

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 dilakukan di :

- a. Pengambilan darah dilakukan di Laboratorium Diagnostik RSGM AMC.
- b. Pembuatan PRP dan uji pemuatan PRP dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- c. Perhitungan jumlah platelet dengan pewarnaan giemsa dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

2. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 26 Mei – 10 Juli 2014

C. Sample Penelitian

1. Perancah gelatin hidrogel

Perancah gelatin hidrogel yang digunakan merupakan perancah yang dikembangkan oleh tim reset rekayasa jaringan FKG-UGM. Perancah yang dibutuhkan adalah 18 buah.

2. *Platelet-rich plasma* (PRP) yang diperoleh dari donor (mahasiswa Prodi Kedokteran Gigi FKIK UMY) sebanyak 3 orang 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

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Metode celup dan tetes

2. Variabel Terikat

PRP yang termuat dalam perancah gelatin hidrogel

3. Variabel Terkendali

- a. Ukuran perancah
- b. Metode pembuatan PRP
- c. Donor PRP probandus standard
- d. Antikoagulan (*acid citrads dextrose*)

4. Variabel Tak Terkendali

Jumlah platelet yang rusak

E. Definisi Operasional

1. Perancah gelatin hidrogel merupakan membran gelatin 10% dengan perbandingan konsentrasi air 90% yang kemudian disebut perancah gelatin hidrogel. Perancah kemudian di fabrikasi dan di desain menyerupai struktur jaringan tulang yang berpori.
2. *Platelet-rich plasma* (PRP) merupakan platelet yang dihasilkan dari darah manusia dan diproses dengan menggunakan metode Matsui dan Tabata (2012).
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 *microtube* pada perancah hingga

4. *Centrifuge*
5. *Centrifuge refrigerated*
6. Vacountainer ACD
7. *Micropipet*
8. *Deck glass*
9. *Blue tip*
10. *Yellow tip*

Bahan yang digunakan adalah :

1. Perancah gelatin hidrogel
2. Darah dari donor
3. Antikoagulan (*acid citrade dextrose*)
4. Pewarna giemsa

G. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan sample darah dari 3 donor

Pengambilan sampel darah sebelumnya dilakukan di laboratorium diagnostik RSGM AMC sebanyak 10 ml untuk setiap donor. Darah yang telah diambil langsung dimasukkan kedalam vacountainer yang telah berisi antikoagulan *acid citrade dextrose* (ACD).

2. Persiapan peneliti untuk melakukan penelitian. Persiapan dilakukan dengan menyiapkan segala macam alat dan bahan, termasuk memakai

3. Perancah gelatin hidrogel yang dikembangkan oleh tim riset rekayasa jaringan FKG-UGM dan siap untuk digunakan.
4. *Pembuatan platelet-rich plasma (PRP)* dengan metode Matsui dan Tabata (2012).

Darah dari vacoutainer diambil sebanyak 50 μ l dengan menggunakan micropipet dan *yellow tip*. Darah dimasukkan kedalam *microtube* yang diberi kode WB untuk dilakukan hitung jumlah platelet *whole blood*.

Sisa darah dalam vacoutainer dimasukkan ke dalam *microtube* untuk pembuatan PRP. Darah disentrifugasi sebanyak 2 kali di *centrifuge*. Sentrifugasi pertama dilakukan dengan kecepatan 450 ref/g selama 7 menit pada suhu 4 derajat.

Setelah sentrifugasi pertama dilakukan akan terlihat tiga lapisan darah yaitu plasma, *bavicoat* dan eritrosit. Plasma dari bagian atas *microtube* diambil dengan *micropipet*, kemudian ambil bagian lapisan putih tipis diatas eritrosit dan pindahkan kedalam *microtube* 1,5 ml yang kering dan steril. Pada pengambilan *bavicoat* akan terambil sedikit eritrosit dan plasma. Sentrifugasi ke dua dilakukan dengan kecepatan 1600 ref/g selama 5 menit pada suhu 4 derajat.

Setelah sentrifugasi kedua dilakukan akan terlihat tiga lapisan darah yaitu plasma, *bavicoat* dan eritrosit. Plasma dibagian atas *microtube* diambil terlebih dahulu dengan *micropipet*. *Bavicoat*

diambil dengan menggunakan *micropipet* dan dipindahkan kedalam

microtube baru yang kering dan steril. *Bavicoat* itu merupakan fase kaya platelet (PRP).

