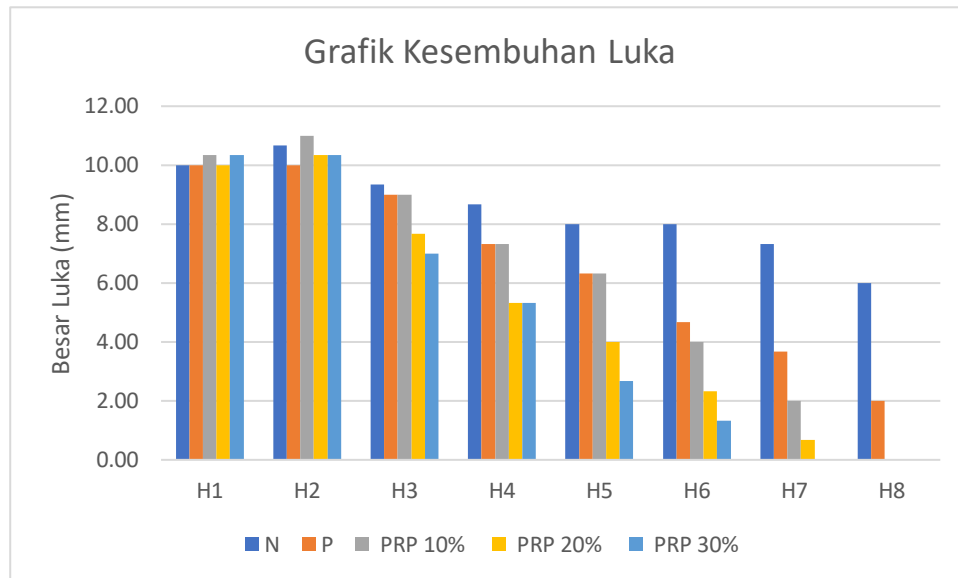
Tabel 1. Ukuran luka (mm) tikus

	Ukuran Luka (mm)				
	N	P	PRP 10%	PRP 20%	PRP 30%
H1	10,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	10,33 ± 0,58 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	10,33 ± 0,58 ^a
H2	10,67 ± 1,15 ^a	10,00 ± 1,00 ^a	11,00 ± 1,73 ^a	10,33 ± 2,52 ^a	10,33 ± 2,52 ^a
H3	9,33 ± 1,15 ^a	9,00 ± 2,00 ^a	9,00 ± 2,00 ^a	7,67 ± 0,58 ^a	7,00 ± 1,00 ^a
H4	8,67 ± 1,15 ^a	7,33 ± 2,51 ^a	7,33 ± 2,51 ^a	5,33 ± 2,08 ^a	5,67 ± 2,06 ^a
H5	8,00 ± 2,00 ^a	6,33 ± 1,53 ^{ab}	4,33 ± 2,52 ^{ab}	4,33 ± 1,53 ^{ab}	3,67 ± 2,89 ^b
H6	8,00 ± 2,00 ^a	4,67 ± 0,58 ^b	4,00 ± 1,00 ^b	3,00 ± 2,00 ^b	2,00 ± 1,73 ^b
H7	7,33 ± 1,53 ^a	3,67 ± 1,53 ^b	2,00 ± 1,00 ^{bc}	0,67 ± 0,58 ^c	0,00 ± 0,00 ^c
H8	6,00 ± 1,00 ^a	2,00 ± 2,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^c	0,00 ± 0,00 ^c	0,00 ± 0,00 ^c

Keterangan:

