

KARYA TULIS ILMIAH

**PERBEDAAN EFEKTIVITAS INKORPORASI *PLATELET RICH PLASMA* (PRP) PADA PERANCAH HIDROGEL CaCO_3
DENGAN PERBANDINGAN KONSENTRASI MEMBRAN
GELATIN- CaCO_3 5:5, 4:6 DAN 10:0.**

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Syarat Memperoleh Derajat Sarjana
Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.



Disusun oleh

MUTIAH MUTMAINNAH

20150340121

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2019**

HALAMAN PENGESAHAN KTI

**PERBEDAAN EFEKTIVITAS INKORPORASI *PLATELET RICH PLASMA (PRP)* PADA PERANCAH HIDROGEL CaCO_3
DENGAN PERBANDINGAN KONSENTRASI MEMBRAN
GELATIN- CaCO_3 5:5, 4:6 DAN 10:0.**

Disusun Oleh :

MUTIAH MUTMAINNAH

20150340121

Telah disetujui pada tanggal :

23 Mei 2019

Dosen Pembimbing

Dr. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes

NIK:19701014200410173067

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Mutiah Mutmainnah

NIM : 20150340121

Program Studi : Kedokteran Gigi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dalam karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain dan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 20 Mei 2019

Yang membuat pernyataan,

Mutiah Mutmainnah

HALAMAN MOTTO

فَيَايَ الْآءِ رَبِّكُمْ تُكذِّبِينَ

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?”.

(Qs. Ar-Rahman : 13)

“Berkhusnudzonlah dalam sebuah kegagalan, karena hidup tidak hanya tentang pembelajaran yang dapat dilihat hanya dari kasat mata. Hidup adalah bagian dari suka, duka, luka, kekecewaan, pencapaian, dan segala bentuk rasa di dalamnya, maka bersyukurlah “.

(Mutiah Mutmainnah)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis ini penulis persembahkan kepada :

Dosen Pembimbing KTI saya, Dr. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes.

Atas bimbingannya

Kepada kedua orang tua :

Abi Saherdi dan Umi Rosmala Widyastuti

Atas segala doa, motivasi dan dukungannya selama ini semoga selalu diberi kesehatan, umur yang panjang, dan dilancarkan rezekinya.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. atas berkah rahmat dan karunia-Nya penulis di beri kelancaran dalam menyusun dan menyelesaikan proposal karya tulis ilmiah ini. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada junjungan kita nabi Muhammad SAW. Yang telah membawa risalah islam yang penuh akan ilmu pengetahuan, terutama dalam bidang ilmu kesehatan sehingga dapat menjadi langkah awal mewujudkan generasi yang sehat secara jasmani maupun rohani.

Proses penyusunan proposal karya tulis ilmiah dengan judul “Perbedaan Efektivitas Inkorporasi PRP (*Platelet-Rich Plasma*) pada Perancah Hidrogel CaCO_3 dengan konsentrasi gelatin - CaCO_3 5:5, 4:6 dan 10:0. Dalam rangka penyelesaian tugas akhir kuliah tidak luput dari berbagai hambatan di karenakan keterbatasan kemampuan dari penulis, namun proposal ini mampu terselesaikan dengan baik berkat berbagai pihak yang telah mendukung, membantu, membimbing serta mendo’akan agar berjalan dengan lancar, sehingga penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT. atas nikmat dan karunia-Nya yang tidak terbatas.
2. Dr. dr. Wiwik Kusumawati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
3. Dr. Drg. Erlina Sih Mahanani, M. Kes selaku Ketua Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, serta selaku

Dosen Pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah bersedia meluangkan waktu serta memberikan bimbingan atas pengetahuan, arahan, bantuan, pemikiran, saran, dan dorongan bagi penulis dalam menyelesaikan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini.

4. Seluruh keluarga besar, terutama umi saya yang selalu mendoakan, memberikan nasihat, motivasi kepada penulis.
5. Untuk Dinar, Nida, Husna, kiky dan Azy sebagai teman terbaik yang sudah memberikan semangat serta dukungan penuh kepada penulis.
6. Teman seperjuangan dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah yaitu Ratih, Nisya, dan Khusna dalam bekerja sama dan saling berbagi ilmu pengetahuan.
7. Teman-teman di Kedokteran Gigi Angkatan 2015 yang saling membantu, dan mendukung agar Proposal Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR ISI

KARYA TULIS ILMIAH.....	i
HALAMAN PENGESAHAN KTI.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
E. Keaslian Penelitian.....	6
BAB II.....	8
TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Telaah Pustaka	8

1. <i>Tissue engineering</i>	8
2. Perancah	9
3. Perancah gelatin-CaCO ₃	10
4. <i>Platelet rich plasma</i>	13
B. Landasan Teori.....	15
C. Kerangka Konsep.....	17
D. Hipotesis.....	17
BAB III	18
METODOLOGI PENELITIAN.....	18
A. Desain Penelitian.....	18
B. Populasi dan Sampel Penelitian	18
C. Lokasi dan Waktu Penelitian	19
D. Variabel Penelitian.....	19
E. Definisi Operasional.....	20
F. Instrumen Penelitian.....	21
G. Cara Pengumpulan Data.....	21
H. Alur Penelitian	26
I. Analisis Data	27
BAB IV	28
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
A. Hasil Penelitian	28
B. Pembahasan.....	33
BAB V.....	37

KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
A. Kesimpulan.....	37
B. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pembagian lapang pandang perancah	24
Gambar 2. Gambaran histologi perancah setelah inkorporasi PRP	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jumlah <i>platelet-rich plasma</i> pada masing - masing perancah	28
Tabel 2. uji <i>shapiro-wilk</i> untuk uji normalitas	29
Tabel 3. Uji homogenitas untuk variansi data.....	29
Tabel 4. Analisis <i>one-way ANOVA</i> untuk perbedaan efektivitas inkorporasi PRP pada setiap perancah	30
Tabel 5. Analisis <i>pos-hoc LSD</i> untuk perbedaan efektivitas inkorporasi PRP pada perancah gelatin - CaCO_3	31

ABSTRACT

Tissue engineering technology, or commonly referred to as Tissue Engineering, is one of the most advanced procedures in tissue healing methods which are able to initiate and maintain the regeneration process by involving cell regeneration, growth factors, and scaffold. The purpose of this study is to determine the effectiveness incorporation of platelet-rich plasma in scaffolds with gelatin-CaCO₃ 5: 5, 4: 6 and 10: 0 membrane concentrations.

The research Is a kind of experimental laboratories, with total samples of 9 scaffolds with 3 scaffold samples from each membrane concentration ratio. Each scaffold is 30µl of platelet-rich plasma. Calculation of the number of platelet-rich plasma using a binocular microscope.

The results of platelet-rich plasma calculations were statistically by one way ANOVA test with the results of the difference in membrane concentration of 5: 5 ($p = 0.001$), concentration of 4: 6 ($p = 0.000$) and concentration of 10: 0 ($p = 0.001$). The results showed an average value of platelet-rich plasma in each scaffold with a concentration of 5: 5 as many as 970.33, a concentration of 4:6 as many as 1,173.66 and a concentration of 10: 0 as much as 740.33 so that there was a significant difference ($p < 0.05$). The conclusion of this study is that there are differences in the number of platelet-rich plasma that has been incorcated in the scaffold with a comparison of the concentration of gelatin-CaCO₃ 5: 5, 4: 6 and 10: 0 membranes.

Keywords : Tissue engineering, Platelet-rich plasma, Scaffold, Porosity.

INTISARI

Teknologi rekayasa jaringan atau yang biasanya disebut sebagai *Tissue Engineering* merupakan salah satu prosedur dalam metode penyembuhan jaringan yang cukup mutakhir dimana mampu menginisiasi serta mempertahankan proses regenerasi dengan melibatkan regenerasi sel, *growth faktor*, dan *scaffold* (perancah). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas inkorporasi *platelet-rich plasma* pada perancah dengan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, dengan jumlah seluruh sampel 9 buah perancah dengan 3 sampel perancah dari masing-masing perbandingan konsentrasi membran. Setiap perancah diinkorporasikan *platelet rich plasma* sebanyak 30µl. Perhitungan jumlah *platelet rich plasma* menggunakan mikroskop binokuler.

Hasil perhitungan *platelet rich plasma* dianalisa secara statistik dengan uji *one way ANOVA* dengan hasil uji perbedaan konsentrasi membran 5:5 ($p=0.001$), konsentrasi 4:6 ($p=0.000$) dan konsentrasi 10:0 ($p=0.001$). Hasil menunjukkan nilai rerata jumlah *platelet rich plasma* pada masing-masing perancah dengan konsentrasi 5:5 sebanyak 970.33, konsentrasi 4:6 sebanyak 1,173.66 dan konsentrasi 10:0 sebanyak 740.33 sehingga menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan ($p<0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan jumlah *platelet rich plasma* yang telah diinkorporasikan pada perancah dengan perbandingan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0.

Kata kunci : *Tissue engineering*, *Platelet rich plasma*, perancah, porositas.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tulang merupakan organ yang memiliki peranan yang sangat penting dalam fisiologi manusia dimana fungsinya sebagai perlindungan, penyimpanan mineral, tempat memproduksi darah, dan menyediakan kerangka kerja sebagai dukungan bagi organ lain seperti tempat melekatnya otot dalam sistem pergerakan, serta dukungan pada perlindungan organ vital. Beberapa penyakit seperti *osteogenesis imperfecta*, *osteoporosis*, *osteoarthritis* serta kerusakan yang disebabkan oleh cedera maupun trauma yang berefek pada organ di sekitarnya sering kali dijumpai oleh orang-orang bahkan sampai pada penyebab kematian oleh sebagian orang (Porter, *et al.* 2009).

