

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

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

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

1. Penelitian ini dilakukan :
  - a. Pengambilan darah dan pembuatan *platelet-rich plasma* dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
  - b. Perhitungan jumlah platelet dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
2. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei - Agustus 2014 di Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

#### **C. Sampel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan sampel darah yang diperoleh dari donor (mahasiswa Prodi Kedokteran Gigi FKIK UMY) yang telah mengisi *informed consent* dan mempunyai kriteria :

- a. Dalam kondisi sehat
- b. Tidak sedang menstruasi (jika pendonor wanita)
- c. Tidak sedang hamil
- d. Tidak mempunyai penyakit sistemik seperti diabetes melitus, hepatitis, dan HIV/AIDS

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas :  
Metode preparasi PRP
2. Variabel Terikat :  
Jumlah Platelet
3. Variabel Terkendali :
  - a. Volume darah yang disentrifugasi
  - b. Volume antikoagulan ACD dan CPD
  - c. Kecepatan sentrifugasi
  - d. Waktu sentrifugasi
  - e. Suhu
  - f. Jenis antikoagulan ACD dan CPD
  - g. Donor PRP probandus standar
  - h. Metode pembuatan PRP

#### **E. Definisi Operasional**

1. Darah adalah sampel yang akan digunakan dalam pembuatan PRP yang diproses dengan cara sentrifugasi ganda untuk memisahkan komponen-komponen yang ada di dalamnya.
2. Platelet adalah bagian dari darah yang berada di dalam plasma darah dan terdapat protein yang mengandung tujuh faktor pertumbuhan.
3. *Whole Blood* (WB) adalah jumlah darah murni tanpa perlakuan apapun
4. *Platelet-Rich Plasma* (PRP) merupakan platelet yang dihasilkan setelah proses sentrifugasi dengan Metode Matsui-Tabata (2011) dan Metode Nugraha *et.al.*, (2012). Platelet di dalam PRP ini berbeda jumlahnya saat berada di dalam *whole*

*blood* . Platelet yang sudah melalui proses sentrifugasi bisa berjumlah 4 kali lipat dari jumlah platelet saat di dalam *whole blood*.

5. Metode Matsui-Tabata (2011) dan Metode Nugraha *et.al.*, (2012) adalah metode yang digunakan dalam preparasi pembuatan PRP dalam penelitian ini.

## **F. Alat dan Bahan Penelitian**

### 1. Alat Penelitian

- a. Mikropipet digunakan untuk mengambil *buffy coat* setelah sentrifugasi
- b. Mikrotube digunakan sebagai tempat PRP
- c. Centrifuge adalah alat untuk sentrifugasi
- d. Vacutainer ACD dan CPD adalah tempat yang berisi antikoagulan ACD dan CPD untuk sampel darah yang di ambil
- e. Kapas
- f. Povidone Iodine
- g. Handscoon
- h. Masker
- i. Kaca preparat
- j. Pewarnaan giemsa untuk menghitung jumlah platelet

### 2. Bahan Penelitian

- a. Darah
- b. Antikoagulan *Acid-citrate-dextrose* (ACD)
- c. Antikoagulan *Citrate-Phosphate-dextrose* (CPD)

## G. Jalannya Penelitian

1. Menyiapkan sampel darah dari pendonor
  - a. Memberikan *informed consent* kepada ketiga pasien pendonor.
  - b. Memberikan pengarahan kepada pasien terhadap apa yang akan dilakukan dan digunakan untuk apa sampel darah yang di ambil.
  - c. Menyiapkan kapas, povidone iodine, dan vacutainer ACD dan CPD yang akan digunakan untuk mengambil sampel darah dari pasien pendonor.
  - d. Pendonor A, B, dan C masing-masing akan diambil darahnya sebanyak 18 ml.
  - e. Sampel darah sebanyak 18 ml dari tiap pendonor akan dibagi dua kedalam vacutainer yang berisi ACD 1 ml dan CPD 1 ml, sehingga akan didapatkan perbandingan 9:1
  - f. Sampel darah yang diambil akan langsung digunakan sehingga tidak melalui tahap penyimpanan
2. Isolasi PRP
  - a. Metode Matsui-Tabata :
    1. Sampel darah dari pendonor A yang telah bercampur dengan antikoagulan ACD di dalam tabung vacutainer dipindahkan ke dalam mikrotube lalu masukkan ke dalam mesin centrifuge dan atur dengan kecepatan 450 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius dalam waktu 7 menit, lalu lakukan sentrifugasi.
    2. Setelah 7 menit matikan mesin centrifuge dan kita ambil mikrotube yang berisi sampel darah, dalam mikrotube akan terlihat *buffy coat* diantara eritrosit dan cairan plasma. Ambil *buffy coat* tersebut lalu kita masukkan ke dalam mikrotube kosong.

3. *Buffy coat* yang sudah siap akan kita sentrifugasi kedua dengan kecepatan 1600 rcf/g dengan suhu 4 derajat celcius dalam waktu 5 menit.
  4. Setelah 5 menit maka akan terlihat lagi cairan ditengah, itulah platelet yang akan kita hitung yang disebut PRP.
  5. Diulangi dengan cara yang sama pada sampel darah dari donor B dan C
- b. Metode Nugraha *et.al.*
1. Sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan CPD di dalam tabung vacutainer dipindahkan ke dalam mikrotube lalu masukkan ke dalam mesin centrifuge dengan kecepatan 1300 rcf/g dalam waktu 5 menit dan suhu 4 derajat celcius, lalu lakukan sentrifugasi.
  2. Setelah 5 menit matikan mesin centrifuge dan kita ambil mikrotube yang berisi sampel darah dan akan terlihat *buffy coat* diantara eritrosit dan cairan plasma. Kita ambil *buffy coat* tersebut lalu kita masukkan ke dalam mikrotube kosong.
  3. *Buffy coat* yang sudah siap akan kita sentrifugasi kedua dengan kecepatan 2300 rcf/g dalam waktu 7 menit dan suhu 4 derajat celcius.
  4. Setelah 7 menit maka akan terlihat lagi cairan ditengah, itulah platelet yang akan di hitung yang bernama PRP.
  5. Diulangi dengan cara yang sama pada sampel darah dari donor B dan C
3. Perhitungan Platelet

Setiap sampel yang sudah menghasilkan Platelet akan dihitung dengan pewarnaan giemsa di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Gadjah Mada

## **H. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah data berskala numerik, sehingga analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan Uji Independent t-Test dengan tingkat kepercayaan 95%.

## **I. Etika Penelitian**

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

## J. Alur Penelitian

