

REGENERASI NERVUS MENTALIS AKIBAT CEDERA PENJEPITAN SETELAH APLIKASI KOMBINASI PLATELET RICH PLASMA YANG DIAKTIVASI SPONS KOLAGEN DAN CYTIDINE 5'-DIPHOSPHOCHOLINE

Pingky Krisna Arindra*, Masykur Rahmat, dan Rahardjo**

*Program studi Bedah Mulut dan Maksilofasial Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis,
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

**Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Latar Belakang. Regenerasi saraf tepi setelah cedera bisa dipacu dengan faktor pertumbuhan dari *Platelet Rich Plasma* (PRP) yang diaktivasi spons kolagen. *Cytidine 5'-diphosphocholine (citicolin)* adalah neuroprotektor yang bersifat antioksidan sehingga mampu mengatasi kelemahan dari PRP yang masih mengandung neutrofil dan bisa menghasilkan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat PRP yang diaktivasi dengan spons kolagen yang dikombinasikan dengan pemberian *cytidine 5'-diphosphocholine* terhadap proses regenerasi nervus mentalis setelah cedera penjepitan. **Metode.** Tiga puluh enam tikus *Wistar* dibagi dalam kelompok *Sham operation* dan kelompok tikus yang dicerai nervus mentalisnya (n=6). Kelompok cedera terdiri dari kelompok salin, aplikasi PRP yang diaktivasi spons kolagen. Injeksi *citicolin* intraperitoneal dengan dosis 50 mg/100 gr BB, aplikasi lokal PRP teraktivasi spons kolagen dan injeksi *citicolin* intraperitoneal 50 mg/100 gr BB, serta aplikasi spons kolagen. Pemeriksaan histologi regenerasi saraf dilakukan 4 minggu setelah penjepitan nervus mentalis dengan parameter histomorfometri yaitu jumlah serabut saraf, diameter serabut saraf, diameter akson dan tebal mielin. Hasil penelitian dianalisis dengan multivariate anova dan uji post hoc HSD. **Hasil.** Aplikasi kombinasi *Platelet Rich Plasma* yang diaktivasi spons kolagen dan *cytidine 5-diphosphocolin (citicolin)* berbeda bermakna dibandingkan kelompok salin dalam meningkatkan jumlah serabut saraf dan tebal mielin ($p < 0,05$) dan sama dengan kelompok *Sham* ($p > 0,05$) pada pengukuran jumlah serabut, diameter serabut saraf, diameter akson, dan tebal mielin. Rerata jumlah serabut, diameter serabut, diameter akson, dan tebal mielin pada kelompok PRP-*citicolin* lebih tinggi dibandingkan kelompok PRP, *citicolin*, spons kolagen dan salin. **Kesimpulan.** Pemberian aplikasi kombinasi *Platelet Rich Plasma* yang diaktivasi spons kolagen dan *cytidine 5-diphosphocolin* mampu meningkatkan proses regenerasi saraf pasca cedera.

Kata kunci: PRP, spons kolagen, *citicolin*, *crush injury* nervus mentalis, histomorfometri