Trauma yang terjadi pada tulang biasanya ditangani dengan tindakan operasi, namun tindakan tersebut dapat menimbulkan *defect* terhadap tulang pasca operasi, contohnya tulang alveolar pasca operasi pada kasus impaksi gigi molar ketiga mengalami luka pasca operasi serta resorpsi pada tulang alveolar, sehingga membutuhkan tindakan penyembuhan yang tepat. Ada berbagai prosedur yang sering digunakan dalam proses penyembuhan salah satunya adalah dengan pemanfaatan teknologi rekayasa jaringan (Albanese, *et al.* 2013).

Teknologi rekayasa jaringan atau yang biasanya disebut sebagai *Tissue Engineering* menjadi pilihan ketika penyembuhan pada jaringan

yang mengalami luka hanya memperbaiki jaringan non spesifik dibandingkan jaringan spesifik fungsional yang terlibat (William, 2004). Teknologi rekayasa jaringan mampu menginisiasi serta mempertahankan proses regenerasi dengan melibatkan regenerasi sel, *growth faktor* , dan perancah (Motamedian, *et al.* 2016).

Perancah itu sendiri merupakan kerangka dimana fungsinya sebagai struktur tiga dimensi dalam memandu migrasi sel, proliferasi dan diferensiasi. Perancah yang ideal mempunyai sifat diantaranya adalah ; biokompatibel, merangsang terjadinya *osteogenesis*, *sementogenesis* dan pembentukan ligamen periodontal, tidak toksik, serta tidak pula bersifat antigen. Perancah juga harus mengalami degradasi untuk memungkinkan penggantian bahan utama perancah dengan rekayasa jaringan tulang yang baru terbentuk, dan bertanggung jawab dalam dukungan mekanik maupun temporal pada lokasi dari rekayasa jaringan sampai tulang baru selesai terbentuk serta fungsinya yang mampu menahan beban mekanis (Henkel, *et al.* 2013).

Perancah yang ideal juga harus memiliki tingkat porositas yang tinggi pada jaringan pori-porinya sehingga dapat saling berhubungan untuk pertumbuhan sel dan transportasi aliran nutrisi serta sisa metabolik. Permukaan perancah berpori juga meningkatkan *interlocking* mekanis antara jaringan tulang alami di sekitarnya dengan *Tissue Engineering Construct* (TEC) karena sesungguhnya tulang akan mengalami kesulitan dalam proses pembentukannya apabila tempat di sekitarnya tidak memiliki

celah layaknya partikel padat untuk tumbuh dan terbentuk (Henkel, *et al.* 2013).

Perancah yang digunakan adalah perancah berbahan dasar gelatin yang dikombinasikan dengan CaCO_3 karena telah terbukti efektif dalam meregenerasi jaringan baru. Namun masih dalam proses pengembangan dan sifatnya dalam mendukung perlekatan sel, *osteoconductive*, *bioactive*, *resorbable*, dan *biocompatible* memungkinkan kombinasi perancah gelatin- CaCO_3 termasuk dalam kriteria standar. Selain itu strukturnya yang menyerupai tulang inilah sehingga perancah tersebut memiliki peranan sebagai *microenvironment* (Reno, *et al.* 2013).

Growth faktor merupakan pengatur penting dalam proses regenerasi jaringan. *Growth faktor* berperan sebagai autokrin, parakrin, atau endokrin dan terdapat dalam matriks ekstraseluler serta merupakan salah satu kandungan yang terdapat pada *Platelet Rich Plasma* (PRP) berupa *platelet-derived growth faktor* (PDGF) dan *transforming growth faktor beta* (TGF- β). *Platelet-rich plasma* itu sendiri memiliki konsentrasi autologous yang cukup tinggi dari trombosit manusia di atas batas normal pada volume kecil dalam plasma (Kubota, *et al.* 2018). *Platelet rich plasma* mengandung protein seperti fibrin, fibronektin, vitronektin, dan trombospondin, yang di ketahui berperan sebagai molekul adhesi sel untuk migrasi sel osteoblas, fibroblas, dan epitel (Albanese, *et al.* 2013).

Growth faktor berupa *platelet rich plasma* diinkorporasikan pada perancah berbahan dasar gelatin beserta CaCO_3 dengan maksud sebagai

pembuktian bahwa perancah dari berbagai variasi konsentrasi gelatin akan berefek kepada struktur porositas hidrogel sehingga semakin kecil konsentrasi gelatin maka akan meningkatkan sifat porositas dan berujung kepada peningkatan terhadap perlekatan sel-sel di sekitarnya juga meningkatkan jumlah *platelet rich plasma* yang terinkorporasi pada perancah berbahan dasar gelatin tersebut (Nindiyasari, *et al.* 2014).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan suatu rekayasa jaringan ialah struktur yang ada pada perancah. Dimana area permukaan dan ukuran porus perancah dipengaruhi oleh bahan pembuatannya. Dalam penelitian ini menggunakan gelatin melalui proses *freeze-drying* untuk menghasilkan porositas yang diinginkan. Ukuran porus yang terlalu kecil dapat membatasi migrasi sel, namun porus yang terlalu besar dapat mengurangi luas permukaan dan membatasi perlekatan sel (Murphy *et al.*, 2010).

Selain itu perlekatan sel pada perancah dipengaruhi oleh protein terabsorpsi yang berada pada permukaan perancah. Ikatan tersebut akan menstimulasi proses interseluler spesifik sehingga terjadinya perlekatan sel, bentuk, pertumbuhan dan diferensiasi (Kumar *et al.*, 2014)

Penelitian yang dilakukan merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya oleh Tirawati (2015) yang menjelaskan tentang efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* pada perancah hidrogel CaCO_3 dengan perbandingan konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0 menggunakan metode tetes maupun celup tersebut didapatkan hasil bahwa perancah dengan

perbandingan 10:0 lebih tinggi dibandingkan perancah dengan perbandingan 5:5 dan 4:6. Sehingga di lakukan penelitian lanjutan untuk melihat perbedaan efektivitas inkorporasi PRP dengan perancah yang manakah sesungguhnya yang lebih banyak dalam menyerap PRP.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas, maka dirumuskan sebuah masalah berupa seberapa besar perbedaan efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* pada perancah hidrogel CaCO_3 dengan konsentrasi membran gelatin- CaCO_3 5:5, 4:6 dan 10:0 ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* pada perancah berbahan dasar gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0.

2. Tujuan khusus

- a. Mengetahui seberapa banyak jumlah *platelet rich plasma* yang diinkorporasi dan telah menempel pada membran yang telah di siapkan.
- b. Mengetahui perancah manakah yang lebih efektif untuk inkorporasi *platelet rich plasma*, apakah perancah berbahan dasar gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi 5:5, 4:6 atau 10:0 yang memiliki kemampuan menyerap platelet paling tinggi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan menghasilkan manfaat yaitu :

Memberikan referensi kepada orang-orang yang akan melakukan penelitian lanjutan atau yang berhubungan dengan penelitian *platelet rich plasma*.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian sudah pernah dilakukan, namun memiliki sedikit perbedaan dengan penelitian-penelitian terdahulu yang berhubungan dengan *platelet rich plasma* dan perancah. Penelitian ini di antaranya :

1. Penelitian Septi Quintari (2014) yang berjudul perbedaan profil pelepasan *platelet rich plasma* dari pemuatan metode celup dan tetes perancah koral buatan. Persamaan dengan penelitian yang dilakukan adalah yaitu menggunakan perancah membran hydrogel CaCO₃-gelatin dan PRP sebagai variabel, namun perbedaannya terletak pada perbandingan antara volume gelatin dan CaCO₃ serta metode yang digunakan menggunakan metode celup maupun tetes.
2. Penelitian David Tirawati (2015) dengan judul perbandingan efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* (PRP) pada perancah sintetik CaCO₃-gelatin konsentrasi 4/6 wt% dan 5/5 wt% dengan metode celup dan tetes. Persamaannya terdapat pada penelitian yang dilakukan adalah dengan membandingkan efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* pada perancah sintetik CaCO₃-gelatin,

perbedaannya adalah metode yang digunakan pada penelitian hanya menggunakan metode tetes.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Tissue engineering

Tissue engineering atau rekayasa jaringan merupakan teknologi dalam bidang biomedis dan berfungsi dalam membantu meregenerasikan jaringan tubuh yang mengalami kerusakan cukup parah dimana tubuh sudah tidak mampu lagi memperbaiki dirinya sendiri, dengan adanya rekayasa jaringan ini di harapkan adanya pengurangan tindakan operasi tulang menggunakan bahan biologis, dimana bahan biologis berupa organ manusia dari individu yang berbeda dicangkok kedalam tubuh manusia. Dalam hal ini seringkali ditemui masalah berupa penolakan dari organ tubuh lainnya, serta adanya transmisi penyakit sehingga tehnik rekayasa jaringan menawarkan pengobatan untuk kondisi penyakit yang tidak dapat di obati (Wang, 2006).

