

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas pewarnaan histopatologi kanker payudara menggunakan xylol dan minyak gandapura sebagai *clearing agent* terhadap objek yang diberikan perlakuan dalam kelompok eksperimen. Terdapat dua variabel dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas dan terikat, variabel bebas berupa pembuatan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara menggunakan minyak gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) dan xylol, sedangkan variabel terikat berupa kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin jaringan histopatologi kanker payudara, Spesimen jaringan kanker payudara diteliti dengan dua perlakuan yaitu menggunakan minyak gandapura dan xylol dalam proses pewarnaan Hematoxylin Eosin ditahap *deparafinisasi* dan *clearing*. Adanya perbedaan hasil kualitas sediaan pewarnaan hematoxylin eosin menggunakan minyak gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) dan xylol dalam proses pembuatan preparat jaringan kanker payudara, maka dilakukan uji *Wilcoxon* dengan nilai signifikansi ( $p > 0.05$ ).

### **B. Waktu dan Lokasi Penelitian**

#### 1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2023.

#### 2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung

### **C. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah spesimen kanker payudara di Laboratorium Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung, dengan sampel dalam penelitian ini merupakan bagian dari populasi yakni, spesimen jaringan kanker payudara yang sudah dilakukan pemotongan, fiksasi dan dibuat blok paraffin. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling*.

*purposive sampling* adalah metode pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu dan harus mewakili populasi yang akan diteliti (Sugiyono, 2011). Penentuan jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer (1963). Rumus Federer adalah rumus jumlah subjek untuk penelitian eksperimental. Rumusnya adalah  $(t-1)(n-1) \geq 15$ , bahwa (t) merupakan jumlah perlakuan, sedangkan (n) merupakan pengulangan pada tiap perlakuan.

Perhitungan Rumus Federer :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(2-1)(1n-1) \geq 15$$

$$(1)(1n) \geq 15$$

$$1n \geq 15 + 1$$

$$n \geq 16$$

Maka didapatkan 32 sampel pada perlakuan minyak gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) dan xylol, dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

1) Kriteria inklusi

- a) Jaringan kanker payudara dilakukan pemotongan pada tahap *sectioning* dengan ketebalan pemotongan  $4\mu$

2) Kriteria eksklusi

- b) Spesimen yang tidak memiliki data pada formulir dan wadah specimen  
c) Spesimen yang telah rusak atau sedikit jaringan yang dapat diambil

## D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
Pembuatan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara menggunakan minyak gandapura ( <i>Gaultheria fragrantissima</i> ) dan xylol	pewarnaan sediaan di proses <i>deparafinisasi</i> dan <i>clearing agent</i> dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin	Metode Skoring(Sravya dkk., 2018)yang dimodifikasi	Mikroskop dan Lembar Observasi	Tidak baik (1-5) Baik (6-8)	Ordinal
Variabel Terikat					
Kualitas Pewarnaan Histopatologi Kanker Payudara	Pemenuhan persyaratan kualitas pewarnaan histopatologi meliputi Inti sel, sitoplasma, intensitas pewarnaan dan kontras pewarnaan	Metode Skoring (Sravya dkk., 2018) yang dimodifikasi	Mikroskop dan Lembar Observasi	Tidak baik (1-5) Baik (6-8)	Ordinal

## E. Pengumpulan Data

### 1. Persiapan Penelitian

- a. Mencari sumber pustaka untuk memperoleh data ilmiah penelitian
- b. Melakukan Pra survey pada lokasi penelitian yaitu di Klinik Patologi Morotai Kota Bandar Lampung
- c. Pengajuan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang untuk diteruskan kepada Klinik Patologi Morotai Kota Bandar Lampung
- d. Setelah mendapatkan surat izin dari Klinik Patologi Morotai Bandar Lampung, kemudian melakukan penelitian di Klinik Patologi Morotai Kota Bandar Lampung.

### 2. Prosedur Penelitian

- a. Alat :

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Rak pengecatan, pinset, pipet tetes, spuit, deck glass, preparat, mikrotom, oven, blade, cassette embedding dan waterbath.

a. Bahan :

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, parafin, alkohol absolut, aquadest, xylol, minyak gandapura, hematoxylin, eosin, entelan dan spesimen jaringan kanker payudara.

