Hubungan kualitas darah dengan konsentrasi *transforming growth factor- β_1* pada *platelet rich plasma* yang digunakan untuk regenerasi tulang dan jaringan periodontal (*Correlation of blood quality with concentration of transforming growth factor- β_1 in platelet rich plasma for bone and periodontal tissue regeneration*)

¹Surijana Mappangara, ²Burhanuddin DP, ³Arni Irawaty Djais

¹Bagian Bedah Mulut

²Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat

³Bagian Periodontologi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

ABSTRACT

This study aimed to explore the correlation of blood quality with transforming growth factor (TGF- β_1) of platelet rich plasma (PRP) which was used for bone and periodontal tissue regeneration. Thirty nine subjects participated in this study. Data of age, gender, erythrocyt, leucocyt, hemoglobin, thrombocyt, and TGF- β_1 concentration were used to analyze the correlation using Spearman correlation test. This study found leucocyt, erythrocyt, hemoglobin, thrombocyt concentration mean was 8.19 g/dl, 5.31 g/dl, 14.48 g/dl, 326.32 g/dl, respectively. The TGF- β_1 concentration mean acquired from PRP was 31994.27 pg/ml. Based on Spearman correlation test, significant correlation was only observed in erythrocyt concentration variable with p value 0.023 ($p < 0.05$) and it was higher in male than in female. It was concluded that TGF- β_1 concentration in PRP from normal subject was 31994.27 pg/ml. Based on leucocyt, erythrocyt, hemoglobin, and thrombocyt test to TGF- β_1 , only erythrocyt showed the significant relationship. This finding also showed the linear correlation between the amount of erythrocyt in blood with TGF- β_1 as the increased erythrocyt value was followed by the exalted TGF- β_1 value.

Keywords: *platelet rich plasma, transforming growth factor, blood*

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan kualitas darah dengan konsentrasi *transforming growth factor* (TGF- β_1) pada *platelet rich plasma* (PRP) yang digunakan untuk regenerasi tulang dan jaringan periodontal. Sebanyak 39 penderita berpartisipasi dalam penelitian ini. Data usia, jenis kelamin, kadar eritrosit, leukosit, hemoglobin, trombosit dan konsentrasi TGF- β_1 digunakan untuk menganalisis hubungan dengan uji korelasi Spearman. Hasil penelitian mendapatkan rata-rata kadar leukosit dalam darah mencapai 8,19 g/dl diikuti dengan eritrosit sebesar 5,31 g/dl, dan hemoglobin sebesar 14,48 g/dl, serta nilai trombosit sebesar 326,33 g/dl. Konsentrasi rata-rata TGF- β_1 yang diperoleh dari PRP sebesar 31994,27 pg/ml. Berdasarkan uji Spearman, terlihat hubungan yang bermakna hanya pada variabel kadar eritrosit dengan nilai $p=0,023$ ($p < 0,05$) dan ditemukan nilainya lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan. Disimpulkan adanya hubungan yang berbanding lurus antara jumlah eritrosit dalam darah dengan TGF- β_1 yang berarti setiap peningkatan nilai eritrosit diikuti dengan peningkatan nilai TGF- β_1 .

Kata kunci: *platelet rich plasma, transforming growth factor, darah*

Koresponden: Surijana Mappangara, E-mail: surijana_m@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Kerusakan tulang merupakan gambaran umum pada penyakit periodontal, sehingga telah banyak jenis perawatan yang dilakukan untuk menumbuhkan mengembalikan atau kembali tulang alveolar yang telah rusak. Regenerasi periodontal yang diharapkan adalah reformasi ligamentum periodontal fungsional dengan fiber kolagen dalam tulang alveolar dan sementum yang terbentuk kembali pada permukaan akar gigi yang sebelumnya berpenyakit. Tahapan evolusioner awal dari regenerasi periodontal terfokus pada penggunaan berbagai bahan *bone graft*.^{1,2}