ABSTRACT

Background. Regeneration of peripheral nerves after injury could be stimulated by adding growth factors from Platelet Rich Plasma (PRP) which activated with collagen sponge. Cytidine 5'-diphosphocholine (citicolin) is a neuroprotective agent which have antioxidant properties so that could overcome the PRP weakness that still contained neutrophils which could produce free radicals. The aim of this study is to determine the benefits of PRP were activated with collagen sponge combined with the provision of cytidine 5'-diphosphocholine towards the regeneration of mental nerve after crush injury. **Methods.** Thirty-six Wistar rats were divided into Sham operation and group with mental nerve injury (n=6). The injury group consisted of saline group, local application PRP which activated with collagen sponge, citicoline intraperitoneally 50 mg/100 gr weight, local application collagen sponge, and local application of PRP combined with citicoline intraperitoneally 50 mg/100 gr weight. Histological examination of nerve regeneration performed 4 weeks after mental nerve crush injury with histomorfometri parameters were the number of nerve fibers, nerve fiber diameter, axon diameter, and myelin thickness. The result data were analyzed by multivariate anova followed by post hoc test HSD. **Result.** Application combination of platelet rich plasma which activated with collagen sponge and cytidine 5-diphosphocolin (citicolin) significantly different than the saline group in increasing the number of nerve fibers and thick myelin ($p < 0,05$) and same with Sham group ($p > 0.05$) in the measurement of the amount of fibers, nerve fiber diameter, the diameter of the axon and myelin thickness. The mean number of fibers, fiber diameter, the diameter of the axon and myelin thickness in the PRP group-citicolin higher than the PRP group, citicolin group, collagen sponge group and saline group. **Conclusion.** Application of a combination of platelet rich plasma activated collagen sponge and cytidine 5-diphosphocolin could improve nerve regeneration after injury.

Keyword : PRP, collagen sponge, citicolin, crush injury mental nervus, histomorfometry

PENDAHULUAN

Nervus mentalis merupakan saraf sensoris yang menyediakan sensasi pada sisi anterior dagu, bibir bawah, sisi bukal gingiva mandibula, gigi anterior mandibula dan gigi premolar. Sebagai saraf sensoris, akson neuron sensori dari

ganglion trigeminal sebagian besar terdistribusi di nervus mentalis (Natfel *et al.* 1999 cit Li *et al.*, 2013). Nervus mentalis rentan terhadap cedera akibat trauma maupun sebagai komplikasi akibat tindakan pembedahan. Cedera pada nervus mentalis bias berupa cedera kompresi yang menyebabkan terlukanya akson dan selubung

mielinnya. Cedera pada saraf tepi biasanya memerlukan proses regenerasi yang lama bahkan tidak mencapai target regenerasi (Grinsell dan Keating, 2014).

Penambahan faktor-faktor pertumbuhan dapat membantu regenerasi saraf tepi pasca cedera. Faktor-faktor pertumbuhan dapat diperoleh dari komponen darah trombosit yang mudah diambil dari aliran darah dan dikonsentrasikan hingga menjadi *Platelet-Rich Plasma* (Issa *et al.*, 2007). Faktor pertumbuhan yang ada pada *Platelet-Rich Plasma* berperan untuk meningkatkan proliferasi sel *Schwann* dan diferensiasi beberapa faktor neurotropik yang bisa mempercepat regenerasi saraf (Zheng *et al.*, 2013). Kandungan faktor pertumbuhan akan dikeluarkan setelah PRP diaktivasi. Kolagen merupakan alternatif untuk menggantikan trombin sapi dalam aktivasi PRP. Kolagen yang berbentuk spons bisa berperan sebagai perancah pada proses penyembuhan luka. Fungsi spons kolagen sebagai perancah yaitu mendukung PRP dapat terus berada di lokasi saraf tepi yang rusak sehingga faktor-faktor pertumbuhan di dalam PRP dapat diteruskan di lokasi luka secara berkelanjutan (Fufa *et al.*, 2008). Neutrofil yang terkandung pada PRP mengandung lebih dari 40 enzim hidrolitik dan molekul toksik pada granulanya sehingga dapat menjadi oksidan seperti anion superoksida, hidrogen peroksida, dan asam hipoklorit (Tuomi dan Best, 2003). Molekul toksik tersebut bisa menyebabkan kerusakan jaringan yang akan mengganggu regenerasi saraf.

Cytidine 5'-diphosphocholine atau *citicolin* merupakan neuroprotektor yang berfungsi sebagai perantara pada biosintesis fosfolipid membran sel dan dapat mempertahankan integritas membran sel saraf dari kerusakan (Parisi, 2008). *Citicolin* juga meningkatkan mekanisme antioksidan dalam tubuh, dan menekan kerusakan akibat radikal bebas pada jaringan saraf. *Citicolin* mampu menstimulasi sintesis *glutathione* yang merupakan endogen antioksidan dalam sel saraf. *Citicolin* mampu menghapus hidrogen peroksida dan lipid peroksida sehingga bisa mencegah kerusakan pada komponen seluler yang penting yang diakibatkan oleh radikal bebas (Adhibatla *et al.*, 2001).

