

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen sungguhan (*true experiment*). Desain yang digunakan yaitu pasca tes dengan pemilihan kelompok secara acak. Hasil pengecatan diff quick sediaan sitologi menggunakan ekstrak bunga asoka merah pada proses staining dibandingkan dengan menggunakan eosin.

B. Tempat Dan Waktu

Penelitian ini direncanakan akan dilaksanakan pada bulan Februari-Maret tahun 2024 yang akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD. Prof. Dr. W. Z. Yohannes Kupang, sedangkan pembuatan ekstrak bunga asoka merah akan dilakukan di Laboratorium Bioscience Universitas Nusa Cendana.

C. Variabel Penelitian

1) Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini ekstrak bunga asoka merah dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%.

2) Variabel Terikat

Variabel terkait pada penelitian ini yaitu hasil mikroskopis (sitoplasma) sediaan sitologi dengan pengecatan diff quick.

D. Populasi .

Populasi dalam penelitian ini yaitu tanaman bunga asoka merah yang tumbuh di baumata kota kupang.

E. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga asoka merah yang diambil dari baumata kota kupang.

Penentuan banyaknya pengulangan pada penelitian ini digunakan rumus federer sebagai berikut (Hanafiah,2014 dalam Khansa,2019):

$$(r - 1)(t - 1) \geq 15$$

Ket:

r = banyaknya pengulangan

t = jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan rumus federer, maka dapat dihitung banyaknya pengulangan yang dapat dilakukan yaitu:

$$(r - 1)(t - 1) \geq 15$$

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

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

$$2r \geq 15 + 2$$

$$r \geq 8,5$$

$$r \geq 9$$

Hasil perhitungan menggunakan rumus foderer diatas, diperbolehkan banyaknya pengulangan minimal adalah 9 kali.

F. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini yaitu *probability sampling* atau teknik sampling acak sederhana (simple random sampling).

G. Defenisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Skala | Pengukuran |
|---------------------------------------|--|---------|--|
| Konsentrasi ekstrak bunga asoka merah | Campuran ekstrak bunga asoka dengan aquades | Nominal | Perlakuan dengan konsentrasi: 1% = 1 ml ekstrak bunga asoka + 99 ml alcohol 96% 3% = 3 ml ekstrak bunga asoka + 97 ml alcohol 96% 5% = 5 ml ekstrak bunga asoka + 95 ml alcohol 96% |
| Hasil sitologi | Hasil mikroskopis sediaan sitologi yang dibuat dengan pengecatan eosin dan ekstrak bunga asoka merah (warna, bentuk inti sel dan sitoplasma) yang diamati dibawah mikroskop. | ordinal | Penilaian terhadap hasil pewarnaan menggunakan 3 skor dengan kriteria: 1. Skor 1 (tidak baik) jika sitoplasma terwarnai sebagian yang dilihat pada 10 lapang pandang dengan perbesaran 10x dan 40x serta warna pada sediaan tidak seragam 2. Skor 2 (kurang baik) jika sitoplasma hampir terwarnai seluruhnya tapi tidak merata 3. Skor 3 (baik) jika seluruh sitoplasmanya terwarnai dengan jelas yang dilihat pada 10 lapang pandang dengan perbesaran 10x dan 40x |

H. Prosedur Penelitian

1. Mengurus surat ijin dan kode etik

2. Pembuatan ekstrak bunga asoka merah

a. Alat

Gelas kimia, gelas ukur, toples kaca, neraca analitik, rotary vacuum, evaporator, oven, gunting, blender, saringan.

b. Bahan

Etanol, aquades, dan bunga asoka merah.

c. Prosedur kerja

Bunga asoka merah digunting menjadi kecil-kecil. Kemudian dikeringkan didalam oven dengan suhu 40°C selama 18 jam. Setelah itu bunga asoka di blender hingga halus. Serbuk bunga asoka ditimbang sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan dalam toples kaca, ditambahkan 1,5 liter pelarut etanol 96%, kemudian dihomogenkan. Perendaman dilakukan selama 24 jam. Setelah 24 jam dilanjutkan ke alat evaporator hingga pelarut menguap dan ekstrak menjadi kental. Selanjutnya membuat ekstrak bunga asoka merah 1%, 3%, dan 5% menggunakan alkohol 96%.

Pengenceran dilakukan dengan cara:

1% = 1 ml ekstrak bunga asoka + 99 ml alkohol 96%

3% = 3 ml ekstrak bunga asoka + 97 ml alkohol 96%

5% = 5 ml ekstrak bunga asoka + 95 ml alkohol 96%

3. Pembuatan sediaan sitologi dan pewarnaan Diff Quick

a. Alat

Mikroskop, gelas ukur, gelas kimia, centrifuge, objek glass, deck glass, vortex, *stopwatch*, tabung reaksi, tisu, pipet tetes

b. Bahan

Metanol, eosin, methylen blue, aquades, etelan, xylol, minyak imersi, air mengalir, ekstrak bunga asoka

c. Prosedur pembuatan sediaan

Sediaan sitologi dibuat menggunakan metode oles yang sering disebut metode smear (Khristian dan Inderiati, 2017) sampel yang digunakan yaitu kerokan epitel mukosa rongga mulut.

d. Pewarnaan diff quick

Pewarnaan diff quick menggunakan eosin dan ekstrak bunga asoka sebagai berikut:

- a. Pewarnaan Diff Quick menggunakan eosin.

Tabel 3. 1. pewarnaan Diff Quick menggunakan Eosin

| No. | Nama reagen | Waktu |
|-----|---------------|----------|
| 1. | Metanol | 10 celup |
| 2. | Eosin | 10 celup |
| 3. | Methylen blue | 10 celup |

- b. Pewarnaan Diff Quick menggunakan ekstrak bunga asoka pengganti eosin

Tabel 3. 2. Pewarnaan Diff Quick menggunakan ekstrak bunga asoka

| No. | Nama reagen | Waktu |
|-----|---------------------|----------|
| 1. | Metanol | 10 celup |
| 2. | Ekstrak bunga asoka | 10 celup |
| 3. | Methylen blue | 10 celup |

e. Mounting

Setelah melalui proses pewarnaan, diakhiri dengan penutupan jaringan menggunakan kaca penutup dan diberi bahan perekat Entelan.

f. Pembacaan hasil

Pembacaan hasil dilakukan dengan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop kamera konektor tipe Cx-31 Trinocular. Pengamatan dilakukan pada 10 lapang pandang perbesaran 40x.

I. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dilakukan uji kruskal-walls untuk melihat ada tidaknya perbedaan hasil mikroskopis pewarnaan diff quick menggunakan bunga asoka merah dengan eosin 1%. Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok yang berbeda bermakna, dilanjutkan dengan uji *Man Whitney*.