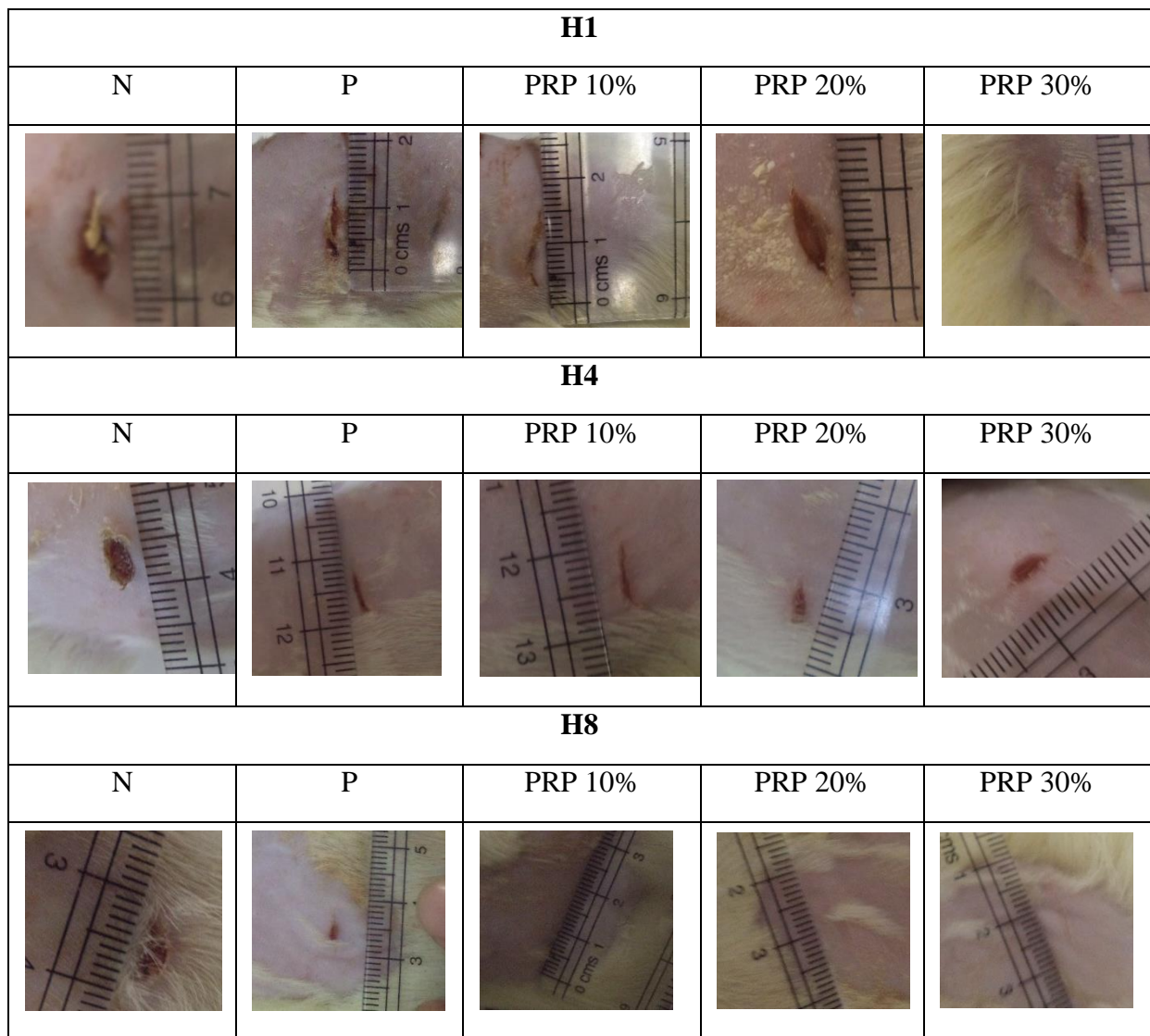
N: Kelompok kontrol negatif (diberi Placebo), P : Kelompok kontrol Positif (diberi *kloramfenikol* dan *prednisolon*), PRP 10% : Kelompok dengan pemberian Krim PRP konsentrasi 10%, PRP 20%: Kelompok dengan pemberian Krim PRP konsentrasi 20%, dan PRP 30% : Kelompok dengan pemberian Krim PRP konsentrasi 30%.

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$)



Gambar 1. Grafik kesembuhan luka pada tikus

Perkembangan kesembuhan luka setiap hari menunjukkan bahwa luka setiap hari mengecil pada semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif. Luka pada tikus PRP 10%, PRP 20% dan PRP 30% pada hari ke 6, 7 dan 8 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($P < 0,05$) dari kontrol negatif. Luka pada tikus yang diberi PRP 10%, PRP 20% dan PRP 30% memiliki waktu kesembuhan luka lebih cepat daripada kelompok kontrol negatif diberi placebo (N), dan kelompok kontrol positif yang diberi obat komersil yang mengandung kloramfenikol basa 20 mg dan prednisolon 2,5 mg (P). PRP 20% dan PRP 30% memiliki waktu kesembuhan paling cepat dibandingkan kelompok yang lain, yaitu pada hari ke 7 sudah tidak ada luka. Gambar makroskopik luka pada Hari ke 1, 4 dan 8 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambar makroskopik luka pada Hari ke 1, 4 dan 8.

