

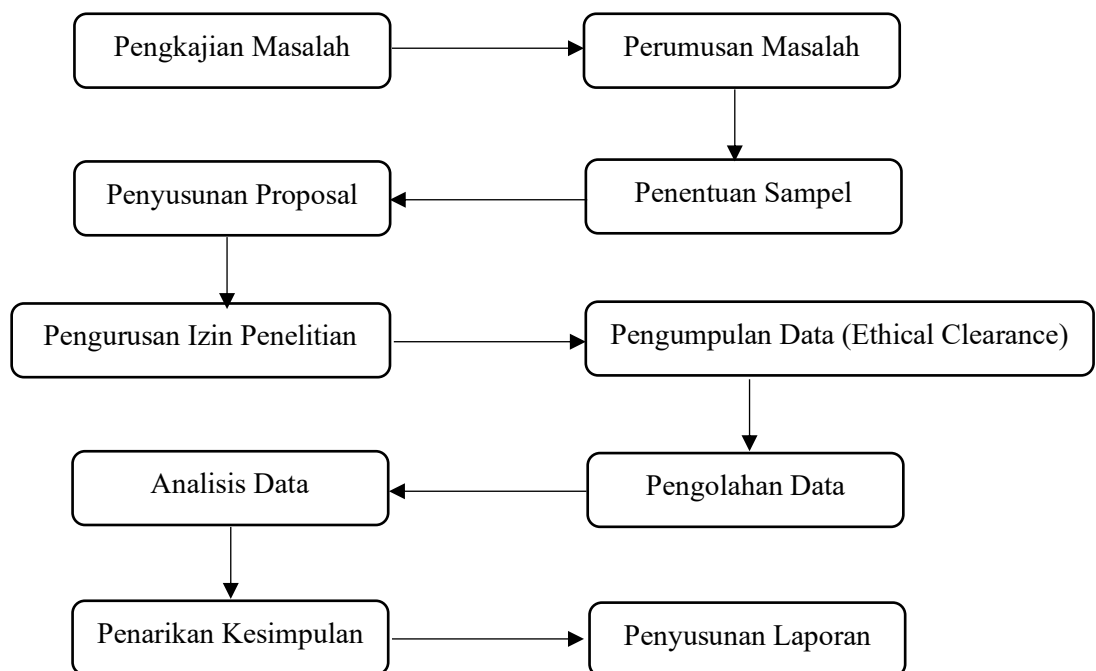
BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *observasional* analitik dengan desain *cross-sectional* serta pendekatan retrospektif. Studi *cross-sectional* adalah suatu rancangan penelitian yang menilai hubungan antara paparan dan penyakit secara simultan pada satu titik waktu tertentu di dalam suatu populasi (Notoatmodjo, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara grading histopatologi dengan subtype molekuler pada pasien IBC-NST di RSD Mangusada.

B. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSD Mangusada, Jl. Raya Kapal, Kec. Mengwi, Kab. Badung. Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April 2026.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien IBC-NST yang melakukan pemeriksaan imunohistokimia di RSD Mangusada pada tahun 2023–2025. Pada penelitian ini didapatkan jumlah populasi sebesar 158 populasi.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini mencakup seluruh populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *total sampling*, yakni seluruh kasus yang memenuhi kriteria tersebut dimasukkan sebagai sampel penelitian.

Berdasarkan proses seleksi terhadap 158 kasus, diperoleh sebanyak 125 kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, sehingga jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 125 responden.

a. Kriteria inklusi

- 1) Pasien dengan diagnosis IBC-NST berdasarkan pemeriksaan histopatologi.
- 2) Memiliki data grading histopatologi yang lengkap.
- 3) Memiliki hasil pemeriksaan imunohistokimia ER, PR, HER2 dan Ki67
- 4) Data tercatat lengkap dalam rekam medis atau arsip Patologi Anatomi RSD Mangusada.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Kasus dengan data imunohistokimia *Indeterminate* (tidak terpulas).
- 2) Kasus dengan data HER2 positif 2 (2+) yang belum dapat dimasukkan dalam kategori subtype molekuler sebelum dilakukan pemeriksaan lanjutan seperti (Fluorescence in Situ Hybridization/FISH).
- 3) Pasien yang telah mendapatkan terapi neoadjuvan sebelum pengambilan sampel (jika tercatat).
- 4) Tidak memiliki data grading histopatologi yang lengkap.

3. Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel yang diterapkan dalam penelitian ini adalah *nonprobability sampling* dengan metode *total sampling*, yaitu seluruh kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi selama periode penelitian diikutsertakan sebagai sampel. (Setyawati dkk., 2023)

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dihimpun dalam penelitian ini merupakan data sekunder yang bersumber dari rekam medis pasien, arsip laporan histopatologi dengan diagnosis *IBC-NST*, serta arsip hasil pemeriksaan imunohistokimia *Panel Breast*. Data tersebut meliputi usia pasien, hasil grading histopatologi dengan diagnosa *IBC-NST*, dan hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHK) ER, PR, HER2, dan Ki67.

2. Teknik pengumpulan data

- a. Peneliti berdiskusi dengan dokter spesialis Patologi Anatomi dan tenaga laboratorium, untuk memilih pasien yang memenuhi kriteria inklusi berdasarkan

data pasien pada Laboratorium Patologi Anatomi dan riwayat pemeriksaan pada *Laboratory Information System* (LIS).

- b. Peneliti mencari data hasil pemeriksaan dengan hasil histopatologi IBC-NST yang telah melakukan pemeriksaan imunohistokimia *Panel Breast* pada LIS dan juga buku register pasien di Laboratorium Patologi Anatomi.
- c. Data direkapitulasi untuk analisis lebih lanjut.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah data rekam medis yang memuat karakteristik pasien, termasuk usia pasien, grading histopatologi, dan subtype molekuler pada pasien IBC-NST.

F. Prosedur Pemeriksaan

1. Pemeriksaan histopatologi

a. Alat dan bahan

1) Alat

- a) *Thermo Tissue processor*
- b) *Thermo Embedding station*
- c) Thermo Mikrotom
- d) *Leica Water bath*
- e) *Leica Hot Plate*
- f) *Thermo Gemini AS Automated Slide Stainer*

2) Bahan

- a) Alat pelindung diri (APD), berupa jas laboratorium, sarung tangan, masker, dan pelindung mata.
- b) Pisau mikrotom

- c) *Object glass* dan *cover glass*
- d) Formalin buffer 10%
- e) Alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, absolut)
- f) Xylene
- g) Paraffin
- h) Hematoksilin
- i) Eosin
- j) Aquades
- k) *Mounting media*

b. Prosedur pemeriksaan histopatologi

- 1) Sampel jaringan telah difiksasi menggunakan formalin buffer 10%.
- 2) Jaringan dipotong sesuai kebutuhan pemeriksaan (grossing)
- 3) Kemudian diproses dengan alat Thermo tissue processor, dengan rincian waktu sebagai berikut:

- | | |
|---------------------|------------|
| a) NBF 10 % | = 30 menit |
| b) NBF 10% | = 30 menit |
| c) Alkohol 70% | = 1,5 jam |
| d) Alkohol 80% | = 1,5 jam |
| e) Alkohol 90% | = 1,5 jam |
| f) Alkohol Absolute | = 1 jam |
| g) Alkohol Absolute | = 1,5 jam |
| h) Alkohol Absolute | = 2 jam |
| i) Xylene | = 2 jam |
| j) Xylene | = 2 jam |

- k) Parafin = 1,5 jam
- l) Parafin = 2 jam
- 4) Kemudian dilakukan proses *embedding* (pembuatan blok paraffin)
- 5) Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan $\pm 3-4$ mikron.
- 6) Irisan jaringan diletakkan pada waterbath dan ditempelkan pada *object glass* dan dikeringkan.
- 7) Jaringan dipanaskan untuk melelehkan paraffin dan merekatkan jaringan dengan menggunakan hotplate suhu 58°C .
- 8) Dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) dengan menggunakan Thermo Gemini AS Automated Slide Stainer, dengan prosedur:
 - a) Xylene = 5 menit
 - b) Xylene = 5 menit
 - c) Alkohol Absolute = 2 menit
 - d) Alkohol 90% = 2 menit
 - e) Alkohol 80% = 2 menit
 - f) Alkohol 70% = 2 menit
 - g) Aquadest = 3 menit
 - h) Harris Hematoxylin = 10 menit
 - i) Aquadest = 3 menit
 - j) Bluing = 1 menit
 - k) Aquadest = 3 menit
 - l) Alkohol absolute = 2 menit
 - m) Eosin = 1 menit
 - n) Alkohol 90% = 2 menit

- o) Alkohol Absolute = 2 menit
- p) Alkohol Absolute = 2 menit
- q) Xylene = 5 menit
- r) Xylene = 5 menit

9) Preparat yang telah diwarnai kemudian dimounting.

10) Preparat diamati menggunakan mikroskop Cahaya.

