

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui adanya perbedaan yang timbul akibat perlakuan yang diberikan pada satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel cairan pleura diamati dengan dua perlakuan pewarnaan yaitu menggunakan variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik yang dilakukan menggunakan pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick*. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu waktu baku dan variasi waktu pada pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick*, sedangkan variabel terikat pada penelitian ini yaitu kualitas sediaan berdasarkan latar belakang sediaan, morfologi sel, inti sel dan hasil akhir pewarnaan. Sumber kesalahan dalam penelitian ini adalah proses pewarnaan yang menggunakan reagen lama dan dipakai secara berulang pada pemeriksaan sitologi lainnya. Adanya perbedaan kualitas sediaan yang menggunakan variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik yang dilakukan menggunakan pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick*, maka dilakukan uji analisa data statistik menggunakan *Kruskal Wallis Test* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2024.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.

C. Populasi dan Sampel

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

Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

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

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

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

$$n \geq 8,5$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah sampel

Minimal sampel yang digunakan yaitu 9 sampel, pada penelitian ini dilakukan 3 perlakuan dengan masing masing perlakuan menggunakan 9 sampel sehingga total keseluruhan sediaan yaitu 27 sediaan.

Sampel penelitian adalah total sampel cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi, diantaranya :

a. Kriteria inklusi

1. Volume cairan minimal 20cc.

2. Cairan agak keruh (dapat membentuk endapan ketika dicentrifuge).

b. Kriteria eksklusi

Cairan kemerahan yang mengandung banyak darah.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel bebas Varisi Waktu pewarnaan	Preparat cairan pleura yang dibuat dengan cara apusan pada kaca objek dengan pewarnaan <i>Methylen Blue</i> pada metode <i>Diff-Quick</i> menggunakan variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik	Mikroskop dan observasi	Stopwatch	- 70 detik - 60 detik - 50 detik	Ordinal
Variabel Terikat Kualitas sediaan sitologi	Kualitas pewarnaan sitologi cairan pleura dengan pewarnaan <i>Methylen Blue</i> pada metode <i>Diff-Quick</i> yang dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi.	Mikroskop dan observasi	Thakur (2017)	1.Tidak baik 2. Baik	Nominal

1. Latar Belakang	Keadaan latar belakang bersih/jernih tidak adanya artefak setelah dilakukannya pewarnaan.	Mikroskop dan observasi	Thakur (2017)	1.Tidak baik 2. Baik	Nominal
2. Penampilan Morfologi Sel	Keadaan morfologi sel pada sediaan yang telah diwarnai untuk menyerap zat warna pada pewarnaan <i>Methylen Blue</i> metode <i>Diff-Quick</i>	Mikroskop dan observasi	Thakur (2017)	1.Tidak baik 2. Baik	Nominal
3. Karakteristik Inti Sel	Keadaan bentuk inti sel pada sediaan yang telah diwarnai untuk menyerap zat warna pada pewarnaan <i>Methylen Blue</i> metode <i>Diff-Quick</i>	Mikroskop dan observasi	Thakur (2017)	1.Tidak baik 2. Baik	Nominal
4. Hasil Akhir Pewarnaan	Keadaan hasil Akhir pewarnaan sediaan yang telah diwarnai tampak pewarnaan menyebar secara merata dan setiap sel terwarnai dengan baik	Mikroskop dan observasi	Thakur (2017)	1.Tidak baik 2. Baik	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

centrifuge, Tabung reaksi centrifuge, rak pewarnaan, 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* yang baru.

3. Cara Kerja Prosesing Preparat

a. Persiapan sampel sitologi apusan:

- 1) Bahan cairan pleura yang diambil dilakukan centrifuge 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 *Methylen Blue* Metode *Diff-Quick* dengan Waktu Baku.

Tabel 3.2 Prosedur Pewarnaan *Methylen Blue* Metode *Diff-Quick* dengan Waktu Baku 60 Detik

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

Sumber : Klinik Morotai Patologi

c. Prosedur Pewarnaan *Methylen Blue* Metode *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu.

Tabel 3.3 Prosedur Pewarnaan *Methylen Blue* Metode *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu 50 Detik

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (<i>Metanol</i>) lalu ditiriskan	1 menit
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (<i>Eosin</i>) lalu ditiriskan	1 menit
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (<i>Methylen Blue</i>) lalu ditiriskan	50 detik
5.	Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir	1 menit
6.	Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (<i>mounting</i>) seukupnya dan tutup dengan <i>cover glass</i>	
7.	Beri identitas pasien pada slide	

Tabel 3.4 Prosedur Pewarnaan *Methylen Blue* Metode *Diff-Quick* dengan Variasi Waktu 70 Detik

No.	Keterangan	Waktu
1.	Sampel slide telah difiksasi kering	
2.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 1 (<i>Metanol</i>) lalu ditiriskan	1 menit
3.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 2 (<i>Eosin</i>) lalu ditiriskan	1 menit
4.	Masukkan sampel slide ke dalam reagensia 3 (<i>Methylen Blue</i>) lalu ditiriskan	70 detik
5.	Rendam/bilas sampel slide dengan air mengalir	1 menit
6.	Keringkan sampel slide, tetesi dengan entelan (<i>mounting</i>) seukupnya dan tutup dengan <i>cover glass</i>	
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 padat 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 (2017)

Menurut Thakur (2017), penilaian kualitas pewarnaan sediaan dinilai dari 4 parameter dengan masing-masing diberikan skor 1-2, dikatakan baik apabila mencapai skor total 80%, yaitu 4,0-6,9 kategori tidak baik dan 7,0-8,0 kategori baik.

F. Pengolahan Data

Proses pengolahan data dilakukan dengan data terkumpul berdasarkan hasil pengamatan melalui tahap-tahap sebagai berikut:

- Coding* yaitu pemberian kode untuk memudahkan pengentrian data ketika dimasukkan ke komputer (data entry)
- Entry Data* yaitu memasukkan data-data yang sudah terkumpul ke dalam aplikasi SPSS.

G. Analisis Data

Data skoring yang didapatkan dari total hasil penilaian yang dibaca oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi, yang kemudian dihitung rerata skoring. Nilai skor yang diberikan pada 4 parameter yaitu 1-2 dengan total skor dikatakan baik apabila mencapai skor 80%, yaitu 4,0-6,9 kategori tidak baik

dan 7,0-8,0 kategori baik (Thakur, 2017). Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura menggunakan variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik yang dilakukan menggunakan pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick.*, dianalisis menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis Test* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

H. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan ethical clearance dari Komisi Etik Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, yang disetujui pada tanggal 10 Januari 2024 dengan nomor surat No.003/KEPK-TJK/I/2024

Limbah cairan pleura dari hasil sisa proses penelitian selama di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung, dilakukan sesuai SOP Instalasi Pengolahan Air Limbah Klinik Murotai. Cara penanganan limbah cair yang tepat akan menghindari tercemarnya lingkungan sekitarnya.