Gambar 2 menunjukkan perkembangan luka pada hari ke 1, 4 dan 8. Pada hari ke 8 terlihat luka sudah sembuh pada kelompok PRP 10%, PRP 20%, dan PRP 30%. Hasil analisis dengan metode *One-way Analysis of variance* (Anova) menunjukkan bahwa pada hari ke-1 hingga hari ke-4 tidak ada perbedaan signifikan pada seluruh kelompok. Hari ke-5 kelompok N terdapat perbedaan signifikan dengan PRP 30%. Hari ke 6 kelompok P, PRP 10%, PRP 20%, dan PRP 30% Terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok N. Hal ini menunjukkan bahwa PRP 10%, PRP 20%, dan PRP 30% memiliki tingkat kesembuhan lebih cepat dibandingkan kelompok lain.

PRP mengandung *growth factor* yang dapat mempercepat penyembuhan tulang dan jaringan lunak. Menurut Sverdiova dkk. (2020) peptide dengan berat molekul rendah yang terkandung dalam PRP adalah *Transforming growth factor beta-1* (TGFB1); *Platelet growth factor alpha polypeptide* (PDGFA); *Platelet Growth Factor Beta Polypeptide* (PDGFB);

Platelet Growth Factor C (PDGFC); *Platelet Growth Factor D* (PDGFD); *Insulin-like growth factor I* (IGF1); *Fibroblast growth factor I* (FGF1); *Epidermal Growth Factor* (EGF); *Endothelial growth factor C* (VEGFC); *Vascular endothelial growth factor B* (VEGFB); *Vascular endothelial growth factor A* (VEGFA) yang bekerjasama merangsang hampir semua proses proliferasi dan regenerasi sel molekuler. Kandungan PRP ini dinilai mampu mengobati berbagai penyakit degeneratif kronis yang optimal.

Berdasarkan parameter kesembuhan luka yaitu pengukuran panjang luka dapat dinyatakan bahwa PRP 20% dan PRP 30% memiliki tingkat kesembuhan lebih baik dibandingkan kelompok N, P, dan PRP 10%. Hal ini membuktikan bahwa *heterologous* PRP Krim yang berasal dari darah sapi mampu menyembuhkan luka pada tikus secara optimal.

Berikut ini merupakan peran platelet pada tahap kesembuhan luka: 1) Degranulasi Platelet: Setelah kerusakan jaringan, PDGF dan FGF mulai diproduksi oleh sel yang terluka. Platelet membentuk sumbat pada tempat itu, dan akan memulai degranulasi dengan merilis *growth factor*, PDGF dan TGF- β adalah *growth factor* yang sangat penting pada tempat luka dan mulai melakukan proses penyembuhan luka. Karakteristik dari molekul PGF adalah kemotaktik dan mitogenik yang berhubungan dengan sel radang seperti neutrofil, monosit, dan makrofag. 2) Aksi Inflamasi: dosis tunggal PDGF yang diberikan pada luka *incisi* menunjukkan bahwa terjadi respon radang dengan peningkatan pemasukan netrofil dan makrofag. 3) Deposisi Matrik: fase sintesis matrik dan deposisi matrik, PGF kembali melakukan peran dominan. Dosis tunggal dari PDGF dalam penelitian meningkatkan volume granulasi jaringan sebesar 200% setelah 7 hari. Pemberian TGF- β secara tunggal pada luka, itu menyatakan bahwa matrik sebagian besar membentuk kolagen baru. 4) Produksi Kolagen: Produksi koagen kolagen sangat penting dalam penyembuhan luka, yang diinisiasi aksi kemotaktik dan mitogenik dari fibroblast oleh FGF. 5) Epitelialisasi: Pemberian secara topikal *Epidermal Growth Factor* (EGF) memulai untuk mempercepat epitelialisasi. PDGF sangat penting dalam epitelialisasi, bersama dengan FGF meningkatkan kontraksi dan waktu remodeling (Everts dkk, 2006). Platelet juga mempunyai aktifitas antimikroba yang dapat mencegah terjadinya infeksi pada luka, platelet mengandung dan melepaskan protein yang bersifat mikrobisidal yaitu *termed platelet microbicidal proteins* (PMPs) atau *thrombin-induced PMPs* (tPMPs) jika dirangsang dengan mikroorganisme atau agonis trombosit berhubungan dengan infeksi pada vitro (Yeaman dan Arnold, 1999).