Terapi regenerasi belum memberikan hasil yang maksimal sehingga masih dilakukan penelitian untuk memperoleh hasil yang lebih baik. Salah satu inovasi

dalam bidang kedokteran gigi adalah preparasi dan penggunaan *platelet rich plasma* (PRP), yaitu sebuah suspensi *growth factor* terkonsentrasi yang terdapat dalam *platelet*. Penelitian sebelumnya menyebutkan PRP mengandung, antara lain *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor* beta satu (TGF β_1) yang telah diakui berperan sebagai promotor dalam proses regenerasi jaringan.³ Keberhasilan penggunaan PRP dalam mempercepat pertumbuhan tulang dan penyembuhan luka pada pasien dan binatang coba sudah banyak dibuktikan, tetapi masih banyak faktor atau mekanisme yang berperan yang belum diketahui secara jelas.

Darah *autolog* merupakan sumber pembuatan PRP sehingga kualitas darah (kadar eritrosit, leukosit,

hemoglobin, dan trombosit) tentu sangat berpengaruh terhadap faktor pertumbuhan yang terkandung dalam PRP. Dengan demikian perlu dibuktikan faktor-faktor dari kualitas darah yang mempunyai hubungan dengan konsentrasi faktor pertumbuhan yang terdapat dalam PRP.

Aplikasi PRP pertama kali diajukan oleh Ferrari pada tahun 1987 sebagai komponen transfusi *autolog* segera setelah operasi pembukaan jantung untuk mencegah transfusi produk darah homolog. Saat ini terdapat lebih dari 5.200 artikel di NCBI mengenai PRP dalam bidang ortopedi, kedokteran olahraga, kedokteran gigi, otolaringologi, bedah saraf, urologi, oftalmologi, penyembuhan luka, kosmetika, bedah kardioraks dan maksilofasial.⁴⁻⁶

Mekanisme kerja PRP melalui degranulasi granula dalam *platelet* yang mengandung *growth factor* sintesis dan kemasan. *Growth factor* yang dilepaskan dari *platelet* yang teraktivasi berupa *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* beta 1 dan beta 2 (TGF β 1 dan 2), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet derived endothelial cell growth factor*, interleukin-1 (IL-1), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), dan *platelet activating factor*-4 (PAF-4).

Platelet rich plasma adalah salah satu *growth factor* yang diperoleh dari sampel darah pasien; mengandung beberapa sitokin, diantaranya PDGF dan TGF. Selain itu PRP berfungsi sebagai sumber autolog dari dosis *platelet* konsentrasi tinggi. Istilah PRP termasuk *platelet* konsentrasi tinggi yang didapatkan oleh sentrifugasi satu atau dua langkah dari autolog darah. Sediaan PRP juga dinamakan sebagai *platelet pellet*, konsentrat *platelet* autolog atau jel *platelet*.⁷

Platelet tersebut menunjukkan efeknya melalui peningkatan proses penyembuhan jaringan lunak dan keras. Karena jumlah jaringan regenerasi dan siklus penyembuhan jaringan lunak sebenarnya bergantung pada potensi penyembuhan individu yang sangat dipengaruhi oleh keberadaan dan jumlah GF yang tersedia secara alami dalam lunak, peningkatan konsentrasi lokal PGF dengan aplikasi PRP dalam area luka jaringan periodontal akan meningkatkan hasil penyembuhan.^{8,9}

Pada beberapa pustaka, PRP bekerja dengan degranulasi granula-granul α pada trombosit yang terdapat sintesis dan pembentukan ulang faktor pertumbuhan. Sekresi aktif pada faktor ini adalah menginisiasi proses pembekuan darah ketika PRP diaktifkan oleh trombin. Faktor pertumbuhan biasanya ke reseptor transmembran mereka pada stem sel mesenkim dewasa, osteoblas, fibroblas, sel endotel serta juga menyebabkan proliferasi, formasi bakteri,

produksi osteoid dan sintesis kolagen. Level PDGF-AB dan TGF- β 1 menaikkan pengaktifan PRP, yang berarti presentasi faktor pertumbuhan level tinggi dalam aktivasi PRP.

