

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode kuantitatif yang berjenis eksperimental, yang menjadi kelompok eksperimen adalah Natrium Bikarbonat dan Lithium Carbonate.

#### **3.2 Desain Penelitian**

Desain penelitian ini menggunakan Statistic Group Comparison, dimana peneliti membandingkan kelompok kontrol dan kelompok eksperimen

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah Hati tikus putih

##### **2. Sampel**

Dalam penelitian ini jumlah sampel diperoleh dengan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut :

Keterangan :                    n = Jumlah sampel

    t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok (t) : 2 Kelompok (natrium bikarbonat dan kontrol)

Jumlah sampel (n) :  $(n-1) (t-1) \geq 15$

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

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

$$1n - 1 \geq 15$$

$$n \geq (15+1) / 1$$

$$n \geq 16$$

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus Federer diatas, diketahui jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 16 sampel.

### 3.4 Tabel Penilaian Hasil Pewarnaan

Hasil penilaian slide sampel yang dijabarkan sebagai berikut :

No	Deskripsi	Ordinal	suare
1	Inti sel berwarna biru, sitoplasma berwarna merah, tidak ada artepak	3	Sangat Baik
2	Inti sel berwarna kurang biru, sitoplasma berwarna kurang merah, sebagian terdapat artepak	2	Baik
3	Inti sel tidak berwarna biru, sitoplasma tidak berwarna merah, terdapat artepak	1	Kurang Baik

(yulya putri wulandari,dkk 2022).

### 3.5 Lokasi dan Waktu penelitian

#### 1. Lokasi

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi Poltekkes Kemenkes Bandung

#### 2. Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dilakukan mulai dari penyusunan proposal hingga penyusunan laporan tugas akhir pada bulan Januari sampai Juni 2024.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya ; Kaset jaringan, pisau mikrotom, sarung tangan, pisau, kaca objek, label, masker, talenan, pinset, cover glass, beaker glass, base mold, oven, hot plate

#### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya ; Natrium Bikarbonat 0,5%, aquadest, alkohol 96%, tikus putih, etanol, HCl 0,1%, Lithium Carbonat 0,5%, Netral Buffer Formalin 10%, alkohol bertingkat: 70%, 80%, 90%, paraffin, eosin, hematoxylin, xylol

### 3.7 Cara Kerja

1. Persiapan Sampel
  - 1). Disiapkan alat dan bahan.
  - 2). Jaringan Hati Tikus dipotong dengan ukuran 1x1x0,5 cm.
  - 3). Dimasukan jaringan ke dalam kaset yang sudah diberi nomor pada bagian luar kaset dengan pensil dan di dalam kaset dengan kertas warna kuning.
2. Prosesing Jaringan
  - A. Fiksasi Jaringan
    - 1) Dimasukan potongan jaringan Hati Tikus ke dalam NBF 10%.
    - 2) Jaringan Hati Tikus difiksasi selama 24 jam.
  - B. Dehidrasi
    - 1) Dilakukan tahapan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat.
    - 2) Dimasukan jaringan ke dalam alkohol 70% selama 30 menit.
    - 3) Dimasukan jaringan ke dalam alkohol 80% selama 60 menit.
    - 4) Dimasukan jaringan ke dalam alkohol 96% selama 60 menit.
  - C. Clearing
    - 1) Dilakukan tahapan penjernihan (clearing) menggunakan xylol.
    - 2) Dimasukan jaringan ke dalam xylol I selama 60 menit.
    - 3) Dimasukan jaringan ke dalam xylol II selama 60 menit.
    - 4) Lalu Dimasukan ke dalam xylol III selama 60 menit.
  - D. Embedding
    - 1) Dilakukan tahapan embedding menggunakan parafin.

- 2) Dimasukan jaringan ke dalam parafin I selama 60 menit.
- 3) Lalu dipindahkan jaringan ke dalam parafin II selama 60 menit.

