

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang telah dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan *post test design*.

B. Subyek Penelitian

Bahan Uji : Perancah Korall buatan yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

C. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk menghitung proses degradasi perancah korall buatan pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS) dengan menggunakan alat *Uv-vis Spectrophotometers UVmini-1240 SHIMADZU* pada 14 – 19 Juli 2014.

D. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

1. Identifikasi Variabel

a. Variabel pengaruh

Konsentrasi perancah korall buatan

b. Variabel terpengaruh

Profil degradasi perancah korall buatan

- c. Variabel terkontrol
 - 1) Ukuran perancah
 - 2) Bahan perendam
 - 3) Volume bahan perendam
 - 4) Waktu inkubasi

2. Definisi Operasional

- a. Perancah koral buatan dalam penelitian ini adalah perancah yang berbentuk membran tipis dan dibuat dengan teknik hidrogel dengan bahan utama gelatin dan CaCO_3 yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- b. Profil degradasi adalah gambaran kemampuan suatu material dapat terurai hingga habis pada lingkungan sekitar baik secara kimia maupun biologis yang diukur berdasarkan nilai absorbansi menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 280nm.
- c. *Phosphate buffered saline* adalah larutan buffer yang digunakan sebagai simulasi cairan tubuh manusia. *Phosphate buffered saline* merupakan larutan garam berbasah dasar air yang mengandung *phosphate buffer*, *sodium chloride* dan *potassium chloride*.
- d. Supernatan adalah larutan perendam yang telah tercampur dengan gelatin yang terurai dari perancah.

- e. Spektrofotometri adalah metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik yang menggunakan kisi difraksi dengan detektor fototube.

E. Instrumen Penelitian

1. Bahan Penelitian
 - a. Perancah koral buatan 2 konsentrasi, 5:5 dan 4:6
 - b. Perancah Gelatin 10%
 - c. *Phosphate Buffered Saline* (PBS) pH 7,4
 - d. HCl 1N
2. Alat Penelitian
 - a. *Uv-vis Spectrophotometers UVmini-1240 SHIMADZU*
 - b. Mikrotube
 - c. *Inkubator Memmert*
 - d. *Centrifuge Rotina 35 R*
 - e. Mikropipet
 - f. Alat tulis

F. Jalannya Penelitian

1. Menyiapkan perancah koral buatan yang dibuat oleh Tim Rekayasa Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
2. Menyiapkan bahan perendam yaitu *phosphate buffered saline*(PBS).
3. Menyiapkan 9 mikrotube sebagai wadah perendaman perancah.

4. Membuat tiga kelompok A untuk konsentrasi 5:5, B untuk konsentrasi 4:6 dan C untuk gelatin 10% yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 microtube.
5. Memberikan tanda A₁, A₂, A₃, B₁, B₂, B₃, C₁, C₂ dan C₃ pada masing-masing mikrotube sesuai kelompoknya.
6. Pada kelompok A, memasukkan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO₃ 5:5 masing-masing seberat 10mg ke dalam microtube A₁, A₂, A₃ kemudian memasukkan PBS ke semua microtube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
7. Pada kelompok B, memasukan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO₃ 4:6 masing-masing seberat 10mg ke dalam mikrotube B₁, B₂, B₃ kemudian memasukkan PBS ke semua microtube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
8. Pada kelompok C, Memasukan perancah buatan berbahan dasar gelatin 10% dengan masing-masing seberat 10mg ke dalam microtube C₁,C₂,C₃ kemudian memasukkan PBS ke semua mikrotube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
9. Memasukkan microtube berisi rendaman perancah tersebut kedalam inkubator pada suhu 37°C.
10. Mengamati proses degradasi perancah dalam larutan perendam PBS setelah 1 jam diinkubator.
11. Memisahkan larutan supernatan (hasil perendaman) dengan perancah pada masing-masing microtube menggunakan teknik setrifugasi

dengan kecepatan 3500rpm selama 2 menit, kemudian mengambil dan mengganti larutan supernatan dengan larutan PBS baru dan masukkan kembali ke dalam inkubator.

