

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan desain *pre test post test design*.

#### **B. Populasi dan Sampel Penelitian**

1. Perancah buatan yang dikembangkan oleh tim peneliti Rekayasa Jaringan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Jumlah perancah yang diperlukan pada penelitian ini sebanyak 36 buah.
2. *Platelet-rich plasma & Platelet-rich fibrin* sebanyak 1 ml tiap pendonor yang diperoleh dari sampel darah sebanyak 8 pendonor (Mahasiswa Prodi Kedokteran Gigi 2014 UMY) yang telah mengisi informed consent yang telah memenuhi kriteria sebagai berikut yaitu :
  - a. Pendonor dalam kondisi yang baik secara rohani maupun jasmani.
  - b. Pendonor tidak memiliki riwayat penyakit sistemik ( HIV, Hipertensi, Diabetes ).
  - c. Pendonor tidak sedang dalam masa kehamilan atau menyusui.
  - d. Pendonor tidak sedang masa menstruasi (Jika pendonor wanita).

### C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Tempat :

1. Pengambilan darah pendonor dilakukan di Laboratorium Diagnostik RS. Asri Medical Center
2. Perhitungan jumlah *Platelet* dilakukan di Laboratorium Diagnostik RS. Asri Medical Center
3. Pembuatan *Platelet rich plasma* & *Platelet rich fibrin* dilakukan di Laboratorium Biokimia FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Waktu : Desember 2017 – Februari 2018

### D. Variable Penelitian

1. Variable pengaruh
  - a. *Platelet rich plasma* 0,6 ml,
  - b. *Platelet rich fibrin* 0,6 ml.
2. Variable terpengaruh
  - a. Waktu Profil *Weight loss*.
3. Variable terkendali
  - a. Waktu perendaman
  - b. Ukuran perancah
  - c. Metode pemuatan & pembuatan *Platelet rich plasma*
  - d. Metode pemuatan & pembuatan *Platelet rich fibrin*

### **E. Definisi Operasional**

1. Perancah koral buatan dalam penelitian ini adalah perancah yang berbentuk membran tipis dan dibuat dengan teknik hidrogel dengan bahan utama gelatin dan CaCO<sub>3</sub>.
2. *Platelet rich plasma* merupakan platelet konsentrasi tinggi yang merupakan agen autologus dengan penambahan bahan antikoagulan. Terbuat dari darah manusia yang diproses menggunakan Metode Matsui dan Tabata (2012) dengan 2 kali proses sentrifugasi untuk memisahkan antara PRP dengan PPP dan eritrosit serta adanya penambahan thrombin dan antikoagulan ACD.
3. *Platelet rich fibrin* merupakan platelet yang berfungsi sebagai agen autologus tanpa penambahan antikoagulan. Berasal dari darah manusia yang diproses dengan metode Choukroun dkk (2001) yang di sentrifugasi 1 kali tanpa adanya penambahan antikoagulan.
4. Profil *weight loss* merupakan gambaran pada saat jumlah massa perancah mengalami penurunan berat dan penurunan dimensi dari perancah.

### **F. Alat dan Bahan**

Alat :

1. Alat tulis
2. Pinset
3. Mikropipet
4. Mikrotube
5. Centrifuge refrigerated rotina 35R

6. *Vacountainer ACD*
7. Yellow dan Blue tip
8. Timbangan
9. Hemositometer
10. Inkubator

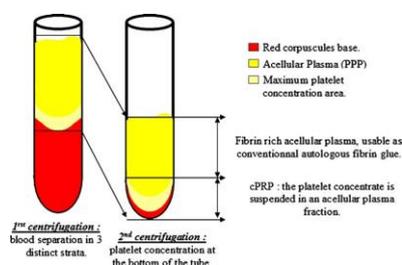
Bahan :

1. *Whole blood sample*
2. Aquadest
3. Perancah gelatin hydrogel
4. Masker
5. *Handsoon*
6. Antikoagulan ACD

#### **G. Jalannya Penelitian**

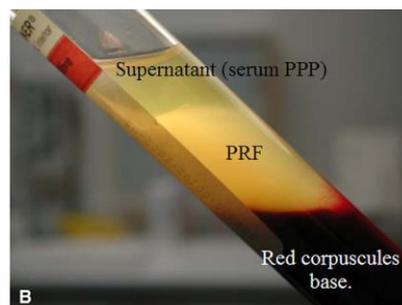
1. Menyiapkan sampel darah dari pendonor
  - a. Memberikan pengarahan kepada pasien terhadap apa yang akan dilakukan dan digunakan untuk apa sampel darah yang diambil.
  - b. Memberikan *informed consent* kepada masing-masing pasien pendonor
  - c. Pendonor masing-masing akan diambil darahnya sebanyak 10ml yang langsung dimasukkan kedalam *vacountainer ACD*.
  - d. Pengambilan darah dilakukan oleh perawat di Laboratorium Diagnostik RS. Asri Medical Center.
2. Pembuatan PRP dengan metode Matsui-Tabata :

