

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis analitik observasional dengan rancangan *cross sectional study*, dimana peneliti hanya melakukan penelitian satu kali saja terhadap subjek dan hanya pada waktu tertentu dengan tujuan mengetahui gambaran hasil mikroskopis sitologi sel epitel mukosa rongga mulut perokok dan bukan perokok.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Proses pengambilan sampel, pewarnaan dan pengamatan secara mikroskopis terhadap preparat sel epitel dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Prof. Dr. W. Z. Johannes Kupang.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2025.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perokok.
2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil mikroskopis sel epitel mukosa rongga mulut.

D. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini yaitu para perokok dan bukan perokok yang berada di kawasan RSUD Prof. Dr. W. Z. Johannes Kupang mulai dari tenaga kesehatan, tenaga kantoran, pengunjung, tukang parkir, tukang ojek dan orang-orang yang berada di kawasan Rumah Sakit hingga batasan pinggiran jalan

kawasan RSUD Prof. Dr. W. Z. Johannes Kupang. Subjek penelitian diambil berdasarkan kriteria sebagai berikut.

1. Kriteria inklusi

Laki-laki

Usia 40-50 tahun

a. Kelompok perokok

1) Lama merokok 5-15 tahun

2) Merokok minimal 5 batang per hari

b. Kelompok bukan perokok

1) Tidak memiliki kebiasaan merokok

2. Kriteria eksklusi

Kebiasaan mengonsumsi alkohol

Kebiasaan menggigit pipi bagian dalam

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 sampel penelitian yang dibagi menjadi 10 sampel kelompok perokok dan 10 sampel kelompok bukan perokok.

E. Definisi Operasional

Tabel 3. 1. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Perokok	Individu yang merokok dengan jumlah rokok minimal 5 batang/hari	Manual	Kuisisioner	Merokok	Nominal
2	Bukan Perokok	Individu yang sama sekali tidak merokok	Manual	Kuisisioner	Tidak merokok	Nominal
3	Gambaran sitologi sel epitel mukosa rongga mulut	Ditemukan perubahan atau kerusakan pada sel epitel (inti & sitoplasma) menggunakan pewarnaan Papanicolaou	Otomatis	Mikroskop	Skor 1 : Tidak normal Skor 2 : Cukup normal Skor 3 : Normal	Ordinal

F. Prosedur Penelitian

1. Pengurusan Etik Penelitian

- c. Membuat surat etik penelitian
- d. Membuat surat izin penelitian
- e. Membuat lembar persetujuan (*informed consent*) dan kuisisioner untuk ditandatangani oleh responden

2. Pengumpulan Data

Pengumpulan data diawali dengan bertemu responden, melakukan penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian serta memberi *informed consent*. Data yang dikumpulkan berupa data primer meliputi usia, riwayat

lama merokok, riwayat jumlah rokok yang dihisap dalam satu hari dan jenis rokok. Data primer penelitian ini diperoleh melalui pengisian kuisioner oleh responden.

3. Metode Pemeriksaan

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah sitologi eksfoliatif dimana pengambilan sampel dilakukan dengan teknik kerokan (*scraping*) menggunakan spatel kayu. Proses pengambilan sampel dilakukan oleh peneliti dengan didampingi oleh petugas laboratorium.

4. Prinsip Pemeriksaan

Prinsip pemeriksaan sel epitel mukosa rongga mulut adalah melakukan evaluasi mikroskopis sel epitel yang terkelupas dari mukosa rongga mulut pada 100 lapang pandang atau seluruh bagian apusan yang ada pada preparat setelah prosedur fiksasi dan pewarnaan Papanicolaou (Sabirin, 2015).

5. Alat dan Bahan

- a. Alat yang digunakan adalah masker, sarung tangan, *object glass*, *cover glass*, mikroskop, spatel kayu steril, pulpen, kapas, kertas label dan wadah pewarnaan.
- b. Bahan yang digunakan adalah alkohol 100%, alkohol 96%, Harris Haematoxylin, Orange-G 6, EA-50, reagen bluing, *xylene* dan entelan.

