

Pengaruh Perancah Hidrogel CaCO₃ Dengan Inkorporasi Platelet Rich Plasma Terhadap Waktu Berhentinya Perdarahan Pada Luka Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

*The Effect Of CaCO₃ Hydrogel Scaffold With Incorporation Of Platelet Rich Plasma To The Cessation Time Of Bleeding In The Wound Of White Rats (*Rattus norvegicus*)*

Erlina Sih Mahanani ¹

Ratih Sekar Arum ²

Anisya Nur Nova Istiyani ²

Kaprodi dan Dosen PSKG UMY ¹, Mahasiswa PSKG UMY ²

Abstract

Background : *Bleeding is a normal body response after tooth extraction. Bleeding can be a dangerous condition if it occurs excessively. Excessive bleeding after dental treatment can cause patients to be shocked, syncope, and even death if not treated properly. Effective hemostatic agents are needed to prevent excessive bleeding. Various types of hemostatic agents have been developed by researchers and used by practitioners in their clinics. The purpose of this study was to determine the effect of CaCO₃ hydrogel scaffold with incorporation of Platelet Rich Plasma (PRP) to the cessation time of bleeding in the wound of white rats (*Rattus norvegicus*).*

Method : *The research method is an experimental laboratory with post test design. This study had 4 treatment groups, namely the first group used CaCO₃ hydrogel scaffold with incorporation of Platelet Rich Plasma, the second group used only CaCO₃ hydrogel scaffold, the third group used hemostatic Spongostan agents as a positive control, and the last group without treatment or negative control. Each treatment group consisted of 6 research rat samples, then the total sample used was 24 rats. Rat tail was cut 2 cm from the tip and then treated according to the sample groups. Measurements the cessation time of bleeding starts from blood first dripping until there is no more blood spots that come out and imprint on filter paper. Measurement the cessation time of bleeding using a stopwatch.*

Result : *The results showed that the average cessation time of bleeding in CaCO₃ hydrogel scaffold group with incorporation of PRP was 177, 33 seconds, the CaCO₃ scaffold group was 314.67 seconds, Spongostan group was 276 seconds,*

and the negative control group was 387.83 seconds. The One Way ANOVA statistical test results showed a significant difference ($p < 0.05$) between the CaCO_3 hydrogel scaffold group with the incorporation of PRP with a group without a treatment or negative control. **Conclusion :** The CaCO_3 hydrogel scaffold with incorporation of Platelet Rich Plasma has the shortest cessation time of bleeding and has a significant effect in shortening the time of cessation of bleeding compared to injury without the treatment of any hemostatic agent.

Keywords: CaCO_3 Hydrogel Scaffold, Platelet Rich Plasma, Cessation Time Of Bleeding.

INTISARI

Latar belakang : Perdarahan adalah respon tubuh normal paska ekstraksi gigi. Perdarahan dapat menjadi suatu kondisi yang berbahaya jika terjadi secara berlebihan. Perdarahan yang berlebihan setelah perawatan gigi dapat menyebabkan pasien syok, sinkop, bahkan kematian jika tidak ditangani dengan benar. Agen hemostatik yang efektif sangat diperlukan untuk mencegah perdarahan yang berlebihan. Berbagai macam agen hemostatik telah dikembangkan oleh para peneliti dan digunakan oleh praktisi di klinik mereka. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi *Platelet Rich Plasma* (PRP) terhadap waktu berhentinya perdarahan pada luka tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Metode : Penelitian menggunakan metode *experimental* laboratoris dengan *post test design*. Penelitian ini memiliki 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok pertama menggunakan perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi *Platelet Rich Plasma*, kelompok kedua menggunakan perancah hidrogel CaCO_3 saja, kelompok ketiga menggunakan agen hemostatik Spongostan sebagai kontrol positif, dan kelompok terakhir tanpa perlakuan atau kontrol negatif. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 sampel tikus penelitian, maka total sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus. Ekor tikus dipotong 2 cm dari ujungnya dan kemudian diberikan perlakuan sesuai kelompok sampel. Pengukuran waktu berhentinya perdarahan dimulai dari darah pertama kali menetes sampai tidak ada lagi titik darah yang keluar dan membekas pada kertas saring. Pengukuran waktu berhentinya perdarahan menggunakan alat *stopwatch*.