Menurut Tabata (2003) Proses regenerasi jaringan memerlukan sebuah faktor pertumbuhan untuk meningkatkan proses regenerasi, selain itu dibutuhkan sel yang akan diregenerasikan yaitu berupa sel punca dan bahan perancah sebagai tempat sel mengalami proliferasi serta diferensiasi.

2. Perancah

Perancah merupakan sel induk yang ditransplantasikan kedalam sebuah struktur jaringan untuk mendukung pembentukan jaringan dalam segi mekanis secara tiga dimensi, serta bertindak dalam migrasi sel, proliferasi serta bertugas dalam pengiriman berupa protein tulang morfogenik, *insulin growth factor's* (IGFs) , dan merangsang sel-sel untuk berdiferensiasi menjadi matriks tulang dengan mengubah faktor pertumbuhan (Mangano, 2011). Perancah yang baik harus memiliki sifat diantaranya sebagai berikut :

a. Biokompatibel

Rekayasa jaringan memiliki aturan yang berhubungan dengan karakteristik terhadap bahan rekayasa jaringan itu sendiri untuk tidak menimbulkan reaksi imunologis serta tidak memunculkan respon pada benda asing yang merugikan lingkungan sekitar jaringan. Biokompatibel dapat diartikan sebagai suatu kemampuan dari material yang dapat merespon suatu hal secara tepat pada penerapan tugasnya secara spesifik, sehingga perlu memperhitungkan spesifikasi lokal seperti vaskularisasi, tekanan osmotik, pH, aktivitas metabolik, dsb. Apabila tidak di perhitungkan akan berakibat timbulnya gangguan yang bersifat sementara di daerah lokal (Henkel, *et al.*, 2013)

b. *Mechanical properties*

Perancah memiliki tanggung jawab dalam hal dukungan secara mekanis serta di perlukannya stabilitas pada daerah rekayasa jaringan hingga tulang yang baru terbentuk dan sudah cukup matang serta mampu menahan beban mekanis (Henkel, *et al.*, 2013).

c. Degradasi

Perancah yang bersifat degradasi artinya dapat di hilangkan melalui jalur alami dari tubuh manusia baik setelah di metabolisme tubuh maupun melalui penyaringan sederhana dari produk saringan (Henkel, *et al.*, 2013).

d. Porositas

Porositas pada perancah serta ukuran pori saling berhubungan dengan luas permukaan yang tersedia untuk proses adhesi dan pertumbuhan sel, juga sebagai potensi dari pertumbuhan jaringan inang termasuk pembuluh darah. Ukuran pori yang lebih besar dan porositas yang lebih tinggi mengarah kepada peningkatan proses neovaskularisasi sehingga kemungkinan proses osteogenesis lebih cepat (Henkel, *et al.*, 2013).

3. Perancah gelatin-CaCO₃

Perancah gelatin–CaCO₃ memiliki kriteria diantaranya bersifat *biocompatible* dan *bidragradable*, porositas yang baik, *mechanical*

properties yang sesuai dengan jaringan yang akan digantikan serta pembentukan area permukaan perancah yang dapat mewakili interaksi antara biomaterial dan jaringan inang disekitarnya (Reno, *et al.*, 2013).

Gelatin merupakan hidrogel yang sangat menarik karena porositasnya dapat dengan mudah dimodifikasi dengan mengubah konten padat dari gel, selanjutnya gelatin inilah yang digunakan untuk melakukan penkristalan dari CaCO_3 (Nindiyasari, *et al.*, 2014). Gelatin merupakan hasil dari hidrolisis parsial kolagen oleh produk alami dan merupakan protein yang mampu larut serta terbuat dari kulit maupun tulang hewan. Terdapat dua jenis gelatin yaitu tipe A yang terbuat dari kulit hewan muda misalnya kulit babi dengan melalui proses pelunakan menggunakan larutan asam, sebaliknya gelatin tipe B berasal dari kulit dan tulang hewan yang sudah tua serta perendamannya menggunakan larutan basa serta butuh waktu yang cukup lama dalam proses perendaman, sehingga dari keseluruhan bahan gelatin dimana kandungannya berkaitan dengan adanya protein sangat tinggi sehingga memiliki fungsi sebagai pengikat, pemerkaya gizi, dapat membentuk lapisan tipis yang elastis, dan membentuk film yang transparan serta kuat (Hastuti & Sumpe, 2007).

Perancah berbahan dasar CaCO_3 (kalsium karbonat) digunakan karena strukturnya yang menyerupai matriks tulang dengan ukuran porus mencapai $150\ \mu\text{m}$ dari ukuran normal porus antara 100-

800 μm sehingga dapat memfasilitas sel dalam proses proliferasi maupun perlekatan (Reno, *et al.*, 2013).

Kalsium karbonat mengandung 3 komponen utama yaitu diantaranya karbon, oksigen dan kalsium. Kandungan kalsium yang terdapat pada bahan dasar kalsium karbonat mampu membentuk suatu ikatan antara porus pada perancah dengan *growth factor* yang telah diinkorporasikan. Selain itu pada permukaan perancah saat bersentuhan dengan darah ataupun serum akan segera membentuk sebuah lapisan berupa protein pada bagian permukaan yang mampu berinteraksi dengan reseptor membran sel disekitar dan membentuk ikatan antar reseptor protein, sehingga terjadi proses transduksi. Proses ini kemudian menstimulasi terjadinya adhesi sel, bentuk, pertumbuhan serta diferensiasi (Kumar *et al.*, 2013).

Kemampuan degradasi dari perancah berbahan dasar gelatin- CaCO_3 dipengaruhi oleh kadar kalsium karbonat yang terkandung di dalamnya. Menurut Fadhlallah, *et al.*, (2018) kalsium karbonat memiliki kemampuan biodegradasi secara natural yang lebih baik dibandingkan dari kalsium fosfat dan *Hydroxyapatite* (HA). Semakin tinggi kandungan kalsium karbonat maka kemampuan dalam biodegradasi suatu perancah juga akan semakin tinggi.

4. *Platelet rich plasma*

Platelet rich plasma merupakan terobosan terbaru dalam teknologi rekayasa jaringan dimana di hasilkan dari hasil sentrifugasi outologous dari seluruh darah yang telah di siapkan dan di gabungkan dengan thrombin maupun kalsium sehingga memiliki konsentrasi akan platelet yang cukup tinggi. Platelet merupakan sel yang pertama kali merespon akan adanya luka pada jaringan serta memberi efek prokoagulan. Platelet kaya akan faktor penting dalam pertumbuhan contohnya adalah mengandung *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-b* (TGF-b) 1 dan 2 serta *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dimana berperan penting dalam penyembuhan jaringan lunak maupun jaringan keras. *platelet-derived growth factor* menstimulasi kemotaksis, mitogenesis dan mereplikasi sel induk di area jaringan yang mengalami kerusakan, selain itu PDGF juga menstimulasi dalam produksi *fibronectin* yang merupakan sel molekul adhesi untuk proses proliferasi sel dan migrasi dalam proses penyembuhan. *transforming growth factor-b* (TGF-b) 1 dan 2 berfungsi dalam menstimulasi kemotaksis fibroblast dalam produksi kolagen serta fibronektin dengan menurunkan protease dan meningkatkan inhibitor protease (Albanese, *et al.*, 2013).

Proses pembuatan *platelet rich plasma* melibatkan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas dari *platelet rich plasma* diantaranya ialah proses sentrifugasi dalam langkah untuk

memisahkan *platelet-poor plasma* dari platelet yang kaya akan plasma dimana platelet sendiri memiliki beberapa faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses regenerasi jaringan. Suhu yang digunakan sebesar 4 derajat *celcius* agar terhambatnya aktivitas enzimatik serta menjaga kestabilan dari komponen tersebut. Selanjutnya ialah pemberian antikoagulan berupa *Acid Citrate Dextrose* (ACD) yang mampu meningkatkan kalsium dan menghambat proses koagulasi serta mempertahankan pH antara 7.4 – 7.6, juga sebagai penyedia sumber energi untuk sel darah merah agar tidak timbul kerusakan, serta meningkatkan produksi *adenosine triphosphate* (ATP) agar viabilitas eritrosit meningkat (Wardhani & Mahanani, 2012).

B. Landasan Teori

Tissue engineering atau yang disebut dengan teknologi rekayasa jaringan mampu mengembalikan fungsi organ serta meregenerasikan jaringan yang telah rusak. Tehnologi tekayasa jaringan bergerak dalam bidang kesehatan yang memanfaatkan sel pertumbuhan, perancah serta *growth factor* untuk meregenerasikan jaringan yang telah rusak dan sulit untuk memperbaiki diri.

