

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat observasi, dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan yang terjadi hasil perlakuan terhadap satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel cairan pleura dianalisis melalui preparat apusan yang diberi pewarnaan *Papanicolaou*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan *methanol absolute* untuk proses fiksasi. Kualitas sediaan sitologi dinilai berdasarkan latar belakang sediaan, morfologi sel, karakteristik inti sel, dan hasil akhir pewarnaan. Untuk mengetahui adanya perbedaan kualitas sediaan apusan yang dipengaruhi oleh fiksasi dengan variasi waktu Methanol Absolute, dilakukan uji *Kruskal Wallis Test* dengan tingkat signifikansi ($p \leq 0,05$).

B. Waktu dan lokasi penelitian

1. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025

2. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Klinik Morotai Kota Bandar Lampung.

C. Populasi Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu cairan efusi pleura yang masuk di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung pada bulan Januari sampai Maret 2025.

Pengulangan ini dihitung dengan 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

Dalam penelitian ini, jumlah pengulangan yang diperlukan adalah 9 sampel, sehingga total sediaan mencapai 27. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini

adalah seluruh cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Berikut adalah kriteria inklusi yang dimaksud :

a. Kriteria Inklusi

1. Volume cairan minimal 20cc.
2. Cairan agak keruh yang dapat mengasikkan endapan saat disentrifugasi.

b. Kriteria Eksklusi

1. Cairan yang Hemoragic (mengandung darah)
2. Cairan keruh yang mengandung banyak nanah.
3. Cairan yang terlalu kental.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Oprasional	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	skala
Variabel Bebas Proses Fiksasi menggunakan <i>Methanol Absolute</i>	<i>Methanol Absolute</i> yang digunakan berupa methyl alkoholyang di gunakan untuk fiksasi pada pulasan sitologi pleura dengan pewarnaan Papanicolaou dan berperan sebagai perlakuan	Observasi	MSDS (<i>Material Safety Data sheet</i>)		Nominal
Variabel Terikat Kualitas Sediaan Sitologi Efusi Pleura	Kualitas pewarnaan sitologi pleura dengan pewarnaan <i>Papanicolaou</i> yang dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi	Observasi dan Pengamatan Mikroskop	Thakur 2017 yang sudah di modifikasi dengan BPMPPi	Tidak Baik (4-5) Baik (6-8)	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Pra survey

Pra survey dilakukan di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung untuk memperoleh data dan sampel.

2. Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

Tabung reaksi sentrifus, sentrifus, pinset, rak pewarnaan, *syringe* 25 cc, pipet, *cover glass*, gelas objek, standing jar, dan wadah pewarnaan.

3. Bahan

Bahan yang akan dipakai pada penelitian ini adalah:

Sampel yang dipakai pada penelitian ini meliputi cairan pleura, Aquades, alkohol 96 %, Harris-Hematoxylin, Orange-G, Eosin Alkohol, dan *Methanol Absolute*.

4. Cara Kerja Prosesing Preparat (SOP Klinik Morotai Patologi,2019)

a. Persiapan sampel sitologi apusan

- 1) Siapkan cairan pleura lalu diambil dan dimasukkan ke dalam sentrifus selama 10 menit sehingga tampak endapan cairan jernih.
- 2) Buang supernatan secara hati-hati
- 3) Endapan yang sudah terbentuk dipisahkan ke gelas objek dengan cara dipipet.
- 4) Buat apusan dengan menggunakan 2 objek glass

b) Prosedur pewarnaan *Papanicolaou* pada proses fiksasi dengan menggunakan *Methanol Absolute* 1 menit sesuai dengan SOP klinik morotai yang dimodifikasi

1. Sampel pada slide difiksasi menggunakan *Methanol Absolute* selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit (sesuai SOP)
2. Setelah difiksasi lakukan pewarnaan
 - Slide di masukan ke dalam alkohol 70% selama 1 menit
 - Slide di rendam ke dalam aquades selama 1 menit
 - Slide dimasukan ke dalam Harris-Hemaxtoxylin selama 7-10 menit
 - Setelah itu rendam atau bilas slide dengan air mengalir selama 1 menit
 - Masukan slide ke dalam alkohol 70% selama 1 menit
 - Slide dimasukan ke dalam *Orange-G* (OG 6) selama 3 menit
 - Slide dimasukan ke dalam alkohol 70% selama 1 menit
 - Slide dimasukan ke dalam Eosin Alkohol (EA-50) selama 3 menit
 - Setelah itu slide di rendam dalam alkohol 96% selama 1 menit
 - Rendam slide dengan alkohol 96% selama 1 menit
 - Slide dimasukan lagi di alkohol absolut selama 1 menit
 - Slide di masukan lagi ke dalam alkohol absolute selama 1 menit
 - Slide dimasukan ke dalam *Xylol I* selama 1 menit

