

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif kualitatif yaitu untuk mendeskripsikan gambaran hasil pengamatan sitologi sputum pasien tuberkulosis paru berdasarkan variasi konsentrasi larutan fiksatif.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

- a. Tempat pengambilan sampel sputum TB ini ialah di Puskesmas Lepo-lepo, Puskesmas Puuwatu, dan Puskesmas Poasia.
- b. Pemeriksaan sampel sputum TB dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis (TLM) Politeknik Kesehatan Kemenkes Kendari.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 15 Juni s/d 11 Juli tahun 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan atau totalitas objek yang diteliti yang ciri-cirinya akan diduga atau ditaksir (Nasir, 2011). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien tuberkulosis yang telah terkonfirmasi klinis secara bakteriologis dan melakukan pengobatan intensif dan lanjutan di Wilayah Kerja Dinas Kesehatan Kota Kendari yaitu Puskesmas Lepo-lepo, Puskesmas Puuwatu, dan Puskesmas Poasia sebanyak 172 kasus.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah sampel sputum dari pasien tuberkulosis yang melakukan pengobatan di Puskesmas Lepo-lepo, Puskesmas Puuwatu, dan Puskesmas Poasia. Teknik pengambilan sampel

dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah teknik pengambilan sampel dengan cara memilih sampel dengan pertimbangan khusus (Sugiyono, 2016). Adapun pertimbangan yang dilakukan berdasarkan kriteria sebagai berikut :

a. Kriteria Sampel

1) Kriteria Inklusi

- a) Penderita TB yang telah terkonfirmasi melalui data rekam medis.
- b) Berjenis kelamin laki-laki dan perempuan.
- c) Berusia 20-65 tahun.
- d) Penderita TB yang bersedia untuk menjadi responden penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2) Kriteria Eksklusi

Penderita TB paru yang tidak menjalankan pengobatan intensif dan lanjutan serta telah terkonfirmasi negatif TB di Puskesmas Poasia, Puskesmas Lepo-lepo, dan Puskesmas Puuwatu.

b. Besar Sampel

Menurut Suharsimi Arikunto, jika jumlah populasinya kurang dari 100 orang, maka jumlah sampelnya diambil keseluruhan, dan jika populasinya lebih besar dari 100 orang, maka dapat diambil 10 – 15% atau 20 – 25% dari jumlah populasinya. Besar sampel pada penelitian ini adalah 18%, karena jumlah populasi lebih besar dari 100 (Abubakar, 2021). Maka didapatkan hasil menggunakan rumus berikut:

$$\begin{aligned} \text{Rumus} &= \text{Jumlah Sampel} \times 18/100 \\ &= 172 \times 18/100 \\ &= 30 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas besar jumlah sampel yang diambil adalah sebanyak 30 sampel yang diambil dari tiap puskesmas, pada puskesmas Lepo-lepo dengan jumlah 71 kasus diambil sebanyak 12 sampel, selanjutnya pada puskesmas Puuwatu dengan jumlah 61 kasus

diambil sebanyak 11 sampel, dan pada puskesmas Poasia dengan jumlah 40 kasus diambil sebanyak 7 sampel. Jumlah sampel tiap puskesmas ini merupakan 18% yang mewakili keseluruhan populasi pada puskesmas tersebut.

D. Prosedur Pengumpulan Data

Untuk prosedur pengumpulan data dimulai dari observasi awal, jurnal penelitian, skripsi, dan studi literature kemudian data di kumpulkan dengan pemeriksaan laboratorium secara langsung, dan dokumentasi yang mendukung hingga sampai pencatatan hasil.

E. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian yaitu lembar persetujuan subjek (*informed consent*), alat dokumentasi, dan mikroskop.