- a. Sampel darah dari pendonor yang terdapat pada vacutainer ACD diambil dengan menggunakan *micropipet* dan *blue tip* kemudian dimasukkan kedalam setiap *microtube* untuk pembuatan prp
- b. Darah disentrifugi sebanyak 2 kali, sentrifugi pertama dilakukan dengan kecepatan 450 rcf/g selama 7 menit pada suhu 4°.
- c. Setelah disentrifugi pertama dilakukan akan terlihat tiga lapisan darah yaitu plasma, *buffy coat* dan eritrosit. Plasma dari bagian atas *microtube* diambil dengan menggunakan *micropipete*, kemudian ambil bagian lapisan putih tipis diatas eritrosit dan pindahkan kedalam *microtube* yang kering dan steril. Pada pengambilan *buffy coat* akan terambil sedikit eritrisot dari plasma.
- d. Sentrifugi kedua dilakukan dengan kecepatan 1600 rcf/g selama 5 menit pada suhu 4°. Setelah sentrifugi akan terlihat plasma, *buffy coat* dan *erotrosit*. Plasma bagian atas diambil terlebih dahulu dengan micropipet. *Buffy coat* diambil dengan micropipet dan dimasukkan kedalam microtube baru yang kering dan steril. *Buffy coat* merupakan *PRP*.



**Gambar 1. Hasil Sentrifugasi PRP**

3. Pembuatan PRF dengan metode Choukroun dkk (2001)
  - a. Sampel darah dari pendonor yang dimasukkan pada vacutainer tanpa koagulan yang diambil dengan menggunakan micropipet dan blue tip kemudian dimasukkan kedalam setiap microtube untuk pembuatan PRF
  - b. Darah di sentrifugasi pada 3000 rpm (kira-kira 400gr ) selama 10 menit.
  - c. Setelah disentrifugi akan terlihat tiga lapisan supernatant (serum PPP), PRF, plasma.



**Gambar 6. Hasil sentrifugasi PRF**

4. Perhitungan *platelet*

Sampel yang telah menghasilkan platelet kemudian akan dilakukan perhitungan jumlah platelet menggunakan hemositometer yang dilakukan di Laboratorium Diagnostik RSGM UMY.
5. Inkorporasi *Platelet rich plasma & Platelet rich fibrin* kedalam perancah.
  - a. Mempersiapkan perancah yang sebelumnya sudah ditimbang & dicatat berat awal semua perancah sebelum direndam.
  - b. Menyiapkan *Platelet rich plasma & Platelet rich fibrin*.

- c. Membagi perancah menjadi 3 kelompok besar masing-masing dengan berat yang sama yaitu Kelompok A diinkorporasikan dengan PRP, Kelompok B diinkorporasikan dengan PRF dan Kelompok C sebagai perancah kontrol tanpa diinkorporasikan dengan PRF maupun PRP.
- d. Kelompok A yang diinkorporasikan dengan PRP dibagi menjadi 4 kelompok yaitu A1, A2, A3, A4 dengan PRP sebanyak 100 $\mu$ l/perancah yang setiap kelompok dibagi menjadi 3.
- e. Kelompok B yang diinkorporasikan dengan PRF dibagi menjadi 4 kelompok yaitu B1, B2, B3, B4 dengan PRF sebanyak 100 $\mu$ l/perancah yang setiap kelompok dibagi menjadi 3.
- f. Kelompok C sebagai perancah kontrol dibagi menjadi 4 kelompok yaitu C1, C2, C3, C4 sebanyak 100 $\mu$ l/perancah yang setiap kelompok dibagi menjadi 3.
- g. Setelah dikelompokkan diberikan tanda pada masing-masing tempat dengan tanda A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, C4 kemudian timbang masing-masing kelompok tersebut.
- h. Timbang berat perancah awal beserta berat pot yang sudah ditandai.
- i. Pemuatan PRP & PRF pada perancah koral buatan dengan metode celup selama 10 menit.
- j. Menyiapkan bahan perendam yaitu *aquadest*
- k. Memasukkan perancah kedalam tempat yang sudah diberi tanda.

- l. Memasukkan *aquadest* pada perancah Kelompok A yang inkorporasi dengan PRP & Kelompok B yang inkorporasi dengan PRF sebanyak 5ml menggunakan *mikropipet*.
  - m. Memasukkan botol-botol berisi rendaman perancah kedalam inkubator pada suhu 37°C.
  - n. Mengikubasi masing-masing kelompok A1 selama 2 minggu, A2 selama 4 minggu, A3 selama 6 minggu, A4 selama 8 minggu.
  - o. Mengikubasi masing-masing kelompok B1 selama 2 minggu, B2 selama 4 minggu, B3 selama 6 minggu, B4 selama 8 minggu.
  - p. Mengikubasi masing-masing kelompok C1 selama 2 minggu, C2 selama 4 minggu, C3 selama 6 minggu, C4 selama 8 minggu.
  - q. Perancah dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C hingga beratnya stabil.
  - r. Mengukur berat masing-masing perancah kemudian dicatat.
6. Menghitung weight loss masing-masing sampel.