2. Pemeriksaan imunohistokimia

a. Alat dan bahan

1) Alat

- a) Thermo Mikrotom
- b) *Leica Water bath*
- c) *Leica Hot plate*
- d) *Alat automated immunostainer Leica BOND-MAX*

2) Bahan

- a) Alat pelindung diri (APD), berupa jas laboratorium, sarung tangan, masker, dan pelindung mata.
- b) Blok parafin
- c) Pisau mikrotom
- d) Kaca slide khusus IHK
- e) *Bond polymer refine detection system*
- f) *Primary antibody breast panel* (ER, PR, HER-2, Ki-67)
- g) *Mounting media*

b. Prosedur pemeriksaan

- 1) Menyiapkan blok jaringan parafin yang akan dilakukan pengecatan imunohistokimia.
- 2) Memotong blok sesuai permintaan pemeriksaan dan menyiapkan kontrol positif (+).
- 3) Mengeringkan (meniriskan) slide pada suhu ruang selama semalam.
- 4) Memanaskan slide pada suhu 58°C selama 10 menit.
- 5) Menginput data slide dan mencetak label, kemudian menempelkan label pada slide.
- 6) Meletakkan slide pada tray sesuai protokol alat dan menutup dengan covertedile.
- 7) Memasukkan tray ke dalam alat IHK.
- 8) Menekan tombol pada alat dan menjalankan program melalui komputer sesuai protokol IHK yang telah terprogram.
- 9) Setelah proses pengecatan selesai, tekan tombol pada alat untuk mengangkat slide dari tray.
- 10) Angkat covertedile, kemudian rendam slide dalam alkohol absolut selama 5 menit.
- 11) Celupkan slide ke dalam xylene.
- 12) Lakukan mounting menggunakan entelan dan tutup slide dengan cover glass.
- 13) Slide IHK dibaca dan diinterpretasikan oleh dokter Patologi Anatomi.

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data dilakukan melalui tahapan:

a. Editing

Tahap editing meliputi proses peninjauan kembali data yang diperoleh dari LIS guna meminimalkan kesalahan maupun ketidaklengkapan data. Pada tahap ini dilakukan pemeriksaan serta perbaikan data penelitian untuk menjamin ketepatan, konsistensi, dan kesesuaiannya dengan tujuan penelitian (Notoatmodjo, 2018). Dalam penelitian ini, proses editing dilaksanakan bersamaan dengan berlangsungnya kegiatan penelitian.

b. Coding

Coding adalah proses pemberian simbol berupa angka atau kode tertentu pada setiap data yang telah dikumpulkan guna mempermudah tahap pengolahan selanjutnya. Tahapan ini bertujuan untuk menata data secara sistematis, mengelompokkannya ke dalam kategori yang sesuai, serta membantu peneliti dalam melakukan analisis dan penafsiran data penelitian.

c. Tabulating

Tabulasi merupakan tahap penyusunan data dengan cara mengelompokkan informasi yang telah dikumpulkan berdasarkan tujuan penelitian, kemudian menyajikannya ke dalam bentuk tabel yang telah dirancang sebelumnya. Proses ini dilakukan untuk mempermudah peneliti dalam melakukan analisis serta penafsiran data sesuai dengan sasaran penelitian. (Notoatmodjo, 2018)

d. Entry data

Proses entry data merupakan tahapan pemasukan seluruh informasi yang sebelumnya telah melalui tahap coding ke dalam suatu perangkat lunak komputer, dengan tujuan untuk selanjutnya diolah dan dianalisis secara lebih mendalam.

e. *Cleaning*

Tahap *cleaning* data merupakan proses penelaahan ulang terhadap data yang telah dimasukkan ke dalam program komputer, guna memastikan bahwa tidak ditemukan kekeliruan selama tahap pengolahan berlangsung. Melalui prosedur verifikasi ini, data dapat dipastikan berada dalam kondisi yang valid sehingga siap digunakan untuk keperluan analisis selanjutnya (Notoatmodjo, 2018)

2. Analisis data

a. Analisis univariat

Analisis *univariat* adalah pendekatan dalam penelitian yang dilakukan dengan mengkaji setiap variabel secara terpisah. Setelah seluruh data terkumpul, informasi tersebut diolah menggunakan statistik deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel, sehingga distribusi masing-masing variabel dapat tergambarkan secara sistematis. (Notoatmodjo, 2018)

Pada penelitian ini, analisis univariat dilakukan dengan bantuan program komputer. Analisis tersebut bertujuan untuk menggambarkan karakteristik data penelitian. Variabel yang dianalisis meliputi usia, grading histopatologi dan subtipe molekuler dari hasil Imunohistokimia pada pasien IBC-NST.

b. Analisis bivariat

Analisis bivariat merupakan metode analisis data yang digunakan untuk menilai hubungan antara dua variabel penelitian, yaitu variabel independen dan variabel dependen.