Peran *Platelet Rich Plasma* dalam pengobatan saraf tepi yang cedera sudah banyak dilaporkan, akan tetapi pemberian kombinasi PRP dengan *citicolin* belum pernah dipublikasikan.

METODE

Model cedera saraf nervus mentalis pada hewan coba

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* dalam laboratorium. Semua prosedur telah diperiksa dan disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Subjek terdiri dari 36 ekor tikus *Wistar* dengan berat badan 200-300 gram yang dibagi ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (n=6). Digunakan besar sampel 6 tikus perkelompok dengan perincian sebagai berikut: kelompok kontrol operasi (*sham operative*), kelompok kontrol penjepitan (salin), kelompok sponge kolagen, kelompok PRP yang diaktivasi spons kolagen, kelompok injeksi *citicolin* intraperitoneal dengan dosis 50 mg/100 gr BB tiap hari selama 7 hari, kelompok aplikasi lokal PRP yang diaktivasi spons kolagen dikombinasi dengan injeksi *citicolin* intraperitoneal 50 mg/100 gr BB selama 7 hari.

Pembuatan Platelet-Rich Plasma (PRP)

Darah yang digunakan untuk membuat PRP diambil dari vena retroorbita tikus yang telah dianestesi dengan 0,2 ml Ketamin *hydrochloride*. Darah sebanyak ± 2 ml dimasukkan ke tabung sitrat. Dua ml darah diambil dari tabung sitrat kemudian dipindahkan ke mikrotube dan disentrifugasi pada 18°C 300 RCF selama 5 menit. Plasma, *buffy coat*, dan sedikit lapisan teratas eritrosit diambil dengan mikropipet dan dipindah ke tabung mikrotube lain sejumlah ± 400 μ l. Sentrifugasi kedua dilakukan pada suhu 18°C, 700 RCF selama 17 menit. Kemudian PRP yang diperoleh diaktivasi spons kolagen dengan melarutkan spons kolagen ke dalam supernatant PRP dengan perbandingan 1 : 5 (80 μ g spons kolagen dalam 400 μ l PRP). Kemudian di inkubasi 24 pada suhu 4°C jam sebelum digunakan.

Operasi penjepitan nervus mentalis

Tikus dianestesi dengan campuran 0,3 ml ketamin-HCL dan 0,05 ml *Xylazin* secara intramuskular pada paha kiri. Prosedur operasi dilakukan pada area submandibula dextra tikus. Otot dipisahkan dari tulang dengan raspatorium hingga nervus mentalis terlihat. Nervus mentalis kemudian dijepit dengan *non serrated clamp*

berhimpit dengan foramen mentalis selama 30 detik.

Gel PRP diaplikasikan menggunakan spatula kecil diatas nervus yang telah dijepit. Setelah selesai operasi, otot dijahit menggunakan benang *absorbable* 4.0 dan kulit dijahit menggunakan benang *non absorbable* 3.0. Setelah penjahitan otot dan kulit selesai dilakukan, luka operasi ditetesi dengan obat antiseptik, obat-obatan antibiotik amoksisillin 0,1 cc (50 mg/100 g BB) dan analgesik ibuprofen 0,1 cc (20mg/100 g BB) per oral menggunakan spuit disposable sekali sehari selama 3 hari

Pembuatan dan Pendokumentasian Preparat

Akhir minggu ke 4 (hari ke 28) tikus dibius dengan menggunakan ketamin 90 mg/kg BB dan *xylazine* 5 mg/kg BB. Nervus mentalis disusur mulai dari foramen mentalis sampai ke ujung distal di area bibir bawah kanan tikus sampai mendekati pertemuan dengan cabang mandibula nervus fasialis. Jaringan otot di sekitarnya di-siangi, menyisakan sedikit jaringan otot di ujung distal nervus mentalis dengan tujuan untuk sebagai penanda sisi distal nervus dan memudahkan dalam proses fiksasi jaringan.