Selain itu, PRP juga terdapat tiga protein di darah yang dikenal bertindak sebagai sel adesi molekul untuk osteokonduksi dan sebagai matriks tulang dan jaringan ikat. Molekul-molekul ini adalah fibrinogen, *fibronectin* dan *vitronectin*. Sekali preparasi PRP mengkoagulasi, hal ini diasumsikan pada konsistensi keras yang berarti mempunyai kandungan fibrin yang tinggi. Karakteristik 'keras' pada preparasi PRP bekerja sebagai agen hemostatik dan stabilisasi bahan *graft* dan bekuan darah. Karakteristik keras menaikkan struktur penyusun pada bahan *graft* dan membantu memperpendek waktu perawatan.^{9,10}

Komponen darah yang diperiksa pada pemeriksaan hematologi rutin adalah leukosit, hemoglobin (Hb), eritrosit, dan trombosit.^{11,12}

Jika leukosit berfungsi melindungi tubuh melawan infeksi bakteri dan virus, pemeriksaannya dilakukan untuk mengetahui kelainan sel darah putih yang bertanggung jawab terhadap imunitas tubuh, evaluasi infeksi bakteri dan virus, proses metabolik toksik dan keganasan sel darah putih. Nilai normal leukosit dewasa adalah 4,8-10,8 (103/ μ L), dan anak-anak 6,0-17,5 (103/ μ L).

Sedangkan Hb yang merupakan protein yang terdapat dalam eritrosit yang berfungsi membawa oksigen ke dalam tubuh, pemeriksaannya dilakukan untuk mengetahui konsentrasinya; nilai normal pada laki-laki adalah 14-18 (g/dL), dan perempuan 12-16 (g/dL), serta anak-anak 11,3-14,1 (g/dL).

Fungsi eritrosit adalah membawa oksigen ke seluruh tubuh; nilai normalnya pada laki-laki 4,4-5,9 (106/ μ L) dan perempuan 3,8-5,2 (106/ μ L).

Trombosit berperan dalam proses pembekuan darah; pemeriksaannya dilakukan untuk mengevaluasi gangguan pembekuan darah. Nilai normalnya berkisar 150-450 (103/ μ L).^{11,12}

Berdasarkan kajian masalah di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi TGF β 1 pada PRP yang dihubungkan dengan hasil pemeriksaan kualitas darah rutin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian laboratorium prospektif dilakukan pada seluruh pasien yang datang ke Laboratorium. Penelitian dilakukan pada bulan Mei hingga Oktober 2013 di Laboratorium Klinik Prodia, Makassar. Terdapat 39 sampel yang memenuhi kriteria, yaitu bersedia berpartisipasi dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent* penelitian serta tidak menderita penyakit sistemik dan kelainan darah.

Sampel darah vena sebanyak 15 ml dibagi ke dalam dua tabung; 10 ml digunakan untuk pembuatan PRP dan 5 ml untuk pemeriksaan kualitas darah (eritrosit, sel darah putih, hemoglobin, dan trombosit). Variabel yang dicatat adalah usia, jenis kelamin, kadar eritrosit, leukosit, hemoglobin, trombosit, dan kadar konsentrasi TGF- β 1. Pengumpulan data dilakukan dengan melakukan pemeriksaan laboratorium, lalu hasilnya diperiksa di Laboratorium Klinik Prodia.

