

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan ialah eksperimen. Penelitian ini bertujuan yakni menganalisis perbedaan kualitas preparat sitologi jaringan kanker payudara menggunakan fiksasi dengan aktivitas pemanasan pada suhu 65°C dengan perbandingan waktu 30 menit, 1 jam, 1,5 jam dan 2 jam dan tidak menggunakan pemanasan, pemanasan pada tahap pematangan jaringan yang diberikan perlakuan satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel kanker payudara diamati dengan dua perlakuan yaitu menggunakan proses pemanasan dengan suhu 65°C dengan perbandingan waktu 30 menit, 1 jam, 1,5 jam dan 2 jam dan tidak menggunakan pemanasan. Adanya perbedaan dalam kualitas sediaan preparat yang didapat, maka akan dilakukan uji *T-Test* ($p \text{ value} > 0,05$).

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2023.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nafri Kota Bandar Lampung

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah jaringan kanker payudara yang masuk ke Instalasi Patologi Anatomi Klinik Nafri Kota Bandar Lampung, pada bulan Januari sampai April 2023.

2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini sebanyak 25 yang menggunakan jaringan kanker payudara yang di berikan perlakuan dengan cara pemanasan dengan suhu 65°C dengan waktu perbandingan 30 menit, 1 jam, 1,5 jam dan 2 jam dan tidak menggunakan pemanasan (20-25°C suhu kamar).

Total sampel yang dilakukan penelitian dihitung menggunakan rumus Federer, sebagai berikut:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

D. Variabel dan Definisi Oprasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Oprasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
Fiksasi tanpa pemanasan (20-25°C suhu kamar) jaringan kanker payudara	Proses fiksasi dilakukan dengan menggunakan suhu kamar dan preparat jaringan kanker payudara dilakukan pengecatan dengan Hematoxylin-Eosin	Ovservasi	BMPPI yang di modifikasi sravya.	Tidak baik 1-5 Baik 6-10	Ordinal
Pemanasan dengan suhu 65°C pada proses fiksasi jaringan kanker payudara	Proses fiksasi dilakukan dengan proses pemanasan preparat jaringan kanker payudara dilakukan pengecatan dengan Hematoxylin-Eosin	Ovservasi	BMPPI yang di modifikasi sravya	Tidak baik 1-5 Baik 6-10	Ordinal
Variabel Terikat					
Kualitas hasil pewarnaan HE (intensas membran plasma, intensitas warna sitoplasma , intensitas kromatin)	Proses pembuatan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara	Pembuatan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara	BMPPI yang di modifikasi sravya	Tidak baik 1-5 Baik 6-10	Ordinal

Sumber : BMPPI, 2020 yang di modifikasi Sravya dkk, 2018

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Persiapan Penelitian

- a. Mencari sumber pustaka untuk memperoleh data ilmiah penelitian
- b. Melakukan Prasurey pada lokasi penelitian yaitu di Laboratorium Patologi Nadafri Bandar Lampung
- c. Pengajuan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjung Karang untuk diteruskan kepada Laboratorium Patologi Nadafri Bandar Lampung
- d. Setelah mendapatkan surat izin dari Laboratorium Patologi Nadafri Bandar Lampung, kemudian melakukan penelitian di Laboratorium Patologi Nadafri Bandar Lampung.

2. Prosedur Pemeriksaan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Rak pengecatan, pinset, wadah pewarnaan, pipet tetes/spuit, deck glass.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Buffer formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol absolut, aquadest, xylol, hematoxylin, eosin, entelan dan specimen jaringan kanker payudara.

3. Cara Kerja

a. Pematangan Jaringan

Tabel 3.2 Pematangan Jaringan

NO	Tahap	Zat	Waktu
1	Fiksasi	Formalin buffer 10% Formalin buffer 10% (diapanskan dengan suhu 65°C)	Overnight 2 jam, 1,5 jam dan 1 jam
2	Dehidrasi	Alkohol 70% Alkohol 80%	3 Jam
		Alkohol 95% Etanol	2 Jam
3	Clearing	Xylol 1 Xylol 2	2 Jam
4	Impregnating – Embedding	Paraffin (3x)	25 Menit

Sumber :Khristian, 2017 yang dimodifikasi

b. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

Tabel 3.3 Pewarnaan Hematoxylin Eosin

NO	Tahap	Zat	Waktu
1	Defarafinisasi (menghilangkan paraffin)	Xylol(2x)	30 menit
2	Dehidrasi (memasukan air)	Alkohol dengan penurunan Etanol Absolut -Alkohol 95% - Alkohol 70% - Aquades	5 menit 5 menit 5 menit 30 menit
3	Pewarnaan hematoxylin Baru	Hematoxylin Mayer	45 menit
4	Pencucian	Air Mengalir	5 menit
5	Diferensiasi (dekolorisasi sitoplasma)	Asam alcohool 1% (1% HCl dalam 70%) Alkohol dalam waktu 5-10 detik	3 celup
6	Pencucian	Air mengalir	1 menit
7	Blueing (proses memperjelas warna biru pada inti sel) diikuti dengan pencucian dengan air mengalir	Lithium Carbonat	3 celup
8	Pewarnaan eosin	Eosin 1% dalam waktu 10 menit	3-5 menit
9	Dehidrasi (menghilangkan air)	Alkohol dengan kenaikan konsentrasi (70% - Absolut) Alkohol 70% - Alkohol 80% - Alkool 95% - Etanol Absolut - Etanol Absolut	1-3 menit
10	Clearing	Xylol (2x)	3 menit
11	Mounting (proses penutupan) jaringan diantara <i>cover glass</i> dengan <i>objek glass</i> oleh entelan)	Entelan	

Sumber :Khristian, 2017 yang dimodifikasi

4. Interpretasi Kualitas Hasil Sediaan Histopatologi

Kualitas sediaan histopatologi dinilai oleh dokter spesialis patologi anatomi independen, yang tidak mengetahui kelompok prosesing jaringan tersebut.

Dengan mengikuti skoring yang digunakan oleh Sravya et al, 2013 yaitu :

- Pewarnaan inti sel (adekuat = skor 1, tidak adekuat = 0)
- Pewarnaan sitoplasma (adekuat = skor 1, tidak adekuat = 0)
- Creaking/sediaan Pecah (adekuat = skor 1, tidak adekuat = 0)
- Penyusutan jaringan (tidak penyusutan jaringan = adekuat = skor 1, terjadi penyusutan jaringan = tidak adekuat = 0)
- Sediaan jaringan tidak pecah (sediaan tidak pecah = adekuat = skor 1, sediaan pecah = tidak adekuat = 0)

F. 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 (data entry)
- b. *Entry Data* yaitu memasukkan data-data yang sudah terkumpul kedalam aplikasi/program komputer, misalnya program SPSS for Windows.

G. Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang diperoleh dari hasil pematangan dan pewarnaan dengan cara fiksasi menggunakan pemanasan dengan suhu dan waktu tertentu adalah Data *scoring* diperoleh dari hasil penilaian ahli Patologi Anatomi ditotal, dihitung rerata skoring. Untuk mengetahui adanya perbedaan hasil kualitas sediaan pewarnaan dan kualitas sediaan histopatologi kanker payudara antara satu kelompok dengan kelompok lainnya maka data dianalisis menggunakan uji statistic *Kruskal Wallis Test*

H. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)

Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Poltekkes Tanjungkarang dengan No.088/KEPK-TJK/II/2023 pada tanggal 9 Februari 2023.