

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan dampak dari perlakuan yang diberikan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen. Sampel cairan pleura diamati dengan preparat apusan yang diberi pewarnaan *Papanicolaou*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan *Alkohol 96%* dan *Carnoy*. Variabel terikatnya yaitu kualitas sediaan berdasarkan latar belakang sediaan, pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, dan hasil akhir pewarnaan. Sumber kesalahan dalam penelitian ini ialah kelebihan waktu dalam fiksasi menggunakan larutan Carnoy. Adanya perbedaan kualitas sediaan apusan pada proses *fiksasi* dengan menggunakan *alkohol 96%* dan *carnoy*, maka dilakukan uji statistik *Wilcoxon Signed Rank Test* dengan nilai signifikansi ( $p \leq 0,05$ ).

##### B. Waktu dan Lokasi Penelitian

###### 1. Waktu Penelitian

Februari 2025

###### 2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Klinik Morotai Kota Bandar Lampung

##### C. Populasi Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh cairan efusi pleura yang masuk ke Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung pada bulan Januari-Februari 2025. Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

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

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

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

$$n-1 \geq 15+1$$

$$n \geq 16$$

Keterangan :

t : jumlah perlakuan

n : jumlah sampel

Sampel yang digunakan yaitu 16 sampel, pada penelitian ini digunakan 16 sampel dengan dua perlakuan sehingga total 32 sediaan. Sampel penelitian adalah total sampel cairan efusi pleura yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi

- a. Volume cairan minimal 20cc.
- b. Cairan agak keruh (dapat membentuk endapan ketika disentrifius).
- c. Cairan kemerahan yang mengandung banyak darah.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Cairan keruh yang mengandung banyak nanah.
- b. Cairan yang terlalu kental.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas Proses fiksasi Penggunaan <i>Alkohol 96%</i> dan Carnoy	Pada proses fiksasi metode pewarnaan <i>Papanicolaou</i> menggunakan larutan <i>Alkohol 96%</i> sebagai kontrol dan perlakuan terhadap larutan <i>carnoy</i> .	Observasi	MSDS ( <i>Material Safety Data Sheet</i> )	1. <i>Alkohol 96%</i> 2. <i>carnoy</i>	Nominal
Variabel Terikat Kualitas Sediaan Apusan Sitologi	Kualitas pewarnaan cairan sitologi pleura yang dinilai oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi.	Pengamatan Mikroskop dan Observasi	Shastri 2020 yang telah dimodifikasi BPMPPi	4-5 Tidak Baik 6-8 Baik	Nominal
1. Latar Belakang	Keadaan sediaan hasil pewarnaan yang tampak jernih dan tidak bercampur dengan bahan pengotor.	Pengamatan Mikroskop dan Observasi	Shastri 2020 yang telah dimodifikasi BPMPPi	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal
2. Inti Sel	Inti sel yang bersifat asidofilik akan terwarnai oleh pewarna basa ( <i>Hemotoxylin</i> ) sehingga berwarna biru	Pengamatan Mikroskop dan Observasi	Shastri 2020 yang telah dimodifikasi BPMPPi	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal

3. Sitoplasma	Sitoplasma sel yang bersifat basofilik akan terwarnai oleh pewarna asam ( <i>Eosin</i> ) sehingga berwarna merah.	Pengamatan Mikroskop dan Observasi	Shastri 2020 yang telah dimodifikasi BPMPPPI	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal
4. Hasil Akhir Pewarnaan	Keadaan sediaan hasil pewarnaan Papanicolaou yang tampak sama terhadap kesesuaian bentuk dan warna yang tersebar rata pada setiap komponen sel yang terwarnai.	Pengamatan Mikroskop dan Observasi	Shastri 2020 yang telah dimodifikasi BPMPPPI	1. Tidak Baik 2. Baik	Nominal

---

## E. Teknik Pengumpulan Data

### 1. Pra Survey

Pra survey akan dilakukan di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.