Data yang diperoleh dianalisis univariat dan bivariat dengan menggunakan teknik analisis korelasi Spearman untuk melihat hubungan konsentrasi TGF- β 1 pada PRP terhadap kualitas darah.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian korelasi kualitas darah dengan konsentrasi TGF β -1 diperoleh data (tabel 1), yang menunjukkan distribusi karakteristik kualitas darah sampel yang berjumlah 49 orang. Rata-rata kualitas darah nilai leukosit mencapai 8,19 g/dl, eritrosit sebesar 5,31 g/dl, hemoglobin sebesar 14,48 g/dl, serta nilai trombosit sebesar 326,23 g/dl. Nilai TGF- β 1 sebesar 31.994,27 pg/ml.

Tabel 1 Distribusi karakteristik kualitas darah (N=39)

Karakteristik Sampel Penelitian	Mean $\pm$ SD
Kualitas Darah	
Nilai Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,19 $\pm$ 1,36
Nilai Eritrosit ($\times 10^6/\text{mL}$)	5,31 $\pm$ 1,71
Nilai Hemoglobin (g/dL)	14,48 $\pm$ 1,62
Nilai Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	326,33 $\pm$ 91,15
Nilai TGF- β 1 (pg/ml)	31994,27 $\pm$ 13885,27

Gambar 1 Distribusi frekuensi responden berdasarkan jenis kelamin

Tabel 2 memperlihatkan hubungan kualitas darah dengan konsentrasi TGF- β 1 pada PRP. Berdasarkan

hasil uji Spearman, terlihat hubungan yang signifikan hanya pada variabel eritrosit dengan $p=0,023$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara kualitas darah eritrosit dengan kadar TGF- β 1 pada PRP. Selain itu juga diperlihatkan nilai koefisien korelasi sebesar 0,364, yang berarti ada korelasi positif, yaitu terdapat hubungan yang sejalan antara eritrosit dengan TGF- β 1. Hal ini juga berarti bahwa setiap peningkatan nilai eritrosit diikuti dengan peningkatan nilai TGF- β 1 pada PRP.

Gambar 2 Distribusi frekuensi responden berdasarkan umur

Berdasarkan gambar 1 diketahui bahwa jumlah responden dalam penelitian ini sebanyak 39 orang dengan responden terbanyak perempuan (51,3%). Sedangkan berdasarkan gambar 2 diketahui bahwa responden terbanyak dalam penelitian ini berada pada kategori umur 15-25 tahun (51,3%).

Berdasarkan gambar 3 diketahui bahwa kelompok konsentrasi TGF β -1 paling tinggi berada pada rentang 8,19-9,69, yaitu kelompok laki-laki sebanyak 47,4%, sedangkan kelompok perempuan sebanyak 45%.

Berdasarkan gambar 4 diketahui bahwa hasil pemeriksaan eritrosit dari 39 responden diperoleh perbedaan rentang tertinggi antara laki-laki dan perempuan. Kelompok responden laki-laki sebanyak 3,68 pada rentang 5,04-5,44 sedangkan responden perempuan sebanyak 30 pada rentang 4,63-5,03.

Tabel 2 Hubungan kualitas darah dengan konsentrasi TGF- β 1 pada PRP

Kualitas Darah	Mean $\pm$ SD	Nilai TGF- β 1		
		Mean $\pm$ SD	<i>p-value</i>	Koefisien korelasi (<i>r</i>)
Nilai Leukosit	8,19 $\pm$ 1,36		0,269	0,269
Nilai Eritrosit	5,31 $\pm$ 1,71	31994,27 $\pm$	*0,023	0,364
Nilai Hemoglobin	14,48 $\pm$ 1,62	13885,27	0,052	0,314
Nilai Trombosit	326,33 $\pm$ 91,15		0,182	0,218

*uji korelasi *Spearman* 's: $p<0,05$, signifikan

Gambar 3 Distribusi frekuensi pemeriksaan leukosit berdasarkan jenis kelamin responden

Gambar 4 Distribusi hasil pemeriksaan eritrosit berdasarkan jenis kelamin responden

Gambar 5 Distribusi frekuensi pemeriksaan hemoglobin berdasarkan jenis kelamin

Berdasarkan gambar 4 terlihat hasil pemeriksaan eritrosit dari 39 orang responden; diperoleh perbedaan rentang tertinggi antara laki-laki dan perempuan. Kelompok responden laki-laki sebanyak 3,68 pada rentang 5,04-5,44 sedangkan responden perempuan sebanyak 30 pada rentang 4,63-5,03.

