

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *True Eksperiment* yaitu penelitian yang dilakukan pada dua kelas yaitu kelas eksperimen dan kelas control sebagai kelas pembanding. Variabel bebas pada penelitian ini adalah Penggunaan 2 larutan Xilena dan Minyak Tanah pada proses Deparafinisasi dan Penjernihan, sedangkan variabel terikatnya adalah Pewarnaan Hematoksilin Eosin pada Sediaan Preparat Jaringan. yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul sebagai akibat dari eksperimen tersebut.

3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *Statistic Group Comparison*. Desain ini memiliki kelompok kontrol atau pembanding. Kelompok eksperimen menerima perlakuan (X) yang diikuti dengan pengukuran kedua atau observasi (O2). Hasil observasi ini kemudian dikontrol atau dibandingkan dengan hasil observasi pada kelompok kontrol atau pembanding, yang tidak menerima program atau intervensi (Notoadmodjo, 2010). Pada penelitian ini sebagai kelompok eksperimen yaitu penggunaan minyak tanah pada proses deparafinisasi dan penjernihan, sedangkan kelompok pembanding adalah penggunaan xilena pada proses

deparafinisasi dan penjernihan.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi : Jaringan ginjal tikus putih

Sampel : Sampel diambil dari jaringan organ tubuh hewan uji coba (tikus putih), dilakukan pembedahan kemudian diambil organ ginjal yang masih segar, jaringan dipotong masing-masing dimasukkan kedalam wadah yang berisi larutan fiksatif yaitu NBF 10% Kemudian difiksasi minimal 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengolahan jaringan, pewarnaan H.E dan pembacaan hasil dibawah mikroskop dengan pembesarn 10x dan 40x.

3.4 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 14-17 bulan Desember 2023 di Laboratorium Sitohistoteknologi Politeknik Kementrian Kesehatan di Cimahi-Bandung

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3.7 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Alat ukur	Skala
Deparafinisasi	Deparafinisasi merupakan proses untuk melarutkan parafin dari	Prosedur Kerja	Waktu	Skor	Ordinal
				1 – 3	

	dalam jaringan sebelum dilakukan pewarnaan.				
Penjernihan	Proses penjernihan yang menjadikan sruktur dari morfologi suatu objek menjadi jelas	Prosedur Kerja	Waktu	Skor 1 – 3	Ordinal
Minyak Tanah	Cairan Hindrokarbon yang diperoleh dengan cara destilasi fraksional dari minyak bumi pada 150 °C dan 275°C	Prosedur kerja	Waktu	Skor 1 – 3	Ordinal
Xilena	Xilena adalah cairan tidak berwarna, mudah terbakar, dan berbau manis	Prosedur Kerja	Waktu	Skor 1 – 3	Ordinal
Hematoksilin	Hematoksilin adalah pewarnaan yang mengikat struktur asam dalam sel bsik RNA dan DNA sehingga memberi warna biru keunguan pada sel	Prosedur Kerja	waktu	Skor 1 – 3	Ordinal
Eosin	Eosin pewarna yang bersifat asam yang mengikat struktur basa dalam sel sehingga memberikan warna merah	Prosedur Kerja	Waktu	Skor 1 – 3	Ordinal
Tikus Putih	Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) banyak	Prosedur Kerja	Waktu	Skor 1 – 3	Ordinal

	digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai respon yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah, yang mungkin terjadi pada manusia maupun hewan lain				
--	--	--	--	--	--

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Alat

1. Alat pelindung diri (APD),
2. Alat ukur (Penggaris)
3. Mesin Tissue Proceccing,
4. Mesin pengeblokan
5. Alat untuk pemotongan pita paraffin (microtome),
6. Alat untuk pewarnaan
7. Waterbath
8. Hot plate
9. Pisau jaringan (makro knife), pinset, wadah/botol kaca bermulut besar, talenan
10. Mikroskop

3.6.2 Bahan

1. Minyak Tanah
2. Fiksatif NBF 10%

3. Alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 100%
4. Aquadest
5. Hematoxylin
6. Eosin
7. HCl 0,1%
8. Lithium carbonat 0,5%
9. Paraffin
10. Carbol xilena
11. Xilena
12. Embedding kaset
13. Kaca objek glass
14. Cover glass
15. Entelan
16. Jaringan ginjal tikus putih

3.6.3 Persiapan Sampel Jaringan

Sampel berupa tikus putih, dilakukan pembedahan lalu diambil organ ginjal tikus putih difiksasi dengan NBF 10% selama minimal 30 menit

3.6.4 Prosessing Jaringan

- 1) Fiksasi, yaitu organ pada larutan difiksasi dengan larutan Neutral Buffer Formalin 10% selama 30 menit
- 2) Dehidrasi, dengan merendam kaset ke larutan alkohol bertingkat
 - Alkohol 70 % 45 menit
 - Alkohol I 95 % 45 menit

