

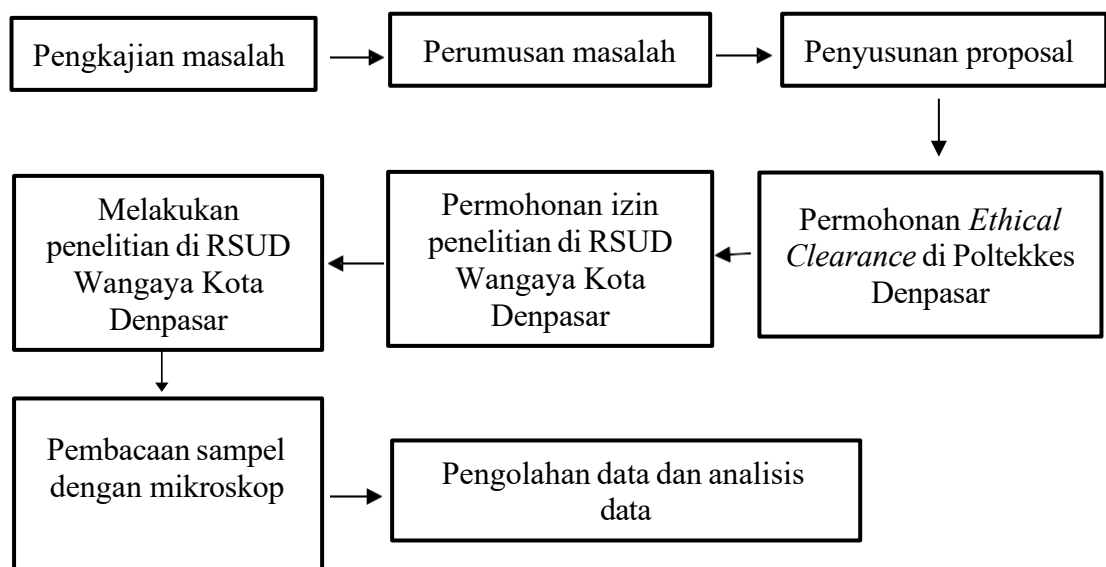
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini memanfaatkan jenis penelitian deskriptif analitik yang mempunyai tujuan mencari hubungan sebab-akibat dengan menggunakan desain rancangan *cross-sectional*. Dengan menggunakan rancangan *cross-sectional* ini kedua variabel akan diteliti dalam waktu bersamaan untuk mengetahui perbedaan hasil antara kedua variabel yaitu kualitas sediaan hispatologi dan TAT (Sugiyono,2017).

B. Alur Penelitian



Gambar 5 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit

Umum Daerah (RSUD) Wangaya, Jl. Kartini No.133, Kota Denpasar, Bali.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini akan dijalankan pada bulan November 2025 – Maret 2026.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien kanker prostat yang menjalani pemeriksaan histopatologi di RSUD Wangaya Kota Denpasar pada tahun 2024 – 2025, dengan jumlah 26 kasus pada tahun 2024 dan 18 kasus pada tahun 2025, sehingga total populasi penelitian berjumlah 44 kasus kanker prostat.

2. Sampel penelitian

Sampel pada penelitian ini terdiri dari seluruh kasus kanker prostat yang menjalani pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Wangaya Kota Denpasar pada periode tahun 2024 hingga 2025. Data diperoleh secara sekunder dari pencatatan laboratorium, termasuk buku registrasi, laporan hasil histopatologi, dan dokumentasi TAT

a. Unit analisis

Penelitian ini menggunakan unit analisis berupa komponen teknis kualitas sediaan histopatologi kanker prostat, yang meliputi keseragaman ketebalan pemotongan jaringan, kejernihan dan ketepatan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE), keterbacaan struktur histologis, serta ketepatan proses pemrosesan jaringan. Unit analisis ini digunakan untuk menilai kualitas sediaan yang kemudian dibandingkan dengan TAT pemeriksaan.

b. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel penelitiannya yaitu purposive sampling.

purposive sampling adalah metode pengambilan sampel non-probabilitas yang mana peneliti secara sengaja memilih sampel didasarkan standar atau penilaian yang telah ditentukan sebelumnya yang berkaitan dengan tujuan penelitian (Sugiyono, 2017).

