

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini menggunakan eksperimen laboratorium dengan pendekatan Cross Sectional.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium patologi anatomi RSUD Prof. DR. W. Z. Johannes Kupang

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2024

#### **C. Variabel Penentuan**

##### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah xylol dan minyak zaitun sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan hematoksilin eosin

##### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan mikroskopis jaringan

#### **D. Sampel**

Sampel yang digunakan adalah jaringan yang ada di laboratorium patologi anatomi RSUD Prof. DR. W. Z. Johannes Kupang.

## E. Definisi Operasional

**Tabel 3. 1 Definisi Operasional**

NO	Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Skala Ukur	Skor
1.	Xylol dan minyak zaitun sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan hematoksilin eosin	Deparafinisasi adalah proses menghilangkan sisa parafin pada jaringan sehingga jaringan dapat menyerap zat warna dengan baik dan maksimal. Xylol dan minyak zaitun sebagai agen deparafinisasi	-	-	-
2.	Hasil pemeriksaan jaringan yang di deparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun	Hasil pewarnaan hematoksilin eosin yang ditandai dengan inti sel yang berwarna biru dan sitoplasma yang berwarna merah muda	Inti Sel : 1. Baik : jika warna biru pada inti sel jelas 2. Kurang : jika warna biru pada inti sel kurang jelas 3. Buruk : jika inti tidak berwarna biru	Baik : 2 Ordinal Kurang : 1 Buruk : 0	
			Sioplasma : 1. Baik : jika sitoplasma warna merah muda jelas 2. Kurang : jika warna merah muda pada sitoplasma kurang jelas	Baik : 2 Ordinal Kurang : 1 Buruk : 0	

---

3. Buruk :  
jika  
sitoplasma  
tidak  
berwarna  
merah muda

---

## **F. Prosedur Penelitian**

1. Pengajuan surat ijin penelitian
2. Prosedur kerja
  - a. Alat : mikrotom, hotplate, waterbath, basemold, pinset, gelas kimia, gelas ukur, kuas, stopwatch, mikroskop, object glass, deck glass, kaset.
  - b. Bahan : hematoksilin, eosin, xylol, alkohol 95%, etanol absolut (alkohol 100%), aquades, NBF 10%, minyak zaitun, paraffin, entelan, air mengalir, minyak imersi.
  - c. Pemotongan jaringan : jaringan dipotong dengan ketebalan 1,5 x 0,4 cm, kemudian dimasukkan ke dalam kaset untuk dilakukan pematangan jaringan.
  - d. Pematangan jaringan
    - 1) Dehidrasi

Merupakan proses untuk mengeluarkan seluruh air dan cairan fiksatif dari dalam jaringan. Pada tahap ini menggunakan alkohol yang dibagi menjadi 5 tahap, yaitu :

      - a) Jaringan direndam dalam alkohol 95% selama 1 menit
      - b) Jaringan direndam dalam alkohol 95% selama 1 menit
      - c) Jaringan direndam dalam alkohol absolut selama 1 menit

- d) Jaringan direndam dalam alkohol absolut selama 11 menit
- e) Jaringan direndam dalam alkohol absolut selama 30 menit

## 2) Pembeningan

Pembeningan adalah proses yang bertujuan untuk mengeluarkan cairan dehidrasi (alkohol) dari dalam jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan media infiltrasi.

Urutan tahapan pembeningan adalah :

- a) Perendaman jaringan dengan larutan xylol selama 1 menit
- b) Perendaman jaringan dengan larutan xylol selama 11 menit
- c) Perendaman jaringan dengan larutan xylol selama 25 menit

## 3) Infiltrasi

Infiltrasi merupakan proses memasukan suatu filtrat tertentu ke dalam jaringan yang dapat mengeras pada suhu ruang. Urutan tahapan infiltrasi adalah :

- a) Perendaman jaringan dalam parafin selama 3 menit
- b) Perendaman jaringan dalam parafin selama 5 menit
- c) Perendaman jaringan dalam parafin selama 15 menit

## e. Pemotongan

Proses pemotongan ini menggunakan mikrotom, setelah parafin berhasil dipotong, pita parafin diangkat dengan pinset dan direndam dalam waterbath dengan suhu 37° - 40°C hingga pita parafin terlihat meregang. Pita parafin kemudian diangkat dengan kaca objek dengan

cara dimasukan ke dalam waterbath, lalu dimasukkan ke dalam inkubator untuk mencairkan parafin.

f. Pewarnaan HE

Tahapan pewarnaan HE dijabarkan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

**Tabel 3. 2 Pewarnaan HE Menggunakan Xylol**

No	Tahapan	Nama Reagen	Waktu
1.	Deparafinisasi	Xylol I	2 menit
		Xylol II	2 menit
		Xylol III	2 menit
2.	Rehidrasi	Alkohol 100%	2 menit
		Alkohol 100%	2 menit
		Alkohol 95%	2 menit
3.	Pencucian	Aquades	5 menit
4.	Pewarnaan 1	Hematoksilin	16 menit
5.	Pencucian	Aquades	5 menit
6.	Bluing	Bluing	1 menit
7.	Pencucian	Aquades	2 menit
8.	Dehidrasi	Alkohol 95%	1 menit
9.	Pewarnaan 2	Eosin	1 menit
10.	Dehidrasi	Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
11.	Clearing	Xylol I	1 menit
		Xylol II	1 menit
		Xylol III	1 menit

**Tabel 3. 3 Pewarnaan HE Menggunakan Minyak Zaitun**

No	Tahapan	Reagen	Waktu
1.	Deparafinisasi	Minyak Zaitun	2 menit
		Minyak Zaitun	2 menit
		Minyak zaitun	2 menit
2.	Rehidrasi	Alkohol 100%	2 menit
		Alkohol 100%	2 menit
		Alkohol 95%	2 menit
3.	Pencucian	Aquades	5 menit
4.	Pewarnaan 1	Hematoksilin	16 menit
5.	Pencucian	Aquadest	5 menit
6.	Bluing	Bluing	1 menit

7.	Pencucian	Aquades	2 menit
8.	Dehidrasi	Alkohol 95%	1 menit
9.	Pewarnaan 2	Eosin	1 menit
10.	Dehidrasi	Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
		Alkohol 100%	1 menit
11.	Clearing	Minyak zaitun	1 menit
		Minyak zaitun	1 menit
		Minyak zaitun	1 menit

g. Mounting

Mounting adalah proses perekatan jaringan pada kaca penutup dengan menggunakan bahan perekat (*adhesive*). Entelan adalah bahan perekat yang digunakan pada proses mounting.

h. Pembacaan hasil

Pembacaan hasil dilakukan dengan pengamatan preparat secara mikroskopis menggunakan mikroskop perbesaran 400x oleh Peneliti dan dikonfirmasi oleh dokter.

## G. Analisis Hasil

Data pada penelitian ini diolah dengan memberikan penilaian dari skor 0 (tidak baik), skor 1 (kurang baik), skor 2 (baik) masing-masing dilihat dari kejelasan warna inti sel dan sitoplasma.