Berdasarkan bukti-bukti penelitian diatas, maka dimasa mendatang *heterologous* PRP ini dapat dimanfaatkan untuk mengatasi luka tanpa menimbulkan bekas luka dan menghindari terjadinya kerusakan jaringan akibat luka gores.

KESIMPULAN

Heterologous PRP dari darah sapi terbukti mampu menyembuhkan luka tikus dengan parameter panjang luka *incisi* menggunakan pengukuran penggaris. Pada pengukuran panjang luka, PRP 20% dan PRP 30% mampu menyembuhkan luka pada hari ke 7 dibuktikan dengan tidak terdapatnya bekas luka. *Heterologous* PRP merupakan solusi penyembuh luka *incisi* yang efisien tanpa meninggalkan bekas luka.

DAFTAR PUSTAKA

- Anitua, E., Prado, R., Sánchez, M., dan Orive, G. 2012. Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Oper Tech Orthop.* 22(1): 25-32.
- Caruana, A., Savina, D., Macedo, J. P., dan Soares, S. C. 2019. From Platelet-Rich Plasma to Advanced Platelet-Rich Fibrin: Biological Achievements and Clinical Advances in Modern Surgery. *Dental Investigation Society.* 1-7.
- DeRossi, R., Coelho, A. C. A. O., Mello, G. S., Frazílio, F. O., Leal, C. R. B., Facco, G. G, dan Brum, K. B. 2009. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras.* 24(4): 27681.
- Everts, P.A.M., Johannes, T.A.K., Gernot, W., Jacques P.A.M.S., Johannes H., Eddy, P.O., Hemk A.M.B., dan Andre, V.Z. 2006. *Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel: A Review.* JECT, 2006:38:174-187.
- Lacci, K.M., dan Dardik, A. 2010. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J Biol Med.* 83(1):1-9.
- Mehta, V. 2010. Platelet-rich plasma: a review of the science and possible clinical applications. *Orthopedics.* 33(2): 111.
- Shan, G. Q., Zhand, Y. N., Ma, J., Li, Y. H., Zuo, D. M., Qiu, J. I., Cheng, B., dan Chen, Z. L. 2013. Evaluation of the Effect of Homologous Platelet Gel on Healing Lower Extremity Wound in Patients With Diabetes. *The International Journal of Lower Extremity Wounds.* 12(1): 22-29.
- Suzuki, S., Marimoto, N., dan Ikada, Y. 2013. Gelatin gel as a carrier of platelet-derived growth factors. *J Biomater Appl.* 28(4): 595-606.
- Sverdiova, M., Zakharov, A., Stekoinikov, A., Bokarev, A., dan Narusbaeva, M. 2020. Effect of Anticoagulant Type and Centrifugation Speed on Platelet-Rich Plasma of Cats and Dogs Blood. *EurAsian Journal of BioSciences.* 14: 1-5.
- Talha, S. M., Hamid, A., Abid, H. M., Arif, K. M., Hassan, M. M., Gul, B. S., dan Ghulam, M. 2022. The Effect of Autologous and Homologous Platelet-Rich Plasma Gel on Cutaneous Wound Healing in Rescued Donkeys: A Comparative Study. *Egypt. J. Vet. Sci.* 53(4): 529-539.
- Yeaman, M.R. dan Arnold, S.B. 1999. Antimicrobial peptides from platelets. *Drug Resist Updat.* 2(2): 116-126.
- Yin, Z., Yang, X., Jiang, Y., Xing, L., Xu, Y., Lu, Y., Ding, P., Ma, J., Xu, Y., dan Gui, J. 2014. Platelet-rich plasma combined with agarose as a bioactive scaffold to enhance cartilage repair: An in vitro study. *J Biomater Appl.* 28(7): 1039