1) Kriteria inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah

- a. Seluruh subjek yang didiagnosis menderita kanker prostat berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi di RSUD Wangaya Kota Denpasar pada tahun 2024 dan 2025.
- b. Subjek yang termasuk adalah mereka yang memiliki spesimen jaringan prostat yang diperiksa di Instalasi Patologi Anatomi RSUD Wangaya Kota Denpasar, dengan sediaan histopatologi pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) yang tersedia dan dapat dinilai kualitasnya.
- c. TAT harus tercatat secara lengkap sejak spesimen diterima hingga hasil pemeriksaan histopatologi dilaporkan.

2) Kriteria eksklusi

- a) Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah kasus dengan data yang tidak layak dianalisis, yaitu sediaan histopatologi yang hilang.
- b) Sampel dengan data TAT tidak dapat diidentifikasi waktu mulai dan selesai pemeriksaan.

c. Alat dan bahan

1) Alat penelitian

Terdapat beberapa alat penelitian yang dipakai pada masing – masing tahap sebagai berikut :

a) Alat pemrosesan jaringan

Alat pemrosesan organ kanker prostat yang digunakan dalam pemeriksaan histopatologi meliputi *tissue processor* untuk proses dehidrasi, *clearing*, dan infiltrasi parafin, *embedding center* untuk pencetakan jaringan dalam blok parafin, mikrotom untuk pemotongan jaringan menjadi irisan tipis, waterbath untuk meratakan potongan sebelum ditempelkan ke kaca objek, hot plate untuk pengeringan preparat, serta peralatan pewarnaan seperti *staining rack* dan *staining jar* untuk proses pewarnaan H&E.

b) Alat pengamatan

Alat pengamatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya (*light microscope*) yang berfungsi untuk menilai kualitas sediaan histopatologi, termasuk kejernihan jaringan, kualitas pewarnaan, ketebalan irisan, serta keterbacaan struktur histologis prostat.

2) Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas jaringan prostat hasil biopsi atau tindakan pembedahan, blok parafin yang berisi jaringan yang telah melalui proses infiltrasi, pewarna Hematoxylin dan Eosin (H&E), alkohol bertingkat untuk proses dehidrasi, xylol untuk *clearing*, media mounting seperti entellan atau DPX, serta kaca objek dan kaca penutup yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi.

3) Prosedur kerja

a) Pra – analitik

Untuk jaringan histopatologi, spesimen jaringan dimasukkan segera (selambat-lambatnya dalam waktu 30 menit) ke dalam wadah yang besarnya memadai untuk mencakup seluruh spesimen tanpa menyebabkan manipulasi anatomik.

- (1) Wadah diisi cairan fiksasi berupa formalin buffer 10% (cara membuat cairan formalin buffer 10% dapat dilihat pada lampiran). Volume cairan fiksasi harus memenuhi seluruh jaringan, sehingga terendam sempurna (sedikitnya 10 kali volume jaringan).
- (2) Jika jaringan berukuran besar, dilakukan irisan sejajar tanpa putus agar cairan fiksasi dapat terserap merata ke seluruh bagian jaringan.
- (3) Lama fiksasi bergantung kepada besar dan jenis jaringan. Jika jaringan sudah menunjukkan perubahan warna (tidak kemerahan lagi, dan menjadi kecoklatan) serta konsistensi (perabaan) menjadi kenyal-padat, maka fiksasi telah sempurna (sedikitnya selama 6 jam). Jaringan harus terfiksasi sempurna sebelum masuk ke tahap prosesing merupakan syarat mutlak. Untuk keperluan pemeriksaan lanjutan, jaringan harus segera diproses sebelum terendam formalin selama 72 jam. Dengan demikian, waktu optimal untuk fiksasi adalah 6-72 jam (sesuai panduan *College of American Pathologists*). (IAPI, 2021).

b) Analitik

Pemeriksaan histopatologi merupakan pemrosesan spesimen berupa jaringan menjadi spesimen yang terfiksasi dan tertanam dalam parafin untuk kemudian

dipotong tipis, diletakkan pada slaid, diwarnai oleh hematoksilin dan eosin, dan giemsa jika diperlukan, lalu diinterpretasi oleh SpPA. Layanan ini merupakan baku emas diagnosis. Pada kasus-kasus tertentu diagnosis histopatologi membutuhkan layanan pemeriksaan khusus (histokimia) dan layanan pemeriksaan lanjut (imunohistokimia), untuk mengkonfirmasi diagnosis, serta kebutuhan-kebutuhan khusus lainnya, misalnya: penentuan terapi dan prediksi prognosis.