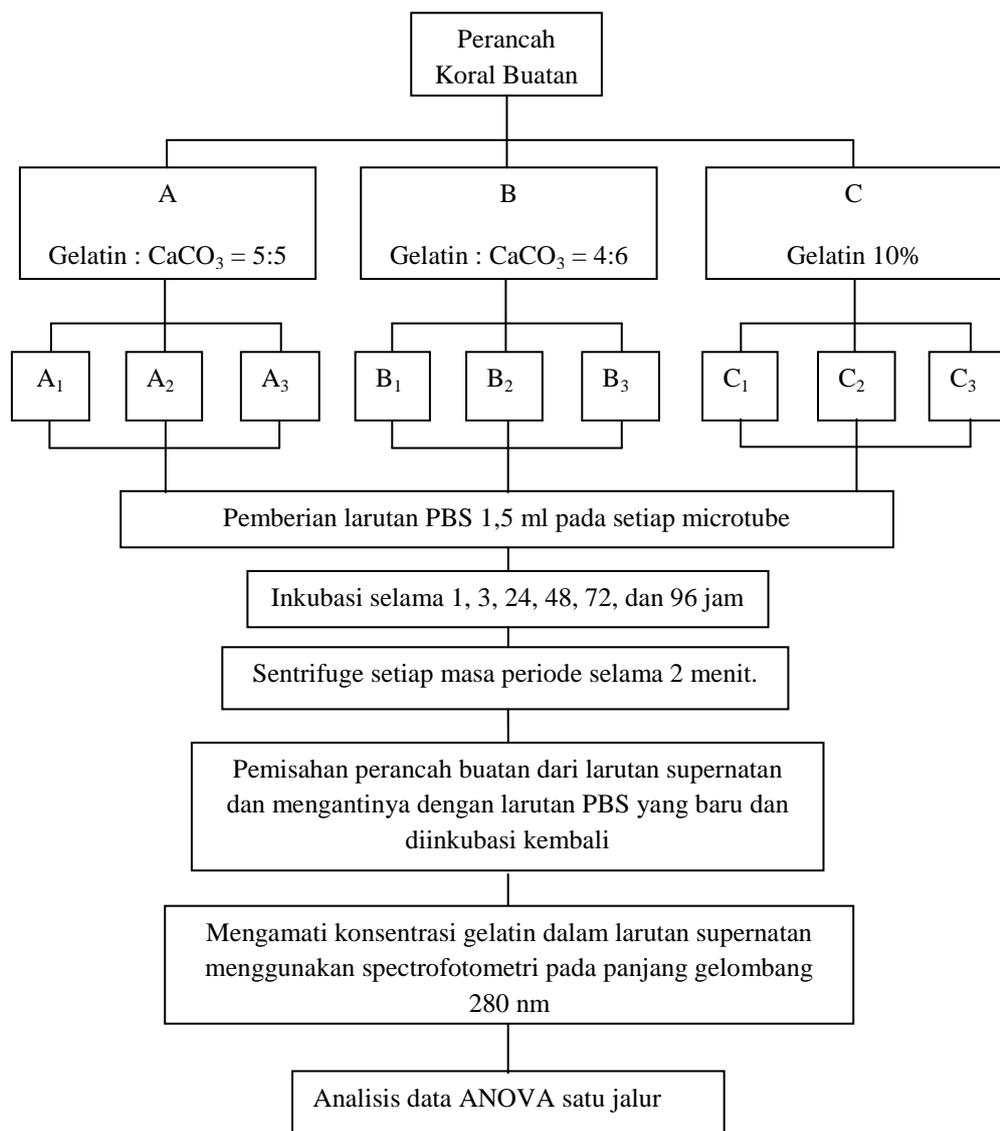
12. Mengamati dan mencatat nilai absorbansi masing-masing larutan supernatan dengan menggunakan alat *UVmini-1240 SHIMADZU*.
13. Mengulangi langkah nomor 9-10 pada setiap periode waktu 3, 6, 24, 48, 72, 96 jam.
14. Setelah melakukan pengamatan pada periode 96 jam, dan memisahkan larutan supernatan dengan teknik setrifugasi, kemudian mengganti larutan supernatan dengan larutan HCl 1N sebagai larutan akselerasi dan memasukkan kembali ke dalam inkubator.
15. Mengamati proses degradasi perancah dalam larutan perendam HCl setelah 1 jam diinkubator.
16. Memisahkan larutan supernatan dengan perancah pada masing-masing microtube menggunakan teknik setrifugasi kemudian mengganti larutan supernatan dengan larutan HCl baru dan masukkan kembali ke dalam inkubator.
17. Mengamati dan mencatat nilai absorbansi masing-masing larutan supernatan dengan menggunakan alat *UVmini-1240 SHIMADZU*.
18. Mengulangi langkah nomor 14-16 pada setiap periode waktu 3, 6, dan 24 jam hingga didapatkan nilai absorbansi 100% ketika perancah telah habis seluruhnya.

19. Setelah didapatkan nilai absorbansi 100% dan nilai absorbansi pada tiap interval waktu, kemudian menghitung persentase degradasi perancah koral buatan tiap interval waktu dengan persamaan perhitungan sebagai berikut: (Saito dan Tabata, 2012)

$$\% \text{ degradasi membran per jam } X = \frac{\text{nilai absorbansi jam ke-}X}{\text{nilai absorbansi } 100\%} \times 100\%$$

$X =$ waktu perendaman

G. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian

H. Analisis Data

Data dari hasil penelitian tersebut dianalisis dan dibahas dengan ANOVA satu jalur dilanjutkan dengan uji *post hoc least significant difference* (LSD) untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok konsentrasi pada tingkat signifikansi 95% untuk data yang terdistribusi normal dan *Kruskal Wallis* untuk data yang tidak terdistribusi normal.