Hasil : Penelitian menunjukkan rerata waktu berhentinya perdarahan kelompok perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi PRP adalah 177,33 detik, kelompok perancah CaCO_3 saja 314,67 detik, kelompok Spongostan 276 detik, dan kelompok kontrol negatif 387,83 detik. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perancah hidrogel CaCO_3 inkorporasi PRP dengan kelompok tanpa perlakuan atau kontrol negatif. **Kesimpulan :** Perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi *Platelet Rich*

Plasma memiliki rerata waktu berhentinya perdarahan yang paling singkat dan memiliki pengaruh yang signifikan dalam mempersingkat waktu berhentinya perdarahan dibandingkan perlukaan tanpa perawatan agen hemostatik apapun.

Kata kunci : Perancah Hidrogel CaCO_3 , *Platelet Rich Plasma*, Waktu Berhentinya Perdarahan.

PENDAHULUAN

Perdarahan adalah suatu proses keluarnya darah dari pembuluh darah yang disebabkan adanya penyakit atau trauma. Suatu keadaan yang paling sering dialami pasien setelah ekstraksi gigi adalah perdarahan. Penelitian Purnamasari *et al.* (2012) menyatakan bahwa komplikasi paling sering paska pencabutan adalah perdarahan yang berlebihan. Resiko komplikasi perdarahan akan meningkat pada penderita penyakit hati, penyakit hipertensi, defisiensi platelet, hemofilia, defisiensi faktor VIII atau disebut juga defisiensi faktor Von Willebrand, serta defisiensi vitamin K. Perdarahan yang berlebihan dapat mengakibatkan syok, sinkop, bahkan kematian (Setiadinata, 2003). Oleh karena itu, dalam praktik kedokteran gigi diperlukan agen hemostatik lokal yang membantu dalam proses pemberhentian perdarahan setelah pencabutan gigi atau perawatan lain yang menyebabkan perdarahan. Agen hemostatik lokal yang sering digunakan di kedokteran gigi adalah Spongostan. Spongostan merupakan *gelatin sponge* yang terbuat dari busa gelatin alami atau 100% porcine gelatin yang memiliki kepadatan yang sama. Spongostan memiliki kemampuan dapat diabsorpsi oleh tubuh tanpa menimbulkan masalah

kesehatan. Spongostan efektif dalam proses hemostasis lokal pada perdarahan vena (Singh & Mandhani, 2006). Namun begitu, Spongostan yang terbuat dari gelatin memiliki beberapa kelemahan.

Era modern saat ini sebenarnya telah banyak dikembangkan teknologi terbaru dalam dunia kedokteran, salah satunya adalah teknologi rekayasa jaringan untuk membantu mempercepat proses penyembuhan luka. Rekayasa jaringan adalah interdisipliner yang bertujuan untuk menstimulasi tubuh membentuk jaringan baru pada area yang rusak dan dilakukan dengan cara memberikan bahan-bahan yang tepat untuk memicu sel-sel agar dapat melakukan regenerasi. Secara umum, teknologi rekayasa jaringan dibagi menjadi 3 faktor yang mempengaruhi keberhasilannya, yaitu sel, perancah, dan faktor pertumbuhan (O'Brien, 2011). Perancah yang digunakan harus mempunyai karakteristik yang sesuai dengan jaringan atau organ yang akan dituju antara lain : porositas, mikrostruktur, makrostruktur, biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan kekuatan mekanik yang sesuai dengan sel tubuh. Kalsium Karbonat (CaCO_3) merupakan material sintetik yang dapat digunakan sebagai perancah dalam teknologi rekayasa jaringan. Perancah

Kalsium Karbonat dianggap dapat menjadi *microenvironment* bagi faktor pertumbuhan dan sebagai perilis ion kalsium yang berperan dalam proses hemostasis.