Berikut adalah berbagai tahapan secara garis besar yang dijalankan dalam suatu layanan pemeriksaan histopatologi:

- (1) Pengecekan kesesuaian identitas jaringan dan formulir pasien.
- (2) Proses pemotongan makroskopik : Melakukan pemeriksaan spesimen dan dilakukan pengukuran, pencatatan kelainan makroskopik sesuai dengan standar pemotongan makroskopik berdasarkan organ, spesimen dimasukkan ke dalam kaset yang telah diberi identitas penomoran, dilakukan perendaman di dalam formalin buffer 10% sebelum dilakukan proses lanjutan.
- (3) Pemrosesan spesimen dapat berlangsung dengan cara manual ataupun menggunakan mesin otomatis yang mencakup fiksasi, dehidrasi dengan alkohol bertingkat, *clearing* dengan xylol atau cairan pengganti xylol dan infiltrasi dengan parafin cair. Parafin yang digunakan hendaknya memiliki titik leleh.

Tabel 2
Prosedur Pada *Tissue Processing*

No Chamber	Tahap	Larutan	Waktu
1	2	3	4
1	Fiksasi	Buffer Formalin	2 jam
2	Dehidrasi	Alkohol 70%	30 menit
3	Dehidrasi	Alkohol 80%	30 menit

No Chamber	Tahap	Larutan	Waktu
1	2	3	4
4	Dehidrasi	Alkohol 96%	1 jam
5	Dehidrasi	Alkohol Absolut	1 jam
6	Dehidrasi	Alkohol Absolut	1,30 jam
7	Dehidrasi	Alkohol Absolut	2 jam
8	<i>Clearing</i>	Xylol	1 jam
9	<i>Clearing</i>	Xylol	1 jam
10	<i>Clearing</i>	Xylol	1,30 jam
11	Infiltrasi	Parafin	2 jam
12	Infiltrasi	Parafin	1,30 jam

(Sumber : RSUD Wangaya Kota Denpasar, 2022)

- (4) Proses penanaman spesimen (*embedding*) untuk meletakkan dan memposisikan spesimen sedemikian rupa dalam parafin.
- (5) Proses pemotongan dengan mikrotomi : pemotongan kasar (*trimming*) untuk menghilangkan kelebihan parafin di atas spesimen dan pemotongan halus (*sectioning*) setebal 3 mikrometer. Khusus untuk spesimen biopsi ginjal dilakukan pemotongan setebal 1 mikrometer.
- (6) Proses pengembangan pita parafin spesimen dengan menggunakan *water bath* berisi air hangat dengan suhu tidak lebih dari 60 ° C (titik didih parafin- lihat petunjuk produsen) dan ditempelkan pada slaid. Slaid yang telah tertempel pita parafin perlu ditiriskan dengan posisi miring secukupnya untuk mencegah gelembung udara yang akan membuat lubang.
- (7) Proses pemanasan dengan menggunakan *hotplate* dengan suhu sesuai titik leleh parafin (lihat petunjuk produsen).
- (8) Proses pewarnaan slaid : pewarnaan Hematoksilin dan eosin dan pewarnaan Giemsa untuk biopsi gaster.

Tabel 3
Prosedur Pewarnaan Hematoksilin – Eosin

No	Tahap	Zat	Waktu
1	2	3	4
1	Deparafinisasi (penghilangan parafin)	Xylol I Xylol II	20 celup
2	Rehidrasi	Alkohol 96% Alkohol 96%	20 celup
3	Pewarnaan hematoksilin	Hematoksilin alum	5 – 10 menit
4	Pencucian	Dicuci dengan air mengalir hingga warnanya biru	30 celup
5	<i>Blueing</i> (cara agar warna biru padainti sel terlihat jelas) lalu gunakan air mengalir untuk mencuci	Lithium carbonat	10 celup
6	Pencucian	Alkohol 95%	10 celup
7	Pewarnaan Eosin	Eosin 1%	30 detik
8	Dehidrasi (penghilangan air)	Alkohol absolut I Alkohol absolut II	20 celup
9	<i>Clearing</i>	Xylol I Xylol II Xylol III	20 celup
10	<i>Mounting</i> (tahap menutup jaringan diantara cover glass dengan objek glass oleh entelan)	Entelan	
11	<i>Labeling</i>	Sticker	