Berdasarkan hasil pemeriksaan hemoglobin pada gambar 5 diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai rentang tertinggi antara laki-laki dan perempuan. Laki-laki berada pada rentang 14,70-16,50 sedangkan perempuan pada rentang 12,87-14,69.

Hasil pemeriksaan trombosit pada gambar 6 menunjukkan bahwa lebih banyak responden yang memiliki nilai trombosit yang rendah pada rentang 219,46-297,96 yaitu 35,9% (14 orang).

PEMBAHASAN

Dari 49 sampel darah yang diambil, yang dapat diekstraksi menjadi PRP serta dihitung kadar TGF- β_1 hanyalah 39 sampel. Hal tersebut, antara lain disebabkan sedikitnya jumlah PRP yang diperoleh sehingga tidak mencukupi jumlah minimal TGF- β_1 yang diperiksa, yaitu 3 ml.

Tahap pemisahan antara PRP dan plasma juga berperan dalam kegagalan pembuatan PRP karena pemisahan dilakukan dengan menggunakan pinset jaringan dan gunting. Jika pemisahan tidak sempurna, sampel yang diperoleh akan tercampur plasma atau massa PRP yang berupa cairan dan gel akan terbuang. Selanjutnya tindakan ini harus dilakukan oleh laboran atau praktisi yang berpengalaman.³

Gambar 6 Distribusi frekuensi pemeriksaan trombosit responden

Distribusi sampel memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna antara jumlah sampel laki-laki dan perempuan (gambar 1); sedangkan usia penderita rerata 34,21 tahun dan lebih dari setengah penderita berusia 15-25 tahun. Pada usia tersebut, umumnya seseorang mempunyai kemampuan pertahanan tubuh sempurna, kemampuan metabolisme baik, dan belum banyak mengalami penyakit sistemik. Distribusi usia pasien dapat dilihat pada gambar 2.

Jumlah leukosit dalam darah perempuan dan laki-laki berbeda, sehingga pada pembahasan juga dibedakan. Jumlah leukosit paling banyak berada pada batasan nilai 8,19-9,69 sedangkan nilai rujukan normal adalah $3,8-10,6 \times 10^3 \mu\text{l}$ sehingga dinyatakan bahwa nilai leukosit yang merupakan indikator adanya infeksi dalam tubuh berada di ambang batas normal. Demikian juga leukosit perempuan paling banyak berada dalam batas sedang dan dalam ambang batas normal.

Eritrosit yang merupakan elemen penting dalam plasma darah tampak pada laki-laki. Sebagian besar berada pada rentang sedang dan normal. Sebagian besar wanita juga mempunyai ambang batas normal, sekalipun nilai lebih rendah daripada laki-laki, karena nilai rujukan juga berbeda.¹¹

Trombosit berguna dalam proses pembekuan darah sehingga nilainya dipakai untuk mengevaluasi gangguan pembekuan darah. Data yang diperoleh menunjukkan nilai trombosit dengan rentang normal baik laki-laki maupun perempuan.¹¹

Hemoglobin merupakan protein yang terdapat dalam eritrosit yang berfungsi membawa oksigen ke dalam tubuh. Rendahnya hemoglobin dalam darah menyebabkan oksigen pada organ yang penting dalam tubuh seperti otak, jantung, dan ginjal juga rendah. Nilai hemoglobin sampel berada pada rentang 14,70-16,50 yang berarti berada pada rentang normal.

Demikian juga pada perempuan, 12,87-14,69 g/dl.