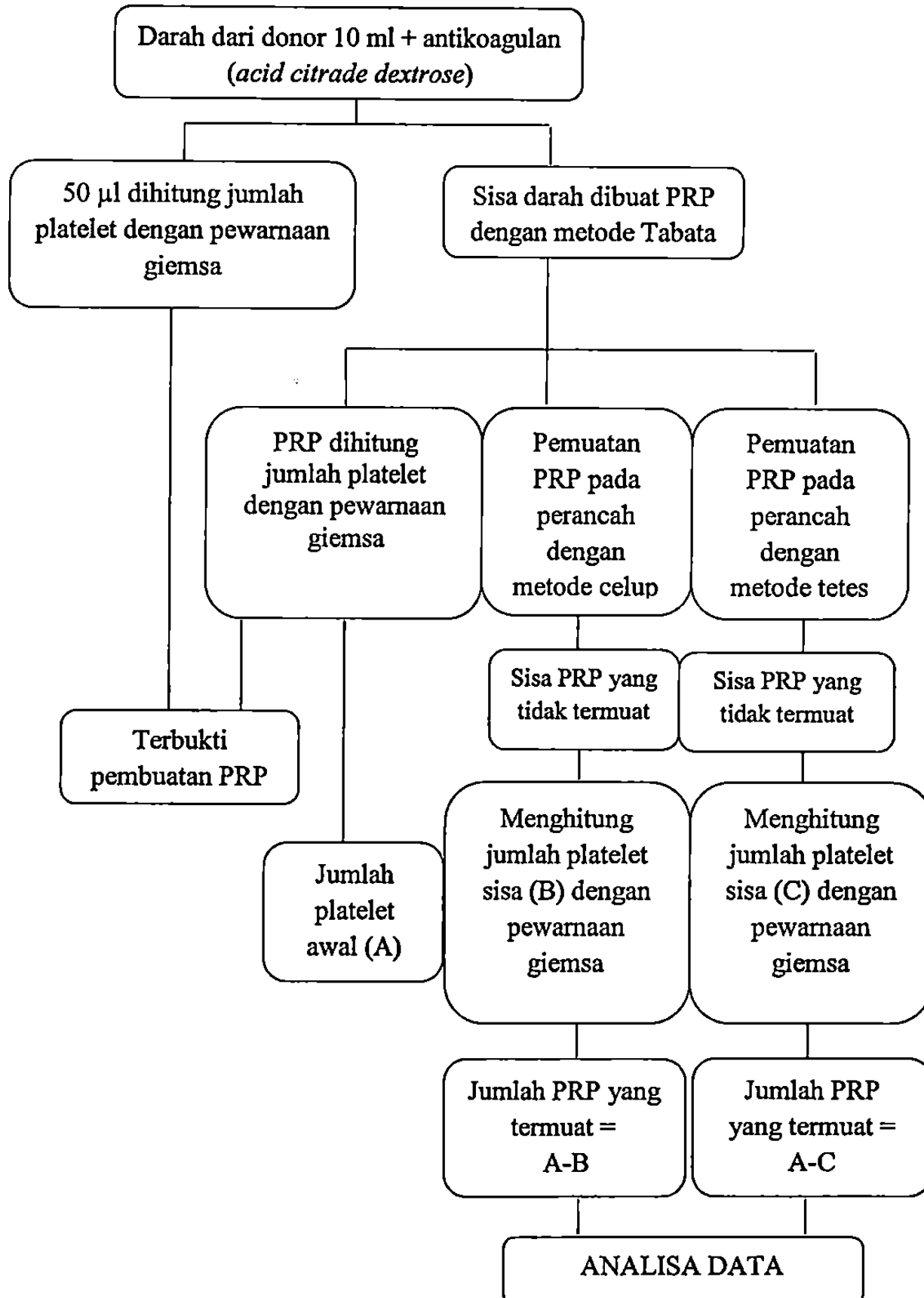
5. Metode pemuatan PRP pada perancah gelatin hidrogel.

PRP yang telah siap digunakan dibagi menjadi 3 :

- a. *Platelet-rich plasma* sebanyak 50 μ l dimasukkan kedalam *microtube* kode PRP untuk dihitung jumlah plateletnya dengan pewarnaan giemsa. Jumlah platelet yang terhitung diharapkan hampir mendekati jumlah platelet hasil perhitungan platelet pada darah lengkap (*whole blood*). Jumlah palatelet hasil perhitungan dijadikan sebagai jumlah platelet awal.
- b. *Platelet-rich plasma* dimuatkan pada 3 perancah gelatin hidrogel dengan metode celup. PRP dimasukkan kedalam 3 *microtube* yang telah diberi kode Gelatin Celup 1 (GC1), Gelatin Celup 2 (GC2) dan Gelatin Celup 3 (GC3) untuk metode celup, masing-masing *microtube* berisi 50 μ l PRP.
- c. *Platelet-rich plasma* dimuatkan pada 3 perancah gelatin hidrogel dengan metode tetes. PRP dimasukkan kedalam 3 *microtube* yang telah diberi kode Gelatin Tetes 1 (GT1), Gelatin Tetes 2 (GT2) dan Gelatin Tetes 3 (GT3) untuk metode tetes, masing-masing *microtube* berisi 50 μ l PRP.

6. Sisa PRP yang tidak termuat dilakukan pewarnaan giemsa untuk dihitung jumlah plateletnya. Jumlah platelet yang termuat didapat dari jumlah platelet awal dikurangi jumlah platelet sisa

H. Alur Penelitian



I. Analisa Data

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan Independent sample t test.

J. Etika Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian ini, subjek penelitian sudah diberi penjelasan dan informasi tentang maksud dan tujuan penelitian. Subjek penelitian merupakan pendonor yang akan diambil darahnya. Pendonor terlebih dahulu mengisi informed consent yang telah disediakan sebagai bentuk ketersediaan untuk dapat terlibat dalam penelitian tanpa adanya unsur paksaan dari pihak manapun.