(Sumber : RSUD Wangaya Kota Denpasar, 2022)

- (9) Proses penutupan slaid menggunakan kaca penutup yang bersih, rata, dan tipis, dengan perekat (*mounting medium*) dengan indeks refraksi baik.(IAPI, 2021).

c) Post-analitik

Penanganan limbah untuk zat-zat yang tidak diketahui bahayanya secara signifikan, paparan harus diminimalkan. Kecuali diketahui sebaliknya, asumsikan bahwa campuran apapun lebih beracun daripada komponen yang paling beracun dan semua zat yang tidak diketahui toksisitasnya adalah berbahaya. Hindari menyimpan makanan atau minuman di lemari penyimpanan, lemari es, barang pecah belah, atau peralatan yang digunakan untuk operasi laboratorium.

Selain bahan kimia yang berbahaya, slide dan blok parafin juga harus disimpan tanpa batas waktu jika fasilitas tersedia karena bersifat permanen dan dapat dievaluasi sesuai kebutuhan (Rao *et al.*, 2016).

- (1) Hasil pemeriksaan dinilai secara makroskopis dan dicatat pada lembar penilaian makroskopi.
- (2) Hasil pemeriksaan mikroskopis diamati menggunakan mikroskop dengan kamera olympus EP 50
- (3) Dokter Patologi Anatomi memvalidasi hasil yang telah dicatat dengan menandatangani formulir penilaian mikroskopis
- (4) Pembuangan sampah medis yang telah selesai digunakan dengan cara sebagai berikut:

Identifikasi dan klasifikasi jenis limbah, seperti limbah infeksius, limbah sisa jaringan lainnya, limbah kimia berbahaya (formalin dan xylene),

limbah tajam (jarum, pisau mikrotom), dan limbah non-infeksius. Pengumpulan limbah ditempat yang sesuai, kumpulkan limbah dalam wadah yang ditentukan seperti, jaringan tubuh disimpan dalam wadah tertutup yang diberi label mengandung formalin, limbah tajam dibuang ke dalam *safety box*, limbah kimia berbahaya dibuang dalam wadah tahan bahan kimia yang ditutup rapat dan diberi label yang jelas, dan limbah infeksius dimasukan ke dalam kantong kuning (plastik khusus limbah B3).

Penyimpanan sementara, limbah yang telah dikumpulkan disimpan di tempat penyimpanan sementara limbah medis yang tertutup, berventilasi baik, dan memiliki akses terbatas untuk mencegah paparan.

Pengangkutan internal, limbah diangkut secara hati-hati dari laboratorium ke tempat penyimpanan sementara dengan troli atau wadah tertutup yang tidak mudah bocor dan mudah dibersihkan.

Pengolahan dan pemusnahan, limbah jaringan dan limbah tajam dimusnahkan melalui iniserator oleh pihak ketiga berizin atau fasilitas rumah sakit yang memiliki iniserator sesuai regulasi. Limbah kimia melalui netralisasi, pengenceran, atau dikirim ke pengolahan limbah B3 berizin. Limbah infeksius disterilisasi dengan autoklaf sebelum dimusnahkan (IAPI, 2021).

E. Jenis Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Sekunder

Data sekunder yakni data yang didapatkan peneliti dari beberapa sumber

yang telah ada (Sujarweni, 2015). Jenis data sekunder didapatkan dari data dokumen rekam medis dan arsip pemeriksaan penunjang yang tersedia di rumah sakit serta jurnal, artikel, dan buku untuk mendukung dan melengkapi data penelitian.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Setelah pengumpulan data, pengolahan data merupakan salah satu tahapan dalam rangkaian proses penelitian (Hastono, 2016). Teknik pengolahan data meliputi:

a. *Editing* (pengolahan data)

Data hasil pemeriksaan dikumpulkan dan dimasukkan sesuai syarat dan kebutuhan peneliti. Edit data dilakukan untuk memperbaiki kesalahan atau mengisi kekosongan dalam temuan data mentah yang telah dikumpulkan. Menghilangkan data yang tidak sesuai dengan kriteria analisis dapat mengakibatkan kesalahan data.

