

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratory dengan penelitian *post test design*.

B. Sampel Penelitian

1. *Platelet Rich Plasma* (PRP) diperoleh dari donor human (3 sukarelawan mahasiswa prodi Kedokteran Gigi FKIK UMY Yogyakarta) yang telah mengisikan *informed consent* sebelumnya dan memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut.

Kriteria Inklusi :

- a. Darah yang di dapatkan dari pendonor yang sehat.
- b. Tidak terinfeksi bakteri dan virus (HIV, Hepatitis).
- c. Tidak mempunyai penyakit atau gangguan pada darah, misalnya pada penderita Hemofilia.
- d. Tidak sedang menstruasi.
- e. Tidak sedang hamil.

Akan diambil darah sebanyak 10 ml kepada masing-masing pendonor darah tersebut yang akan diperlukan untuk penelitian ini.

2. *Scaffold* atau Perancah, yang digunakan dalam penelitian ini adalah membran *hydrogel CaCO₃+Gelatin* dengan perbandingan 4:6 yang kemudian disebut perancah koral buatan karena komponen utama bahan

ini seperti koral alami. Lalu perancah tersebut akan difabrikasikan dan didisain menyerupai struktur jaringan tulang spon.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian yang dilakukan di Laboratorium Biokimia FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada 16-21 Juli 2014.

D. Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas : Pemuatan metode celup dan tetes pada perancah koral buatan.
2. Variabel terikat : *Platelet-rich plasma* yang terlepas.
3. Variabel terkontrol :
 - a. Ukuran perancah buatan.
 - b. Bahan perendam.
 - c. Waktu inkubasi.
 - d. Panjang gelombang.

E. Definisi Operasional

1. *Platelet Rich Plasma* (PRP) adalah plasma kaya platelet atau trombosit yang diperoleh dari darah *autologus* dengan kandungan berbagai macam faktor pertumbuhan dan memiliki potensi meningkatkan penyembuhan jaringan.

2. Perancah koral buatan adalah perancah yang berbentuk membran dengan bahan utamanya berupa Gelatin dan CaCO_3 dengan konsentrasi 4:6.
3. *Profile release* atau profil pelepasan adalah gambaran hasil kecepatan dan banyaknya platelet yang mampu dilepaskan oleh perancah koral buatan.
4. Inkubasi adalah teknik perlakuan pada sampel yang disimpan pada inkubator dengan suhu dan waktu tertentu untuk dapat melihat pertumbuhannya.
5. *Phosphate buffer saline* (PBS) adalah larutan penyangga yang biasa digunakan dalam penelitian untuk mempertahankan pH protein.
6. *Supernatant* adalah substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah.
7. Metode celup adalah pemuatan *platelet rich plasma* kedalam perancah dengan cara perancah dicelupkan.
8. Metode tetes adalah pemuatan *platelet rich plasma* kedalam perancah dengan cara perancah ditetaskan.

F. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian :
 - a. *Microtube*.
 - b. *Micropipet*.
 - c. *Blue tip*.
 - d. Kuvet Kuarsa.
 - e. *Deck glass*.