Platelet atau trombosit yang diproduksi di dalam darah dan *bone marrow* memiliki peran yang sangat penting dalam proses hemostasis terutama tahap pembekuan darah pada luka. Platelet berperan dalam pembentukan sumbat platelet pada serat kolagen endotel sehingga menyebabkan luka pada pembuluh darah akan tertutup dan menurunkan volume darah yang keluar. Berdasarkan peran platelet yang penting dalam proses hemostasis itu lah, maka dikembangkan *Platelet Rich Plasma* atau PRP. PRP juga disebut plasma kaya trombosit, merupakan suatu autologus dari trombosit manusia atau individual itu sendiri dalam volume yang kecil pada plasma darah. PRP memiliki banyak growth factor yang dilepaskannya seperti : TGH- β (*Transforming Growth Factor-Beta*), Bfgf (*Basic Fibroblast Growth Factor*), PDGFa-b (*Platelet Derived Growth Factor*), EGF (*Epidermal Growth Factor*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), dan CTGF (*Connective Tissue Growth Factor*) (Crane & Evert, 2008). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perancah hidrogel CaCO₃ dengan inkorporasi *Platelet Rich Plasma* (PRP) terhadap waktu berhentinya perdarahan pada luka ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan jenis penelitian experimental laboratoris dengan post test design. Sampel dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) bergalur Wistar, dengan beberapa kriteria inklusi seperti harus dalam keadaan sehat, tanpa kelainan genetik, tidak cacat, jantan, umur 2-3 bulan, dan berat 150 – 300 g. Kriteria eksklusinya adalah tikus sakit atau mati pada waktu penelitian. Tikus putih dibagi menjadi 4 kelompok berdasarkan perlakuannya. Keempat kelompok perlakuan tersebut yaitu kelompok hidrogel perancah CaCO₃ dengan inkorporasi *Platelet Rich Plasma*, kelompok perancah hidrogel CaCO₃ saja, kelompok Spongstan, dan kelompok kontrol negatif atau tanpa perlakuan. Jumlah sampel tiap perlakuan dihitung dengan Rumus Frederer sehingga didapatkan hasil untuk tiap sampel berjumlah 6 sampel, maka total keseluruhan sampel yang dibutuhkan adalah 24 sampel.

Platelet Rich Plasma dibuat melalui tahapan sebagai berikut (Matsui & Tabata, 2012) :

1. Darah dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian dilakukan sentrifugasi sebanyak dua kali pada mesin *centrifuge*. Sentrifugasi yang pertama dilakukan dengan kecepatan 450 rcf/g selama 7 menit pada suhu 4°C.
2. Setelah sentrifugasi pertama selesai, akan terlihat tiga lapisan darah yaitu plasma, eritrosit, dan

buffy coat. Plasma di bagian atas *microtube* diambil dengan *micropipette*. Bagian atas eritrosit akan terlihat lapisan tipis berwarna putih yang harus diambil dan dipindahkan ke dalam *microtube* 1,5 ml yang kering dan steril. Pengambilan *buffy coat* juga dilakukan, walaupun akan diambil juga sedikit bagian dari plasma dan eritrosit. Sentrifugasi kedua kemudian dilakukan dengan kecepatan 1600 rcf/g selama 5 menit pada suhu 4°C.

3. Setelah sentrifugasi kedua selesai, akan terlihat tiga lapisan darah yaitu plasma, eritrosit, dan *buffy coat*. Plasma di bagian atas *microtube* diambil dengan *micropipette*. Pengambilan *buffy coat* juga dilakukan dengan menggunakan *micropipette* kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* yang baru. *Buffy coat* tersebut merupakan bagian dari hasil sentrifugasi darah yang mengandung banyak platelet atau disebut juga *Platelet Rich Plasma*.

Pembuatan perancah hidrogel CaCO₃ diperoleh dengan mempersiapkan kalsit CaCO₃ berbentuk bubuk dengan kandungan 10 % w/v atau berat per volume akuades dengan proporsi yang sama, serta gelatin tipe B. Proses pembuatan perancah membutuhkan pendispersi yaitu menggunakan sodium sitrat. Kalsium karbonat atau CaCO₃ kemudian diaduk bersama gelatin hingga

terbentuk suspensi yang homogen. Proses selanjutnya adalah mencetak larutan suspensi tersebut dalam suatu wadah yang tertutup. Pencetakan dilakukan dalam 24 wadah yang berbeda dengan bentuk lembaran agar nantinya dihasilkan lapisan serupa perancah dengan ketebalan 0,3 mm. Lapisan serupa perancah kemudian dibekukan dalam suhu -20°C selama 24 jam. Setelah dibekukan, dilanjutkan dengan pengeringan dingin selama 24 jam. Setelah lapisan serupa perancah telah diperoleh, lalu dilakukan *cross-linking* dengan metode dehidrotermal yaitu menggunakan *oven vacuum* selama 72 jam (Mahanani, et al., 2016)

Semua sampel tikus dimasukkan ke dalam kandang selama sekitar 5 hari, untuk proses adaptasi dengan memberikan pakan dan lingkungan kandang yang sama setiap harinya. Awalnya ekor tikus diukur terlebih dahulu menggunakan *sliding caliper* tepat pada titik 2 cm dari ujung ekornya. Kemudian sebelum dibuat luka potong, dioleskan Povidone Iodine dengan cotton bud untuk mencegah infeksi. Setelah itu dianestesi topikal pada ekornya dengan spray Ethyl Chloride dan ditunggu hingga muncul zat yang menyerupai kristal es pada ekor yang telah dianestesi tadi. Selanjutnya dibuat luka potong ekor di titik yang telah ditandai dengan menggunakan *scalpel* dan *blade*.