- Alkohol II 95 % 45 menit
 - Alkohol 100 % 45 menit
- 3) Penjernihan, lakukan dengan merendam kaset ke larutan xilena
- Etanol Xilena 60 menit
 - Xilena I 60 menit
 - Xilena II 60 menit
- 4) Embedding, dilakukan dengan larutan parafin yang dimasukkan kedalam oven/ inkubator dengan suhu 40 – 60°C
- Parafin I 60 menit
 - Parafin II 24 jam
- 5) Blocking/ pengecoran, memasukkan jaringan ke cetakan basmol dan tuangkan paraffin sampai jaringan sedikit ditekan ke dasar cetakkan, tutup dengan kaset dan biarkan parafin membeku di dalam freezer hingga membentuk blok paraffin.
- 6) Pemotongan Jaringan (*Secioning*) : pemotongan jaringan dengan alat mikrotom. Irisan yang bagus yaitu berbentuk irisan tipis yang saling bersambung.
- 7) Jaringan yang sudah dipotong dimasukkan kedalam water bath 40 – 50°C, kemudian ambil menggunakan kaca objek. Kemudian preparate diinkubasi di dalam oven dengan suhu 50°C selama 15 menit.

Sumber : SOP Lab Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin

3.6.5 Pewarnaan Hematoksin Eosin

Tabel 3.8 Pewarnaan Hematoksin Eosin Menggunakan Xilena

No.	Pewarnaan Menggunakan Xilena	
1	Deparafinisasi	
	- Xilena I	5 menit
	- Xilena II	5 menit
2	Rehidrasi	
	- Alkohol 90%	5 menit
	- Alkohol 80%	5 menit
	- Alkohol 70%	5 menit
	- Cuci dengan air mengalir	1 menit
3	Warnai dengan Hematoksin	1-5 menit
4	Cuci dengan air mengalir	1 menit
5	Celup dengan Hcl Alkohol 0.5%	1-2 celup
6	Cuci dengan air mengalir selama	1 menit
7	Warnai dengan Lithium Carbonat 0.5% selama	1 menit
8	Cuci dengan air mengalir selama	1 menit
9	Warnai dengan Eosin selama	1 menit
10	Deferensiasi	
	- Alkohol 70%	10 celup
	- Alkohol 80%	10 celup
	- Alkohol 90%	10 celup
	- Alkohol Absolut	10 celup
11	Penjernihan	
	- Minyak tanah I selama	2 menit
	- Minyak tanah II selama	2 menit
12	Mounting : cover glass yang sudah diolesi dengan cairan entelen kemudian diletakkan diatas objek glass tepat diatas jaringan	
13	Labeling dilakukan pada preparat dan sediaan	

Sumber : SOP Lab Patologi Anatomi RSUP Dr. Hasan Sadikin

3.6.6 Pewarnaan Hematoksin Eosin Menggunakan Minyak Tanah

Tabel 3.9 Pewarnaan Hematoksin Eosin Menggunakan Minyak Tanah

No.	Pewarnaan Menggunakan Minyak Tanah	
1	Deparafinisasi	
	- Minyak tanah I	5 menit
	- Minyak tanah II	5 menit
2	Rehidrasi	
	- Alkohol 90%	5 menit
	- Alkohol 80%	5 menit
	- Alkohol 70%	5 menit
	- Cuci dengan air mengalir	1 menit
3	Warnai dengan Hematoksin	1-5 menit
4	Cuci dengan air mengalir	1 menit
5	Celup dengan Hcl Alkohol 0.5%	1-2 celup
6	Cuci dengan air mengalir selama	1 menit
7	Warnai dengan Lithium Carbonat 0.5% selama	1 menit
8	Cuci dengan air mengalir selama	1 menit
9	Warnai dengan Eosin selama	1 menit
10	Deferensiasi	
	- Alkohol 70%	10 celup
	- Alkohol 80%	10 celup
	- Alkohol 90%	10 celup
	- Alkohol Absolut	10 celup
11	Penjernihan	
	- Minyak tanah I selama	2 menit
	- Minyak tanah II selama	2 menit
12	Mounting : cover glass yang sudah diolesi dengan cairan entelen kemudian diletakkan diatas objek glass tepat diatas jaringan	
13	Labeling dilakukan pada preparat dan sediaan	

3.7 Teknik Pengumpulan data

Pada penelitian ini teknik pengumpulan data yang digunakan adalah data primer. Data primer adalah data yang didapatkan secara langsung atau dari tangan pertama yang dilakukan peneliti. Sediaan yang telah diwarnai diamati menggunakan mikroskop secara independent. Setelah didapatkan

data pada 2 perlakuan dilakukan pengolahan data dengan menggunakan uji T-Test dan secara statistik menggunakan perangkat lunak JAMOVI.

3.8 Alur penelitian

