

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas metode preparasi *platelet-rich plasma* (PRP) antara Metode Matsui-Tabata (2011) dengan Metode Nugraha *et.al.*, (2012). Penelitian diawali dengan membuat *platelet-rich plasma* dengan cara sentrifugasi agar jumlah platelet yang dihasilkan lebih tinggi dari jumlah platelet yang terdapat pada *whole blood*. Hasil pembuatan *platelet-rich plasma* dengan kedua metode dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Kelipatan jumlah platelet pada PRP**

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

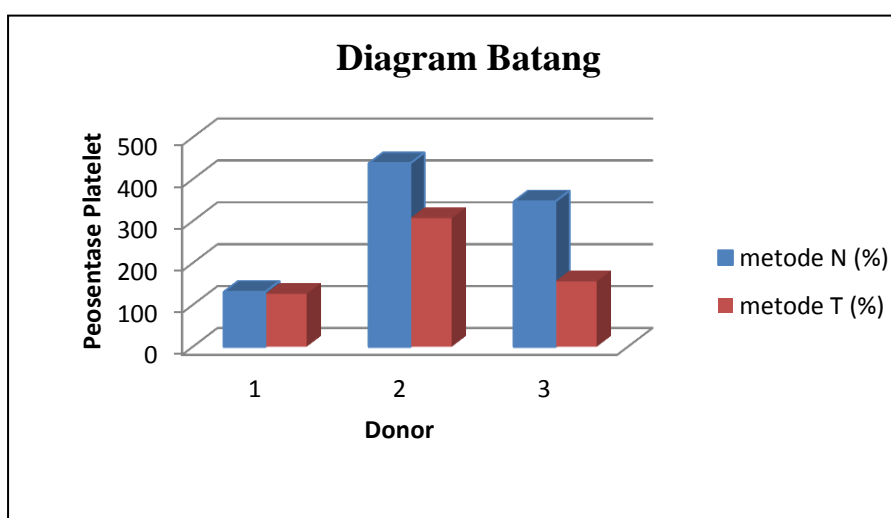
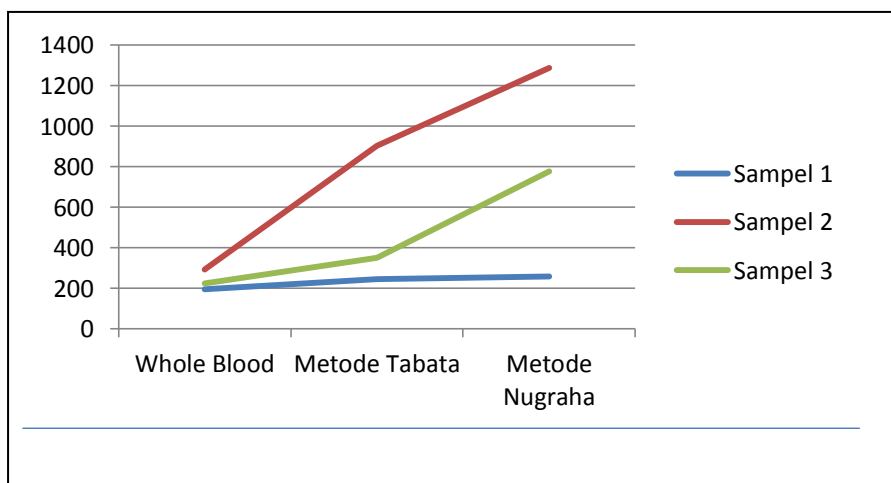
Data yang didapatkan pada tabel 1 akan di hitung prosentase plateletnya dengan rumus :

$$X = \frac{PRP - WB}{WB} \times 100 \%$$

Hasil perhitungan *platelet-rich plasma* yang selanjutnya akan dianalisa dapat dilihat hasil prosentasenya pada tabel 2 dan diagram batangnya pada tabel 3 dan 4.