### 2. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

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

### 3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

### 4. Sampel cairan pleura hemoragik, Aquadest, Alkohol (70%, 96%, alkohol absolut), *Haris-Hematoxylin*, *Orange-G*, *Eosin Alkohol*, dan *Carnoy*.

#### a. Cara Kerja Prosesing Preparat

#### b. Persiapan sampel sitologi apusan

- 1) Bahan cairan pleura diambil dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan berkisar 1.200 rpm sehingga tampak endapan dengan cairan jernih
- 2) Supernatant dari cairan pleura dibuang secara hati-hati.
- 3) Endapan dari cairan pleura dipisahkan ke gelas objek dengan menggunakan pipet.

4) Apusan dibuat menggunakan salah satu gelas objek yang lain.

c. Prosedur pewarnaan *Papanicolaou* pada tahap fiksasi menggunakan *Alkohol 96%*

Tabel 3.2. Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou* dengan fiksasi menggunakan *Alkohol 96%*

No	Kegiatan	Waktu
1.	Sampel slide difiksasi dengan <i>alkohol 96%</i>	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>Xylol II</i>	5 menit
15.	Dimasukkan ke dalam <i>Xylol II</i>	5 menit
16.	Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan ( <i>mounting</i> ) secukupnya dan ditutup dengan cover glass	
17.	Slide siap dibaca oleh dokter spesialis patologi anatomi	

d. Prosedur pewarnaan *Papanicolaou* pada tahap fiksasi menggunakan larutan *Carnoy*.

Tabel 3.3. Prosedur Pewarnaan *Papanicolaou* dengan fiksasi Menggunakan *carnoy*

No	Kegiatan	Waktu
1.	Sampel slide difiksasi dengan <i>carnoy</i>	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 *Xylo* II 5 menit
16. Dimasukkan ke dalam *Xylo* 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

## 5. Penilaian Kualitas Sediaan

Tabel 3.4. Penilaian Kualitas Sediaan Sitologi

No.	Parameter Penilaian	Deskripsi	Skor
1.	Karakteristik Inti Sel		
a.	Inti Sel Tidak Jelas (Tidak baik)	Intensitas warna pada inti sel kurang/tidak jelas, nucleolus atau kromatin kurang/tidak jelas, membran intisel tidak jelas	1
b.	Inti Sel Jelas (Baik)	Intensitas warna pada inti sel jelas, nucleolus atau kromatin jelas, membrane inti sel jelas	2
2.	Pewarnaan Sitoplasma		
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.	Latar Belakang		
a.	<i>Hemoragic</i> (Tidak baik)	Latar belakang terlihat perdarahan	1
b.	<i>Clean/ Bersih</i> (Baik)	Latar belakang transparan/bersih, tidak terlihat perdarahan, tidak tampak artefak	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 : (Shastri, 2020) yang dimodifikasi BPMPPPI

Keempat parameter tersebut masing-masing diberikan skor 1-2, skor 1 diberikan jika didapatkan hasil tidak baik dan skor 2 diberikan jika didapatkan hasil baik. Kualitas sediaan dikatakan baik apabila mencapai total skor 7-8 dengan presentase minimal 80% dan dikatakan tidak baik apabila total skor 4-6 (Shastri 2020 yang dimodifikasi BPMPPPI).

## 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 diperoleh dari hasil akhir penilaian Ahli Patologi Anatomi, ditotal dan dihitung rata-rata skoring. Nilai yang diberikan yaitu 1-2 pada setiap parameter yang diperiksa dengan total skor dikatakan baik apabila mencapai 80%, yaitu 4-6 kategori tidak baik dan 7-8 kategori baik Shastri (2020) yang telah dimodifikasi BPMPPPI. Adanya perbandingan kualitas sediaan apusan sitologi pleura hemoragik metode pewarnaan *Papanicolaou*, dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon Signed Rank Test* pada tingkat signifikan ( $p \leq 0,05$ ).

#### **H. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)**

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* dari komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Tanjungkarang yang disetujui pada tanggal 16 April 2025 dengan No.105/KEPK-TJK/IV/2025. Limbah cairan efusi pleura hemoragik 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.