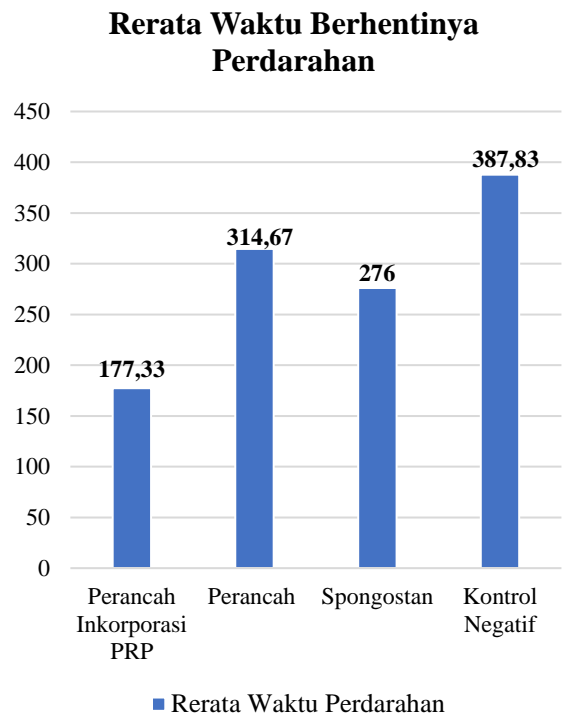
Perlakuan dilakukan sesaat setelah memotong ekor tikus. Perlakuan dilakukan dengan melakukan penempelan perancah hidrogel CaCO₃

dengan inkorporasi PRP pada luka sebagai perlakuan terhadap kelompok pertama, lalu dengan penempelan perancah hidrogel CaCO_3 saja tanpa PRP untuk perlakuan kelompok kedua, dan kelompok ketiga diberi perlakuan dengan pemberian agen hemostatik lokal Spongostan, serta yang terakhir pada kelompok kontrol atau tanpa diberi perlakuan pada luka ekor tikus tersebut. PRP yang diinkorporasikan pada masing-masing perancah hidrogel CaCO_3 untuk tiap sampel adalah sejumlah 40 μl yang kemudian ditunggu selama 10 menit agar PRP dapat terinkorporasi sempurna, kemudian perancah CaCO_3 dengan inkorporasi PRP ditempelkan pada ujung ekor yang luka pada kelompok pertama. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan kertas saring yang ditempelkan pada luka setiap 15 detik hingga tidak ada lagi bekas darah yang menempel pada kertas saring. Waktu berhentinya perdarahan diukur dengan menggunakan *stopwatch* dan dicatat sebagai data yang akan digunakan pada analisis data.

Analisis data atau uji normalitas data menggunakan metode *Shapiro-wilk Test*. Kemudian uji statistik menggunakan metode *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tukey.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian dapat dilihat pada Grafik 1 di bawah ini :



Berdasarkan keterangan pada Grafik 1 menunjukkan bahwa waktu berhentinya perdarahan luka ekor tikus paling cepat adalah kelompok perancah CaCO_3 inkorporasi PRP dengan rerata waktu berhentinya perdarahan berkisar 177,33 detik atau sekitar 2 menit 57,33 detik. Kelompok dengan rerata waktu berhentinya perdarahan yang paling cepat kedua adalah kelompok Spongostan dengan rerata waktu 276 detik atau sekitar 4 menit 36 detik. Kelompok perancah CaCO_3 menempati posisi ke-3 dengan rerata waktu berhenti perdarahan adalah 314,67 detik atau sekitar 5 menit 14,67 detik. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok paling lama dengan waktu berhentinya perdarahan pada luka ekor tikus yaitu 387,83 detik atau sekitar 6 menit 27,83 detik.

