

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan sebagai akibat perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel cairan pleura diamati dengan preparat apusan yang diberi pewarnaan *Papanicolaou* dan *Diff-Quick*. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu pewarnaan *Papanicolaou* dan pewarnaan *Diff-Quick*. Variabel terikatnya yaitu kualitas sediaan sitologi berdasarkan latar belakang sediaan, morfologi sel, karakteristik inti sel, dan hasil akhir pewarnaan. Sumber kesalahan dalam penelitian ini adalah penggunaan reagen pewarnaan yang lama dan pernah dipakai secara berulang pada pemeriksaan sitologi lainnya. Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan dengan pewarnaan *Papanicolaou* dan *Diff-Quick*, maka dilakukan uji *Wilcoxon Signed Rank Test* dengan nilai signifikansi ($p > 0.05$).

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2023.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh cairan efusi pleura yang masuk ke Instalasi Patologi Anatomi RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung pada bulan Maret sampai dengan April 2023.

Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

$$\begin{aligned} (t-1)(n-1) &\geq 15 \\ (2-1)(n-1) &\geq 15 \\ 1(n-1) &\geq 15 \\ n-1 &\geq 15+1 \\ n &\geq 16 \end{aligned}$$

Keterangan :
t : jumlah perlakuan
n : jumlah sampel

Sampel penelitian adalah total sampel cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dengan kriteria, volume cairan minimal 20 cc dan cairan agak keruh (dapat membentuk endapan ketika di sentrifuge). Sedangkan kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah cairan kemerahan bercampur dengan darah.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
Pewarnaan <i>Papanicolaou</i>	Proses pewarnaan <i>Papanicolaou</i> dengan menggunakan sampel cairan efusi pleura yang dibuat dengan cara apusan pada kaca obyek	Observasi	Thakur, (2017)	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal
Pewarnaan <i>Diff-Quick</i>	Proses pewarnaan <i>Diff-Quick</i> dengan menggunakan sampel cairan efusi pleura yang dibuat dengan cara apusan pada kaca obyek	Observasi	Thakur, (2017)	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal
Variabel Terikat					
Kualitas Sediaan Sitologi	Kualitas pewarnaan sitologi cairan pleura yang dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi dengan meliputi: 1. Latar belakang 2. Morfologi sel 3. Karakteristik inti sel 4. Hasil pewarnaan secara keseluruhan	Observasi	Thakur, (2017)	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Pra Survey

Pra survey dilakukan di Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Hi. Abdul Moeloek Provinsi Lampung, didapatkan hasil bahwa sampel cairan pleura yang masuk untuk diperiksa pada Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi berkisar antara 35-60 sampel/bulan.

2. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

Sentrifuge, tabung reaksi sentrifuge, rak pengecatan, pinset, wadah pewarnaan, spuit 25cc, kaca obyek, cover glass, dan pipet.

3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Sampel cairan pleura, Alkohol (50%, 70%, 96%, alkohol absolut), *Aquadest*, *Harris-Hematoxylin*, *Orange-G*, *Eosin*, *Eosin Alkohol*, *Xylol*, *Methanol*, dan *Methylen Blue*.

4. Cara Kerja Prosesing Preparat (RSAM, 2019)

a. Persiapan sampel sitologi apusan

- 1) Bahan cairan pleura diambil dan dilakukan sentrifuge selama 10 menit sehingga tampak endapan dengan cairan jernih
- 2) Kemudian supernatant dari cairan pleura secara hati-hati dibuang
- 3) Endapan dari cairan pleura dipisahkan ke obyek glass dengan menggunakan pipet
- 4) Apusan dibuat menggunakan salah satu obyek glass yang lain

b. Prosedur pewarnaan *Papanicolaou*

Tabel 3.1 Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou*

Cara pulasan pewarnaan <i>Papanicolaou</i>	
1. Sampel slide difiksasi dengan alkohol 96%	30 menit
2. Setelah difiksasi angkat dan dimulai pewarnaan	
3. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 70%	7 celup
4. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 70%	7 celup
5. Slide direndam dengan aquadest	7 celup
6. Slide dimasukkan ke dalam Harris-Hematoksilin	3-5 menit
7. Slide direndam/bilas dengan air mengalir	1 menit
8. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 50%	7 celup
9. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 70%	7 celup
10. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96%	7 celup
11. Slide dimasukkan ke dalam Orange-G (OG 6)	3 menit
12. Slide dimasukkan kedalam alkohol 96%	7 celup
13. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96%	7 celup
14. Slide dimasukkan kedalam Eosin Alkohol (EA-50)	3 menit
15. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96%	7 celup
16. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96%	7 celup
17. Slide dimasukkan ke dalam alkohol absolut	7 celup
18. Slide dimasukkan ke dalam Xylol I	1 menit
19. Slide dimasukkan ke dalam Xylol II	1 menit
20. Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (mounting) secukupnya dan ditutup dengan cover glass	

Sumber : (RSAM, 2019)

c. Prosedur pewarnaan *Diff-Quick*Tabel 3.2 Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick*