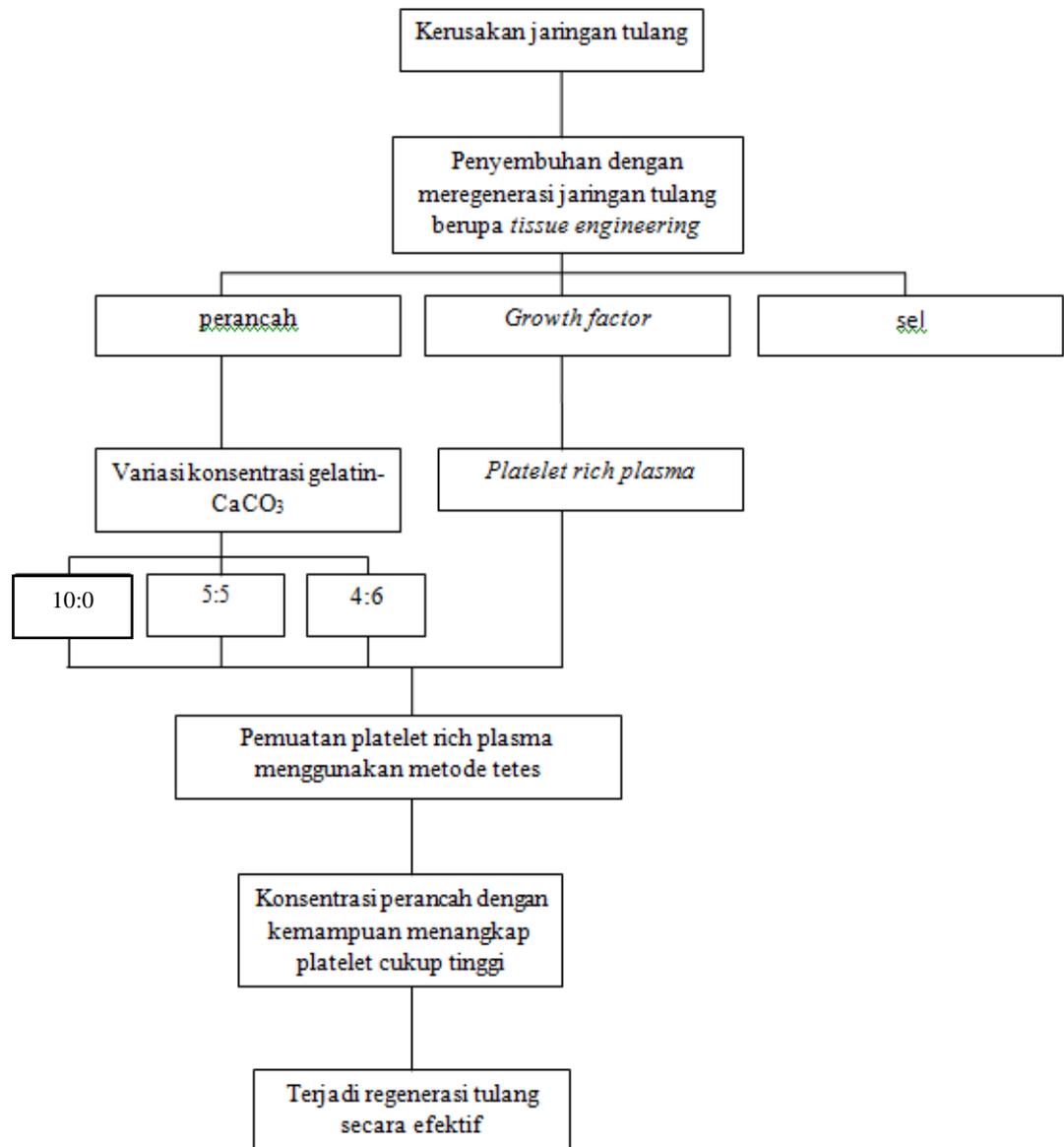
Perancah merupakan kerangka yang berfungsi sebagai struktur tiga dimensi untuk memandu migrasi sel, proliferasi dan diferensiasi. Perancah yang ideal harus bersifat biokompatibel, merangsang terjadinya osteogenesis, sementogenesis, pembentukan ligament periodontal, non toksik, dan tidak bersifat antigen. seiring dengan pembentukan jaringan, perancah juga harus mengalami degradasi untuk memungkinkan penggantian bahan utama perancah dengan rekayasa jaringan tulang yang baru terbentuk, dan harus memiliki tingkat porositas yang tinggi. Perancah yang digunakan adalah perancah berbahan dasar gelatin yang di kombinasikan dengan CaCO_3 . Gelatin merupakan hidrogel yang sangat menarik karena porositasnya dapat dengan mudah dimodifikasi dengan mengubah konten padat dari gel, dimana porositas mempengaruhi migrasi sel serta perlekatan antar sel dengan perancah, selanjutnya gelatin inilah yang digunakan untuk melakukan penkristalan dari kalsium karbonat. Kalsium karbonat memiliki kemampuan dalam berikatan dengan sel sekitar sangat baik dikarenakan kalsium yang terkandung di dalamnya

dimana membentuk suatu ikatan elektrostatik yang selanjutnya dapat menstimulasi proses adhesi sel maupun diferensiasi, selain itu kalsium karbonat memiliki kemampuan biodegradasi secara natural yang lebih baik dibandingkan dari kalsium fosfat dan Hydroxyapatite (HA).

Platelet rich plasma adalah plasma yang kaya akan platelet yang terdapat pada manusia dimana memiliki konsentrasi autologous yang cukup tinggi dari trombosit di atas batas normal pada volume kecil dalam plasma. mengandung protein seperti fibrin, fibronektin, vitronektin, dan trombospondin, yang di ketahui berperan sebagai molekul adhesi sel untuk migrasi sel osteoblas, fibroblas, dan epitel.

Inkorporasi PRP pada perancah yang tepat penting dilakukan untuk pengoptimalan aplikasi PRP dalam mempercepat proses penyembuhan luka.

C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

Perancah dengan konsentrasi kalsium karbonat lebih tinggi memiliki kemampuan mengikat *platelet rich plasma* lebih baik di bandingkan perancah dengan konsentrasi kalsium karbonat lebih rendah.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan di laboratorium yang bersifat eksperimental dengan *post test design*.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Perancah hidrogel kalsium karbonat

Perancah hidrogel kalsium karbonat yang digunakan adalah perancah yang telah dikembangkan oleh tim riset rekayasa jaringan FKG-UGM (Mahanani, *et al.*, 2016). Perancah yang dibutuhkan adalah 9 buah.

2. *Platelet rich plasma*

Platelet rich plasma ini diperoleh dari 3 pendonor oleh mahasiswa Prodi Kedokteran Gigi FKIK UMY yang telah mengisi *informed consent* sebelumnya dan mempunyai kriteria sebagai berikut :

- a. Pendonor harus dalam keadaan sehat dan tidak memiliki penyakit sistemik
- b. Tidak sedang mengalami menstruasi serta tidak sedang hamil.
- c. Pendonor tidak sedang terinfeksi virus maupun bakteri.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Penelitian dilakukan di:

- a. Penelitian pada proses pembuatan *platelet rich plasma* dan uji dari inkorporasi *platelet rich plasma* di lakukan di Laboratorium Biokimia FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. pada pengambilan sampel darah di lakukan di Laboratorium Rumah Sakit Gigi dan Mulut AMC.
- c. pewarnaan menggunakan giemsa dan uji dari inkorporasi *platelet rich plasma* di lakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Asri Medical Center.
- d. Perhitungan jumlah *platelet rich plasma* dilakukan di Laboratorium MMT (*Molecular Medicine and Therapy Research*) Rumah Sakit Asri Medical Center.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan 29 Januari – 26 Februari 2019.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel

- a. Variabel bebas

variasi konsentrasi antara perancah hidrogel gelatin dan CaCO_3

- b. Variabel terikat

Platele rich plasma yang di muat dalam perancah hidrogel gelatin-
 CaCO_3

c. Variabel terkendali

- Metode dalam pembuatan *platelet rich plasma*.
- Antikoagulan yang di gunakan.
- Ukuran dari perancah hidrogel gelatin.
- Volume *platelet rich plasma* yang di inkorporasikan.
- Perancah hidrogel CaCO₃ yang digunakan.
- pH pada perancah.

d. Variabel tak terkendali

- Jumlah trombosit yang rusak

E. Definisi Operasional

1. Perancah hidrogel gelatin adalah perancah yang berbentuk membran yang di desain menyerupai tulang yang berpori dengan bahan dasar berupa gelatin dan CaCO₃ dengan konsentrasi gelatin-CaCO₃ perbandingan 5:5, 4:6 dan 10:0.
2. *Platelet rich plasma* (PRP) merupakan platelet yang di dapatkan dari manusia melalui hasil sentrifugasi darah pasien untuk memisahkan plasma dari sel darah merah, selanjutnya PRP di pisahkan dari platelet *poor* plasma sehingga menghasilkan konsentrasi platelet yang tinggi.
3. Inkorporasi adalah proses dari pemuatan PRP pada perancah hidrogel dengan menggunakan metode tetes.
4. Metode tetes merupakan metode dalam pemuatan PRP pada perancah hidrogel gelatin-CaCO₃ dengan cara meneteskan PRP sebanyak 30 µl pada perancah selama 15 menit.

F. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan sebagai berikut :

- Masker, *Microtube*, *Handsoon*, *Micropipet*, *Vancountainer ACD*, *Centrifuge refrigerated*, *Centrifuge*, *Deck glass*, *Yellow tip*, *Blue tip*.

Bahan yang digunakan sebagai berikut :

- Perancah hirogel gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi gelatin gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 serta 10:0, pewarna giemsa, darah dari pendonor, antikoagulan sitrat, akuades, formalin.