Uji weight loss dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$\% W = \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\%$$

$W_o$  adalah berat kering dari perancah sebelum dilakukan perendaman

$W_t$  adalah berat kering dari perancah setelah dilakukan perendaman

## H. Analisa Data

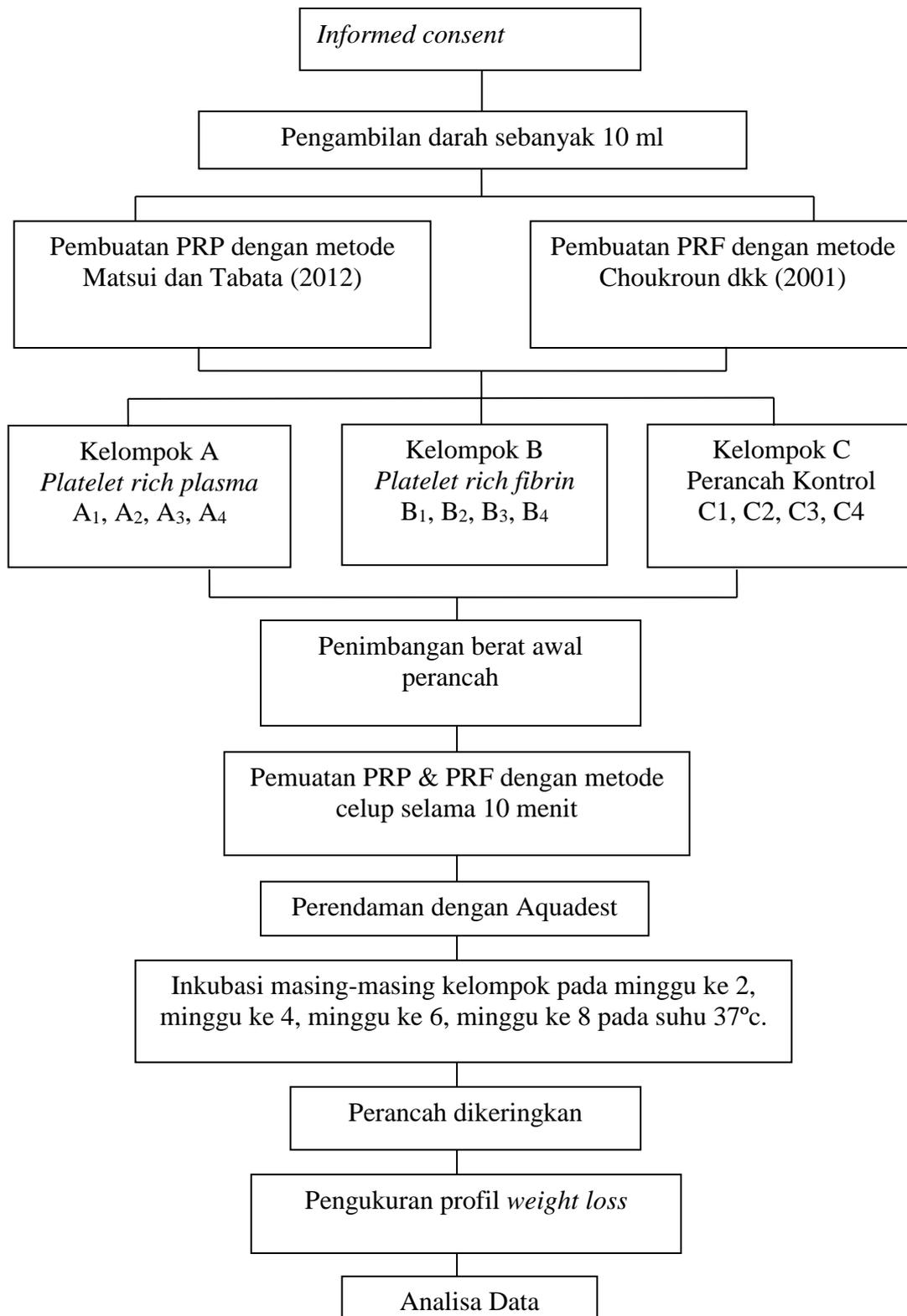
Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah berskala numerik dengan analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan

*One Way ANOVA* jika terdistribusi normal. Jika distribusi tidak normal menggunakan uji *Kruskal-wallis*.

#### **I. Etika Penelitian**

Penelitian ini membutuhkan sampel darah manusia sehingga akan dilakukan pengambilan darah pada manusia, Pendonor dalam kondisi yang baik secara rohani maupun jasmani, Pendonor tidak memiliki riwayat penyakit sistemik ( HIV, Hipertensi, Diabetes ), Pendonor tidak sedang dalam masa kehamilan atau menyusui, Pendonor tidak sedang masa menstruasi (Jika pendonor wanita), oleh sebab itu akan dilampirkan *informed consent* sebagai bukti bahwa pendonor menyetujui untuk diambil darahnya untuk penelitian ini. Sebelum dilakukan pengambilan darah pada saat pemberian informed consent dijelaskan bahwa pendonor hanya mendonorkan darahnya saja tanpa adanya perlakuan terhadap pendonor. Nomor *Etichal Clearance* penelitian 552/EP.FKIK.UMY/X/2017.

## I. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