Nervus mentalis dipotong di foramen mentalis kemudian dimasukkan ke tabung penyimpanan yang telah diisi dengan larutan paraformaldehid 4% dalam phosphate buffered saline (PBS). Selama proses fiksasi nervus dibentangkan lurus.

Nervus mentalis masing-masing kelompok dipersiapkan untuk evaluasi histologis terhadap kemampuan regenerasi saraf perifer. Setelah prosedur fiksasi, saraf di sisi distal dipotong sepanjang 5 mm, kemudian dimasukkan ke dalam larutan osmium tetraoxide 1% selama 3 hari pada suhu 4 derajat. Setelah itu, segmen tersebut dibuat blok paraffin dengan orientasi potongan melintang. Irisan setebal 4 μ m diletakkan di atas gelas obyek, di deparafinasi dan ditutup dengan mounting medium Canada balsam dan gelas penutup. Irisan jaringan diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk menghitung jumlah akson, diameter akson, diameter fiber, dan tebal mielin.

Histomorfometri

Jumlah akson dihitung di setiap fasikulus saraf pada perbesaran 100x. Perhitungan jumlah akson pada masing-masing fasikulus dilakukan

oleh pengamat *blinded*. Pengukuran diameter fiber dan akson dilakukan pada perbesaran 1000x dengan terlebih dahulu menentukan sumbu terpanjang dari penampang fiber dan sumbu terpanjang dari penampang akson, kemudian diameternya ditentukan dengan mengukur garis terpanjang yang tegak lurus terhadap sumbu terpanjang fiber dan akson. Pengukuran diameter fiber, diameter akson, dan tebal mielin dilakukan dengan mengambil sampel fiber secara random dari fasikulus (n=40).

Diameter fiber (D) adalah diameter akson ditambah mielin (diameter eksternal), sedangkan diameter akson (d) adalah akson tanpa mielin (diameter internal). Tebal mielin diperoleh dengan perhitungan $(D-d)/2$. Diameter fiber (D) akan diukur pertama kali, kemudian pada posisi yang sama mengukur diameter akson (d). Data hasil pengukuran diameter fiber dan diameter akson tersebut kemudian digunakan untuk menghitung tebal mielin (Raimondo *et al.*, 2009).

Analisis Hasil

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan uji komparatif *Multivariat Anova*, untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian perlakuan terhadap variabel terpengaruh sekaligus mengetahui perbedaan antar kelompok. Analisis data menggunakan *software* SPSS 13.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Perbedaan antar kelompok selanjutnya diuji dengan uji lanjutan *multiple comparison Tukey Honest Significant Difference* (HSD). Hasil $p < 0,05$ menunjukkan hasil yang bermakna secara statistik.

HASIL PENELITIAN

Evaluasi histomorfometri yang dilakukan pada penelitian ini ditujukan untuk mengukur jumlah fiber (fiber), diameter fiber (fiber), diameter akson, dan tebal mielin. Jumlah fiber pada kelompok salin adalah yang paling sedikit dibandingkan dengan kelompok lainnya (Gambar 1).

Tabel 1 menunjukkan nilai rerata jumlah akson, diameter fiber, diameter akson dan tebal mielin pada masing-masing kelompok perlakuan. Rerata diameter fiber paling tinggi terdapat pada kelompok *Sham* dan rerata diameter fiber paling rendah terdapat pada kelompok salin. Rerata diameter fiber kelompok PRP, PRP-citicolin, citicolin dan spons kolagen lebih tinggi dibandingkan kelompok salin. Rerata diameter akson paling

tinggi terdapat pada kelompok *sham* dan rerata diameter akson paling rendah terdapat pada kelompok salin. Rerata diameter fiber kelompok PRP, PRP-citicolin, citicolin dan spons kolagen lebih tinggi dibandingkan kelompok salin dan menunjukkan rerata yang hampir sama diantara kelompok perlakuan tersebut. Rerata tebal mielin paling tinggi terdapat pada kelompok *sham* dan rerata tebal mielin paling rendah terdapat pada kelompok salin. Rerata tebal mielin kelompok PRP, PRP-citicolin, citicolin dan spons kolagen lebih tinggi dibandingkan kelompok salin.

