

BAB III

METODE PENELITIAN

1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen. Menggunakan penentuan jumlah sample berdasarkan rumus Federer (1963). Terdapat dua Variabel yaitu Variabel bebas larutan jeruk purut dan variable terikat berupa kualitas sediaan histopatologi ginjal mencit. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kualitas sediaan histopatologi yang dideparafinisasi dengan Jeruk Purut. Penilaian dilakukan secara ordinal menggunakan skoring pewarnaan Hematoxylin eosin.

2. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Balai Veteriner Lampung di Kota Bandar Lampung

2. Waktu

Penelitian Dilaksanakan April-Mei 2024

3. Populasi dan Sampel.

Populasi sampel dalam penelitian ini adalah spesimen ginjal mencit di Balai Veteriner Lampung. Sampel dalam penelitian ini merupakan bagian dari populasi yakni, Spesimen jaringan ginjal mencit yang sudah dilakukan fiksasi dan pembuatan blok paraffin. Teknik Pengambilan sampel adalah purposive sampling. Penentuan jumlah sampel dengan berdasarkan rumus Federer (1963). Dengan rumus:

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

t = jumlah perlakuan

n = pengulangan tiap perlakuan.

Perhitungannya yaitu ;

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

$$(n-1) (4-1) \geq 15.$$

$$(n-1) (3) \geq 15.$$

$$3n-3 \geq 15.$$

$$n \geq 18/3$$

$$n \geq 6$$

$$n = 6$$

Maka Didapatkan hasil sebanyak 6 sampel dalam 4 perlakuan. Jadi, total sampel yang dibutuhkan dari total populasi adalah 24 sampel Dengan kriteria inklusi dan eklusi.

1. Kriteria Inklusi

- a. Ginjal Mencit Sehat
- b. Potongan blok 3 mikron
- c. Mencit dengan berat badan 20-30 gram
- d. Tidak ada kerusakan dalam pembuatan blok atau sediaan

2. Kriteria Eklusi

- a. Slide Hilang, Rusak, atau pecah.

4. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1. Variable dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel bebas					
Larutan jeruk purut	Larutan jeruk purut yang dibuat untuk proses deparafinisasi pada pewarnaan hematoxylin eosin	Pengamatan oleh dokter hewan pada balai veteriner.	Tabung, Pipet ukur, gelas ukur.	1%, 2%, dan 3%	Nominal
Variabel terikat					
kualitas sediaan histopatologi ginjal mencit	Pemenuhan Persyaratan kualitas pewarnaan histopatologi meliputi	Metode skoring (Sravya <i>et al.</i> , 2018)	Mikroskop dan lembar observasi	Tidak baik 1 Baik 2	Nominal
1. Inti sel	Hasil pewarnaan Hematoxylin eosin pada inti sel yaitu biru.	Metode skoring (Sravya <i>et al.</i> , 2018)	Mikroskop dan lembar observasi	Tidak baik 1 Baik 2	Nominal
2. Sitoplasma	Hasil pewarnaan Hematoxylin eosin pada sitoplasma yaitu merah muda.	Metode skoring (Sravya <i>et al.</i> , 2018)	Mikroskop dan lembar observasi	Tidak baik 1 Baik 2	Nominal
3. Intensitas Pewarnaan	Intensitas pewarnaan menggambarkan seberapa kuat atau lemah pewarnaan yang diperoleh pada struktur atau komponen sel tertentu. Intensitas pewarnaan yang optimal penting untuk memastikan hasil pewarnaan yang jelas dan akurat.	Metode skoring (Sravya <i>et al.</i> , 2018)	Mikroskop dan lembar observasi	Tidak baik 1 Baik 2	Nominal
4. Kontras Pewarnaan	Kontras pewarnaan merujuk pada perbedaan atau perbandingan yang jelas antara elemen-elemen yang berbeda dalam sampel yang diwarnai. Kontras yang jelas membantu dalam pemisahan visual struktur inti sel dan sitoplasma.	Metode skoring (Sravya <i>et al.</i> , 2018)	Mikroskop dan lembar observasi	Tidak baik 1 Baik 2	Nominal

5. Teknik pengumpulan data

1. Persiapan Penelitian

- a. Melakukan penulisan Pustaka untuk memperoleh perspektif ilmiah dari berbagai penelitian
- b. Pra survey pada lokasi penelitian yaitu Balai Veteriner Lampung
- c. Pengajuan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjung Karang untuk diteruskan pada Balai Veteriner Lampung.
- d. Setelah izin dikeluarkan, dilakukan penelitian di Balai Veteriner Lampung.

2. Prosedur pemeriksaan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah, blender, rak pengecatan, pinset, wadah pewarnaan, pipet tetes, basemold, preparat, mikrotom, blade, cassette, embedding, waterbath, dan desk glass.

b. Bahan

Bahan yang digunallan adalah buffer formalin 10%, alkohol absolut, paraffin, lithium carbonate, aquadest, Xylol, Jeruk purut, Hemaxtoxylin, Eosin, Entelan dan Spesimen Jaringan ginjal mencit.

3. Cara Kerja

a. Pembuatan Ekstrak Jeruk Purut

1) Pembuatan Ekstrak jeruk Purut 1%

Jeruk Purut dihaluskan dengan blender, dan disaring dengan kertas saring kopi, kemudian 1 ml ekstrak jeruk purut ditambahkan kedalam 99 ml aquadest.