F. Prosedur Penelitian

1. Pra analitik

a. Persiapan pasien

Pasien dijelaskan terlebih dahulu tentang pemeriksaan yang akan dilakukan, selanjutnya pasien diminta persetujuannya untuk dilakukan pemeriksaan.

b. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain : kaca objek(objek glass), *cover glass*, chamber pengecatan/*staining jar*, *biosafety cabinet*, *coolbox*, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan antara lain : Pot sampel, sampel sputum, methanol absolut, etanol 96%, xylol, entelan, kertas label, lidi (tusuk gigi), aquadest, kotak preparat, dan pewarna giemsa.

c. Pengumpulan spesimen

- 1) Pada proses persiapan pengumpulan spesimen tahap awal yaitu menyiapkan wadah sputum dengan label yang telah dilengkapi identitas pasien, diagnosis klinis, dan waktu pengambilan sampel.
- 2) Pengambilan sputum dilakukan di ruang terbuka dengan sinar matahari langsung atau dalam ruangan dengan ventilasi yang baik

dan jauh dari kerumunan orang untuk menghindari penularan infeksi, atau di dalam sputum booth (tempat khusus pengambilan sputum) jika tersedia.

- 3) Jika pasien memakai gigi palsu, minta pasien untuk melepaskan gigi palsu selama pengambilan sampel.
 - 4) Kemudian berikan wadah sputum untuk dipegang oleh pasien.
 - 5) Pastikan wadah sputum tertutup rapat dan baru dibuka saat akan batuk atau mengeluarkan sputum.
 - 6) Selanjutnya intrusikan pasien, berkumur dengan air (jangan ditelan) sebelum sputum dikumpulkan untuk meminimalisir kontaminasi spesimen oleh sisa makanan atau kotoran lain di dalam mulut.
 - 7) Intrusikan kembali pada pasien, dengan menarik nafas panjang dan sebanyak 2-3 kali dan setiap kali menghembuskan nafas dengan kuat, lalu membuka penutup pot sputum lalu dekatkan pada mulut.
 - 8) Batuk secara dalam untuk mengeluarkan sputum dari dalam dada ke dalam pot sputum, mengulangi sampai mendapatkan sputum yang berkualitas baik dan volume yang cukup.
 - 9) Selanjutnya setelah sputum cukup tertampung, segera tutup rapat wadah sputum dengan cara memutar tutupnya hingga erat, terakhir masukkan ke dalam pembungkus/*coolbox* dan pasien diminta untuk membersihkan mulut dengan tisu dan membuang tisu pada tempat sampah tertutup yang sudah disediakan dan cuci tangan dengan sabun dan antiseptik.
- d. Metode : Pewarnaan giemsa

Metode pewarnaan giemsa adalah teknik pewarnaan yang umum digunakan dalam pemeriksaan mikroskopis untuk mengidentifikasi berbagai struktur seluler dalam preparat jaringan, darah, atau kultur sel.

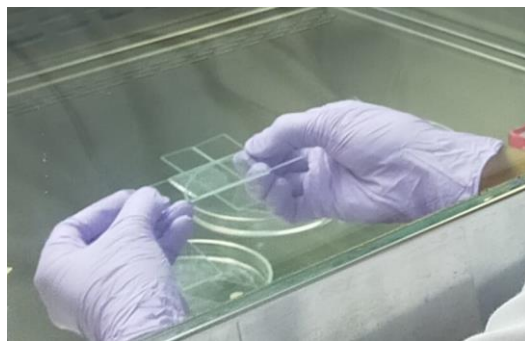
e. Prinsip kerja pewarnaan giemsa

Prinsip pewarnaan giemsa adalah presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan methylene blue dan eosin yang dilarutkan di dalam metanol yaitu, dua zat warna yang berbeda Azur B (Trimethylionn) yang bersifat basa dan eosin y (Tetrabromofluorescin) yang bersifat asam. Metode pewarnaan giemsa memberikan warna merah muda pada sitoplasma dan methylene blue yang bersifat basofilik yang memberikan warna dasar dan memberi warna biru pada inti sel.