Uji *multivariat anova* (MANOVA) digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian perlakuan terhadap variabel terpengaruh yaitu jumlah serabut, diameter serabut, diameter akson, dan tebal mielin. Hasil uji MANOVA juga sekaligus untuk menganalisis apakah terdapat perbedaan rerata antar kelompok. Dikarenakan jumlah variabel terpengaruh lebih dari 2 kelompok maka dipilih uji MANOVA *Pillai's Trace*.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan PRP, PRP-citicolin, citicolin, spons kolagen, salin, dan *Sham* memberikan

pengaruh terhadap hasil jumlah serabut, diameter serabut, diameter akson, dan tebal mielin setelah perlakuan. Hasil uji perbedaan rerata pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian perlakuan pada masing-masing kelompok terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

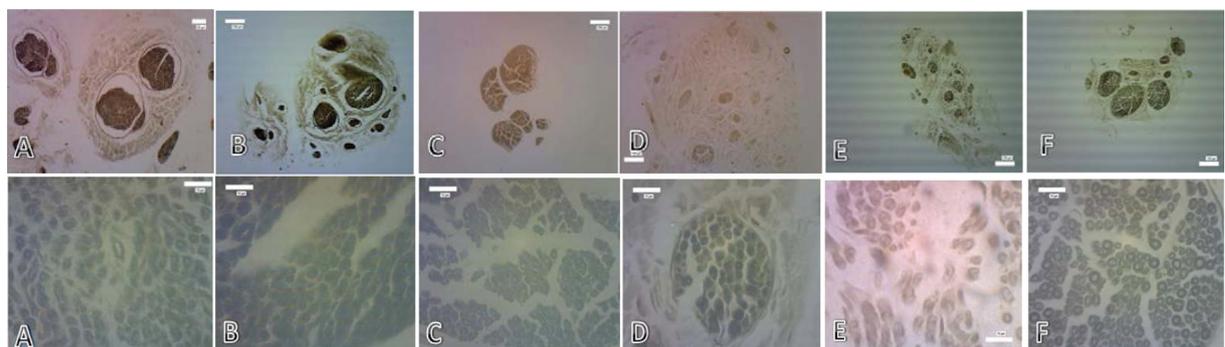
Hasil uji *Tukey HSD* pada tabel menunjukkan bahwa diantara keempat kelompok pengobatan (PRP, PRP-citicolin, citicolin dan spons kolagen) yang paling baik adalah kelompok PRP-citicolin. Kelompok PRP-citicolin mampu meningkatkan regenerasi saraf tepi lebih baik dari kelompok lainnya dikarenakan menunjukkan hasil yang sama dengan kelompok *Sham* pada semua parameter histomorfometri.

PEMBAHASAN

Semakin besar jumlah fiber yang terdiri dari akson, menunjukkan proses regenerasi yang lebih baik sejauh diikuti ukuran akson yang juga baik. Jumlah akson yang banyak dengan diameter yang kecil merupakan gambaran dari ter-

Tabel 1. Nilai rerata jumlah serabut saraf, diameter serabut, rerata diameter akson dan rerata tebal mielin 4 minggu setelah pengobatan

