

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui suatu gejala yang timbul sebagai akibat perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel cairan pleura diamati dengan dua perlakuan yaitu pewarnaan sesuai waktu SOP (60 detik) dan variasi waktu pewarnaan 40 detik, 30 detik, dan 20 detik yang dilakukan dengan pewarnaan *Diff-Quick*. Sumber kesalahan dalam penelitian ini adalah penggunaan reagen pewarnaan yang lama dan yang dipakai secara berulang pada pemeriksaan sitologi lainnya. Adanya perbedaan kualitas sediaan pada pewarnaan sesuai waktu SOP (60 detik) dengan variasi waktu pewarnaan 40 detik, 30 detik, dan 20 detik dengan metode *Diff-Quick*, maka dilakukan uji analisa data statistik menggunakan *Kruskal Wallis Test* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

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

2. Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-April 2023.

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.

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

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

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

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

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Minimal sampel yang digunakan yaitu 6 sampel, pada penelitian ini digunakan 9 sampel pada setiap perlakuan dengan total 36 sediaan.

Sampel penelitian adalah total sampel cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut:

- a. Kriteria inklusi
 1. Volume cairan minimal 20cc.
 2. Cairan agak keruh (dapat membentuk endapan ketika disentrifuse).
- b. Kriteria eksklusi
 1. Cairan kemerahan yang mengandung banyak darah.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel bebas					
Waktu pewarnaan	Preparat cairan pleura yang dibuat dengan cara apusan pada kaca objek dengan pewarnaan <i>Diff-Quick</i> menggunakan waktu 60 detik (sesuai SOP), 40 detik, 30 detik, dan 20 detik (variasi waktu)	Observasi	Thakur & Guttikonda 2017 yang dimodifikasi	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
Variabel Terikat					
Kualitas sediaan sitologi	Pemenuhan persyaratan kualitas pewarnaan sitologi meliputi latar belakang, morfologi sel, karakteristik inti sel, dan hasil akhir pewarnaan secara keseluruhan	Observasi	Thakur & Guttikonda 2017 yang dimodifikasi	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

Sentrifuse, Tabung reaksi sentrifuse, rak pengecatan, pinset, wadah pewarnaan, spuit 25 cc, kaca objek, cover glass, pipet.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Sampel cairan pleura, cat *Diff-Quick*.

3. Cara Kerja Prosesing Preparat

- a. Persiapan sampel sitologi apusan:

- 1) Bahan cairan pleura yang diambil dilakukan sentrifuge selama 10 menit sehingga tampak endapan dengan cairan yang jernih
- 2) Kemudian supernatant dari cairan pleura secara hati hati dibuang
- 3) Endapannya dipisahkan dengan menggunakan pipet
- 4) Buat apusan dengan menggunakan salah satu kaca objek yang lain

b. Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick*

Tabel 3. 1 Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick*

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (Methanol) lalu ditiriskan	60 detik
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (Eosin) lalu ditiriskan	60 detik
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (Methylen Blue) lalu ditiriskan	60 detik
5.	Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir	
6.	Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (mounting) seukupnya dan tutup dengan cover glass	
7.	Beri identitas pasien pada slide	

Sumber : SOP RSUD Abdul Moeloek (2019)

c. Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu

Tabel 3. 2 Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu 40 detik

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (Methanol) lalu ditiriskan	40 detik
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (Eosin) lalu ditiriskan	40 detik
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (Methylen Blue) lalu ditiriskan	40 detik
5.	Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir	
6.	Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (mounting) seukupnya dan tutup dengan cover glass	
7.	Beri identitas pasien pada slide	

Tabel 3. 3 Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu 30 detik

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (Methanol) lalu ditiriskan	30 detik
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (Eosin) lalu ditiriskan	30 detik
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (Methylen Blue) lalu ditiriskan	30 detik

5. Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir
6. Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (mounting) seukupnya dan tutup dengan cover glass
7. Beri identitas pasien pada slide

Tabel 3. 4 Prosedur Pewarnaan *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu 20 detik

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (Methanol) lalu ditiriskan	20 detik
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (Eosin) lalu ditiriskan	20 detik
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (Methylen Blue) lalu ditiriskan	20 detik
5.	Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir	
6.	Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (mounting) seukupnya dan tutup dengan cover glass	
7.	Beri identitas pasien pada slide	

d. Penilaian Kualitas Sediaan

Tabel 3. 5 Penilaian Kualitas Sediaan Sitologi

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 ampak 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 (Tidak baik)	Intensitas warna padad inti sel kurang/tidak jelas, nucleolus atau kromatin kurang/tidak jelas, membran inti sel tidak jelas	1
	b. Inti Sel Jelas (Baik)	Intensitas warna pada inti sel jelas, nucleolus 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 merata, keseluruhan sediaan terwarnai dengan baik	2

Sumber : Thakur & Guttikonda, 2017 yang dimodifikasi

F. Pengolahan Data

Proses pengolahan data dilakukan dengan 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/program komputer, misalnya program SPSS

G. Analisis Data

Data skoring yang diperoleh dari hasil penilaian ahli Patologi Anatomi ditotal, dihitung rerata skoring. Nilai skor yang diberikan pada 4 parameter yaitu 1-2 dengan total skor dikatakan baik apabila mencapai skor 80%, yaitu 1-6 kategori tidak baik dan 7-8 kategori baik (Thakur & Guttikonda, 2017). Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan pada pewarnaan sesuai waktu SOP (60 detik) dengan variasi waktu pewarnaan 40 detik, 30 detik, dan 20 detik metode *Diff-Quick*, dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis Test* dengan nilai signifikansi $p > 0,05$.

Tabel 3. 6 Hasil Uji Pewarnaan Sesuai SOP Waktu 60 Detik

Metode Pewarnaan	Kualitas Sediaan Apusan Sitologi								
	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Pewarnaan Sesuai SOP Waktu 60 detik	Baik		Tidak Baik		Total				

Tabel 3. 7 Hasil Uji Pewarnaan Variasi Waktu 40 Detik

Pewarnaan Variasi Waktu 40 detik	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
		Baik		Tidak Baik		Total			

Tabel 3. 8 Hasil Uji Pewarnaan Variasi Waktu 30 Detik

Pewarnaan Variasi Waktu 30 detik	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
		Baik		Tidak Baik		Total			

Tabel 3. 9 Hasil Uji Pewarnaan Variasi Waktu 20 Detik

Pewarnaan Variasi Waktu 20 detik	Latar Belakang		Penampilan Morfologi Sel		Karakteristik Inti Sel		Hasil Akhir Pewarnaan		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Baik									
Tidak Baik									
Total									

Tabel 3. 10 Hasil Uji Kualitas Sediaan Apusan dengan Total Skor Baik

Perbandingan Kualitas Sediaan	Waktu Pewarnaan	Kualitas Baik (%)		Karakteristik Inti Sel	Hasil Akhir Pewarnaan	Total
		Latar Belakang	Penampilan Morfologi Sel			
	60 Detik					
	40 Detik					
	30 Detik					
	20 Detik					

H. *Ethical Clearance* (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Poltekkes Tanjungkarang.

Limbah cairan pleura dari hasil sisa proses penelitian selama di Laboratorium Instalasi Patologi Anatomi RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, dilakukan sesuai SOP Instalasi Pengolahan Air Limbah RSAM. Cara penanganan limbah cair yang tepat akan menghindari tercemarnya lingkungan sekitarnya.