G. Cara Pengumpulan Data

1. Pengambilan sampel darah dari 3 pendonor yang di lakukan di Laboratorium Diagnostik Rumah Sakit Gigi dan Mulut AMC. Darah yang di ambil melalui vena di bagian cubiti sebanyak 10 ml dan kemudian di masukkan ke dalam *vacountainer* yang sudah di isi antikoagulan sitrat.
2. Menyiapkan alat dan bahan yang di butuhkan.
3. Perancah hidrogel CaCO₃ (Mahanani, *et al.*, 2016)
 - CaCO₃ (kalsium karbonat) yang di gunakan awal mulanya berasal dari *calcite* CaCO₃ berupa bubuk dengan 10% w/v, 1.5 gram, dari konsentrasi padat yang di campurkan dengan air suling deionisasi. Pengadukan dilakukan pada suhu kamar selama 30 menit sampai bubuk kalsium karbonat larut dalam

air. Setelah pengadukan selesai, campuran dipindahkan ke *water bath* pada suhu 40°C dan ditambahkan gelatin. Gelatin yang digunakan berasal dari gelatin tipe B.

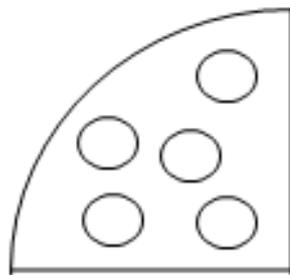
- Pendispersan yang di gunakan adalah sodium sitrat. Selanjutnya, kalsium karbonat di gabungkan dengan gelatin yang telah di siapkan hingga suspensi tersebut menjadi homogen.
 - Larutan tersebut kemudian dicetak dalam sebuah cover dari 24 lempengan dan membentuk ketebalan hingga 0,3 mm yang nantinya di gunakan sebagai perancah menyerupai piringan yang cukup tebal. Perancah tersebut dibekukan pada -20°C selama 24 jam dan di lanjutkan dengan *freeze-drying* selama 24 jam. Setelah perancah yang di keringkan terbentuk selanjutnya di lakukan *cross-linked* dengan metode *dehydrothermal* menggunakan *vacuum oven* selama 72 jam.
4. Pembuatan *Platelet rich plasma* (Matsui dan Tabata, 2012)
- tahap pertama dalam persiapan PRP yaitu darah dari probandus di masukkan kedalam tabung yang mengandung asam-sitrat-dekstrosa. Selanjutnya di beri antikoagulan dan di sentrifugasi selama tujuh menit pada 450 g pada suhu 4 °C.
 - selanjutnya plasma kuning bersamaan dengan *buffy coat* dengan hati-hati di pindahkan ke tabung *BD Vacutainer* setelah itu di sentrifugasi kembali selama 5 menit sebanyak

1600 gram pada suhu 4 °C untuk memisahkan *platelet poor plasma* dari platelet yang kaya akan plasma.

- Setelah di sentrifugasi akan terlihat tiga lapisan dimana PRP terletak di lapisan bagian tengah dan selanjutnya di pisahkan ke dalam *microtube* yang steril dan kering.
5. Selanjutnya lebih dahulu menghitung jumlah platelet pada *whole blood* dengan cara mengambil 30 μ l *whole blood* dengan *micropipette* dan meletakkannya pada ujung kanan *deck glass* lalu buat apusan dengan *deck glass* lainnya dan membentuk sudut 45 derajat dorong hingga membentuk bagian tipis, tunggu hingga kering lalu di fiksasi menggunakan *formalin* dan di beri pewarnaan giemsa selama 5 menit selanjutnya di cuci menggunakan akuades dan di keringkan.
 6. Perhitungan platelet di lakukan menggunakan mikroskop cahaya dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran objektif 100 kali. jumlah platelet yang di hitung adalah jumlah platelet yang terlihat pada mikroskop cahaya di kali $1000/\text{mm}^3$
 7. Menyiapkan perancah hidrogel CaCO_3 dengan variasi konsentrasi gelatin- CaCO_3 5:5, 4:6 dan 10:0 yang telah di stabilkan beratnya untuk ketiga kelompok yaitu kelompok A untuk gelatin- CaCO_3 5:5, kelompok B untuk 4:6 dan kelompok C untuk 10:0. Setiap kelompok dengan jumlah 3 sampel yang sama. Sampel tersebut

digunakan untuk perhitungan jumlah PRP menggunakan mikroskop cahaya. Perancah di letakkan di atas *deck glass*.

8. Sampel tersebut diinkorporasi PRP terlebih dahulu dengan metode tetes yaitu meneteskan 30 μ l PRP ke atas perancah menggunakan micropipette selama 15 menit, selanjutnya dilakukan fiksasi dengan metanol.
9. Fiksasi menggunakan metanol yang diteteskan pada masing-masing perancah kemudian ditunggu selama 3 menit dan dikeringkan, setelah fiksasi dilakukan pewarnaan pada preparat dengan pewarnaan giemsa 3% dan di cuci menggunakan akuades serta dikeringkan kembali.
10. menghitung platelet dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 4x, 10x, 40x, dan 100x.
11. Setiap perancah akan di hitung jumlah PRP dengan pengamatan 5 lapang pandang seperti gambar berikut :

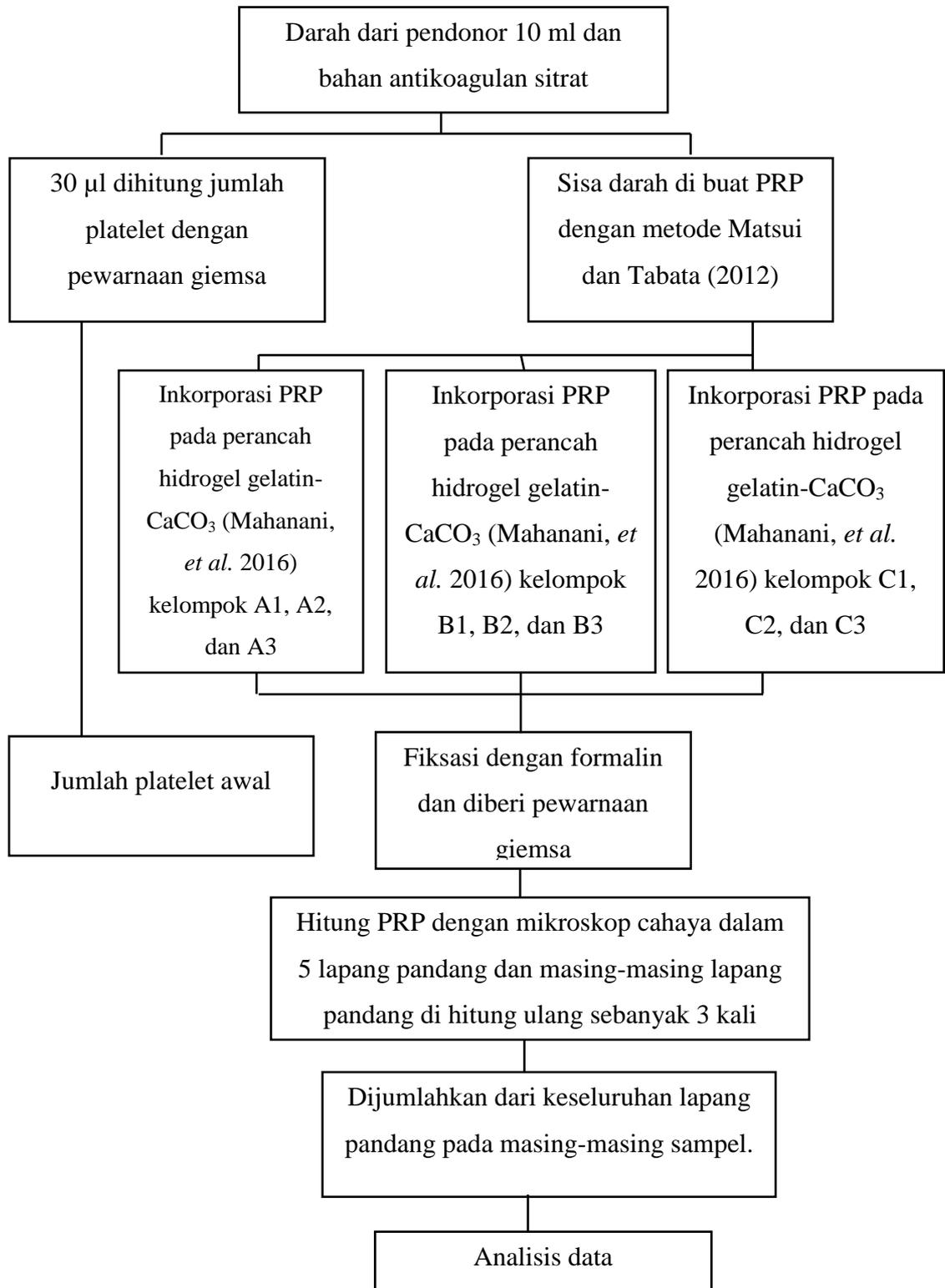


Gambar 1.

Pembagian lapang pandang pada setiap perancah.

12. Pada setiap lapang pandang akan di hitung jumlah PRP dengan 3 kali perhitungan pada masing-masing lapang pandang dan di rata-rata secara keseluruhan di tiap lapang pandang tersebut. Setelah itu dilakukan penjumlahan pada 5 lapang pandang tersebut di masing-masing perancah.

