

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Darah**

Darah adalah suatu bentuk jaringan ikat yang terdiri dari eritrosit, leukosit, trombosit, dan suatu substansi interseluler cair yang disebut plasma darah. Volume darah pada manusia dewasa sehat kurang lebih sekitar 5 liter di dalam tubuh yang merupakan 8% dari jumlah berat badan secara keseluruhan. Terdapat dua jenis utama sel-sel darah yang menurut penampilannya terlihat segar tanpa pulasan, yaitu sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit). Unsur-unsur berbentuk yang lain dalam darah adalah keping darah atau trombosit (Leeson & Paparo, 1995).

##### **a. Eritrosit**

Eritrosit atau sel darah merah merupakan sel yang telah berdiferensiasi dan berfungsi menyebarkan oksigen ke seluruh tubuh. Sel darah merah berdiameter sekitar 7,6  $\mu\text{m}$  dan tebalnya 1,9  $\mu\text{m}$  dalam apus darah kering. Jumlah eritrosit jauh lebih besar daripada unsur darah berbentuk lainnya. Eritrosit pada laki-laki berjumlah sekitar 5 sampai 5,5 juta tiap milimeter kubik, dan pada wanita berjumlah sekitar 4,5 sampai 5 juta tiap milimeter kubik.

Eritrosit mengandung senyawa kimia yang terdiri dari suatu lipid yang disebut hemoglobin, yang tidak hanya menyebabkan warna eritrosit

menjadi merah, tetapi juga menentukan bentuk eritrosit yang bikonkaf atau cekung ke dalam (Leeson & Paparo, 1995).

Umur eritrosit yang normal berkisar 120 hari yang menunjukkan terjadinya pergantian kurang dari 1% populasi sel darah merah (200 milyar sel atau 2 juta per detik) di dalam tubuh. Umur eritrosit dapat sangat memendek pada keadaan anemia hemolitik (Murray *et.al.*, 2009).

b. Leukosit

Leukosit disebut juga sel darah putih, adalah satu-satunya sel darah yang mengandung inti. Leukosit dalam tubuh manusia dewasa berjumlah rata-rata 5000-9000 sel per milimeter kubik. Apabila jumlah leukosit dalam tubuh lebih dari 12000 keadaan itu disebut *leukositosis*, sedangkan kurang dari 5000 disebut *leukopenia*. Leukosit sangat berperan dalam pertahanan selular dan humoral organisme terhadap masuknya benda asing dan melakukan fungsinya di dalam jaringan ikat. Leukosit melakukan gerakan amuboid, yang membantunya menerobos dinding-dinding pembuluh darah dan menyusup ke dalam jaringan ikat. Leukosit mengandung sel T dan sel B. Sel T bertanggungjawab terhadap reaksi imun selular dan mempunyai reseptor permukaan yang spesifik untuk mengenal antigen asing sedangkan sel B bertugas untuk memproduksi antibodi yang beredar di dalam peredaran darah (Leeson & Paparo, 1995).

c. Trombosit

Trombosit atau platelet adalah sel yang berbentuk cakram-cakram protoplasma kecil dan tidak berwarna. Platelet ini berdiameter sekitar 2-4  $\mu\text{m}$ . Platelet di dalam tubuh berjumlah sekitar 200.000-300.000 tiap milimeter kubik.

Platelet didalam darah sangat sulit dihitung jumlahnya karena saling menempel satu sama lain. Platelet terlihat berbentuk bulat atau lonjong apabila di rentangkan. Platelet mempunyai beberapa peranan penting dalam proses hemostasis, yaitu menempel pada daerah luka pada pembuluh darah dan menghasilkan trombus putih untuk menutup permukaan cedera serta mengisi lubang-lubang di dalam dinding pembuluh. Platelet akan menghasilkan suatu enzim yang disebut tromboplastin yang penting dalam mekanisme pembekuan. Tromboplastin membantu transformasi protombin menjadi trombin, dan trombin mentransformasi fibrinogen menjadi fibrin (Leeson & Paparo, 1995).

Selama penyembuhan luka yang normal, platelet yang terperangkap akan menjadi aktif dan bergranulasi sehingga menyebabkan pelepasan kandungan alpha granule yang mengandung faktor pertumbuhan mitogenik dan kemotaktik yang penting dalam penyembuhan luka seperti PDGF, TGF, VEGF, EGF, dan IGF (Eppley *et.al.*, 2004).

## 2. *Platelet-Rich Plasma* (PRP)

Darah normal di dalam tubuh mengandung 95% eritrosit, 5% platelet, dan kurang dari 1% adalah leukosit dengan beberapa fibrin (Anila & Nandakumar, 2006). *Platelet-Rich Plasma* (PRP) di definisikan sebagai bagian plasma darah autologous yang memiliki konsentrasi platelet di atas normal. Jumlah platelet yang normal dalam darah berkisar antara 150.000  $\mu$ l sampai 350.000  $\mu$ l dengan rata-rata 200.000  $\mu$ l. Konsentrasi PRP di atas satu juta/ $\mu$ l telah dinyatakan dapat bekerja dalam poses penyembuhan luka (Civinini *et.al.*, 2011). Jumlah PRP yang dihasilkan tersebut dipengaruhi banyak faktor seperti kecepatan saat sentrifugasi, suhu, antikoagulan dan waktu.

