

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis 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 gambaran pewarnaan hematoxylin eosin pada ginjal tikus putih dengan menggunakan ekstrak daun jati sebagai alternatif pengganti eosin.

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan Statistic Group Comparison, dimana peneliti membandingkan kelompok kontrol dan kelompok eksperimen.

3.3 Populasi Dan Sampel

3.3.1 Populasis dan Sampel

a. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah ginjal tikus putih.

b.Sampel

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

Keterangan : n = Jumlah sampel

t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok (t) : 4 Kelompok (1:2,1:3,1:4,kontrol)

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

$$(n-1) (4-1) \geq 15$$

$$(n-1) (3) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq (15+3) /3$$

$$n \geq 6$$

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

3.4 PENILAIAN PREPARAT

NO	Kriterial	Ordinal	score
1.	Inti sel berwarna biru, Sitoplasma berwarna merah, warna seragam.	Sangat baik	3
2.	Inti sel berwarna biru samar, Sitoplasma merah samar, warna kurang seragam.	Baik	2
3.	Inti sel tidak berwarna biru, Sitoplasma tidak berwarna merah, warna tidak seragam	Kurang baik	1

Sumber : (Jumardi dkk., 2023).

3.5 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

a. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi kampus teknologi laboratorium medis Poltekkes Bandung dan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung.

b. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Mei 2024.

3.6 Alat, Bahan Dan Cara Kerja

3.6.1 Alat

Dalam penelitian ini ada beberapa alat yang digunakan, seperti: Kaset Jaringan, Pisau mikrotom, Sarung tangan, Pisau, Kaca objek, Label, Masker, Talenan, Pinset, Cover Glass, Beaker glass, Base Mold, Oven, Hot Plate.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak daun jati, Aquadest, Alkohol 96%, Tikus putih, Etanol, HCl 0,5%, Lithium Carbonat 0,3%, Netral Buffer Formalin 10%, Alkohol bertingkat: 70%, 80%, 90%, 100%), Paraffin (1, 11), Eosin, Hematoxylin, Xylol.

3.6.3 Metode

Metode yang dilakukan adalah metode pewanaan hematoxylin eosin.

3.7 Cara Kerja

A. 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.

B. Prosesing Jaringan

1. Fiksasi Jaringan
 - 1) Dimasukan potongan jaringan ginjal mencit ke dalam NBF 10%.
 - 2) Jaringan ginjal mencit difiksasi selama 24 jam.
2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

6. 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.

C. 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 kontro 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	3-5 Menit
8.	Air mengalir	1 Menit
9.	HCl alkohol 0,5%	1-2 Celup
10.	Air mengalir	1 Menit
11.	<i>Lithium carbonat</i>	1 Menit
12.	Air mengalir	1 Menit
13.	Eosin	1 Menit
14.	Alkohol 70%	10 Celup
15.	Alkohol 80%	10 Celup
16.	Alkohol 90 %	10 Celup
17.	Alkohol absolut	10 Celup
18.	Xylol I	2 Menit
19.	Xylol II	2 Menit
20.	Entelan (Mounting)	1-2 Tetes

4) Dilakukan Pewarnaan dengan Daun Jati 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	3-5 Menit
8.	Air mengalir	1 Menit
9.	HCl alkohol 0,5%	1-2 Celup
10.	Air mengalir	1 Menit
11.	<i>Lithium carbonat</i>	1 Menit

12.	Air mengalir	1 Menit
13.	Ekstrak Daun Jati 1:2,1:3,1:4	1 Menit
14.	Alkohol 70%	10 Celup
15.	Alkohol 80%	10 Celup
16.	Alkohol 90 %	10 Celup
17.	Alkohol absolut	10 Celup
18.	Xylol I	2 Menit
19	Xylol II	2 Menit
20.	Entelan (Mounting)	1-2 Tetes

- 4) Diteteskan 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.

3.8 Cara Pengumpulan Data Dan Pengolahan Data

3.8.1 Pengolahan Data

Pengolahan data dalam penelitian ini adalah :

1. Pemberian kode (Coding)

Coding dilakukan untuk mempermudah pengolahan data.

2. Pemeriksaan data (Editing)

Editing dilakukan untuk memeriksa data yang telah dikumpulkan.

3. Tabulating

Tabulating yaitu membuat tabel yang berisikan data yang telah diberi kode.

4. Skoring

Skoring yaitu memberi nilai pada data yang telah dikumpulkan.

3.8.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini disajikan dalam bentuk diagram. Untuk melihat ada tidaknya perbedaan maka dilakukan pengujian menggunakan uji kruskal wallis.