H. Alur Penelitian



I. Analisis Data

Analisis data yang di gunakan adalah dengan *one way annova* terhadap perbedaan rata-rata jumlah dari pemuatan platelet yang di inkorporasikan pada perancah hidrogel dengan konsentrasi gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0. Perbedaan akan di katakan bermakna jika memenuhi ($p < 0,05$) dan jika bermakna maka akan di lanjutkan dengan uji *post-hoc least significant difference (LSD)* dimana akan di ketahui kemaknaan dari perbedaan antar variasi konsentrasi masing-masing perancah.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan rerata jumlah *platelet-rich plasma* yang terikat dalam setiap perancah setelah dilakukan inkorporasi yaitu sebagai berikut :

Tabel 1. Jumlah *platelet rich plasma* pada masing - masing perancah

sampel	Perancah Gelatin - CaCO ₃		
	5:5 (A)	4:6(B)	10:0 (C)
1	1.000	1.143	756
2	988	1.186	787
3	923	1.192	678
Rerata	970,66	1.137,33	740,33

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwa jumlah pengikatan *platelet rich plasma* yang tertinggi ada pada perancah dengan perbandingan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 4:6 dan yang terendah ialah perancah dengan perbandingan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 10:0.

Hasil perhitungan dari jumlah *platelet rich plasma* pada masing-masing perancah di analisis dengan uji normalitas berupa uji *Saphiro-Wilk* untuk perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan konsentrasi perancah 5:5, 4:6 dan 10:0 untuk melihat apakah distribusi datanya normal atau tidak ($p>0.05$).

Tabel 2. uji *shaphiro-wilk* untuk uji normalitas

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
5:5	.332	3	.	.864	3	.278*
4:6	.344	3	.	.840	3	.215*
10:0	.277	3	.	.942	3	.534*

Berdasarkan tabel di atas, nilai signifikansi dari perancah gelatin- CaCO_3 konsentrasi membran 5:5 dengan nilai 0.278 ($p>0.05$), konsentrasi membran 4:6 dengan nilai 0.215 ($p>0.05$) dan konsentrasi membran 10:0 0.534 ($p>0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perhitungan jumlah *platelet rich plasma* pada perancah gelatin- CaCO_3 konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0 memiliki distribusi yang normal dengan $p>0.05$. setelah melakukan uji normalitas dengan hasil distribusi normal selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat variansi data.

Tabel 3. Uji homogenitas untuk variansi data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.148	2	6	.378*

Hasil dari uji homogenitas data didapatkan untuk perancah gelatin- CaCO_3 konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0 memiliki variansi data yang sama dengan nilai signifikansi 0.378 ($p>0.05$) atau homogen sehingga dapat dilakukan analisis dengan metode *one-way ANOVA*.

Berikut ini hasil dari uji ANOVA yaitu:

Tabel 4. Analisis *one-way* ANOVA untuk perbedaan efektivitas inkorporasi PRP pada setiap perancah

Jumlah	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	282022.22	2	141011.11	75.74	.000*
Within Groups	11170.00	6	1861.66		
Total	293192.22	8			

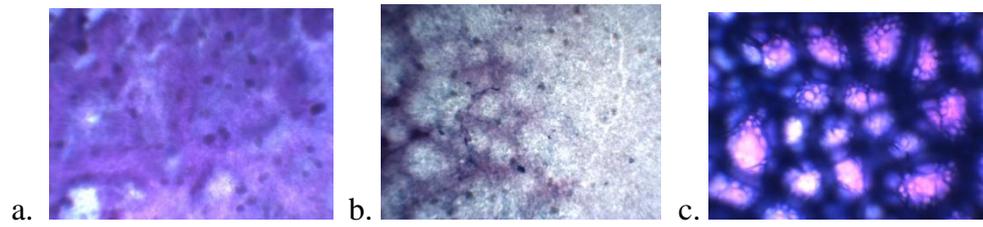
Hasil dari uji ANOVA, didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$), sehingga pada perancah gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 1:0 memiliki hasil yang bermakna artinya diantara masing-masing perancah memiliki perbedaan bermakna yang signifikan. Setelah dilakukan analisis dengan *one-way* ANOVA selanjutnya dilakukan uji *pos-hoc* LSD untuk melihat efektivitas dari perancah gelatin- CaCO_3 dengan konsentrasi membran 5:5, 4:6 dan 10:0, diantara perancah tersebut perancah mana yang paling efektif dalam penyerapan terhadap inkorporasi dari PRP.

Tabel 5. Analisis *pos-hoc LSD* untuk perbedaan efektivitas inkorporasi PRP pada perancah gelatin-CaCO₃

LSD						
(I) Gelatin- CaCO ₃	(J) Gelatin- CaCO ₃	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5:5	4:6	-203.33	35.22	.001*	-289.53	-117.13
	1:0	230.00	35.22	.001*	143.79	316.20
4:6	5:5	203.33	35.22	.001*	117.13	289.53
	1:0	433.33	35.22	.000*	347.13	519.53
10:0	5:5	-230.00	35.22	.001*	-316.20	-143.79
	4:6	-433.33	35.22	.000*	-519.53	-347.13

Berdasarkan hasil uji *pos hoc* dapat disimpulkan bahwa perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 4:6 lebih efektif dibandingkan dengan perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 5:5 maupun perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 10:0. Selain itu perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 5:5 lebih efektif jika dibandingkan dengan perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 10:0.

Berikut ini gambar perancah sebelum dan setelah di lakukan inkorporasi pada penampang histologi saat dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop binokuler.



Gambar 2.

a). 5:5 setelah inkorporasi PRP, b). 4:6 setelah inkorporasi PRP, c). 10:0 setelah inkorporasi PRP.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* pada perancah berbahan dasar Gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0. Berdasarkan hasil pengamatan jumlah *platelet rich plasma* saat inkorporasi pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan 4:6 memiliki jumlah paling tinggi dibandingkan dengan perancah gelatin-CaCO₃ perbandingan 5:5 dan 10:0. Terikatnya PRP pada perancah dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah efektivitas dari *platelet rich plasma*, bahan dasar perancah serta metode yang digunakan saat melakukan inkorporasi.

Platelet rich plasma merupakan kumpulan dari beberapa faktor pertumbuhan yang diantaranya adalah PDGF $\alpha\alpha$, 4 PDGF $\beta\beta$, PDGF $\alpha\beta$, TGF- β , TGF- β 2, VEGF, dan EGF. Sehingga faktor pertumbuhan tersebut mampu membentuk sebuah interkoneksi antar nano partikel dengan kalsium yang terkandung di dalam perancah gelatin-CaCO₃ dengan membentuk interaksi berupa elektrostatis yang kemudian mampu menstabilkan proses pengikatan antara porus pada perancah dengan *platelet rich plasma* yang telah diinkorporasikan, sehingga semakin tinggi kandungan kalsium dalam perancah gelatin-CaCO₃ maka akan semakin tinggi interkoneksi antar nano partikel dari perancah dengan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam *platelet rich plasma* (Matsui & Tabata, 2012).

Perancah yang digunakan adalah perancah gelatin-CaCO₃ memiliki kriteria diantaranya bersifat *biocompatible* dan *biodegradable*, porositas yang

baik, *mechanical properties* yang sesuai dengan jaringan yang akan digantikan serta pembentukan area permukaan perancah yang dapat mewakili interaksi antara biomaterial dan jaringan inang disekitarnya (Fadhlallah, *et al.*, 2018)

Porositas yang dimiliki oleh perancah gelatin-CaCO₃ didapatkan dari proses *freeze-drying* pada bahan Gelatin tipe B tersebut. Proses *freeze-drying* untuk menciptakan struktur berpori pada gelatin melalui penggunaan suhu yang cukup tinggi sehingga terbakarnya bahan-bahan organik dan membentuk struktur berpori, tidak hanya membentuk pori namun metode *freeze-drying* mampu menstabilkan jaringan serta mudah dalam penanganannya, namun pada gelatin dengan konsentrasi yang tinggi mempengaruhi penurunan pada tingkat porositas sehingga tingkat konsentrasi gelatin yang rendah lebih baik porositasnya dibandingkan tingkat konsentrasi yang tinggi gelatin (Wattanuchariya & Changkowchai, 2014).

Porositas yang ideal pada suatu perancah sekitar 90.5% untuk menghasilkan area permukaan perancah yang optimal dalam perlekatan sel serta membantu dalam ketahanan secara struktural. Namun tingkat porositas yang terlalu tinggi juga dapat mempengaruhi sifat mekanis dari perancah, semakin tinggi porositas maka semakin tinggi laju degradasi oleh makrofag melalui proses oksidasi maupun hidrolisis. Sehingga dapat disimpulkan bahwa banyak faktor harus diperhitungkan ketika merancang dan membuat perancah untuk rekayasa jaringan (Henkel, *et al.*, 2013).

Mechanical properties adalah kemampuan perancah dalam mempertahankan dimensi bentuk agar perancah tidak mudah berubah ketika mendapatkan tekanan dari jaringan sekitarnya. Pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan 4:6 memiliki kekuatan tekan 3,2 MPa dimana kekuatan tersebut masuk dalam kriteria kekuatan tekan yang ada pada *cancellous bone* dan berkisar antara 2 – 12 MPa. Kekuatan tekan akan meningkat maksimal jika prosentase kalsium karbonat ada pada angka 15% dan jika lebih dari 15% maka kekuatan tekan pada suatu perancah akan menurun (Fadhlallah, *et al.*, 2018).

