

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan termasuk penelitian laboratorium yang bersifat eksperimental, *Post Test Design*.

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Penelitian ini akan dilakukan pada:
 - a. Pengambilan darah akan dilakukan di Laboratorium Diagnostik RSGM AMC.
 - b. Penghitungan jumlah platelet dengan pewarnaan giemsa akan dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Kedokteran UGM.
 - c. Pembuatan PRP dan uji pemuatan PRP akan dilakukan di Laboatorium Biokimia FKIK UMY.
2. Penelitian ini akan dilakukan pada 14 - 16 Juli 2014.

C. Sample Penelitian

1. Perancah koral buatan

Perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) yang digunakan merupakan perancah yang dikembangkan oleh tim reset rekayasa jaringan FKG-UGM sebanyak 18 lembar.
2. *Platelet-Rich Plasma* (PRP) yang diperoleh dari donor (mahasiswa Prodi Kedokteran Gigi FKIK UMY) yang telah mengisi informed consent sebelumnya dan mempunyai kriteria :

- a. Dalam keadaan sehat
- b. Tidak sedang menstruasi (jika pendonor wanita)
- c. Tidak sedang hamil
- d. Tidak mempunyai penyakit sistemik seperti DM, HIV dan Hepatitis

Darah akan diambil 10 ml untuk setiap donornya, diperlukan 3 sukarelawan untuk mendonorkan darahnya bagi penelitian ini.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Metode celup dan tetes untuk pemuatan PRP

2. Variabel Terikat

Banyaknya PRP yang dapat dimuatkan

3. Variabel Terkendali

- a. Ukuran perancah
- b. Metode pembuatan PRP
- c. Donor PRP probandus standard
- d. Antikoagulan (*Acid Citrate Dextrose*)

E. Definisi Operasional

1. Perancah Koral Buatan (dengan pendispersi sitrat) merupakan membran hidrogel CaCO_3 dengan pendispersi sitrat yang kemudian disebut perancah

koral buatan karena komponen utama bahan ini sama seperti koral alami. Perancah kemudian difabrikasi dan didesign menyerupai struktur jaringan tulang yang berpori dimana struktur tersebut juga dimiliki oleh

korat alami. Perbandingan komposisi gelatin dan CaCO_3 yang digunakan adalah 4 : 6.

2. *Platelet-Rich Plasma* (PRP) merupakan platelet yang dihasilkan dari darah manusia dan diproses dengan menggunakan metode Matsui dan Tabata.
3. Metode celup merupakan metode pemuatan PRP pada perancah dengan cara mencelupkan perancah pada microtube yang berisi PRP hingga perancah terbasahi seluruhnya.
4. Metode Tetes merupakan metode pemuatan PRP pada perancah dengan cara meneteskan PRP dari micropipet pada perancah hingga perancah terbasahi seluruhnya.

F. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan adalah :

1. *Handscoon* digunakan untuk mencegah penularan infeksi.
2. Masker digunakan untuk mencegah penularan infeksi.
3. *Microtube* digunakan sebagai tempat *Platelet-Rich Plasma*.
4. *Centrifuge* digunakan sebagai alat untuk sentrifugasi platelet.
5. *Centrifuge refrigerated* digunakan sebagai alat sentrifugasi yang dilengkapi sistem pendingin.
6. *Vacountainer ACD* digunakan untuk menyimpan darah yang telah diambil agar tidak membeku, yang telah berisi antikoagulan.
7. *Micropipet* digunakan untuk mengambil *buffy coat* setelah disentrifugasi.

8. *Yellow tip* digunakan untuk alat bantu *micropipet* (0,1 ml).
9. *Blue tip* digunakan untuk alat bantu *micropipet* (0,5 ml).
10. *Glass plate* digunakan untuk tempat perancah yang akan dicelup dan ditetes.
11. Pinset digunakan untuk alat bantu mencelupkan perancah.

