

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian dari pada penelitian ini yaitu deskriptif, observasi laboratorium dengan pendekatan *cross sectional* yang mana untuk mengetahui gambaran histologi tumor ginjal berdasarkan variasi waktu penundaan bluing.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pemeriksaan blok parafin dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juni sampai Juli 2023.

C. Sampel

Pada penelitian ini sampel di buat dengan 3 variasi waktu penundaan pewarnaan. 1 variasi waktu dibuat 7 preparat dengan metode bluing.

a. Kriteria sampel

Syarat-syarat atau criteria objektif blok parafin yang baik :

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

D. Prosedur Pengumpulan Data

Data yang 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 mikrotomi dan pisau mikrotomi

3) Pewaranaan

Alat dan bahan yang akan digunakan pada tahap ini yaitu Chamber pengecatan/staining jar, *objek glass*, *deg glass*, label, *xylol*, alkohol, *cat hematoxylin*, 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 tempelkan blok parafin dan blok kayu tersebut pada pemegang dimikrotom dan kencangkan. Lakukan pemotongan jaringan ini dengan ketebalan 8-10 μm . Setelah itu lakukan pemotongan tambahan dengan ketebalan 3, 4, dan 5 μm . Lalu ambil potongan tersebut menggunakan kaca objek. Setelah kering dan potongan melekat dengan kuat pada kaca objek, angkat dari *hot plate* dan potongan siap diwarnai.

c. Pewarnaan

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

Lalu masuk ketahap *diferensiasi* atau dekolorisasi menggunakan asam alkohol 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 masukkan kedalam pewarnaan *eosin* 1% selama 3-5 menit atau bisa juga selama 10 menit. Setelah itu cuci dengan air mengalir.

Masuk ketahap dehidrasi dengan perendaman menggunakan alkohol 70%, alkohol 95% dan alkohol absolut 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/balsam canada* dan ditutup dengan *objek glass* lalu diberi label.

3. Pasca analitik

a. Warna normal :

- 1) Warna biru pada inti sel.
- 2) Merah mudah pada sitoplasma dengan pembesaran 40 atau 100.

E. Instrumen penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan yaitu alat mikrotom dan mikroskop.

F. Jenis data

Jenis data yang di gunakan pada penelitian ini adalah data primer. Data primer yang dimaksud adalah data hasil pemeriksaan mikroskopik berdasarkan variasi waktu penundaan bluing.

G. Pengolahan data

Data yang dikumpulkan akan diolah dengan langkah-langkah 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 instrumen penelitian. Kegiatan ini

mempunyai tujuan untuk mempermudah dalam penfalisiran serta penafsiran data.

3. 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 bluing dengan variasi waktu yang berbeda-beda.

I. Penyajian data

Data hasil pemeriksaan secara miroskopik 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.