b. *Coding* (pemberian kode)

Proses pemberian kode tertentu pada setiap bagian data yang masuk dan mengkategorikan setiap bagian data setelah diberi kategori. Bergantung pada jenis data, kode dapat berupa huruf atau bilangan bulat. Kode yang diberikan harus logis dan secara akurat mencerminkan temuan penelitian.

c. *Entry* (pemasukan data)

Proses input data yang dilakukan untuk mengumpulkan data hasil lembar observasi dan dokumentasi penelitian.

d. *Cleaning* (pembersihan data)

Proses pembersihan data-data penelitian yang mengalami kekeliruan atau kesalahan saat pengecekan ulang.

e. *Saving* (penyimpanan data)

Proses penyimpanan data setelah proses input dan analisis yang telah dilakukan peneliti.

f. *Tabulating* (penyajian data)

Memasukkan data ke dalam format tabel, mengisinya berdasarkan kebutuhan analisis, dan kemudian menggunakan perangkat lunak statistik untuk menganalisis.

2. Analisis data

Karena analisis data memberikan arti atau makna pada data yang dapat diterapkan pada pemecahan masalah penelitian, maka analisis data merupakan proses penelitian yang penting (Hastono, 2016).

a. Analisis univariat

Analisis univariat adalah suatu teknik analisis data terhadap suatu variabel secara mandiri, tiap variabel dianalisis tanpa dikaitkan dengan variabel lainnya (Sugiyono, 2024). Dalam penelitian ini, analisis univariat pada kualitas sediaan histopatologi dan TAT memberikan gambaran dasar mengenai distribusi, proporsi, dan karakteristik masing-masing variabel. Penting untuk memahami kondisi laboratorium secara umum dan menjadi dasar persiapan analisis bivariat yang akan digunakan untuk menilai hubungan antara kualitas sediaan histopatologi dengan TAT, sehingga dapat diketahui apakah variasi kualitas sediaan mempengaruhi lama waktu penyelesaian pemeriksaan.

b. Analisis bivariat

Analisis bivariat merupakan analisis yang dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Sugiyono, 2024). Uji normalitas adalah suatu prosedur yang digunakan untuk mengetahui apakah data berasal dari populasi yang terdistribusi normal atau berada dalam sebaran normal. Distribusi normal adalah distribusi simetris dengan modus, mean dan median berada dipusat (Nuryadi et al., 2017). Uji normalitas dilakukan karena, data yang berdistribusi (sebarannya) normal, yang berarti data tersebut dapat dianggap dapat mewakili populasi dan data yang berdistribusi normal merupakan syarat dalam melakukan uji statistik parametrik. Uji Shapiro-Wilk adalah uji normalitas yang lebih akurat jika digunakan untuk sampel dalam jumlah kecil atau sedikit (Ahadi & Zain, 2023). Hasil analisa data dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

- 1) Apabila nilai $\text{sign} > (0,05)$ maka data berdistribusi normal.
- 2) Apabila $\text{sign} \leq (0,05)$ maka data tidak berdistribusi normal.

Apabila hasil uji Shapiro-Wilk berdistribusi normal maka kemudian digunakan uji korelasi dari Pearson Product Moment, namun jika hasil uji Shapiro-Wilk tidak berdistribusi normal maka menggunakan uji korelasi dari Spearman. Analisis bivariat uji statistik korelasi Pearson Product Moment ini dibantu dengan program komputer SPSS. Hasil uji statistik menghasilkan p- value. Cara menyimpulkan p-value berdasarkan analisa data adalah sebagai berikut (Sugiyono, 2024):

- 1) Apabila nilai $p \text{ value} > (0,05)$, maka kesimpulan adalah H_0 diterima dan H_a ditolak sehingga tidak ada hubungan antar varibel penelitian.
- 2) Apabila nilai $p \text{ value} < (0,05)$, maka kesimpulan adalah H_0 ditolak dan H_a

diterima sehingga ada hubungan hubungan antar variable penelitian.

Korelasi dapat menghasilkan angka yang positif (+) atau negatif (-). Jika angka korelasi positif berarti hubungan bersifat searah. Searah artinya jika variabel bebas besar, variabel terikat semakin besar. Jika menghasilkan angka negatif berarti hubungan bersifat tidak searah. Tidak searah artinya jika nilai variabel bebas besar, variabel terikat semakin kecil.