Bahan yang digunakan adalah :

1. Darah pendonor.
2. Perancah koral buatan (dengan pendidpersi sitrat).
3. Antikoagulan (*Acid Citrade Dextrose*).
4. Pewarnaan giemsa.

G. Prosedur Penelitian

1. Perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) yang dikembangkan oleh team riset rekayasa jaringan FKG-UGM dan siap untuk digunakan sebanyak 18 lembar untuk 3 donor, masing-masing donor ada 6 lembar perancah.
2. Pengambilan sample darah dari donor

Pengambilan sampel darah akan dilakukan di laboratorium diagnostik RSGM AMC sebanyak 10 ml untuk setiap donor. Darah kemudian diambil sebanyak 50 μ l untuk dihitung jumlah trombosit pada darah lengkap (*whole blood*) dan sisa darah akan digunakan untuk pembuatan PRP, sebelumnya darah telah ditambahkan antikoagulan (*Acid Citrade Dextrose*).

3. Pembuatan *Platelet-Rich Plasma* (PRP) dengan metode Matsui dan Tabata

Darah sisa lalu dimasukkan ke dalam microtube. Darah disentrifugasi sebanyak 2 kali. Sentrifugasi pertama dilakukan untuk memisahkan plasma dengan sel darah merah dengan kecepatan 450rcf/g selama 7 menit pada suhu 4 derajat celcius. Plasma bagian tengah (*buffy coat*) diambil dengan mikropipet kemudian dipindahkan kedalam microtube yang kering dan steril. Sentrifugasi ke dua dilakukan dengan kecepatan 1600rcf/g selama 5 menit pada suhu 4 derajat celcius untuk memisahkan plasma yang kaya platelet dengan yang lainnya. *Platelet-Rich Plasma* berada pada lapisan tengah dan kemudian dipindahkan kedalam microtube yang kering dan steril.

4. Metode pemuatan PRP pada perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat)

Platelet-Rich Plasma yang telah siap digunakan dibagi menjadi 3 :

