

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif, desain observasi laboratorium dengan pendekatan *cross sectional* untuk mengetahui gambaran histologi tumor ginjal berdasarkan variasi waktu penundaan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE).

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

1) Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium kimia klinik jurusan teknologi laboratorium medis politeknik kesehatan kemenkes kendari.

2) Waktu penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan juni-juli 2023.

#### **C. Sampel**

1. Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sampel blok parafin tumor ginjal dan dibuat sebanyak 21 sediaan.

Syarat-syarat atau kriteria blok parafin yang baik yaitu :

- 1) Ketebalan pita jaringan 5  $\mu$ m.
- 2) Jaringan berasal dari larutan fiksatif formalin buffer 10%.
- 3) Jaringan tidak rapuh.

#### **D. Prosedur Pengumpulan Data**

Data dikumpulkan melalui pemeriksaan laboratorium secara langsung dengan tahapan pra analitik, analitik dan pasca analitik.

1. Pra analitik

- a. Persiapan sampel
- b. Metode : Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

c. Prinsip kerja

Prinsip pemeriksaan *hematoxylin eosin* adalah inti yang bersifat asam akan menarik zat atau larutan yang bersifat basa sehingga warna akan menjadi biru, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik zat atau larutan yang bersifat asam sehingga warna menjadi merah.

d. Persiapan alat dan bahan

1. Embedding

Untuk alat dan bahan yang akan dipakai yaitu *beaker glass*, pinset, *hot plate/oven*, *base mold*, *cassette*, lemari pendingin dan *ice gell*.

2. Mikrotomi

Untuk alat yang digunakan mikrotom dan pisau mikrotom.

3. Pewarnaan

Alat dan bahan yang akan digunakan pada atahap ini yaitu *chamber* pengecatan/*staining jar*, objek glass, deg glass, label, xilol, alkohol, cat hematoxilin, cat eosin dan aquades.

2. Analitik

a. Embedding

Pada proses embedding atau pembuatan blok parafin dengan penanaman jaringan dengan pada tahap awal yaitu tuangkan parafin cair secukupnya kedalam *base mold*, posisikan jaringan sesuai dengan yang diharapkan. Dinginkan dasar dari *base mold* sehingga posisi tidak terjadi perubahan kemudian tutup dengan kaset jaringan. Tuangkan parafin cair kembali hingga batas maksimal. Terakhir dinginkan dengan kondisi alas *base mold* dingin.

b. Mikrotomi

Tahap awal rekatkan blok parafin diatas blok kayu dengan cara memanaskan salah satu sisi blok parafin hingga sedikit mencair. Kemudian langsung templekan blok parafin dan blok kayu tersebut pada pemegang dimikrotom dan kencangkan. Lakukan pemotongan

jaringan ini dengan ketebalan 8-10um. Setelah itu lakukan pemotongan tambahan dengan ketebalan 3,4,5um. Lalu ambil potongan tersebut menggunakan kaca objek. Setelah kering dan potongan melekat dengan kuat pada kaca objek, angkat dari *hotplate* dan potongan siap diwarnai.

c. Pewarnaan

Tahap awal yaitu proses deparafinisasi menggunakan xylol. Direndam kedalam xylol 1 selama 10 menit dan xylol 2 selama 15 menit. Dilanjutkan tahap rehidrasi dengan perendaman ke dalam alkohol absolute, alkohol 95% dan alkohol 70% selama 3 menit. Kemudian dicuci dengan air/aquades sampai alkohol hilang. Setelah itu, dilakukan penundaan pewarnaan *Hematoxylin* dengan variasi penundaan waktu pertama selama 10 menit, variasi penundaan waktu kedua selama 20 menit dan variasi penundaan waktu ketiga selama 30 menit. Selanjutnya masukkan ke dalam pewarnaan hematoxylin selama 15 menit dan cuci dengan air mengalir selama 5 menit.

Lalu masuk ke tahap *diferensiasi* atau dekolorisasi menggunakan asam alcohol 1% / HCl sebanyak 3 kali celup selama 5-10 detik. Cuci kembali dengan air mengalir selama 1 menit. Lalu dilakukan tahap *bluing* dengan perendaman dalam lithium carbonat sebanyak 3 celup. Kemudian dilakukan penundaan waktu selama 10 menit, 20 menit dan 30 menit, lalu masukkan ke dalam pewarnaan eosin 1% selama 3-5 menit atau bisa juga selama 10 menit. Setelah itu cuci dengan air mengalir.

Masuk ke tahap dehidrasi dengan perendaman menggunakan alkohol 70%, alkohol 95% dan alkohol absolute selama 1-3 menit. Kemudian proses *clearing* dengan xylol 1 dan xylol 2 selama 3-5 menit, tekan preparat dengan kertas dan lap dengan kapas. Terakhir tahap *mounting* dengan pemberian entellan dan ditutup dengan objek glass lalu diberi label.

### 3. Pasca analitik

- 1) Warna biru pada inti sel
- 2) Warna merah muda pada sitoplasma

## **E. Instrumen Penelitian**

Instrument penelitian yang digunakan yaitu alat mikrotom dan mikroskop.

## **F. Jenis Data**

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer. Data primer yang dimaksud adalah hasil pemeriksaan mikroskopik berdasarkan variasi waktu penundaan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE).

## **G. Pengolahan Data**

Data yang dikumpulkan akan diolah dengan langkah-langka yaitu :

1. Pemeriksaan data (*Editing*) merupakan pengecekan atau pengoreksian data yang sudah dikumpulkan.
2. Memasukkan data (*Coding*) merupakan kegiatan memberikan kode pada setiap data yang terkumpul disetiap instrument penelitian. Kegiatan ini mempunyai tujuan untuk mempermudah dalam penganalisisan serta penafsiran data.

Pengelompokkan data (*Tabulating*) merupakan kegiatan memasukkan data yang telah dikelompokkan kedalam tabel-tabel sehingga mudah dipahami.

## **H. Analisis Data**

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan analisis deskriptif. Dimana analisis data merupakan analisis yang dipakai untuk menganalisis data dengan menggambarkan data yang telah dikumpulkan seadanya tanpa adanya maksud yang membuat generalisasi dan hasil penelitian. Analisis deskriptif dilakukan dengan melihat ada dan tidaknya pengaruh penundaan pewarnaan dengan variasi waktu yang berbeda-beda.

## **I. Penyajian Data**

Data hasil pemeriksaan secara mikroskopik disajikan dalam bentuk gambar dengan keterangan menggunakan kode.

## **J. Etika Penelitian**

Dalam penelitian ini ada beberapa etika penelitian yang harus diterapkan, antara lain:

1. *Anonymity* (Tanpa nama)

Untuk menjaga kerahasiaan, peneliti tidak akan mencantumkan nama pasien tapi akan memberikan kode.

2. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

Kerahasiaan informasi dijamin peneliti serta hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan sebagai hasil penelitian.