Teknik analisis untuk mengukur kuat lemahnya hubungan antar variabel menggunakan angka korelasi yang berkisar antara 0-1. Kekuatan hubungan korelasi, menurut (Jonathan Sarwono, 2018), sebagai berikut:

Tabel 4
Kekuatan Hubungan Korelasi

Nilai Pearson	Correlation
0,00 – 0,20	Tidak ada korelasi
0,21 – 0,40	Korelasi sangat lemah
0,41 – 0,60	Korelasi cukup
0,61 – 0,80	Koreksi kuat
0,81 – 1,00	Korelasi sangat kuat

G. Etika Penelitian

Penelitian di laboratorium medis, termasuk laboratorium Patologi Anatomi, melibatkan sampel biologis manusia atau data pasien. Oleh karena itu, setiap penelitian harus mematuhi prinsip-prinsip etika ilmiah yang menjamin keselamatan, hak, dan martabat subjek manusia, sekaligus menjaga integritas dan kejujuran ilmiah. Etika penelitian di laboratorium medis menekankan bahwa semua sampel dan data harus digunakan secara bertanggung jawab, aman, dan hanya untuk tujuan ilmiah, serta dilaksanakan sesuai dengan standar nasional maupun internasional yang berlaku.

1. Persetujuan komite etik (*Ethical Clearance*)

Sebelum penelitian dilakukan, seluruh prosedur harus mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian atau lembaga yang berwenang. Persetujuan ini memastikan bahwa kegiatan penelitian telah memenuhi standar etika dan hukum yang berlaku, serta melindungi hak dan keselamatan subjek manusia. Ethical clearance menjadi landasan resmi bagi laboratorium untuk melakukan penelitian secara sah dan etis.

2. Kerahasiaan dan privasi subjek

Laboratorium medis harus menjamin kerahasiaan data pasien. Identitas subjek harus disamarkan atau diganti kode sampel sebelum digunakan untuk analisis, sehingga data tidak dapat diidentifikasi secara langsung. Hal ini penting untuk melindungi privasi subjek, mencegah penyalahgunaan informasi, dan menjaga kepercayaan masyarakat terhadap institusi kesehatan.

3. Penggunaan sampel dan data secara etis

Sampel biologis dan data klinis harus digunakan sesuai tujuan ilmiah dan hanya yang relevan dengan pertanyaan penelitian. Pemilihan sampel harus dilakukan secara objektif dan adil, berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang jelas, tanpa diskriminasi terhadap kelompok tertentu. Semua prosedur harus mengikuti protokol laboratorium yang standar dan disetujui oleh Komite Etik.

4. Tidak menimbulkan risiko bagi subjek (*Non-Maleficence*)

Penelitian di laboratorium medis harus meminimalkan risiko fisik, psikologis, atau sosial terhadap subjek. Sampel yang digunakan biasanya bersifat sekunder atau arsip, sehingga subjek tidak mengalami intervensi

langsung. Prinsip non-maleficence memastikan bahwa penelitian tidak merugikan individu atau masyarakat secara langsung maupun tidak langsung.

5. Integritas dan kejujuran ilmiah

Peneliti dan tenaga laboratorium wajib melaksanakan semua prosedur dengan jujur dan bertanggung jawab. Data harus dicatat, dianalisis, dan dilaporkan secara akurat, tanpa manipulasi. Integritas ilmiah menjamin hasil penelitian dapat dipercaya, transparan, dan bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta peningkatan mutu layanan laboratorium.

6. Prinsip keadilan (*Justice*)

Setiap sampel dan data harus diperlakukan secara adil, tanpa memprioritaskan atau merugikan kelompok tertentu. Prinsip keadilan juga mencakup pemilihan sampel yang objektif dan penggunaan data untuk tujuan ilmiah, bukan untuk kepentingan pribadi atau komersial.

7. Pengelolaan dan penyimpanan data

Data dan sampel harus disimpan dengan aman dan terlindungi, serta hanya dapat diakses oleh personel yang berwenang. Setelah penelitian atau analisis selesai, data tetap dikelola sesuai kebijakan institusi dan tidak digunakan untuk tujuan lain tanpa izin. Pengelolaan yang baik juga mendukung akuntabilitas dan integritas laboratorium medis.