3. Cara Kerja

a. Pematangan Jaringan

Tabel 3.2 Tahap Pematangan Jaringan

No	Tahap	Zat	Waktu
1	Fiksasi	Formalin Buffer 10%	24 Jam
2	Dehidrasi	Alkohol 70%	1 Jam
		Alkohol 80%	1 Jam
		Alkohol 96%	1 Jam
		Etanol	2 Jam
		Xylol 1	1 Jam
3	Clearing	Xylol 2	1 Jam
		Paraffin	2 Jam
4	Impregnating – Embedding		

Sumber : (Prosedur Tetap Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung)

b. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

Tabel 3.3 Tahap Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

No	Tahap	Zat	Waktu
1	Defarafinisasi (menghilangkan paraffin)	Xylol 1	15 menit
		Xylol 2	15 menit
		@Gandapura 1	15 menit
		@Gandapura 2	15 menit
		Alkohol 96%	10x celupan
2	Dehidrasi (memasukan air)	Alkohol 80%	10x celupan
		Alkohol 70%	10x celupan
		Aquades	10x celupan
		Hematoxylin	15 menit
3	Pewarnaan hematoxylin		
4	Pencucian	Air Mengalir	
5	Blueing (proses memperjelas warna biru pada inti sel)	Lithium Carbonat	5 celup
6	Pencucian	Air Mengalir	
6	Pewarnaan eosin	Eosin	3 menit
7	Dehidrasi (menghilangkan air)	Alkohol 70%	3 menit
		Alkohol 80%	3 menit
		Alkohol 96%	3 menit
		Xylol 1	3 menit
8	Clearing (Penjernihan)	Xylol 2	3 menit
		@Gandapura 1	3 menit
		@Gandapura 2	3 menit

- 9 Mounting (proses penutupan) jaringan Entelan  
diantara *cover glass* dengan *objek glass*  
oleh entelan)

Sumber : (Prosedur Tetap Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung)

#### 4. Interpretasi Hasil

Hasil pewarnaan preparat kanker payudara dinilai oleh dokter spesialis patologi anatomi berdasarkan dengan nilai *skoring*.

Tabel 3.4 Kriteria Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoxylin Eosin

No	Struktur	Deskripsi	Skala Nominal
1	Inti sel	Inti sel tidak jelas	1
		Inti sel jelas	2
2	Sitoplasma	Sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas	1
		Sitoplasma dan jaringan ikat jelas	2
3	Intensitas Pewarnaan	Intensitas ringan menyerap warna kurang	1
		Intensitas kuat menyerap warna baik	2
4	Kontras pewarnaan	Kontras pewarnaan tidak baik	1
		Kontras pewarnaan baik	2

Sumber : (Sravya dkk., 2018) dengan dimodifikasi BPMPPPI

Tabel 3.5 skoring Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

No	Deskripsi	Nilai
1	Tidak Baik	1-5
2	Baik	6-8

Sumber : (Sravya dkk., 2018) dengan modifikasi BPMPPPI

## F. Pengolahan Data

### 1. Pengolahan Data

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

- a. *Coding* yaitu pemberian kode untuk memudahkan pengentrian data Ketika dimasukkan ke komputer (data entry)
- b. *Entry Data* yaitu memasukkan data-data yang sudah terkumpul ke dalam aplikasi atau program komputer, program SPSS V.25 for Windows
- c. *Skoring* yaitu pemberian skor terhadap variabel yang diperiksa agar mendapatkan nilai yang signifikan.

### **G. Analisa Data**

Pada penelitian ini, data skoring yang diperoleh dari hasil penilaian ahli Patologi Anatomi ditotal, dihitung rerata skoring. Nilai skor tidak baik 1-5 dan baik 6-8 (Sravya dkk., 2018) dengan modifikasi. Untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas hasil sediaan perwarnaan hematoxylin-eosin sediaan histopatologi kanker payudara antara kelompok minyak gandapura dan kelompok xylol data dianalisis menggunakan uji statistik *Wilcoxon* ( $p>0,05$ ).

### **H. Persetujuan Etik (No.082/KEPK-TJK/II/09 Februari 2023)**

Penelitian yang dilakukan atas izin komisi etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, manusia sebagai subjek dengan menggunakan spesimen jaringan kanker payudara sebagai sampel yang akan diperiksa. Kerahasiaan identitas sampel, peneliti tidak mencantumkan nama pada sampel penelitian ini, hanya ditulis dengan kode dan nomor tertentu. Penelitian ini menggunakan standar prosedur yang berlaku.