- Masukkan slide ke dalam Xylol II selama 5 menit

3. Sampel dikeringkan, dan ditetaskan dengan entelan (*mounting*) secukupnya dan ditutup dengan *cover glass*

c) Penilaian Kualitas Sediaan

Tabel 3. 2 Penilaian Kualitas Sediaan

No.	Parameter Penilain	Deskripsi	Skor
1.	Karakteristin Inti sel		
	a. Inti sel tidak jelas (Tidak Baik)	Warna pada inti sel tampak lemah atau tidak tampak jelas, sehingga nukleus atau kromatin sulit dikenali. Selain itu, membran inti sel juga tidak terlihat dengan jelas	1
	b. Inti sel jelas (Baik)	Intensitas warna pada inti sel kleas nukleus atau kromatin jelas, membran inti sel jelas	2
2.	PenampilanMorfologi Sel		
	a. Tidak Baik	Sitoplasma tidak jelas	1
	b.Baik	Sitoplasma jelas	2
3.	Latar Belakang		
	a.Hemoragic (Tidak Baik)	Latar belakang terlihat pendarahan	1
	b. Clean/Bersih (Baik)	Latar belakang bersih, tidak terlihat pendarahan, tidak tampak artefak	2
4.	Hasil Akhir Pewarnaan		
	a.Tidak Baik	Intensitas pewarna keseluruhan tidak baik, ada bagian yang tidak terwarnai. pewarnaan tidak rata/homogen	1
	b.Baik	Intensitas pewarnann keseluruhan baik, pewarnaan sediaan merata, keseluruhan sediaan terwarnai dengan baik	2

Sumber : (Thakur, 2017) yang di modifikasi dengan BPMPPi

Keempat parameter tersebut masing-masing diberi skor 1-2, skor 1 akan diberikan apabila hasil yang didapatkan tidak baik dan skor 2 akan diberikan apabila didapatkan hasil yang baik. Kualitas sediaan akan dikatakan baik apabila total skor 6-8 dengan persentase minimal 80% dan dikatakan tidak baik apabila total skor yang didapat 4-5 (Thakur, 2017).

F. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan setelah semua informasi terkumpul melalui proses observasi. Tahapan dalam pengolahan data ini meliputi:

1. *Coding*: Melakukan proses pengubahan data dari kalimat atau huruf di ubah menjadi bilangan atau angka.
2. *Data Entry*: Selanjutnya, data yang didapatkan telah dikumpulkan dimasukkan ke dalam aplikasi atau program komputer, seperti SPSS, untuk analisis lebih lanjut.

G. Analisis Data

Hasil penilaian ditentukan oleh kesimpulan akhir yang diberikan oleh dokter spesialis patologi anatomi, di mana nilai rata-rata dihitung dan dijumlahkan. Setiap parameter yang diperiksa diberikan skor antara 1 hingga 2, dan total skor tersebut kemudian diklasifikasikan. Klasifikasinya adalah baik jika mencapai 80%, kurang baik dengan skor 4-5, dan baik dengan skor 6-8 (Thakur, 2017).

Ada perbedaan kualitas sediaan apusan pewarnaan *Papanicolaou*, dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis Test* dengan menggunakan tingkat signifikansi $p \leq 0,05$.

H. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapat izin dan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, yang disetujui pada tanggal 18 Maret 2025 dengan nomor surat No.069/KEPK-TJK/III/2025.

Limbah yang dihasilkan selama penelitian di Klinik Patologi Morotai, Kota Bandar Lampung, dikelola dan dibuang sesuai dengan prosedur operasional standar (SOP) instalasi pengolahan air limbah, guna mencegah pencemaran lingkungan.