

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, metode eksperimen adalah metode yang dilakukan dengan melakukan percobaan pada hewan yang bertujuan untuk mengetahui perubahan atau pengaruh yang timbul setelah dilakukan perlakuan tertentu. Serta untuk mengetahui pengaruh perbandingan fiksasi menggunakan NBF 10% dan stevia dengan pewarnaan HE pada organ ginjal tikus putih.

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah static group comparison yaitu dengan membandingkan hasil preparat jaringan ginjal yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan stevia untuk mengetahui apakah terjadi perubahan pada hasil pemeriksaan. Untuk mengetahui banyaknya jumlah sampel yang dilakukan pada penelitian ini dapat digunakan rumus Federer yaitu :

Keterangan : n = Jumlah sampel

t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok (t) : 2 Kelompok (NBF 10% dan stevia)

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

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh jenis ginjal tikus wistar

3.3.2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 jenis tikus wistar

3.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.4.1. Lokasi

Lokasi Penelitian ini di Laboratorium Sitohistoteknologi Poltekkes Kemenkes Bandung dan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih.

3.4.2. Waktu Penelitian

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

3.5. Alat dan Bahan

3.5.1. Alat

- 1) Based mould
- 2) Beker Glass
- 3) Cover glass
- 4) Kaset Jaringan
- 5) Kertas Label
- 6) Microtom
- 7) Objek glass
- 8) Open
- 9) Penggaris
- 10) Pensil
- 11) Pinset
- 12) Pisau
- 13) Scalpel
- 14) Talenan

15) Water bath

3.5.2. Bahan

- 1) Alkohol bertingkat : 70%, 80, 95% dan 100%
- 2) Asam alkohol
- 3) Entellan
- 4) Eosin
- 5) Ethanol
- 6) Hematoxilin
- 7) Ketamin HCl
- 8) Larutan zenker
- 9) Litium carbonat
- 10) *Neutral Buffer Formalin 10%*
- 11) Parafin
- 12) Tikus wistar
- 13) Xylol

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Persiapan Sampel

1. Disiapkan alat dan bahan.
2. Jaringan ginjal mencit 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.

3.6.2 Prosesing Jaringan

A. Fiksasi Jaringan

1. Dimasukan potongan jaringan ginjal mencit ke dalam *Neutral Buffer Formalin 10%* dan Pemanis alami Stevia.
2. Jaringan ginjal tikus wistar 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 95% selama 60 menit.
5. Dimasukan jaringan ke dalam alkohol 95% selama 60 menit.
6. Lalu dimasukan jaringan ke dalam alkohol 100% 1 dan 2 masing – masing selama 45 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.
1. Diposisikan jaringan di tengah base mould, agak ditekan supaya jaringan tidak melipat dan ketika dipotong semua bagiannya akan terpotong.
2. Dituangkan paraffin cair kembali hingga batas maksimal.
3. Lalu ditutup dengan kaset jaringan.
4. Di simpan jaringan yang telah di beri paraffin ke dalam kulkas.
5. Setelah membeku, diepaskan cetakan dari base mold dengan membalik base mold, jangan sampai pecah atau hancur.
6. Disimpan dalam ruangan sejuk.

F. Pemotongan

1. Diatur ketebalan pemotongan 4-6 μm 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 sebagai berikut :

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	Hcl Alkohol 0,5%	1-2 celup
9	Air Mengalir	1 menit
10	Lithium Carbonat 0,5%	1 menit
11	Air Mengalir	1 menit
12	Eosin	1 menit
13	Alkohol 70%	10 Celup
14	Alkohol 80%	10 Celup
15	Alkohol 90%	10 Celup
16	Alkohol Absolut	10 Celup
17	Xylol I	2 Menit
18	Xylol II	2 Menit
19	Entelan (Mounting)	1-2 Tetes

4. Ditetaskan entelan di atas preparat blanko sebanyak 2 tetes, kemudian tutup dengan cover glass (jangan sampai ada gelembung).

5. Dibersihkan dengan Xylol, kemudian keringkan dan diberi label.
6. Setelah preparat kering, dilakukan pembacaan.

3.7 Analisis Data

Hasil data penelitian yang diperoleh disusun dan dilakukan uji statistik yaitu uji Mann Withney, Untuk melihat ada atau tidaknya perbandingan yang signifikan antara NBF 10% dan stevia.

3.8 Alur Penelitian