Kelompok	N	Rerata jumlah serabut saraf ± SD	Rerata diameter serabut ± SD	Rerata diameter akson ± SD	Rerata tebal mielin ± SD
PRP	6	451,14 ± 146,90	3,38 ± 0,22	1,60 ± 0,49	0,89 ± 0,17
PRP-cit	6	613,83 ± 173,59	3,40 ± 0,40	1,38 ± 0,53	1,03 ± 0,27
Cit	6	369,04 ± 72,50	2,79 ± 0,35	0,99 ± 0,25	0,89 ± 0,20
Spons Kolagen	6	218,54 ± 91,79	2,68 ± 0,27	0,95 ± 0,33	0,84 ± 0,13
Salin	6	210,75 ± 69,72	1,70 ± 0,30	0,65 ± 0,16	0,53 ± 0,08
<i>Sham</i>	6	764,28 ± 167,36	4,01 ± 0,61	1,74 ± 0,45	1,05 ± 0,39



Gambar 1. Irisan blok parafin potongan melintang serabut saraf tepi (nervus mentalis) dengan pewarnaan OsO_4 . A. Kelompok PRP; B. Kelompok PRP-cit C. Kelompok *citicolin*; D. Kelompok spons kolagen; E Kelompok salin; F. Kelompok kontrol operasi (*Sham*). Perbesaran: 100x (A-F), perbesaran 1000 x (A-F)

Tabel 2. Hasil uji Tukey HSD terhadap jumlah fiber, diameter fiber, diameter akson, dan tebal myelin 4 minggu setelah pengobatan

Variabel	Kelompok perlakuan	PRP <i>sig</i>	PRP-Cit <i>sig</i>	Cit <i>sig</i>	Colla <i>sig</i>	Salin <i>sig</i>	Sham <i>Sig</i>
Jumlah Fiber	PRP	-	-	-	-	-	-
	PRP-Cit	0,267	-	-	-	-	-
	Cit	0,873	0,027*	-	-	-	-
	Colla	0,039*	0,000*	0,346	-	-	-
	Salin	0,031*	0,000*	0,294	1,000	-	-
	Sham	0,002*	0,347	0,000*	0,000*	0,000*	-
Diameter serabut Saraf	PRP	-	-	-	-	-	-
	PRP-Cit	1,000	-	-	-	-	-
	Cit	0,201	0,179	-	-	-	-
	Colla	0,061	0,053	0,991	-	-	-
	Salin	0,000*	0,000*	0,002*	0,009*	-	-
	Sham	0,148	0,167	0,000*	0,000*	0,000*	-
Diameter Akson	PRP	-	-	-	-	-	-
	PRP-Cit	0,917	-	-	-	-	-
	Cit	0,089	0,487	-	-	-	-
	Colla	0,055	0,362	1,000	-	-	-
	Salin	0,002*	0,023*	0,615	0,746	-	-
	Sham	0,988	0,591	0,021*	0,000*	0,000*	-
Tebal Mielin	PRP	-	-	-	-	-	-
	PRP-Cit	0,840	-	-	-	-	-
	Cit	1,000	0,868	-	-	-	-
	Colla	0,999	0,639	0,998	-	-	-
	Salin	0,057	0,003*	0,049*	0,122	-	-
	Sham	1,000	1,000	0,733	0,517	0,002*	-

bentuknya *sprouting* yang tidak normal sehingga selain melihat jumlah akson kita juga harus memperhatikan ukuran dan ketebalan mielin dari akson tersebut serta homogenitasnya.

Pemeriksaan histologi untuk melihat gambaran fasikulus pada masing-masing kelompok menunjukkan terdapat gambaran fasikulus yang berbeda antara kelompok salin dengan kelompok lainnya. Pada kelompok salin nampak gambaran fasikulus dengan jumlah yang banyak dan ukurannya kecil-kecil. Fasikulus dengan gambaran tersebut menunjukkan adanya *sprouting* sebagai akibat dari proses regenerasi yang tidak sempurna.

