

METHODS IN MANUSCRIPT

Cattleya Publication Services

Struktur yang harus ada di Methods :

- Desain Study
- Population Study
- Variable Dependent
- Variable Independent
- Data Analysis

Desain Study

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in vitro, guna menilai efikasi dari L-PRF terhadap proliferasi fibroblast pada kultur fibroblast primer dari preputium dibandingkan

Sebutkan secara jelas desain studi penelitian anda.

Population Study

Sel fibroblast diperoleh dari kultur primer fibroblast (HDF) yang berasal dari kulit preputium anak laki-laki usia 11 tahun. Selanjutnya preputium dikultur dengan menggunakan media high-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, New York, NY, USA) supplemented with 10% foetal bovine serum (Gibco, New York, NY, USA), 1% penicillin-streptomycin (Gibco, New York, NY, USA), and 1% fungizone (Gibco, New York, NY, USA). Kulit preputium tersebut dikultur sampai passase ke 4 dan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok yang disinari UV dan yang tidak disinari. Pada kelompok yang disinari, dilakukan 3x pengulangan, dan sebanyak 2×10^3 dimasukkan ke dalam piringan 96 yang berbeda, dan disinari dengan 12 fluorescent lamps (L100W 79-R L UVA EVERSUN OSRAM, Munich, Germany) dengan dosis 3.33 J cm^{-2} untuk setiap radiasinya per 72 jam. Total dosis mencapai 10 J cm^{-2} .

Segera setelah penyinaran UVA terakhir, HDF tersebut diberi perlakuan dengan 200 μL of 50 % CMWJSCs or 50% L-PRF, yang dilarutkan dalam DMEM supplemented with 1 % FBS; or control medium (CM) that consisted of DMEM plus 1 % FBS. Semua sel dikultur selama 72 jam dalam suhu 37°C and 5 % CO_2 , dan medium diganti setiap 72 jam. Setiap perlakuan diulang 3x. Kelompok yang tidak disinari dengan UV dikultur dalam DMEM yang ditambah dengan FBS 10%. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan komisi etika FK UB (no 231/EC/X/2018).

CMWJSCs merupakan Mesensimal stem cell didapatkan dari warthon jelly tali pusat bayi baru lahir dengan Sectio cesaria (Diperoleh dari Laboratorium ITD Universitas Airlangga).

- Menggambarkan sampel penelitian anda: apakah sampel kultur sel, hewan coba atau manusia.
- Gambarkan kriteria inklusi sampel studi anda.
- Gambarkan jumlah sampel studi dan bagaimana proses sampling.
- Gambarkan lokasi dan tempat penelitian serta waktu studi.
- Ethical Clearance.

Variable Dependent

Penelitian ini akan menilai proliferasi dari sel fibroblast yang telah dipaparkan bahan uji dengan metode MTT assay. Metode ini digunakan dengan menggunakan bahan MTT (Merck) yang dilakukan optimasi pada microplate ELISA (Sigma), dimana selanjutnya dinilai nilai OD dengan ELISA Reader (Biorad).

- Menggambarkan metode pengujian parameter pada penelitian anda.
- Gambarkan semua alat dan bahan yang digunakan serta merek bahan dan alat.

Variable Independent

CMWJSCs merupakan Mesensimal stem cell didapatkan dari warthon jelly tali pusat bayi baru lahir dengan Sectio cesaria (Diperoleh dari Laboratorium ITD Universitas Airlangga, Indonesia). Metode pembuatan medium terkondisi dilakukan dengan metode hipoksia.²¹ L-PRF diisolasi dari darah vena cubiti, diambil 20 ml darah tepi tanpa menggunakan antikoagulan, dengan menggunakan spuit sekali pakai yang terbuat dari bahan *polistiren*. Pengambilan harus dilakukan secara cepat, yaitu kurang dari 2 menit agar darah tidak membeku. Darah tepi tersebut segera dimasukkan kedalam tabung kaca seteril, disentrifus selama 10 menit dalam temperatur kamar dengan kecepatan 400 G. Setelah ditunggu selama 5 menit agar proses pembekuan darah berjalan lengkap, maka pada tabung akan dijumpai 2 lapisan, yaitu jeli PRF dibagian atas dan eritrosit dibagian bawah. Dengan menggunakan pinset steril, jeli ditarik keluar tabung dan dipotong dengan menggunakan gunting steril pada perbatasan jeli PRF dengan eritrosit. Jeli segera dimasukkan ke dalam tabung gelas steril yang baru. Jeli PRF dalam tabung gelas yang baru tadi diinkubasi selama 24 jam dalam temperatur 4°C. Setelah dipastikan bahwa sisa fibrin melekat pada dasar tabung, supernatan disedot dan dipindahkan ke dalam tabung (eppendorf) dan disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan. Supernatan ini adalah lisat platelet.

- Menggambarkan preparasi bahan uji yang akan digunakan di penelitian anda.
- Gambarkan pengelompokkan sampel penelitian.
- Gambarkan dosis yang digunakan.

Data Analysis

Analisis data dilakukan dengan IBM SPSS Versi 25, dimana data disajikan Mean $\pm$ Standard Deviation (SD). Dilakukan analisis univariate, yang selanjutnya diikuti dengan analisis bivariate dengan uji One Way (ANOVA), yang diikuti dengan pos hoc test, bonferroni. Signifikansi uji, $p < 0,05$.

- Menggambarkan alat yang digunakan untuk olah data.
- Menggambarkan metode olah data yang digunakan.