2. **Analitik**

a. Pembuatan sediaan

- 1) Tahap awal pembuatan sediaan dimulai dengan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik pada sampel sputum dengan tujuan menilai fragmen jaringan serpihan abu-abu sampai putih serta gumpalan darah.
- 2) Siapkan kaca objek yang telah diberi label.
- 3) Ambil sampel sputum dengan menggunakan bantuan lidi (tusuk gigi), dan pindahkan sputum pada slide yang telah disediakan yakni 2-3 dari ujung kaca objek.



Gambar 4. Pembuatan Sediaan Sitologi Sputum
Metode *Sliding Smear*
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024).

- 4) Setelah sputum dipindahkan, lakukan pembuatan sediaan dengan metode *sliding smear* yaitu dengan cara ditekan dengan bantuan

kaca objek hingga sedimen menyebar merata pada permukaan kaca objek.

5) Kemudian sediaan apusan setelah benar-benar kering lanjutkan dengan tahap fiksasi.

b. Fiksasi sediaan

Pada tahap fiksasi sediaan yang telah dikeringkan difiksasi dengan larutan fiksatif yaitu etanol 96% dan methanol absolut selama 15 menit, angkat dan biarkan kering diudara.

c. Proses pewarnaan

1) Pada proses pewarnaan, sediaan yang telah difiksasi dimasukkan kedalam larutan giemsa yang telah diencerkan dengan perbandingan 1:4 (1 ml giemsa dan 4 ml aquadest) selama 5 menit.

2) Angkat dan cuci dengan air mengalir kemudian keringkan diudara.

3) Selanjutnya, masukkan ke dalam xylol dengan cara celup dan angkat 5-10 kali.

4) Angkat dan keringkan, kemudian tambahkan 1-2 tetes entelan.

5) Tutup dengan *cover glass* dan bersihkan sisa entelan yang melekat pada kaca objek.

6) Kemudian periksa dan amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan perbesaran 40x.

3. Pasca analitik

Warna normal :

- 1) Warna biru pada inti sel
- 2) Warna merah muda pada sitoplasma (Khristian & Inderiati, 2017).

G. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer dalam penelitian ini adalah gambaran sitologi pada penderita tuberkulosis paru yang didapatkan dari hasil pemeriksaan sitologi yang dilakukan secara langsung.

2. Data sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah data rekam medis penderita yang telah didiagnosis tuberkulosis paru di Puskesmas Lepolepo, Puskesmas Puuwatu, dan Puskesmas Poasia.

H. Pengolahan Data

Data yang dikumpulkan dan data tersebut diolah dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- a. *Editing* (Pemeriksaan data), yaitu pengecekan atau pengkoreksian data yang telah dikumpulkan.
- b. *Coding* (Pengkodean data), yaitu kegiatan memberikan kode pada setiap data yang terkumpul disetiap instrumen penelitian. Kegiatan ini bertujuan untuk memudahkan dalam menganalisis dan penafsiran data.
- c. *Tabulating* (Pengelompokan data), yaitu memasukan data yang sudah dikelompokkan kedalam tabel-tabel agar lebih mudah dipahami.

I. Analisis Data

Analisis pada penelitian ini menggunakan analisis data deskriptif untuk melihat hasil pengamatan sitologi sputum pasien tuberkulosis paru berdasarkan variasi konsentrasi larutan fiksatif.

J. Penyajian Data

Data yang telah dianalisis pada penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dinarasikan.

K. Etika Penelitian

Etika penelitian bertujuan untuk melindungi hak-hak subyek. Dalam penelitian ini menekankan masalah etika yang meliputi antara lain:

1. *Anonymity* (Tanpa Nama)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama responden pada lembar alat ukur, hanya menuliskan kode pada lembar pengumpulan data.

2. *Informed Consent* (Lembar persetujuan)

Lembar persetujuan diberikan kepada yang akan diteliti dan disertai judul penelitian dan manfaat penelitian, bila subyek menolak maka

peneliti tidak akan memaksakan kehendak dan tetap menghormati hak-hak subyek.

3. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

Yaitu menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah-masalah lainnya. Informasi yang dikumpulkan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti, hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil penelitian.