Regenerasi aksonal yang baik dipicu dari proliferasi sel *Schwann* yang akan membentuk tabung regenerasi yang akan menjadi tempat

bagi akson untuk tumbuh dan beregenerasi. Makrofag dan sel *Schwann* akan mengeluarkan faktor neurotropik yang mempercepat pertumbuhan. Faktor-faktor tersebut akan memandu jalan untuk pertumbuhan akson dalam endoneural tube. Akson yang berhasil masuk pada tabung endoneural di segmen distal punya kesempatan yang baik untuk mencapai jaringan target (Selvaraj *et al.*, 2015).

Platelet Rich Plasma meningkatkan proliferasi sel *Schwann*, migrasi sel *Schwann*, dan sintesis matriks ekstraseluler seperti kolagen yang mempunyai manfaat pada regenerasi saraf. Proses penyembuhan saraf tepi dimulai dan dikontrol oleh protein bioaktif yang ditemukan di platelet dan plasma (Savignat *et al.*, 2008). Peningkatan protein bioaktif seperti TGF- β , PDGF,

IGF berperan sebagai katalis untuk mempercepat regenerasi saraf tepi. Sel *Schwann* dan neuron mengekspresikan reseptor PDGF dan PDGF berfungsi sebagai mitogen dan faktor pertahanan (*survival*) bagi sel *Schwann*. Protein bioaktif TGF β -1 mempunyai peran dalam proliferasi sel *Schwann* dan diferensiasi beberapa faktor-faktor neurotropik (Ardhani *et al.*, 2015).

PRP yang diaktivasi dengan kolagen diketahui mengandung faktor-faktor pertumbuhan yang bermanfaat untuk meningkatkan proses regenerasi jaringan. Spons kolagen merupakan aktivator PRP yang poten dan Platelet Rich Plasma yang diaktivasi spons kolagen mempunyai kelebihan yaitu bisa sekaligus sebagai perancah sehingga pelepasan faktor-faktor pertumbuhan bisa berjalan lebih lama dan lebih berkelanjutan, sehingga faktor-faktor pertumbuhan pada PRP akan bekerja secara maksimal (Fufa *et al.*, 2008; Harrison *et al.*, 2011).

Proses aktivasi platelet oleh kolagen dimulai dengan ikatan kolagen dengan reseptor GP VI, yang berikatan dengan rantai FcR γ , ikatan ini menginduksi beberapa rangkaian sinyal intraseluler. Integrin $\alpha 2\beta 3$ akan aktif dan kemudian berikatan dengan molekul kolagen yang lain. Ikatan kolagen dengan kedua reseptor utama ini kemudian menginduksi kaskade sinyal interseluler yang menuntun pada pelepasan kalsium dan aktivasi protein kinase C. Integrin $\alpha 2\beta 3$ akan meningkatkan agregasi platelet, sedangkan protein kinase C yang aktif akan memicu pelepasan isi granula yang mengandung faktor pertumbuhan melalui proses eksositosis (Li *et al.*, 2010)

Penambahan *citicolin* sebagai anti oksidan diasumsikan mampu meningkatkan efek penyembuhan dikarenakan mampu mengatasi kekurangan kekurangan PRP seperti kandungan neutrofil sebagai proinflamatori yang menyebabkan reaksi inflamasi berlebihan (Tuomi dan Best, 2003). Selain itu *citicolin* juga meningkatkan sintesis *phosphatidilcholin* di akson yang dibutuhkan untuk pertumbuhan akson (Quereshi dan Endres, 2010). Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi PRP dan *citicolin* memberikan hasil yang lebih baik daripada diberikan secara terpisah.

Salah satu indikator proses regenerasi yang baik selain jumlah fiber adalah ukuran diameter fiber, diameter akson, dan tebal mielin yang mendekati ukuran normal. Hasil penelitian

menyebutkan bahwa peningkatan diameter fiber dan diameter akson yang menunjukkan hasil paling baik adalah pada kelompok PRP dan PRP-*citicolin*. Peningkatan tebal selubung mielin paling baik pada kelompok PRP-*citicolin* dan kelompok *citicolin*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian aplikasi kombinasi PRP dan *citicolin* mampu memberikan hasil yang paling baik dikarenakan pada semua parameter histomorfometri sama dengan kelompok *Sham*.