Pada penelitian ini, analisis bivariat dilakukan dengan bantuan program komputer untuk menganalisis hubungan antara grading histopatologi dan subtipe molekuler pasien IBC-NST. Uji statistik yang digunakan adalah uji *Chi-square*,

karena kedua variabel berskala kategorik. Hasil analisis bivariat dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$.

H. Etika Penelitian

Kode etik penelitian merupakan seperangkat pedoman etis yang mengatur keseluruhan proses kegiatan ilmiah, mencakup peran peneliti, pihak yang menjadi subjek penelitian, serta masyarakat yang berpotensi menerima dampak dari hasil penelitian tersebut. Etika penelitian tidak semata-mata menyangkut relasi antara peneliti dan subjek, melainkan juga meliputi sikap, perilaku, serta tanggung jawab peneliti dalam memperlakukan subjek penelitian dan dalam menghasilkan karya ilmiah yang memberikan manfaat bagi masyarakat. (Notoatmodjo, 2018)

Data yang dimanfaatkan dalam kajian ini merupakan data sekunder, meliputi temuan dari pemeriksaan *histopatologi* serta *imunohistokimia* (IHK). Seluruh proses pengolahan dan pelaporan data tidak menyertakan identitas pasien, sehingga kerahasiaan subjek tetap terjaga. Peneliti hanya mengakses data yang relevan dengan tujuan penelitian. Sebelum pelaksanaan penelitian, dokumen *ethical clearance* telah diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Kabupaten Badung.

Adapun prinsip etika yang diterapkan dalam penelitian ini meliputi:

1. Prinsip menghormati martabat manusia (*respect for person*)

Prinsip *respect for person* menekankan bahwa setiap partisipan memiliki otonomi penuh untuk memutuskan keterlibatan mereka secara sukarela dalam suatu penelitian, tanpa tekanan atau potensi kerugian yang dapat membahayakan (Haryani & Setyobroto, 2022). Penerapan prinsip tersebut di dalam penelitian diwujudkan melalui upaya menjaga kerahasiaan identitas partisipan serta

menghormati keberagaman nilai, norma, dan latar belakang budaya. Langkah ini bertujuan untuk mencegah timbulnya permasalahan pada tahap selanjutnya.

2. Prinsip tidak merugikan (*non-maleficence*)

Prinsip *non-maleficence* menegaskan bahwa jika suatu tindakan tidak memberikan keuntungan, maka tindakan tersebut tetap tidak diperkenankan menimbulkan dampak merugikan bagi pihak lain. Prinsip ini bertujuan menjamin bahwa subjek penelitian tidak diperlakukan sekadar sebagai instrumen semata, serta mendapatkan perlindungan terhadap segala bentuk perlakuan yang berpotensi disalahgunakan. (KEPPKN, 2021). Dalam penelitian ini, peneliti memastikan bahwa prosedur penelitian tidak menimbulkan dampak yang merugikan serta menjamin bahwa data yang diperoleh tidak disalahgunakan untuk kepentingan yang dapat merugikan responden.

3. Prinsip manfaat (*beneficence*)

Prinsip *beneficence* mewajibkan peneliti untuk menekan risiko seminimal mungkin sekaligus mengoptimalkan manfaat dari pelaksanaan penelitian. Suatu penelitian diharapkan mampu memberikan kontribusi yang berguna, baik bagi individu maupun bagi masyarakat secara keseluruhan (Haryani & Setyobroto, 2022). Hasil dari penelitian ini diarsipkan di Perpustakaan Politeknik Kesehatan Denpasar, khususnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pustaka maupun rujukan bagi pihak-pihak yang memerlukannya.

c. Prinsip keadilan (*justice*)

Prinsip keadilan bertujuan untuk menjamin perlakuan yang setara dan adil terhadap seluruh responden tanpa adanya diskriminasi. Peneliti wajib menghormati

hak-hak responden, termasuk hak atas privasi dan perlakuan yang adil (Haryani & Setyobroto, 2022). Dalam penelitian ini, prinsip keadilan diterapkan dengan memperlakukan seluruh responden secara sama tanpa membedakan suku, ras, agama, maupun latar belakang budaya.

d. Prinsip kerahasiaan (*confidentiality*)

Prinsip kerahasiaan menegaskan bahwa responden memiliki hak atas privasi dan perlindungan terhadap informasi pribadi yang diberikan selama penelitian. Informasi yang diperoleh dari responden hanya digunakan untuk kepentingan penelitian dan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti (Haryani & Setyobroto, 2022). Identitas responden tidak dicantumkan secara langsung, melainkan digantikan dengan kode atau nomor tertentu untuk menjaga anonimitas responden.