6. Sampel Uji

Sampel uji yang digunakan adalah mukosa bukal dari rongga mulut para responden.

7. Prosedur Kerja

a. Pengambilan sampel mukosa bukal

- 1) *Object glass* dilabeli dengan kode sampel dan harus dalam kondisi bersih dan kering.
- 2) Responden diminta untuk berkumur dengan air terlebih dahulu.
- 3) Sampel diambil dengan mengerok mukosa bukal pada arah yang sama sebanyak 4-6 kali menggunakan spatel kayu steril.
- 4) Sampel yang didapatkan kemudian dioleskan ke permukaan *object glass* lalu difiksasi selama 20-30 menit.
- 5) Sampel yang telah difiksasi langsung dilakukan pewarnaan Papanicolaou.

b. Pewarnaan Papanicolaou

Tabel 3.2 Prosedur pewarnaan Papanicolaou

Langkah	Reagen	Waktu
1	Alkohol 95%	1 menit
2	Alkohol 95%	10 celup
3	Aquadest	10 celup
4	Gill 2 Haematoxylin	1 menit
5	Aquadest	10 celup
6	Reagen bluing	1 menit
7	Aquadest	10 celup
8	Alkohol 95%	10 celup
9	OG-6	1 menit
10	Alkohol 95%	10 celup
11	Alkohol 95%	10 celup
12	EA-50	1 menit
13	Alkohol 95%	10 celup
14	Alkohol 95%	10 celup
15	Alkohol 100%	10 celup
16	Alkohol 100%	10 celup
17	Xylol	10 celup
18	Xylol	1 menit

Sumber : (SOP Pewarnaan Papanicolaou RSUD Prof. Dr. W. Z. Johannes Kupang)

c. *Mounting* preparat

Sediaan yang telah diwarnai kemudian dikeringkan dan dicelupkan ke xilol lalu ditetesi entelan dan ditutup menggunakan *cover glass*.

d. Pembacaan hasil

Gambaran mikroskopis sel epitel dapat dilihat dibawah mikroskop Olympus Cx31 dengan perbesaran 400× pada 100 lapang pandang atau seluruh bagian apusan. Hasil pengamatan secara mikroskopis dinilai berdasarkan skor sebagai berikut.

- a. Skor 1 : Tidak normal (terdapat lesi intraepitel skuamosa tingkat tinggi dan karsinoma sel skuamosa)
- b. Skor 2 : Cukup normal (terdapat sel epitel skuamosa atipikal dan lesi intraepitel tingkat rendah)
- c. Skor 3 : Normal (negatif atau tidak terdapat perubahan pada sel epitel)

8. Interpretasi Hasil

- a. Normal : tidak ditemukan perubahan sel epitel mukosa rongga mulut
- b. Cukup normal : ditemukan sel epitel skuamosa atipikal dan lesi intraepitel tingkat rendah
- c. Tidak normal : ditemukan lesi intraepitel skuamosa tingkat tinggi dan karsinoma sel skuamosa

H. Analisis Hasil

1. Pemberian skor

Data penelitian ini diolah dengan menggunakan penilaian skor 1 (tidak normal), skor 2 (cukup normal) dan skor 3 (normal) masing-masing pada kejelasan inti dan sitoplasma dengan lembar penilaian.

2. Uji statistik

Uji yang digunakan untuk menguji ada tidaknya hubungan antara usia, lama merokok, derajat merokok dan jenis rokok terhadap perubahan mikroskopis sel epitel mukosa rongga mulut perokok adalah uji *Chi Square*. Jika tidak memenuhi syarat uji *Chi Square*, dilakukan pembacaan menggunakan *Fisher Exact Test*. Terdapat juga uji yang digunakan untuk menguji ada tidaknya perbedaan mikroskopis sel epitel mukosa rongga mulut pada perokok dan bukan perokok adalah *Mann Whitney* menggunakan aplikasi SPSS.