

BAB II METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November - Desember 2022 di UTD PMI Kabupaten Bogor. Jl. KSR Dadi Kusmayadi, Kelurahan Tengah, Kecamatan Cibinong, Kabupaten Bogor.

B. Instrumen penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan pada penelitian ini menggunakan peralatan seperti *refrigerated Centrifuge*, *Blood Bank Refrigerated*, Plasma Extractor, *Electric Sealer*, *Analytic Balance*, *Striper*, *Yellow Tip*, Mikropipet, Timbangan, Tabung plastik 12x75, *Blue Tip*, Gunting, Klem Plastik, Alat *Hematologi Analyzer* Mindray BC-20s, *Hemocue Plasma Low Hb* dan tempat limbah.

Adapun bahan pemeriksaan dalam penelitian ini, yaitu komponen PRC dan reagensia yang digunakan, yaitu *microcuvvet*, sedangkan definisi operasional variable (DOV) yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV)

No	Variabel	Definisi operasional	Sumber	Satuan
1	Lama Penyimpanan	Rentang waktu setelah pembuatan bahan pemeriksaan sampai pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit	Uji Laboratorium	Hari
2	Fragilitas osmotik eritrosit	Pemeriksaan untuk mengukur resistensi eritrosit yang mengalami hemolisis menggunakan metode Spektrofotometer.	Sumber data primer	%
3	Suhu Pengolahan	Suhu 2-6 ⁰ C dan suhu 20-24 ⁰ C adalah suhu pengolahan <i>Whole Blood</i> sebelum di olah menjadi PRC	Sumber data primer	C ^o

Variabel independen/bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan sehingga menimbulkan variabel dependen. Variabel independen dalam penelitian ini adalah suhu pengolahan dan lama penyimpanan.

Variabel dependen/terikat merupakan variabel yang telah dipengaruhi oleh adanya variabel independen. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah tingkat hemolisis

Jumlah sample komponen PRC sebanyak 6 kantong dilakukan penelitian berdasarkan perbedaan suhu pengolahan 2-6⁰C dan 20-24⁰C serta lama penyimpanan dimulai hari ke 0, 7, 14, 21, 28, dan 35.

C. Cara kerja

1. Pembuatan komponen darah *Packed Red Cell*

Diterima darah lengkap (WB) sebanyak 6 kantong darah yang diambil dari pendonor, kemudian dilakukan identifikasi dan dicocokkan data sesuai formulir pengiriman darah dari seksi pengambilan darah secara keseluruhan. Kemudian darah WB dari pendonor sebanyak 3 kantong disimpan pada suhu 2-6⁰C untuk dilakukan pengolahan menjadi PRC pada suhu 2-6⁰C dan darah WB dari pendonor sebanyak 3 kantong disimpan pada suhu 20-24⁰C selama 24 jam untuk dilakukan pengolahan menjadi PRC pada suhu 20-24⁰C (Perka BPOM RI No.10, 2017).

Diberi label semua kantong utama dan kantong satelit dengan nomor kode donor, golongan darah, tanggal pengambilan, dan tanggal kedaluwarsa menurut produk komponen darah, kemudian dilakukan penyerutan selang pada kantong darah WB menggunakan *hand sealer* kemudian digoyangkan secara perlahan hingga homogen sebanyak 3x, lalu bersihkan tubing dari eritrosit dengan cara di ketuk-ketuk. Letakkan kantong dalam wadah dengan label di kantong utama menghadap ke luar lalu seimbangkan darah berikut dalam mangkok *centrifuge* pada *analitic balance*. Jaga keseimbangan kantong secara diagonal sama berat pada wadah *centrifuge* yang berisi kantong WB dan satelitnya yang diletakkan berhadapan saat pemutaran. Hal ini dilakukan agar putaran *centrifuge* seimbang sehingga mutu komponen yang dihasilkan baik.