Kualitas darah penderita atau sampel umumnya berada dalam rentang nilai normal sehingga dapat diasumsikan bahwa nilai TGF- β 1 yang diperoleh dari darah autologus adalah nilai maksimal.^{6,7}

Kadar TGF- β 1 merupakan rerata 31.994,27. Nilai ini belum dapat dibandingkan karena tidak terdapat data sebelumnya. Diketahui bahwa jumlah platelet dalam PRP meningkat 2,5-5 kali lipat lebih tinggi daripada dalam darah yaitu berkisar 15.000-450.000 ml dan ternyata konsentrasi TGF- β 1 juga ditentukan dalam jumlah yang tinggi.

Darah autologus mengandung komponen utama eritrosit, leukosit, dan trombosit. Jumlah atau kadar sel-sel darah ini dipakai dalam menilai kualitas darah seseorang. PRP diperoleh dari komponen trombosit yang kemudian juga memperlihatkan kualitasnya dari jumlah faktor pertumbuhan yang diperoleh.^{6,11}

Jumlah eritrosit tampak mempunyai korelasi dengan konsentrasi TGF- β 1 yang diperoleh pada $p < 0,005$. Keadaan ini disebabkan komponen dari TGF- β 1 sebagian besar terdiri dari eritrosit. Dengan kata lain, nilai eritrosit yang baik menggambarkan atau menghasilkan kadar TGF- β 1 yang maksimal.

Berdasarkan hasil dan pembahasan sebelumnya disimpulkan bahwa konsentrasi TGF β -1 pada PRP yang diperoleh pada subjek yang normal rerata 31994,27, lalu hanya eritrosit yang mempunyai hubungan bermakna dengan TGF- β 1 dan terdapat hubungan yang berbanding lurus antara jumlah eritrosit dengan konsentrasi TGF β -1 yang terdapat pada PRP. Untuk hasil tersebut disarankan bahwa kadar TGF β -1 dapat dipakai sebagai nilai rujukan, meskipun tetap diperlukan riset lain sebagai bahan pembandingan. Hubungan antara kualitas darah dengan kadar TGF β -1 perlu diteliti dengan berbagai kasus kelainan darah, hingga terlihat kemaknaannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brunswald MA, Mellonic JT. Bone graft and periodontal regeneration. J Periodontol 2000;1:80-91.

2. Arian F, Becerik S, Sonmez S, Gurhan I. Effect of platelet-rich plasma on gingival and periodontal ligament fibroblasts: New in-vitro growth assay. *Braz J Oral Sci* 2007;6(23):1432-7
3. Malik S, Sood M, Bindal D. Platelet-rich plasma: a recent innovation in dentistry. *J Innovation Dent* 2011;1(3).
4. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblast and fibroblast. *Clin Oral Implant Res* 2011;17(2):212-9.
5. Froum SJ, Wallace SS, Tarnau DP, Chao SC. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int J Periodont Restor Dent* 2002;22(1):45-51.
6. Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J Biol Med* 2010;83:1-9.
7. Dolder VD, Mooren R, Vloon AP, Stoellingsa PJ, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng* 2006;12(11):3067-73.
8. Caceres M, Hidalgo R, Antonio S, Martinez J, Riera P. Effect of platelet-rich plasma on cell adhesion, cell migration, and myofibroblastic differentiation in human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 2008;79:714-20.
9. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Caranza FA. *Caranza's clinical periodontology*. 11th Ed. St.Louis: Elsevier Saunders; 2012. p.389.
10. Barry EL, William PS, Matthew B. Platelet-rich plasma: a review of biology and application in plastic surgery. *Plastic reconstructive surgery*. *Plastic Reconstr Surg* 2006;118(6):1-13.
11. Bakta. *Hematologi klinik ringkas*. Jakarta: EGC; 2007. p.1-44.
12. Price SA, Wilson LM. *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit*, Ed.6. Alih bahasa: Hartanto H. Jakarta: EGC; 2005. p.255-67.