Perancah dengan permukaan yang kasar mendukung dalam proses perlekatan, proliferasi dan diferensiasi dari sel-sel pembentuk tulang. Permukaan perancah diharapkan membentuk topografi nanometer dengan karakteristik yang mendekati ukuran protein disertai permukaan yang kasar dan bersifat kimiawi sehingga memungkinkan adanya proses transkripsi oleh lapisan protein menjadi informasi yang dapat dipahami oleh sel disekitarnya sehingga ikatan antar jenis sel tertentu dapat langsung ditargetkan (Henkel, *et al.*, 2013).

Selanjutnya ialah metode tetes yang digunakan dalam proses inkorporasi pada perancah berbahan dasar gelatin-CaCO₃ dengan perbandingan konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0. Profil pelepasan *platelet rich plasma* dengan metode tetes memiliki nilai pelepasan lebih tinggi dibandingkan metode celup di karenakan ketika meneteskan PRP di atas permukaan perancah maka proses inkorporasi menjadi optimal dan PRP yang

di teteskan berada di area permukaan perancah, namun ketika menggunakan metode celup maka ada kemungkinan saat mencelupkan perancah pada wadah berisi PRP, justru PRP tersebut mengendap di bawah permukaan wadah (Quintari, 2014).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian mengenai perbandingan efektivitas inkorporasi *platelet rich plasma* (PRP) pada perancah hidrogel CaCO₃ dengan konsentrasi membran gelatin-CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 10:0 disimpulkan bahwa:

1. Perancah gelatin-CaCO₃ konsentrasi 4:6 lebih efektif dalam menyerap PRP dibandingkan dengan perancah gelatin-CaCO₃ konsentrasi 5:5 dan konsentrasi 10:0.
2. Perancah gelatin-CaCO₃ konsentrasi 5:5 lebih efektif dalam menyerap PRP dibandingkan perancah gelatin - CaCO₃ konsentrasi 10:0.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan pada perancah gelatin-CaCO₃ konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai mikrostruktur pada perancah gelatin-CaCO₃ dengan konsentrasi 5:5, 4:6 dan 10:0 untuk mengamati lebih dalam terkait gambaran dari pengikatan antara perancah dengan PRP. Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan apabila dilakukan penelitian lanjutan terhadap perbedaan efektivitas inkorporasi PRP pada perancah gelatin-CaCO₃ seperti lamanya waktu inkorporasi proses pengamatan melalui mikroskop binokuler yang kemungkinan menimbulkan bias dan cara perhitungan yang perlu diperhatikan.

DAFTAR PUSTAKA

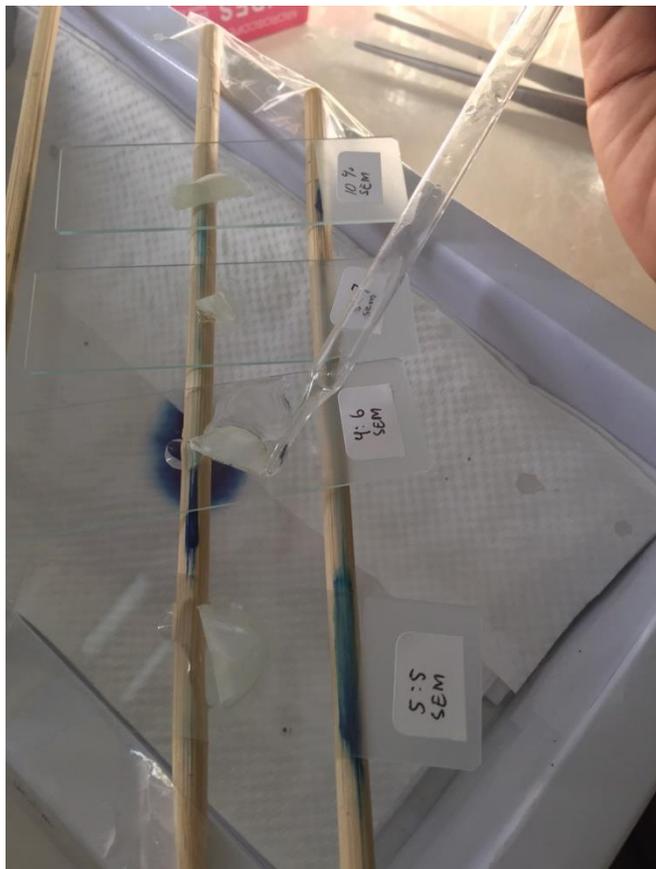
- Albanese, A., Licata, M. E., Polizzi, B., & Campisi, G. (2013). Platelet-Rich Plasma (PRP) in Dental and Oral Surgery: from the Wound Healing to Bone Regeneration. *Immunity and Ageing*, 10, 5.
- Dimitris Nikolidakis, D., & John A. Jansen, D. P. (2008). The Biology of Platelet-Rich Plasma and Its Application In Oral Surgery: Literature Review. *Tissue Engineering: Part B*, 14.
- Dorland, W. A. (2002). *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Fadhlallah, P. M., Yuliaty, A., Soesilawati, P., & Loka, P. P. (2018). Biodegradation and Compressive Strength Test of Scaffold with Different Ratio as Bone Tissue Engineering Biomaterial. *Journal of International Dental and Medical Research*, 11(2), 587-590.
- Fawcett, D. W. (1994). *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton, A. C. (1995). *Human Physiology and Mechanism of Disease*. (P. Adrianto, Trans.) Jakarta: EGC.
- Hardhani, P. R., Lastianny, S. P., & Herawati, D. (2013). Pengaruh Penambahan platelet rich plasma pada cangkok tulang terhadap kadar osteocalcin cairan sulkus gingiva pada terapi pocket infraboni. *jurnal PDGI*, 62(3), 75-82.
- Harty, H. J., & Ogston, R. (1995). *Kamus Kedokteran gigi*. Jakarta: EGC.
- Hastuti, D., & Sumpe, I. (2007). Pengenalan dan Proses Pembuatan Gelatin. *Mediagro*, 3, 39-48.
- Henkel, J., Woodruff, M. A., Epari, D. R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I. C., et al. (2013). bone regeneration based on tissue engineering conception-A 21st century perspective. *bone research*, 1, 223-224.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., & Kelley, R. O. (1995). *Histologi Dasar Edisi 8*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kosasih, A. S. (2008). Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik. Tangerang : Edisi Kedua, Karisma Publishing Group.
- Kubota, G., Kamoda, H., Orita, S., Inage, K., Ito, M., Yamashita, M., et al. (2018). Efficacy of Platelet Rich Plasma for Bone Fusion in Transforaminal Lumbar Interbody Fusion. *Asian Spine Journal*, 12(1), 113.
- Kumar, P. T. S., Ramya, C., Jayakumar, R., Nair, S. kumar V., & Lakshmanan, V. -k. (2013). Drug Delivery and Tissue Engineering Applications of

- Biocompatible Pectin-Chitin/nano CaCO₃ Composite Scaffolds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 106, 109-116.
- Mahanani, E. S., Bachtiar, I., & Ana, I. D. (2016). Human Mesenchymal Stem Cells Behavior on Synthetic Coral Scaffold. *Key Engineering Material*, 696, 206.
- Mangano. (2011). Human Dental Pulp Stem Cells Hook Into Biocoral Scaffold Forming an Engineered Biocomplex. *PLosone.*, 6, 1-10.
- Matsui, M., Tabata, Y. (2012). Enhance Angiogenesis by Multiple Release of Platelet-Rich Plasma Contents and Fibroblast Growth Factor from Gelatin Hydrogels. *Elsevier : Acta Biomaterialia*, 8(5), 1798.
- Motamedian, S. R., Iranparvar, P., Nahvi, G., & Khojasteh, A. (2016). Bone Tissue Engineering: A Literature Review. *Regeneration, Reconstruction & Restoration*, 1(3), 116.
- Nindiyasari, F., Fernández-Díaz, L., Griesshaber, E., Astilleros, J. M., Sánchez-Pastor, N., & Schmahl, W. W. (2014). Influence of Gelatin Hydrogel Porosity on the Crystallization of CaCO₃. *Crystal Growth and Design*, 14(4), 1539.
- Porter, J. R., Ruchk, T. T., & Popat, K. C. (2009). Bone Tissue Engineering : A Review in Bone Biomimetics and Drug Delivery Strategies. *Biotechnology progress*, 25(6), 1539.
- Perez, A. G. M., Rodrigues, A. A., Luzo, A. C. M., Lana, J. F. S. D., Belangero, W. D., Santana, M. H. A. (2014). Fibrin network architectures in pure platelet-rich plasma as characterized by fiber radius and correlated with clotting time. *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, 25(8), 1967-1977.
- Quintari, S. (2014). *Perbedaan profil pelepasan platelet rich plasma dari pemuatan metode celup dan tetes perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat)*. Karya Tulis Ilmiah strata satu. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Reno, C. O., Lima, B., Sousa, E., Bertran, C., & Motisuke, M. (2013). Scaffold of Calcium Phosphat Cement Containing Chitosan and Gelatin. *Materials Research*, 16(6), 1362-1365.
- Tirawati, David. (2015). *Perbandingan efektivitas inkorporasi platelet-rich plasma (PRP) pada perancah sintetik CaCO₃-gelatin konsentrasi 4/6 wt% dan 5/5 wt% dengan metode celup dan tetes*. Karya Tulis Ilmiah strata satu. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Tozzi, G., Mori, A. D., Oliveira, A., & Roldo, M. (2016). Composite Hydrogels for Bone Regeneration. *Materials*, 9(4), 1-3.