2) Pembuatan Ekstrak jeruk Purut 2%

Jeruk Purut dihaluskan dengan blender, dan disaring dengan kertas saring kopi. Kemudian 2 ml ekstrak jeruk purut ditambahkan kedalam 98 ml aquadest.

3) Pembuatan Ekstrak jeruk Purut 3%

Jeruk Purut dihaluskan dengan blender, dan disaring dengan kertas saring kopi, kemudian 3 ml ekstrak jeruk purut ditambahkan kedalam 97 ml aquadest.

b. Processing Jaringan

Tabel 3.2. Tahap Pematangan Jaringan

No	Tahap	Zat	Waktu
1	Fiksasi	Formalin Buffer 10%	2 jam
2	Dehidrasi	Formalin Buffer 10%	2 jam
		Alkohol 80%	2 jam
		Alkohol 95%	2 jam
		Alkohol Absolut	2 jam
3	Clearing	Alkohol Absolut	3 jam
		Xylol	3 jam
		Xylol	3 jam
4	Impregnasi	Parafin	2 jam
		Parafin	2 jam

Sumber : Balai Veteriner kota Bandar Lampung.

c. Pewarnaan Jaringan

1) Tahap pewarnaan Kontrol

Tabel 3.3. Tahap Pewarnaan kontrol

No	Reagensia	Waktu
1	Xylol I	5 menit
2	Xylol II	5 Menit
3	Xylol III	5 Menit
4	Alkohol Absolut I	5 Menit
5	Alkohol Absolut II	5 Menit
6	Alkohol 95%	5 Menit
7	Alkohol 95%	5 Menit
8	Alkohol 90%	5 Menit
9	Alkohol 90%	5 Menit
10	Aquades	1 Menit
11	Harris- Haemotoxylin	5 Menit
12	Aquades	15 Menit
13	Eosin	2 Menit
14	Alkohol 90%	3 Menit
15	Alkohol 90%	3 Menit
16	Alkohol 95%	3 Menit
17	Alkohol 95%	3 Menit
18	Alkohol Absolut	3 Menit
19	Alkohol Absolut	3 Menit
20	Xylol IV	5 Menit
21	Xylol V	5 Menit
22	Dimounting dengan Entellan	

Sumber : Balai Veteriner kota Bandar Lampung.

2) Tahap pewarnaan Ekstrak jeruk purut

Tabel 3.4. Tahap Pewarnaan dengan larutan jeruk purut

No	Reagensia	Waktu
1	Larutan jeruk purut 1% , 2%, dan 3% I	5 menit
2	Larutan jeruk purut 1% , 2%, dan 3% II	5 Menit
3	Larutan jeruk purut 1% , 2%, dan 3% III	5 Menit
4	Alkohol Absolut I	5 Menit
5	Alkohol Absolut II	5 Menit
6	Alkohol 95%	5 Menit
7	Alkohol 95%	5 Menit
8	Alkohol 90%	5 Menit
9	Alkohol 90%	5 Menit
10	Aquades	1 Menit
11	Harris- Haemotoxylin	5 Menit
12	Aquades	15 Menit
13	Eosin	2 Menit
14	Alkohol 90%	3 Menit
15	Alkohol 90%	3 Menit
16	Alkohol 95%	3 Menit
17	Alkohol 95%	3 Menit
18	Alkohol Absolut	3 Menit
19	Alkohol Absolut	3 Menit
20	Xylol I	5 Menit
21	Xylol II	5 Menit
22	Dimounting dengan entellan	

4. Interpretasi Hasil

Hasil Pewarnaan preparate histologi jaringan ginjal mencit nantinya akan dinilai oleh dokter spesialis patologi anatomi berdasarkan dengan penilaian skoring.

Tabel 3.5. Kriteria Skoring

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 baik	1
		Intensitas kuat menyerap warna baik	2
4	Kontras Pewarnaan	Kontras Pewarnaan tidak baik	1
		Kontras Pewarnaan Baik	2

Sumber : (Srvaya *et al.*, 2018) yang dimodifikasi BPMPPPI

Tabel 3.6. Skoring penilaian Kualitas Pewarnaan Hemaxtoxylin-Eosin

No	Deskripsi	Nilai
1	Tidak Baik	4-5
2	Baik	6-8

Sumber : (Srvaya *et al.*, 2018) yang dimodifikasi BPMPPPI

6. Pengolahan, dan Analisis 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 computer
- b. Entry data yaitu memasukan data data yang sudah tekumpul ke aplikasi SPSS

2. Analisis Data

Data Skoring diperoleh dari hasil penilaian ahli patologi anatomi ditotal dihitung rerata skoring. Untuk mengetahui adanya perbedaan hasil kualitas sediaan pewarnaan dan kualitas sediaan histopatologi ginjal mencit antara satu kelompok dengan kelompok lainnya maka data dianalisis menggunakan uji statistic *Kruskal Wallis Test*.

7. Ethical Clearance (Kaji Etik)

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* dari komisi Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang. No. 380/KEPK-TJK/IV/2024 Pada Tanggal 05 April 2024. Limbah Jaringan dan Reagen dari hasil sisa proses penelitian akan diproses sesuai dengan SOP yang berlaku di Balai Veteriner Lampung.