**Tabel 2. Hasil perhitungan Jumlah Platelet**

Sampel darah	Metode Nugraha	Metode Matsui-Tabata
Donor 1	131%	126%
Donor 2	438%	307%
Donor 3	347%	156%

**Tabel 3. Diagram Batang Jumlah Platelet****Tabel 4. Grafik kenaikan *Platelet-Rich Plasma***

Tabel 5 menunjukkan bahwa jumlah sampel yang akan diolah berjumlah 3 sampel masing-masing untuk Metode Matsui-Tabata dan Metode Nugraha *et.al.*, dan menunjukkan tidak terdapat data yang hilang.

**Tabel 5. Hasil Case Processing Summary**

Metode	Case			
	Valid		Total	
	N	Percent	N	Percent
Metode Matsui-Tabata	3	100%	3	100%
Metode Nugraha	3	100%	3	100%

Data yang diperoleh dari tabel 2 akan dianalisa menggunakan Independent Sample t-Test ( Uji Parametrik) apabila distribusi data normal dan menggunakan Mann-Whitney (Uji Non-Parametrik) apabila distribusi data tidak normal. Untuk mengetahui kenormalan suatu data maka harus dilakukan uji normalitas yang dapat dilihat pada tabel 6.

**Table 6. Hasil Uji Normalitas**

Metode	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig
Metode Nugraha	0.948	3	0.559
Metode Matsui-Tabata	0.870	3	0.297

Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang diuji kurang dari 50. Suatu data dikatakan normal apabila nilai probabilitas lebih dari 0.05 ( $p > 0.05$ ) dan dikatakan tidak normal apabila kurang dari 0.05 ( $p < 0.05$ ). Pada tabel 5 menunjukkan bahwa nilai signifikansi Metode Nugraha *et.al.*, 0.559 dan Metode Matsui-Tabata 0.297 yaitu lebih besar dari nilai p sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua data tersebut normal. Jika kedua data telah dikatakan normal maka akan dilakukan uji analisa dengan Uji Independent Sample T-Test.

**Table 7. Hasil Uji Independent Sampel T-Test**

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Jumlah Platelet			0.69	3.623	0.534	274.667	400.515	-884.427	1433.761
	Equal variances assumed								
	Equal variances not assumed								

Nilai signifikansi pada tabel di atas adalah 0.531 yang berarti nilai probabilitas lebih besar dari 0.05 ( $p > 0.05$ ), hal ini menunjukkan bahwa secara analisis data tidak terdapat perbedaan yang nyata antara Metode Matsui-Tabata dan Metode Nugraha *et.al.*

## B. Pembahasan

*Platelet-rich plasma* yang akan digunakan dalam perawatan klinis harus diupayakan sekitar 1.000.000 platelet per mikroliter dengan darah penuh mengandung  $200.000 \pm 75.000$  trombosit per mikroliter (Marx, 2001), oleh sebab itu perlu dilakukan upaya optimum untuk menghasilkan PRP dalam jumlah yang besar. Perlu diperhatikan pada setiap langkah-langkah penyiapan PRP akan memiliki dampak yang signifikan pada aktivasi platelet. Aktivasi platelet dapat menghasilkan pelepasan alpha granule lebih awal dan hilangnya faktor pertumbuhan, sehingga setiap penyiapan PRP bisa berbeda-beda jumlah platelet, kecepatan aktivasi, dan profil faktor pertumbuhannya (Eppley *et.al.*, 2004). Menurut Araki *et.al.*, (2011), ada sedikit platelet yang hilang pada setiap langkah penyiapan pembuatan platelet.

Pemutaran pertama PRP dipisahkan dari *whole blood* dan dikurangi volumenya sekitar sepertiga untuk di sentrifugasi kedua karena untuk menghindari pengaktifan (agregasi) platelet pada pemutaran kedua yang lebih cepat.

Araki *et.al.*, (2011) juga mengungkapkan bahwa antikoagulan EDTA dapat mencegah agregasi platelet secara lebih efisien dibandingkan larutan ACD yang menghasilkan platelet non-agregasi dan kandungan akhir PDGF  $\beta\beta$  lebih tinggi.