#### E. Blocking

- 1) Dilakukan tahapan penanaman jaringan pada base mold.
- 2) Dituangkan paraffin cair ke dalam base mould jangan sampai jenuh kira – kira 1-2 mm.
- 3) Diposisikan jaringan di tengah base mould, agak ditekan supaya jaringan tidak melipat dan ketika dipotong semua bagiannya akan terpotong.
- 4) Dituangkan paraffin cair kembali hingga batas maksimal.
- 5) Lalu ditutup dengan kaset jaringan.
- 6) Di simpan jaringan yang telah di beri paraffin ke dalam kulkas.
- 7) Setelah membeku, diepaskan cetakan dari base mold dengan membalik base mold, jangan sampai pecah atau hancur.
- 8) Disimpan dalam ruangan sejuk.

#### F. Pemotongan

- 1) Diatur ketebalan pemotongan 4-6  $\mu\text{m}$  memperhatikan skala ketebalan.
- 2) Diletakan blok jaringan pada pada pisau mikrotom.
- 3) Dilakukan proses pemotongan dengan memutar roda pemutar searah jarum jam.
- 4) Diambil pita jaringan yang terbentuk dengan scalpel sesuai kebutuhan dan pindahkan ke dalam waterbath dengan suhu 40°C, selanjutnya tempelkan pada objek glass.
- 5) Posisikan kembali blok jaringan ke belakang pisau, kunci tuas pemutar.

6) Lepaskan blok jaringan dari penjepit.

#### G. Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Prinsip : Inti yang bersifat asam akan menyerap zat warna basa sehingga berwarna biru, sitoplasma yang bersifat basa akan menyerap warna asam sehingga berwarna merah.

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang diperlukan.
- 2) Dipanaskan preparat blanko di atas hot plate sampai paraffin disekitar jaringan mencair.
- 3) Dilakukan Pewarnaan yang menggunakan Lithium carbonate
- 4) Dilakukan Pewarnaan menggunakan Natrium bikarbonat
- 5) Diteteskan entelan di atas preparat blanko sebanyak 2 tetes, kemudian tutup dengan cover glass (jangan sampai ada gelembung).
- 6) Dibersihkan dengan Xylol, kemudian keringkan dan diberi label.
- 7) Setelah preparat kering, dilakukan pembacaan

**Tabel 3.1** Pewarnaan HE proses Blueing Lithium Carbonate

No	Nama	Waktu
1.	Xylol I	5 Menit
2.	Xylol II	5 Menit
3.	Alkohol 90 %	5 Menit
4.	Alkohol 80%	5 Menit
5.	Alkohol 70%	5 Menit
6.	Air mengalir	1 Menit
7.	Hematoxylin	1-5 Menit
8.	Air mengalir	1 Menit
9.	HCl alkohol 0,5%	1-2 Celup
10.	Air mengalir	1 Menit
11.	Lithium Carbonat 0,5%	1 Menit
13.	Air mengalir	1 Menit
14.	Eosin	1 Menit
15.	Alkohol 70%	10 Celup
16.	Alkohol 80%	10 Celup
17.	Alkohol 90 %	10 Celup
18.	Alkohol absolut	10 Celup
19.	Xylol I	2 Menit
20.	Xylol II	2 Menit
21.	Entelan (Mounting)	1-2 Tetes

**Tabel 3.2** Pewarnaan HE proses Blueing menggunakan Natrium Bikarbonat

No	Nama	Waktu
1.	Xylol I	5 Menit
2.	Xylol II	5 Menit
3.	Alkohol 90 %	5 Menit
4.	Alkohol 80%	5 Menit
5.	Alkohol 70%	5 Menit
6.	Air mengalir	1 Menit
7.	Hematoxylin	1-5 Menit
8.	Air mengalir	1 Menit
9.	HCl alkohol 0,5%	1-2 Celup
10.	Air mengalir	1 Menit
11.	Natrium Bikarbonat 0,5%	1 Menit
13.	Air mengalir	1 Menit
14.	Eosin	1 Menit
15.	Alkohol 70%	10 Celup
16.	Alkohol 80%	10 Celup
17.	Alkohol 90 %	10 Celup
18.	Alkohol absolut	10 Celup
19.	Xylol I	2 Menit
20.	Xylol II	2 Menit
21.	Entelan (Mounting)	1-2 Tetes

### 3.8 Analisis Data

Hasil data penelitian yang diperoleh disusun dan dilakukan uji statistik yaitu uji Mann-Withney, untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara Lithium carbonate dan Natrium bikarbonat