Cara Pulasan <i>Diff-Quick</i>		
1. Sampel slide telah difiksasi kering		
2. Slide dimasukkan kedalam reagensia 1 (Methanol) lalu ditiriskan	1 menit	
3. Slide dimasukkan kedalam reagensia 2 (Eosin) lalu ditiriskan	1 menit	
4. Slide dimasukkan kedalam reagensia 3 (Methylen Blue) lalu ditiriskan	1 menit	
5. Slide direndam/bilas dengan air mengalir	1 menit	
6. Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (mounting)		
7. Slide diberi identitas pasien		

Sumber : (RSAM, 2019)

d. Penilaian Kualitas Sediaan

Tabel 3.3 Penilaian Kualitas Sediaan

No	Parameter Penilaian	Deskripsi	Skor
1.	Latar Belakang		
	a. Hemoragic (Tidak Baik)	Latar belakang terlihat perdarahan	1
	b. Clean/Bersih (Baik)	Latar belakang transparan/bersih, tidak terlihat perdarahan, tidak tampak artefak	2
2.	Penampilan Morfologi Sel		
	a. Tidak Baik	Bentuk sel tidak jelas, intensitas warna sitoplasma tidak jelas	1
	b. Baik	Bentuk sel sangat jelas, intensitas warna sitoplasma sangat jelas	2
3.	Karakteristik Inti Sel		
	a. Inti sel tidak jelas	Intensitas warna pada inti sel kurang/tidak jelas nukleus atau kromatin kurang/tidak jelas, membran inti sel tidak jelas	1
	b. Inti sel jelas	Intensitas warna pada inti sel jelas nucleus atau kromatin jelas, membrane inti sel jelas	2
4.	Hasil Akhir Pewarnaan		
	a. Tidak baik	Intensitas pewarnaan keseluruhan tidak baik, ada bagian yang tidak terwarnai, pewarnaan tidak rata/homogen	1
	b. Baik	Intensitas pewarnaan keseluruhan baik, pewarnaan sediaan merata, keseluruhan sediaan terwarnai dengan baik	2

Sumber: (Thakur, 2017) dimodifikasi

F. Pengolahan Data

Proses pengolahan data dilakukan setelah data terkumpul berdasarkan hasil pengamatan melalui tahap-tahap sebagai berikut:

1. Coding yaitu pemberian kode untuk memudahkan pengentrian data ketika dimasukkan kekomputer (data entry).
2. Entry data yaitu memasukkan data-data yang sudah terkumpul kedalam aplikasi/program komputer seperti program SPSS.

G. Analisis Data

Data skoring diperoleh dari hasil akhir penilaian Ahli Patologi Anatomi, ditotal dan dihitung rerata skoring. Nilai yang diberikan yaitu 1-2 pada setiap parameter yang diperiksa dengan total skor dikatakan baik apabila mencapai 80%, yaitu 1-6 kategori tidak baik dan 7-8 kategori baik (Thakur, 2017). Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan dengan pewarnaan *Papanicolaou* dan pewarnaan *Diff-Quick*, dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon Signed Rank Test* pada tingkat signifikansi $p > 0,05$.

Tabel 3.4 Hasil Uji Kualitas Sediaan Apusan Sitologi Pleura dengan Pewarnaan *Papanicolaou*

Kualitas Sediaan Apusan Sitologi Berdasarkan Metode Pewarnaan Papanicolaou									
Metode Pewarnaan		Kualitas Sediaan Apusan Sitologi							
Metode Pewarnaan Papanicolaou	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Baik									
Tidak Baik									
Total									

Tabel 3.5 Hasil Uji Kualitas Sediaan Apusan Sitologi Pleura dengan Pewarnaan *Diff-Quick*

Tabel 5.10 Hasil Uji Kuantitas Secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Diff-Quick									
Pewarnaan <i>Diff-Quick</i>	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Baik									
Tidak Baik									
Total									

Tabel 3.6 Hasil Uji Kualitas Sediaan Apusan Sitologi Pleura dengan Total Skor Baik

Kualitas baik (%)						
Perbedaan Kualitas Sediaan	Metode Pewarnaan	Latar Belakang	Penampilan Morfologi Sel	Karakteristik Inti Sel	Hasil Akhir Pewarnaan	Rerata Skor
	<i>Papanicolaou</i>					
	<i>Diff-Quick</i>					

H. *Ethical Clearance* (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Limbah cairan efusi pleura dari hasil sisa proses penelitian selama di Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung, dilakukan sesuai SPO Instalasi Pengolahan Air Limbah RSAM. Cara penanganan limbah cair yang tepat akan menghindari tercemarnya lingkungan sekitar, upaya penanganan limbah ini adalah untuk pencegahan penyakit dan gangguan kesehatan dari faktor risiko lingkungan untuk mewujudkan kualitas lingkungan yang sehat baik dari aspek fisik, kimia, biologi, maupun sosial. Penyelenggaraan kesehatan lingkungan ini diselenggarakan melalui upaya penyehatan, pengamanan, dan pengendalian yang dilakukan terhadap Rumah Sakit sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2019.