DISKUSI

Berdasarkan uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa data memiliki nilai probabilitas 0,048 ($p < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji homogenitas *Levene* diperoleh bahwa nilai probabilitas data hasil penelitian adalah 0,453 ($p > 0,05$) artinya variansi data bersifat homogen. Uji Post Hoc yang dipilih adalah uji dengan *Equal Variances Assumed* metode Tukey untuk mengetahui antar kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey di atas diketahui bahwa kelompok perlakuan yang menunjukkan perbedaan bermakna adalah kelompok perancah CaCO_3 inkorporasi PRP dengan kelompok tanpa perlakuan atau kontrol negatif karena memiliki nilai probabilitas 0,033 ($p < 0,05$). Maka dapat disimpulkan bahwa penggunaan perancah CaCO_3 inkorporasi PRP lebih baik dalam mempersingkat waktu perdarahan luka dibandingkan dengan kontrol negatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perancah CaCO_3 inkorporasi PRP terbukti memiliki efek hemostasis yang terbaik dibandingkan kelompok perlakuan yang lain dalam mempersingkat waktu berhentinya perdarahan luka. *Platelet Rich Plasma* (PRP) memiliki kemampuan melepaskan faktor pertumbuhan, salah satunya adalah PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) yang berfungsi dalam proses

vasokonstriksi. Proses vasokonstriksi terjadi secara reflektorik sesaat setelah pembuluh darah terluka, kemudian proses tersebut dipertahankan oleh faktor lokal yaitu 5-hidroksitriptamin (5-HT), serotonin, epinefrin, tromboksan A₂, dan platelet derived growth factor (PDGF) (Oesman & Setiabudy, 2012). Proses vasokonstriksi merupakan tahap hemostasis yang ditandai dengan kontraksinya dinding pembuluh darah yang rusak, sehingga dapat menyebabkan penurunan volume darah yang keluar (Tedjasulaksana, 2013).

Selain peran dari *growth factor* PRP, perancah CaCO_3 juga menunjang dalam proses hemostasis. Perancah CaCO_3 memiliki kemampuan melepaskan ion kalsium (Bharatham, et al., 2017) yang dapat digunakan oleh tubuh sebagai kofaktor dalam proses koagulasi saat terjadi perdarahan (Wray, et al., 2003). Tanpa adanya ion kalsium, proses hemostasis pada tahap pembekuan darah akan terganggu (Guyton & Hall, 2008). Tahap hemostasis secara fisiologis diawali dengan adhesi atau penempelan platelet dengan serat kolagen pada subendotel yang diperantarai oleh faktor von Willebrand's (vWF). Faktor von Willebrand's adalah protein plasma yang dilepaskan alami oleh subendotel dan megakariosit segera setelah pembuluh darah rusak dan terbuka. Setelah platelet menempel pada serat kolagen subendotel, platelet akan melepaskan ADP atau Adenosin Difosfat sebagai pencetus agregasi platelet primer. ADP yang dilepaskan akan menjalankan dua peran. Pertama, ADP akan

menjembatani perlekatan platelet-platelet yang baru sehingga akan terbentuk agregasi platelet sekunder. Kedua, ADP akan menempel pada dinding platelet yang telah melekat dengan subendotel dan akan membuka pintu reseptor fibrinogen. Fibrinogen akan berikatan dengan reseptor tersebut dengan bantuan ion kalsium (Oesman & Setiabudy, 2012). Maka ion kalsium berperan penting dalam proses hemostasis yaitu sebagai katalis pembentukan trombin dari protrombin, menjembatani fibrinogen agar berikatan dengan platelet yang teradesi dengan endotel, dan membantu membentuk benang-benang fibrin bersama faktor penstabil benang fibrin (faktor XIII) (Pietrzak & Eppley, 2005).

Penelitian lain mengenai *Platelet Rich Plasma* dapat ditemui pada penelitian Hagiwara, *et al.* (2018) dengan bantuan transfusi 30 ml PRP untuk mengetahui efek hemostasis dari hemoglobin vesicles (HbVs) sebagai pengganti sel darah merah untuk perdarahan yang besar pada kelinci. Hasil penelitian menyebutkan bahwa untuk semua perlakuan dengan transfusi PRP dapat mencapai proses hemostasisnya sendiri, sementara kelompok lain dengan transfusi PPP (*Platelet Poor Plasma*) tidak terlihat adanya proses hemostasis yang signifikan. Penelitian tersebut sangat mendukung penelitian kali ini dengan membuktikan bahwa penggunaan PRP memiliki efek yang signifikan terhadap proses pemberhentian perdarahan atau hemostasis.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian adalah sebagai berikut :

1. Penggunaan perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi platelet rich plasma sebagai agen hemostatik memiliki rerata waktu berhentinya perdarahan tersingkat dibandingkan kelompok perlakuan lain.
2. Perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi platelet rich plasma berpengaruh secara bermakna dalam mempersingkat waktu berhentinya perdarahan pada luka ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan waktu berhentinya perdarahan luka tanpa adanya perawatan hemostatik apapun.