Penggunaan PRP aman dari dari transmisi penyakit seperti HIV dan hepatitis karena berasal dari darah *autologous* (tubuh yang sama). *Platelet-rich plasma* mengandung 7 faktor pertumbuhan dan apabila jumlah PRP meningkat maka jumlah *growth factor* yang di hantarkan ke area luka juga akan meningkat. Ketujuh *growth factor* tersebut adalah PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\alpha\beta$ , TGF $\beta_2$ , VEGF, dan EGF (Marx, 2001).

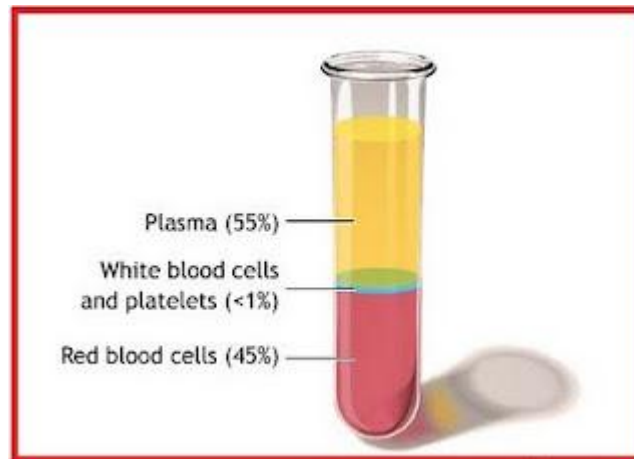
- a. PDGF (Platelet Derived Growth Factor) merupakan faktor pertumbuhan yang sangat kuat hampir pada semua penyembuhan luka. Fungsi utama PDGF adalah untuk merangsang replikasi sel (mitogenesis).
  - b. TGF (Transforming Growth Factor) yaitu untuk mengatur proliferasi dan diferensiasi beberapa jenis sel.
  - c. EGF (Epithelial Growth Factor) untuk merangsang kembali pertumbuhan sel epitel dan angiogenesis.
  - d. VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) memiliki potensi angionetik, mitogenik, dan permeabilitas vaskular dalam pertumbuhan endotel (Anila & Nandakumar, 2006).
3. Metode preparasi PRP
- a. Metode Matsui-Tabata

Metode pembuatan PRP yang dilakukan oleh Yasuhiko Tabata dan Makoto Matsui (2011) adalah metode yang dilakukan dengan menggunakan prinsip sentrifugasi atau pemutaran berdasarkan gaya sentrifugal. Darah dari pendonor sebelumnya sudah dihitung jumlah *whole blood* (WB) atau jumlah darah murni sebelum dilakukan preparasi. Sentrifugasi pertama pada metode ini dilakukan pemutaran pada sampel darah yang sudah dicampur dengan antikoagulan ACD (*Acid Citrate Dextrose*) dengan kecepatan 450 rcf/g dengan

suhu 4 derajat celcius selama 7 menit. Proses sentrifugasi pertama ini akan memisahkan masing-masing komponen darah dan mmenghasilkan suatu cairan bernama *buffy coat* (lapisan tipis) yang berada diantara eritrosit dan plasma darah. *Buffy coat* ini diambil untuk dilakukan sentrifugasi kedua. Sentrifugasi kedua dilakukan dengan kecepatan sebesar 1600 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius selama 5 menit dan akan menghasilkan cairan ditengah yang disebut *platelet-rich plasma* (Matsui & Tabata, 2011).

b. Metode Nugraha

Metode pembuatan PRP yang dilakukan oleh Hans Kristian Nugraha *et.al.*, (2012) adalah metode yang dilakukan dengan menggunakan prinsip sentrifugasi atau pemutaran berdasarkan gaya sentrifugal. Darah dari pendonor sebelumnya sudah dihitung jumlah *whole blood* (WB) atau jumlah darah murni sebelum dilakukan preparasi. Sentrifugasi pertama pada metode ini dilakukan pemutaran pada sampel darah yang sudah dicampur dengan antikoagulan CPD (*Citrate Phosphate Dextrose*) dengan kecepatan 1300 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius selama 5 menit. Proses sentrifugasi pertama ini akan memisahkan masing-masing komponen darah dan menghasilkan suatu cairan bernama *buffy coat* (lapisan tipis) yang berada diantara eritrosit dan plasma darah. *Buffy coat* ini diambil untuk dilakukan sentrifugasi kedua. Sentrifugasi kedua dilakukan dengan kecepatan sebesar 2300 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius selama 7 menit dan akan menghasilkan cairan ditengah yang disebut PRP.