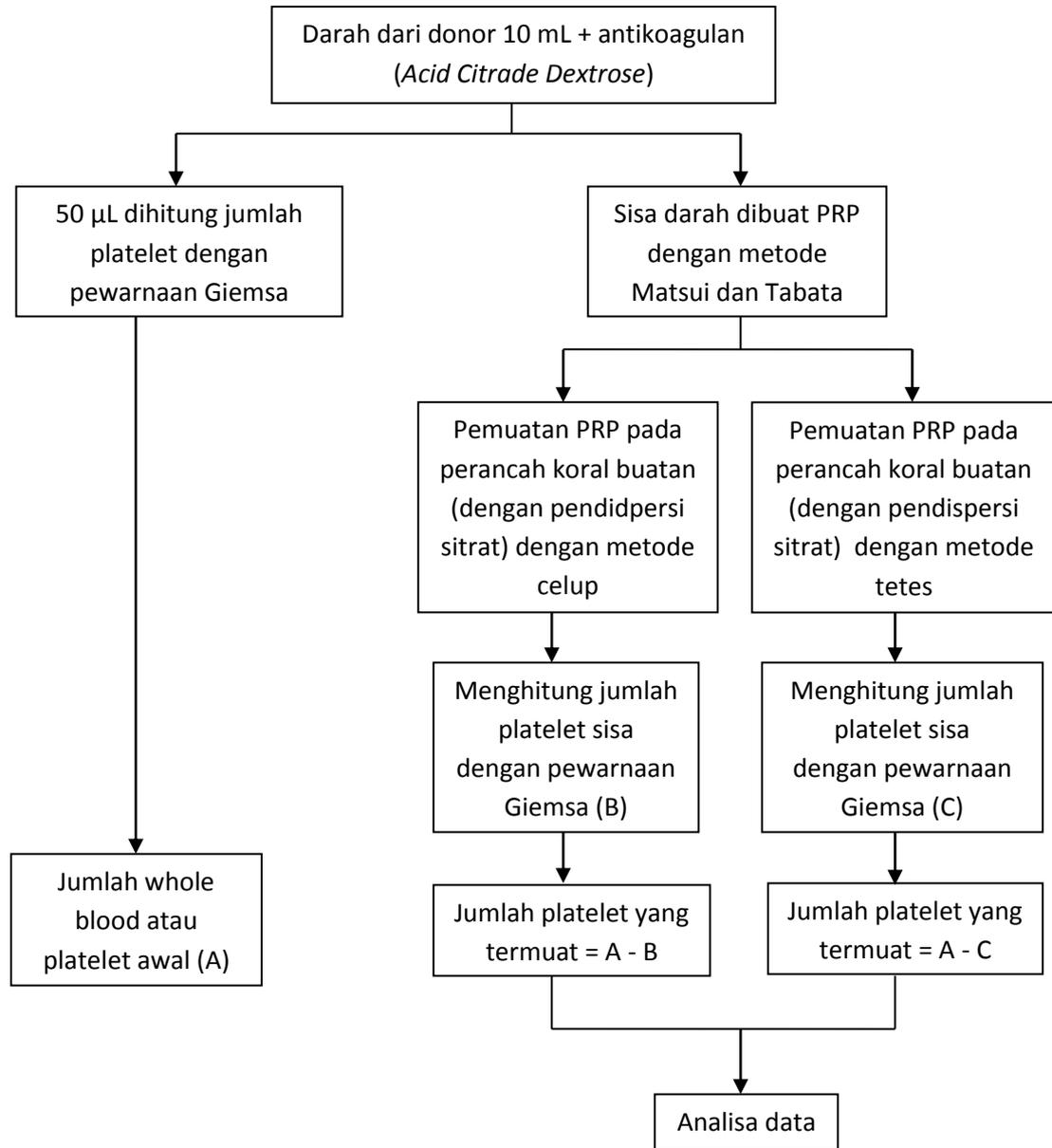
- a. *Platelet-Rich Plasma* dihitung jumlah plateletnya yaitu dengan pewarnaan giemsa. Jumlah platelet yang terhitung diharapkan hampir mendekati jumlah platelet hasil perhitungan platelet pada darah lengkap (*whole blood*). Jumlah platelet hasil perhitungan dijadikan sebagai jumlah platelet awal.
- b. *Platelet-Rich Plasma* dimuatkan pada 3 perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) dengan metode celup. Sisa PRP yang tidak termuat pada perancah dilakukan perhitungan platelet dengan

pewarnaan giemsa untuk mengetahui sisa jumlah plateletnya. Jumlah platelet yang termuat dapat dihitung dengan cara jumlah platelet awal dikurangi jumlah platelet sisa.

c. *Platelet-Rich Plasma* dimuatkan pada 3 perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) dengan metode tetes. Sisa PRP yang tidak termuat pada perancah dilakukan perhitungan platelet dengan pewarnaan giemsa untuk mengetahui sisa jumlah plateletnya. Jumlah platelet yang termuat dapat dihitung dengan cara jumlah platelet awal dikurangi jumlah platelet sisa

5. *Platelet-Rich Plasma* yang diperoleh dari 3 pendonor akan dilakukan pemuatan dengan metode celup dan tetes. Metode celup akan dilakukan sebanyak 3 replikasi perancah. Metode tetes akan dilakukan sebanyak 3 replikasi perancah pada *glass plate* dengan 3 yellow tip.

H. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

I. Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Independent Sample t test.

J. Etika Penelitian

Penelitian ini membutuhkan sampel darah manusia sehingga akan dilakukan pengambilan darah pada manusia (pendonor), oleh karena itu akan dilampirkan informed consent sebagai bukti persetujuan bahwa pendonor bersedia diambil darahnya untuk jalannya penelitian ini.