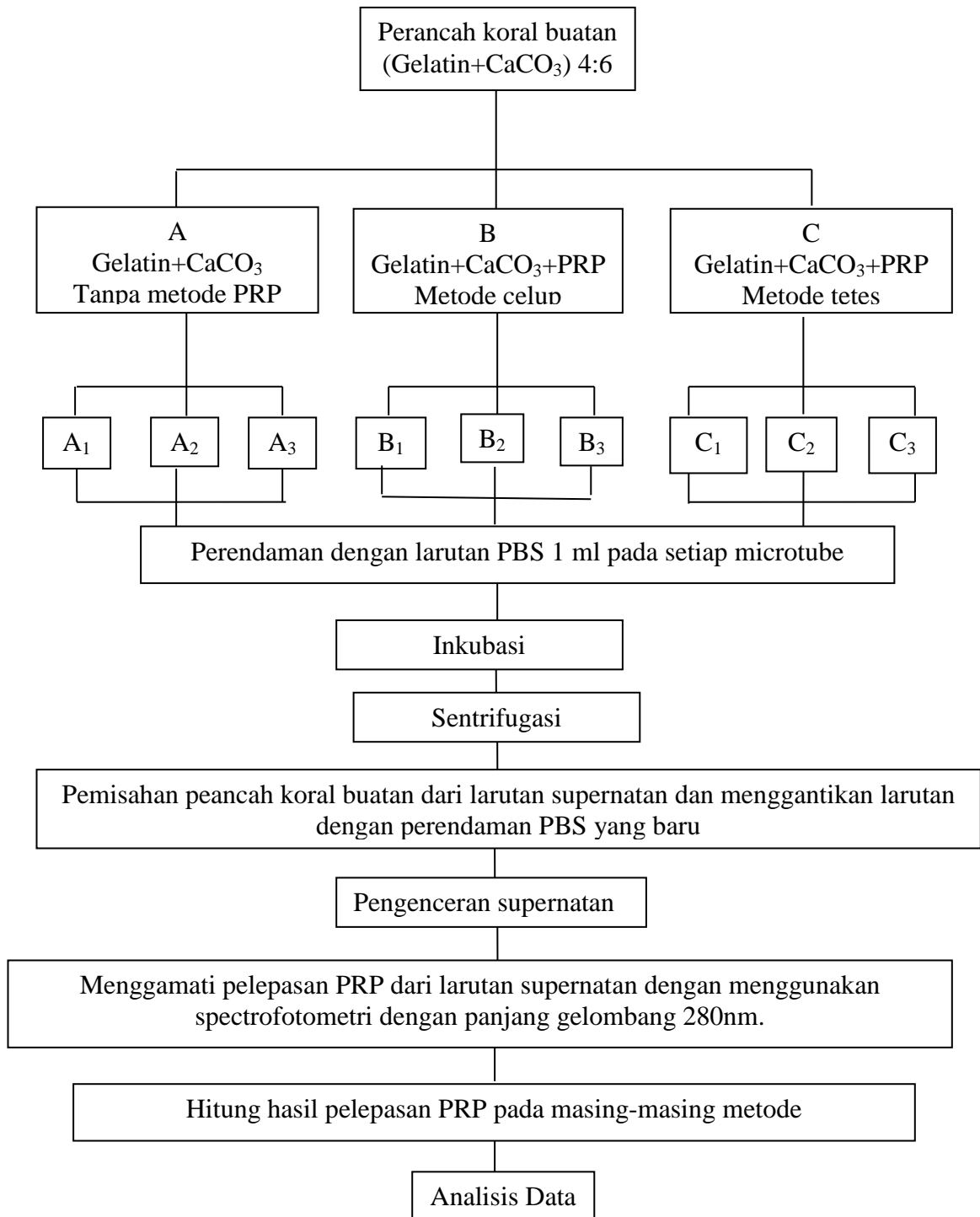
- f. Gelas tabung.
 - g. Inkubator.
 - h. Sentrifugasi.
 - i. *Spectrophotometri*.
2. Bahan Penelitian :
- a. Perancah koral buatan (Membran Hydrogel CaCO_3).
 - b. *Platelet rich plasma* (PRP).
 - c. *Phosphate buffer saline* (PBS).
 - d. HCl.
 - e. *Aquadest*.

G. Jalannya penelitian

1. Menyiapkan perancah koral buatan Membran *hydrogel* CaCO_3 yang telah dibuat oleh Tim Rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
2. Menyiapkan alat dan bahan penelitian.
3. Siapkan 3 *microtube* yang masing-masing terdapat 3 konsentrasi sampel yaitu konsentrasi A, B, dan C.
4. Pada sampel A berisi Gelatin+ CaCO_3 dengan perbandingan 4:6, sampel B berisi Gelatin+ CaCO_3 dengan perbandingan 4:6 dan ditambahkan PRP dari metode celup, sedangkan sampel C berisi Gelatin+ CaCO_3 dengan perbandingan 4:6 dan ditambahkan PRP dari metode tetes.

5. Tandai masing-masing *microtube* tersebut dengan tanda untuk 3 sampel A yaitu A₁, A₂, A₃, untuk sampel B yaitu B₁, B₂, B₃, dan sampel C yaitu C₁, C₂, C₃.
6. Lakukan perendaman dengan larutan PBS 1 ml pada setiap *microtube* dari masing-masing sampel.
7. Inkubasi setiap *microtube* dari masing-masing sampel menggunakan inkubator dengan suhu 37° C selama 1, 3, 6, 24, 48, 72 dan 96 jam secara bertahap pada masing-masing periode waktu.
8. Setiap periode waktu *microtube* disentrifugasi menggunakan alat *centrifuge*.
9. Setelah disentrifugasi akan terpisah antara perancah koral buatan dan larutan bahan perendamnya yang dinamakan supernatan.
10. Kemudian ambil supernatan dan kemudian masukan kedalam Kuvet kuarsa, lalu baca dan amati pelepasan PRP dengan menggunakan alat *spectrophotometri* dengan panjang gelombang 280 nm.
11. Jika hasil yang dikeluarkan oleh *spectrophotometri* terlalu besar dan tidak dapat terbaca. Lakukan pengenceran larutan supernatan dengan pengenceran 10x menggunakan *aquadest*.
12. Lakukan kembali ke langkah 7-10 dengan melakukan periode waktu selanjutnya.
13. Hitung hasil pelepasan PRP pada masing-masing metode sampel tersebut.
14. Lakukan analisis data.

H. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

I. Analisa Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah *One Way ANOVA* dengan dilanjutkan *LSD (Least Significant Difference)*.