SARAN

Saran yang dapat diberikan terkait penelitian ini adalah :

1. Adanya penelitian yang lebih detail mengenai mekanisme hemostasis dan penyembuhan luka menggunakan perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi platelet rich plasma.
2. Adanya penelitian penggunaan perancah hidrogel CaCO_3 dengan inkorporasi platelet rich plasma pada manusia.
3. Adanya penelitian agen hemostatik terbaru yang lebih baik dalam mempersingkat waktu perdarahan luka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bharatham, H. *et al.*, 2017. Perbandingan antara Perancah Tulang Nanobiokomposit Alginat/Kulit Kerang dan Alginat/Kalsium Karbonat terhadap Pertumbuhan Osteoblas. *Jurnal Sains Kasihatan Malaysia*, Volume 15(2), pp. 1-7.
2. Crane, D. & Evert, P. A., 2008. Platelet Rich Plasma (PRP) Matrix Grafts. *Practical Pain Management*, pp. 12-26.
3. Guyton, A. & Hall, J., 2008. Fisiologi Kedokteran (Irawati) Cetakan I. In: Cetakan 1 ed. Jakarta: EGC, pp. 480-486.
4. Hagsawa, K. *et al.*, 2018. Efficacy of Resuscitative Transfusion With Hemoglobin Vesicles In The Treatment of Massive Hemorrhage in Rabbits With Thrombocytopenic Coagulopathy and Its Effect On Hemostasis by Platelet Transfusion. *SHOCK Injury, Inflammation and Sepsis : Laboratory and Clinical Approaches*, 50(3), pp. 324 - 330.
5. Mahanani, E. S., Bachtiar, I. & Ana, I. D., 2016. Human Mesenchymal Stem Cells Behavior on Synthetic Coral Scaffold. *Key Engineering Materials*, Volume ISSN: 1662-9795, Vol. 696, pp. pp 205-211.
6. Matsui, M. & Tabata, Y., 2012. Enhanced Angiogenesis by Multiple Release of Platelet-Rich Plasma Contents and Basic Fibroblast Growth Factor From Gelatin Hydrogels. *Acta Biomaterialia*, 8(5), pp. 1792-1801.
7. O'Brien, F. J., 2011. Biomaterials & Scaffolds for Tissue Engineering. *Materials Today*, 14 (3), pp. 88-95.
8. Oesman, F. & Setiabudy, R. D., 2012. Fisiologi Hemostasis Dan Fibrinolisis. In: R. D. Setiabudy, ed. *Hemostasis Dan Trombosis*. Jakarta: FKUI, p. 1.
9. Pietrzak, W. S. & Eppley, B. L., 2005. Platelet Rich Plasma : Biology and New Technology. *The Journal Of Craniofacial Surgery*, Volume 16 No. 6, pp. 1043 - 1054.
10. Purnamasari, O., Arundina, I. & Budhy, T., 2012. Efek Hemostatik Ekstrak Etanol Daun Teratai (*Nymphae rubra* Roxb) Pada Luka Potong Ekor Mencit (*Mus musculus*). *Oral Biology Dental Journal*, Volume 4 No. 1, pp. 15 - 9.
11. Setiadinata, J., 2003. *Penanggulangan Perdarahan*. Bandung: FK UNPAD, p. 1-7.
12. Singh, P. & Mandhani, A., 2006. Use Of Absorbable Gelatin Sponge As An Adjunct To "Totally Tubeless Percutaneous Nephrolithotomy". *Sanjay Gandhi Post Graduate Institute of Medical Sciences*, Volume 62(6), pp. 423-428.
13. Tedjasulaksana, R., Februari 2013. Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Dapat Memperpendek Waktu Perdarahan Mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal Kesehatan Gigi*, Volume 1 No. 1, p. 32.
14. Wray, D., Stenhouse, D., Lee, D. & Clark, A. J., 2003. *Textbook of General and Oral Surgery*. London: Churchill Livingstone pp. 8-9.