Ditempatkan mangkok *centrifuge* yang sudah seimbang kedalam *centrifuge* dengan posisi berhadapan dan kantong darah sejajar kuping cup, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3600 xG suhu 2-6⁰C selama 7 menit untuk proses pengolahan WB menjadi PRC pada suhu 2-6⁰C sedangkan proses sentrifugasi untuk pengolahan WB menjadi PRC yang disimpan selama 24 jam pada suhu 20-24⁰C dengan kecepatan lambat ‘*Low Spin*’ 375 xG selama 15 menit dengan suhu 20-24⁰C.

Setelah proses sentrifugasi selesai, angkat mangkok *centrifuge* dengan perlahan, kemudian ditempatkan kantong darah utama pada plasma *extractor* dengan perlahan agar darah tidak tercampur kembali, jepit dan patahkan tubing pada selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit kemudian dialirkan plasma kedalam kantong satelit, tinggalkan plasma dalam kantong utama ± 3 cm dari permukaan eritrosit pekat. Diseal selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit menggunakan *electric sealer*. Gunting selang penghubung yang sudah di seal antara kantong utama dengan kantong satelit. Didapatkan komponen PRC kemudian lakukan pengukuran volume, tulis volume komponen darah PRC pada label, kemudian simpan komponen darah PRC kedalam *Blood Bank Refrigerated* pada suhu 2-6⁰C (BCSU. 2015).

2. Pemeriksaan tingkat hemolisis dengan menggunakan Spektrofotometer terhadap fragilitas osmotik eritrosit

Pemeriksaan tingkat hemolisis pada masa penyimpanan bertujuan untuk mengetahui perbedaan tingkat hemolisis komponen PRC pada masing-masing kantong darah. Disiapkan sampel PRC yang akan diuji, kemudian diambil sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilakukan pemeriksaan nilai Hematokrit dan kadar Hemoglobin menggunakan alat *hematologi analyzer Mindray BC-20s*.

Sampel yang telah digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin dan hematokrit diputar menggunakan *centrifuge* 3000 rpm selama 2 menit. Dihidupkan alat *HemoCue Plasma/Low Hb* dengan menekan tombol On/Off, maka akan muncul “LHb” pada display, ditunggu 30 detik. Supernatan pada sampel diambil sebanyak 20 uL, lalu diteteskan pada

kaca objek. Diambil microcuvet *HemoCue Plasma/Low Hb* dari dalam botol/vial, lalu diambil sampel pada kaca objek dengan mendekatkan microcuvet, secara langsung microcuvet akan menarik sampel pada kaca objek. Tarik/buka *cuvvet holder*, maka akan terlihat “Ready” pada display, dimasukkan microcuvet *HemoCue Plasma/Low Hb* ke dalam *cuvvet holder* kemudian tutup *cuvvet holder*, tunggu beberapa saat maka akan muncul “Measuring” pada display dan hasil akan tampil.

Hitung persentase tingkat hemolisis dengan menggunakan rumus (Crestani *et al.*, 2017)

$$\% \text{ Hemolisis} = \frac{(100 - \text{hematokrit}) \times \text{Plasma Hb} \left(\frac{g}{dL}\right)}{\text{Total Hb} \left(\frac{g}{dL}\right)}$$

Kemudian dicatat hasil pada lembar kerja inspeksi tingkat hemolisis. Pemeriksaan dilakukan pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, 28, dan 35 hari.

D. Analisis data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan adalah data primer. Pengumpulan data primer dilakukan dengan cara penelitian langsung terhadap komponen PRC dengan tahap persiapan pengolahan komponen darah, yaitu pada suhu 20-24⁰C dan suhu 2-6⁰C, serta dilakukan pemeriksaan tingkat hemolisis menggunakan metode Spektrofotometer terhadap fragilitas osmotik eritrosit, pada hari ke 0, 7, 14, 21, 28 dan 35. Pengolahan data dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji statistik deskriptif, uji *Two Way Anova* dan uji lanjutan *Post Hoc Anova* dengan bantuan *software SPSS 26*