

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 konsentrasi alkohol pada tahap fiksasi sesuai SOP (alkohol 96%) dan variasi konsentrasi alkohol 90% dan alkohol 80% yang dilakukan dengan pewarnaan *Papanicolaou*. Adanya perbedaan kualitas sediaan pada konsentrasi alkohol tahap fiksasi sesuai waktu SOP (alkohol 96%) dengan variasi konsentrasi alkohol 90% dan alkohol 80% yang dilakukan dengan pewarnaan *Papanicolaou*, maka dilakukan uji analisa data statistik menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis Test* dengan tingkat *signifikansi* $p > 0.05$.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2024.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh cairan efusi pleura yang masuk ke Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung pada bulan Desember 2023 sampai dengan Februari 2024.

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

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

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

$$n-1 \geq 7,5$$

$$n \geq 8,5 \text{ (digenapkan 9)}$$

Keterangan :

t : jumlah perlakuan

n : jumlah sampel

Minimal sampel yang digunakan adalah 9 sampel untuk setiap perlakuan, dengan jumlah sediaan sebanyak 27 sediaan.

Sampel penelitian adalah total sampel cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

a. Kriteria inklusi

1. Volume cairan minimal 20cc.
2. Cairan agak keruh (dapat membentuk endapan ketika disentrifuge).

b. Kriteria eksklusi

1. Cairan kemerahan yang mengandung banyak darah.
2. Cairan keruh yang mengandung banyak nanah.
3. Cairan yang terlalu kental.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
Alkohol	Alkohol sebagai larutan fiksasi dengan konsentrasi sesuai SOP alkohol 96% dengan variasi konsentrasi Alkohol 90% dan Alkohol 80%.	Pengenceran	- MSDS - Gelas Ukur - Alkohol Meter	1. Alkohol 96% 2. Alkohol 90% 3. Alkohol 80%	Nominal
Variabel Terikat					
Kualitas sediaan sitologi	Kualitas pewarnaan sitologi cairan pleura yang dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi.	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
1. Pewarnaan inti sel	Hasil pewarnaan pada inti sel jelas.	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
2. Pewarnaan Sitoplasma	Hasil pewarnaan pada sitoplasma cerah.	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
3. Latar Belakang sediaan	Latar belakang transparan/bersih, tidak terlihat perdarahan, tidak tampak artefak	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
4. Kerataan Pewarnaan	Pewarnaan sediaan merata.	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal
5. Hasil Akhir pewarnaan	Intensitas pewarnaan keseluruhan baik.	Pengamatan Mikroskop	Sravya, 2018	1. Tidak baik 2. Baik	Nominal

Keterangan :

- MSDS (*Material Safety Data Sheet*)

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Persiapan Penelitian

- a. Melakukan pra survey pada lokasi penelitian yaitu di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.
- b. Pengajuan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang untuk selanjutnya diteruskan ke Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.
- c. Menerima surat izin penelitian dari pihak Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung untuk melakukan penelitian dengan melakukan variasi konsentrasi alkohol tahap fiksasi metode pewarnaan *Papanicolaou* pada cairan efusi pleura.

2. Prosedur Pemeriksaan

a. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

Pinset, sentrifuge, tabung reaksi sentrifuge, rak pengecatan, wadah pewarnaan, spuit, kaca objek, *cover glass*, pipet.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Alkohol 96%, alkohol 90%, alkohol 80%, alkohol 70%, *aquadest*, *harris-hematoksin*, *orange-G*, *xylol*, entelan, spesimen cairan efusi pleura.

3. Cara Kerja

a. Persiapan sampel sitologi apusan:

- 1) Cairan pleura disentrifugasi selama 10 menit hingga tampak endapan cairan yang jernih
- 2) Supernatan cairan pleura kemudian dikeluarkan dengan hati-hati
- 3) Endapan dipisahkan dengan cara dipipet
- 4) Buat apusan dengan menggunakan salah satu kaca objek yang lain

b. Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou*Tabel 3.2 Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou*

No	Kegiatan	Waktu
1.	Sampel slide difiksasi dengan alkohol 96%	30 menit
1.	Setelah difiksasi angkat dan dimulai pewarnaan	
2.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
3.	Direndam dalam aquadest	1 menit
4.	Dimasukkan ke dalam <i>Harris-Hematoksilin</i>	7-10 menit
5.	Direndam/bilas dengan air mengalir	1 menit
6.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
7.	Dimasukkan ke dalam <i>Orange-G</i> (OG 6)	3 menit
8.	Dimasukkan kedalam alkohol 70%	1 menit
9.	Dimasukkan kedalam Eosin Alkohol 70% (EA-50)	3 menit
10.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
11.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
12.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
13.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
14.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
15.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
16.	Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (mounting) secukupnya dan ditutup dengan cover glass	
17.	Slide siap dibaca oleh dokter spesialis patologi anatomi	

(Sumber: SOP Klinik Morotai Patologi, 2019)

c. Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou* dengan variasi konsentrasi alkohol pada tahap fiksasi.Tabel 3.3 Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou* dengan Variasi konsentrasi Alkohol 90%