Berdasarkan uraian diatas dapat dijabarkan bahwa pada proses pembuatan PRP dipengaruhi oleh banyak 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* ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ). 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 eritrosit (Putri & Triakoso, 2012). 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 pada sitrat 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 *sodium 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

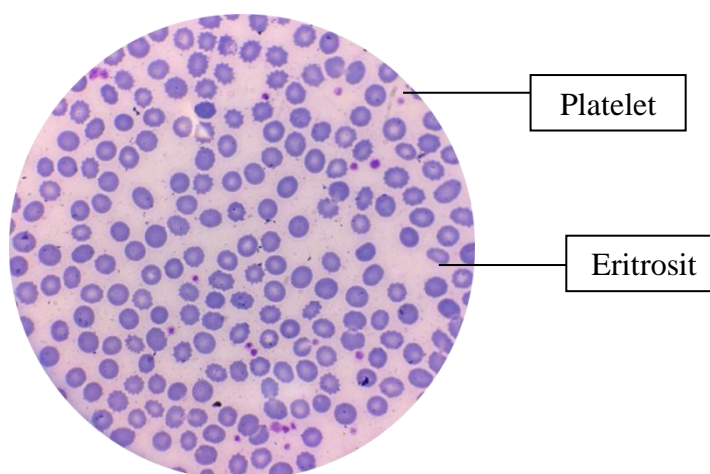
yang rusak, dalam hal ini CPD lebih baik dalam mempertahankan kondisi darah dibandingkan dengan ACD.

Hasil 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.

Hasil analisis data 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.

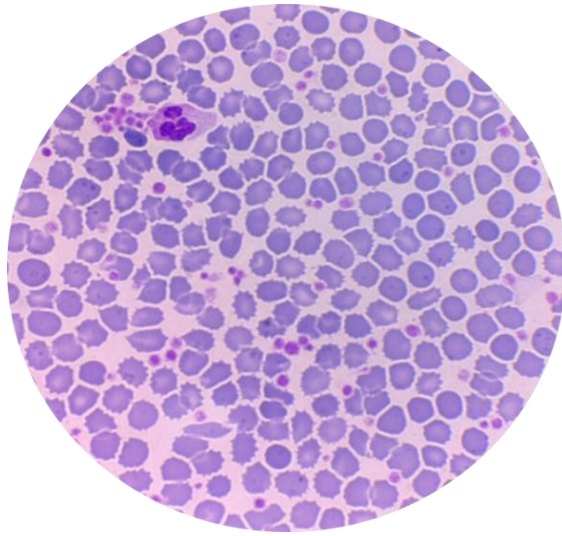
Di bawah ini terlihat perbedaan antara platelet yang terdapat pada *whole blood* sebelum dan sesudah pembuatan PRP menggunakan Metode Matsui-Tabata, dan Metode Nugraha *et.al*

**Gambar 1. Whole Blood**

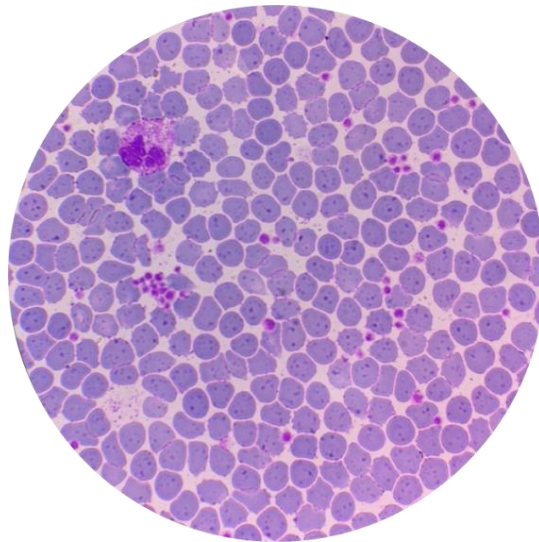




**Gambar 2. Metode Matsui-Tabata**



**Gambar 3. Metode Nugraha *et.al.***



Gambar-gambar diatas menunjukkan jumlah platelet/trombosit yang sudah dihitung dengan pewarnaan giemsa dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali dan dengan perhitungan 20 lapang pandang pada masing-masing metode.