Gambar I. Darah yang telah di sentrifugasi



Gambar II. Alat Sentrifugasi



Gambar III a. Tabung Vacutainer



Gambar III b. Tabung Vacutainer

## B. Landasan Teori

Darah merupakan komponen yang sangat penting dalam tubuh manusia. Sel-sel darah seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit memegang peranan dan fungsi masing-masing di dalam tubuh. Trombosit atau platelet berperan penting dalam proses penyembuhan luka karena faktor pertumbuhan yang terdapat di dalamnya.

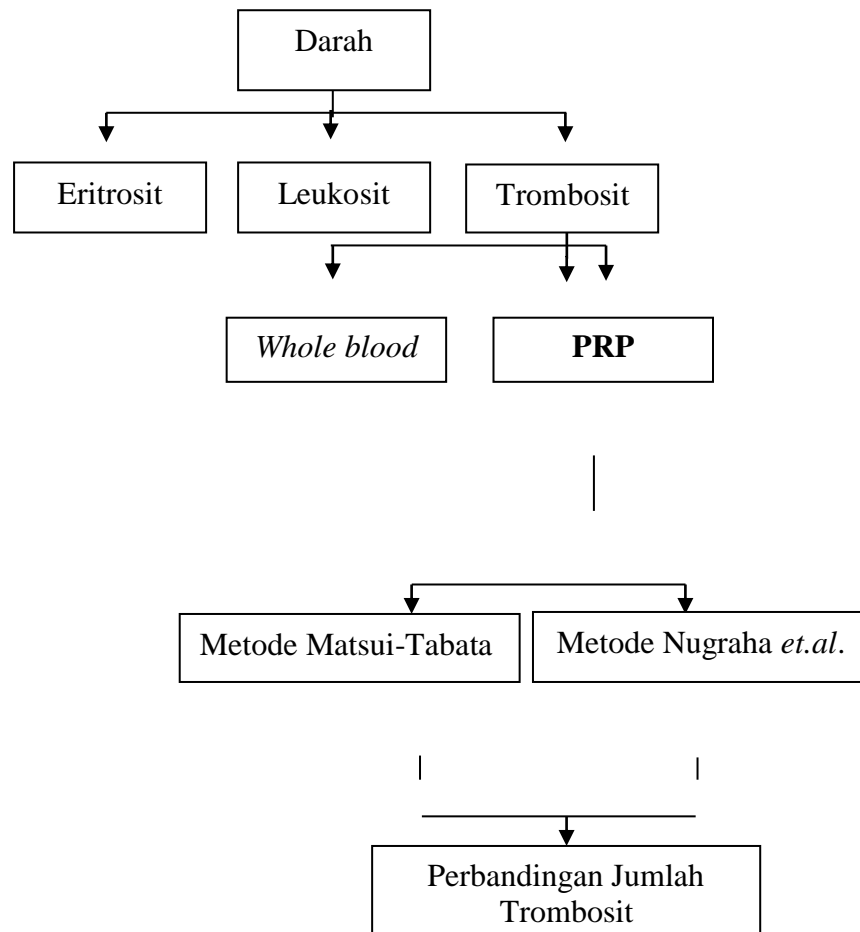
Faktor pertumbuhan itu dapat ditemukan di dalam *platelet-rich plasma* yang sedang menjadi alternatif pengobatan dalam dunia kesehatan khususnya dibidang bioteknologi. Seiring dengan berkembangnya teknologi dan ilmu pengetahuan di bidang bioteknologi, *platelet-rich plasma* sangat berperan penting dalam perkembangan teknik rekayasa jaringan atau *tissue engineering* dengan memanfaatkan *platelet-rich plasma* untuk penyembuhan dan regenerasi tulang.

*Platelet-rich plasma* merupakan plasma kaya trombosit yang mengandung banyak sekali protein yang di dalamnya terdapat faktor pertumbuhan. Konsentrasi platelet atau trombosit di dalam PRP jauh lebih besar dibandingkan di dalam darah murni (*whole blood*).

Penelitian tentang metode penyediaan PRP dilakukan untuk menghasilkan platelet dengan jumlah konsentrasi terbanyak. *Platelet-Rich Plasma* yang akan digunakan harus mengandung *growth factor* (GF) dalam jumlah yang banyak. Metode yang dapat digunakan untuk pembuatan PRP antara lain adalah Metode Matsui-Tabata (2011) dan Metode Nugraha *et.al.*, (2012) dengan cara optimasi menurut masing-masing metode untuk mendapatkan *platelet-rich plasma* yang terbaik dan jumlah terbanyak. Metode Matsui-Tabata (2011) dan Metode Nugraha *et.al.*, (2012) menggunakan dua kali sentrifugasi atau pemutaran dengan pengaturan kecepatan dan waktu yang berbeda. Kecepatan, waktu, dan suhu sangat berpengaruh terhadap jumlah platelet yang dihasilkan, mengingat banyak sekali faktor yang harus dijaga untuk menjaga stabilitas darah dan menjaga agar platelet tidak rusak.



### C. Kerangka Konsep



### D. Hipotesis

Terdapat perbedaan jumlah platelet yang dihasilkan dari kedua metode yang digunakan dan metode Matsui-Tabata menghasilkan platelet yang lebih banyak.