No	Kegiatan	Waktu
1.	Sampel slide difiksasi dengan alkohol 90%	30 menit
2.	Setelah difiksasi angkat dan dimulai pewarnaan	
3.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
4.	Direndam dalam aquadest	1 menit
5.	Dimasukkan ke dalam <i>Harris-Hematoksilin</i>	7-10 menit
6.	Direndam/bilas dengan air mengalir	1 menit
7.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
8.	Dimasukkan ke dalam <i>Orange-G</i> (OG 6)	3 menit
9.	Dimasukkan kedalam alkohol 70%	1 menit
10.	Dimasukkan kedalam Eosin Alkohol 70% (EA-50)	3 menit
11.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
12.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
13.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
14.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
15.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
16.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
17.	Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (mounting) secukupnya dan ditutup dengan cover glass	
18.	Slide siap dibaca oleh dokter spesialis patologi anatomi	

Tabel 3.4 Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou* dengan Variasi konsentrasi Alkohol 80%

No	Kegiatan	Waktu
1.	Sampel slide difiksasi dengan alkohol 80%	30 menit
2.	Setelah difiksasi angkat dan dimulai pewarnaan	
3.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
4.	Direndam dalam aquadest	1 menit
5.	Dimasukkan ke dalam <i>Harris-Hematoksilin</i>	7-10 menit
6.	Direndam/bilas dengan air mengalir	1 menit
7.	Dimasukkan ke dalam alkohol 70%	1 menit
8.	Dimasukkan ke dalam <i>Orange-G</i> (OG 6)	3 menit
9.	Dimasukkan kedalam alkohol 70%	1 menit
10.	Dimasukkan kedalam Eosin Alkohol 70% (EA-50)	3 menit
11.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
12.	Dimasukkan ke dalam alkohol 96%	1 menit
13.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
14.	Dimasukkan ke dalam alkohol absolut	1 menit
15.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
16.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylo</i> II	5 menit
17.	Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (mounting) secukupnya dan ditutup dengan cover glass	
18.	Slide siap dibaca oleh dokter spesialis patologi anatomi	

4. Penilaian Kualitas Sediaan

Tabel 3.5 Penilaian Kualitas Sediaan

No	Parameter Penilaian	Deskripsi	Skor
1.	Pewarnaan Inti Sel		
	a. Tidak Baik	Intensitas warna sitoplasma tidak jelas	1
	b. Baik	Intensitas warna sitoplasma sangat jelas	2
2.	Pewarnaan Sitoplasma		
	a. Inti sel tidak jelas	Intensitas warna pada inti sel kurang/tidak jelas	1
	b. Inti sel jelas	Intensitas warna pada inti sel jelas	2
3.	Latar Belakang Sediaan		
	a. Tidak Baik	Latar belakang terlihat tampak artefak	1
	b. Baik	Latar belakang transparan/bersih, tidak terlihat perdarahan, tidak tampak artefak	2
4.	Kerataan Pewarnaan		
	a. Tidak baik	Hasil pewarnaan tidak merata	1
	b. Baik	Hasil pewarnaan merata dan terwarnai dengan baik.	2
5.	Hasil Akhir Pewarnaan		
	a. Tidak baik	Intensitas pewarnaan keseluruhan tidak baik, ada bagian yang tidak terwarnai	1
	b. Baik	Intensitas pewarnaan keseluruhan baik	2

Sumber: (Sravya, 2018) yang dimodifikasi dengan (Thakur,2017)

Interpretasi hasil penilaian kualitas sediaan:

Hasil pewarnaan dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi, Menurut Thakur (2017), Nilai yang diberikan yaitu 1-2 untuk setiap parameter yang diperiksa dengan skor keseluruhan dianggap baik apabila mencapai 80%. Penilaian dikatakan tidak baik apabila skor yang didapat

yaitu 5-7, dan dikatakan baik apabila skor yang didapat yaitu 8-10 dari 5 parameter, kemudian hasil penilaian dimasukkan ke dalam tabel observasi.

F. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan dengan pengumpulan data berdasarkan hasil observasi melalui langkah-langkah sebagai berikut:

- a. *Coding* yaitu memberikan kode untuk memudahkan pengentrian data ketika dimasukkan ke komputer
- b. *Entry Data* yaitu memasukkan data yang sudah terkumpul ke dalam program SPSS
- c. *Tabulating* setelah data dientry hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk distribusi frekuensi berupa tabel.

G. Analisis Data

Hasil penilaian yang dilakukan oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi kemudian, ditotal dan dihitung rata-rata skoring. Nilai yang diberikan adalah 1-2 pada setiap parameter yang diuji dengan skor keseluruhan dianggap baik apabila mencapai 80%, yaitu 5-7 kategori tidak baik dan 8-10 kategori baik (Sravya, 2018). Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan pada variasi konsentrasi alkohol tahap fiksasi pewarnaan *Papanicolaou*, dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis Test* pada tingkat signifikansi $p > 0.05$.

H. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang yang disetujui pada tanggal 10 Januari 2024 dengan No.004/KEPK-TJK/I/2024. Limbah cairan efusi pleura dari hasil sisa proses penelitian selama di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung, dilakukan sesuai SPO Instalasi Pengolahan Air Limbah guna menghindari tercemarnya lingkungan sekitar.