KESIMPULAN

Pemberian aplikasi kombinasi *Platelet Rich Plasma* yang diaktivasi spons kolagen dan *cytidine 5-diphosphocholine* mampu meningkatkan regenerasi saraf pasca cedera dengan hasil lebih banyak jumlah akson, lebih besar diameter serabut, lebih besar diameter akson dan lebih tebal selubung mielin dibandingkan dengan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adibhatla RM, Hatcher JF, and Dempsey, R.J., 2001, Effects of Citicoline on Phospholipid and Glutathione Level in transient Cerebral edema. *Stroke* 32:2736-81
- Ardhani, R., Susilowati, R., and Ana, I.D., 2015, Functional Recovery of Axonal Injury Induced by Gelatin-Hydrogel Film and PRP: An Initial Study in Rats, *J. Biomedical Science and Engineering*, 8:160-169
- Grinsell, D and Keating, C.P., 2014, Peripheral Nerve Reconstruction after Injury: A Review of Clinical and Experimental Therapies, *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 698256, doi:10.1155/2014/698256
- Fufa, D., Shealy, B., Jacobson, M., Kevy, S., and Murray, M.M., 2008, Activation of platelet rich plasma using soluble type I collagen, *J Oral Maxillofac Surg.*, 66(4): 684-690.
- Harrison, S., Vavken, P., Kevy, S., Jacobson, M., Zurakowski, D., and Murray, M.M., 2011, Platelet activation by collagen provides sustained release of anabolic cytokines, *Am J Sports Med.*, 39(4): 729-73
- Issa, J.P.M., Tiozzi, R., Mello, A.S.S., Lopes, R.A., Di Mateo, M.A.S., and Iyomasa, I.I., 2007, PRP: A possibility in regenerative therapy, *Int.J.Morphol.*, 25(3): 587-590
- Li, B, Jungm H.J., Kim, S.M., Kim, M.J., and Jahng, Lee, J.H., 2013, Human periodontal ligament stem cells repair mental nerve injury, *Neural Regeneration Research*, 8(30):2827-28372014

- Li, Z., Delaney, M.K., O'Brien, A.K., Du, X., 2010, Signaling during platelet adhesion and activation, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 39(12):2341-2349
- Naftel, J.P., Ricards, L.P., and Pan, M., 1999, Course and composition of the nerves that supply the mandibular teeth of the rat, *Anat Rec*, 256:433
- Parisi V, Coppola G., Centofanti, M., Oddone F., and Angrisani MA, 2008, Evidence of the neuroprotective role of citicoline in glaucoma patient, *Prog Brain Res.*, 173:87-92
- Quereshi I, and Endres JR, 2010, Citicoline: A novel therapeutic agent with neuroprotective, neuromodulator, dan neuroregenerative properties, *Nat Med J*, 2(6):11-25
- Savignat, M., Voduhe, C., Ackerman, A., Haikel, Y., Lavalle, P., and Libersa, P., 2008, Evaluation of early nerve regeneration using a polymeric membrane functionalized with nerve growth factor after a crush lesion of rat mental nerve, *J Oral Maxillofac Surg.*, 66:711-717
- Selvaraj, P., Huang, J.S.W., Chen, A., Skalka, N., Arbesfeld, R., Loh, Y.P., 2015, Neurotrophic factor- α 1 modulates NGF-induced neurite outgrowth through interaction with Wnt-5a in PC12 cells and cortical neurons, *Molecular and Cellular Neuroscience*, 68:222-233
- Tuomi, H., Best, T.M., 2003. The inflammatory response: friend or enemy to muscle tissue?, *Br J Sports Med.*, 37(4):284-6
- Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Jiang L, Quan D, Zhou X, Zhu Z, 2013, Effect of platelet rich plasma concentration on proliferation, neurotropic function and migration of Schwann cells in vitro, *J Tissue Eng Regen Med.* doi: 10.1002/term.1756