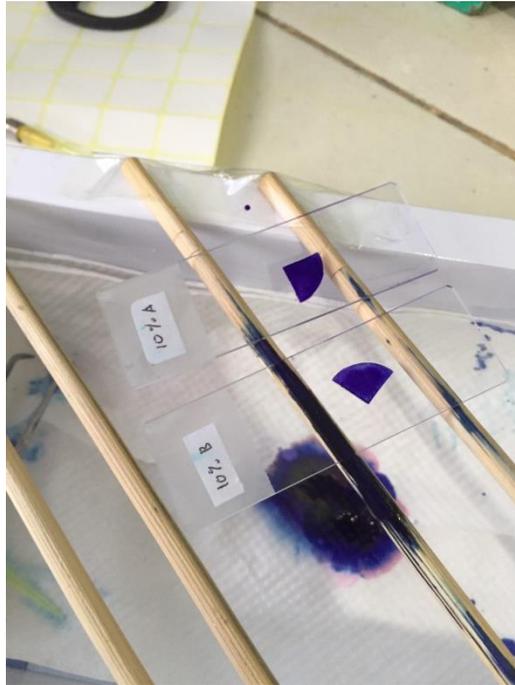
- Wang. (2006). Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology.*, 2(2), 80-84.
- Wardhani, P., & Mahanani, E. S. (2012). *Perbandingan Efektivitas Metode Preparasi Platelet-Rich Plasma (PRP) dalam Menghasilkan Konsentrasi Platelet yang Besar*. Karya Tulis Ilmiah strata satu, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Wattanuchariya, W., & Changkowchai, W. (2014). Characterization of Porous Scaffold from Chitosan-Gelatin/Hydroxiapatite for Bone Grafting. *IMECS vol. 2*.
- William, D. (2004). Benefit and Risk in Tissue Engineering. *Elsevier.*, 7(5), 24-29.

LAMPIRAN

1. dokumentasi penelitian



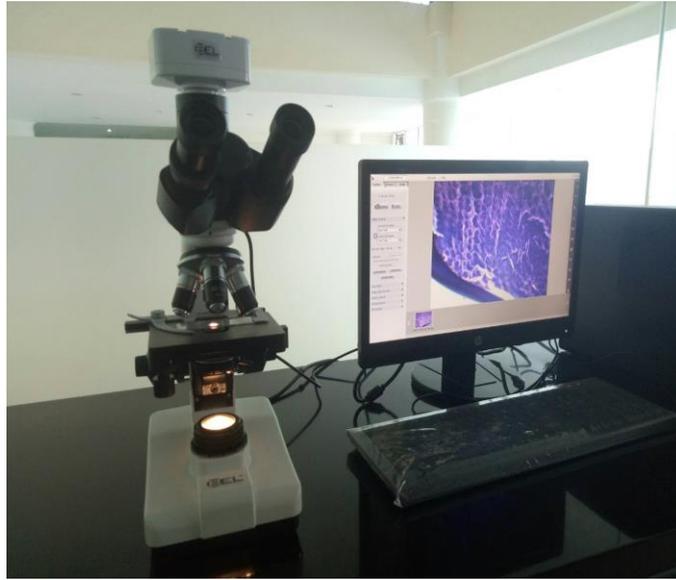
Proses inkorporasi PRP dengan metode tetes pada perancah.



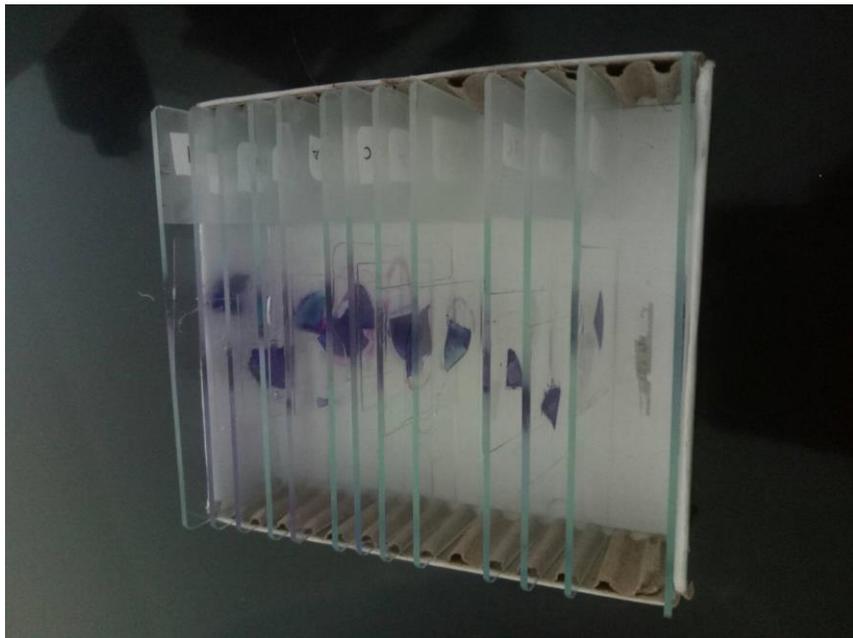
Perancah yang telah diberi pewarnaan giemsa.



Pengamatan perancah dengan mikroskop binokuler.

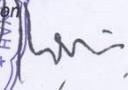


Mikroskop binokuler.



Sampel yang siap untuk diamati di mikroskop binokuler.

2. Surat keterangan izin uji etik.

	UMY UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA <small>Unggul & Islami</small>	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
Nomor : 527/EP-FKIK-UMY/X/2018		
KETERANGAN LOLOS Uji ETIK ETHICAL APPROVAL		
Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan responden/subyek penelitian, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :		
<i>The Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Muhammadiyah Yogyakarta, with regards of the protection of human rights and welfare in research, has carefully reviewed the research protocol entitled :</i>		
"Perbedaan Efektivitas Inkorporasi PRP (Platelet- Rich Plasma) pada Perancah Hidrogel CaCO3 dengan Perbandingan Konsentrasi Membran Gelatin- CacO3 5:5, 4:6, dan 1:0"		
<u>Peneliti Utama</u>	: Erlina Sih Mahanani	
<i>Principal Investigator</i>	Mutiah Mutmainah	
<u>Nama Institusi</u>	: Program Studi Kedokteran Gigi FKIK UMY	
<i>Name of the Institution</i>		
<u>Negara</u>	: Indonesia	
<i>Country</i>		
Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas. <i>And approved the above-mentioned protocol.</i>		
Yogyakarta, 06 November 2018 Ketua Chairperson  Dr. dr. H. Hidayati, M.Kes., Sp.DLP., FISPH., FISCM.		
*Peneliti Berkewajiban : <ol style="list-style-type: none"> 1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian 2. Memberitahukan status penelitian apabila : <ol style="list-style-type: none"> a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos uji etik (1 tahun sejak tanggal terbit), penelitian masih belum selesai, dalam hal ini <i>ethical clearance</i> harus diperpanjang b. Penelitian berhenti di tengah jalan 3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (<i>serious adverse events</i>). 4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada responden/subyek sebelum penelitian lolos uji etik. 		
ADDRESS Kampus Terpadu UMY Gd. Siti Walidah LT.3 Jl. Brawijaya (Lingkar Selatan) Tamantirto · Kasihan · Bantul D.I.Yogyakarta 55183	CONTACT Phone : (0274) 387656 ext. 213 Fax : (0274) 387658 Email : fkik@umy.ac.id www.fkik.umy.ac.id	

3. Surat keterangan penggunaan MMT lab di Rumah Sakit AMC.

MOLECULAR MEDICINE AND THERAPY RESEARCH LABORATORY
 FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
 UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOYAKARTA
 Gedung RSGM Lantai 2, Jalan H.O.S. Cokroaminoto No.17, Pakuncen, Wirobrajan,
 Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta 55253

PERMIT LETTER

004/004/MMTLAB/PENELITIAN-INT/2019

Kepada Yth. Mutiah Mutmainnah

Di tempat

السَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

Berdasarkan surat permohonan nomor : 004/MMTLAB/PENELITIAN-INT/2019 tertanggal 8 Januari 2019 dengan ini menerangkan bahwa :

Jenis Skema : Skema Penelitian

Nama Peneliti : Mutiah Mutmainnah

Penanggungjawab penelitian : Dr. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes

Judul Penelitian : Perbedaan Efektivitas Inkorporasi PRP (Platelet-Rich Plasma) Pada Perancah Hidrogel CaCO₃ dengan Perbandingan Konsentrasi Membran Gelatin CaCO₃ 5:5, 4:6 dan 1:0

Setelah melalui proses pengkajian dan telaah oleh MMT Lab, kami menyatakan bahwa usulan pengusul dapat **difasilitasi**. *Permit letter* ini berlaku mulai tanggal 29 Januari 2019 s.d 29 Februari 2019 (1 Bulan). Demikian *Permit Letter* ini kami sampaikan, agar dapat diterima sebagaimana mestinya. Terima Kasih.

و السَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

Yogyakarta, 29 Januari 2019
 Ka. Lab Riset MMT FKIK UMY


 drg. Arva Adiningrat, Ph.D
 NIK. 19840923201510 173 143

Phone : 0274-618013 | Email : mmtlab.umy@gmail.com