

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *Quasi-Experimental Design*. Penelitian *quasi-experimental design* adalah jenis penelitian yang memiliki kelompok kontrol, namun tidak sepenuhnya mengontrol variabel luar yang memengaruhi eksperimen (Sugiyono, 2017). Penelitian yang dilakukan adalah melakukan pengamatan mikroskopis SADT dengan menggunakan minyak imersi komersial sebagai kontrol dan menggunakan bahan alternatif berupa minyak jarak sebagai perlakuan, dengan subjek/sampel ke dalam kedua kelompok tidak dipilih secara acak (randomisasi).

2. Desain Penelitian

Desain Penelitian yang digunakan adalah desain penelitian *Post-Test Only Control Group Design*. Desain penelitian *Post-Test Only Control Group Design* adalah desain penelitian dengan melibatkan dua kelompok yang masing-masing dipilih acak. Sehingga, satu kelompok diberi perlakuan (X) dan kelompok lain tidak. Hasil pengukuran hanya dilakukan setelah dilakukan perlakuan pada kedua kelompok untuk mengetahui efek perlakuan (Sugiyono, 2015). Dalam penelitian ini kelompok post-test 1 adalah preparat SADT yang diamati dengan minyak imersi dan kelompok post-test 2 adalah preparat SADT yang

diamati dengan minyak jarak, kedua kelompok masing” diamati kualitas citra mikroskop pada masing-masing sediaan. Dengan desain penilaian yang dapat dicermati pada pada Tabel 4.

Tabel 4. Desain Penelitian

Perlakuan	Post-Test
X ₁	O ₁
X ₂	O ₂

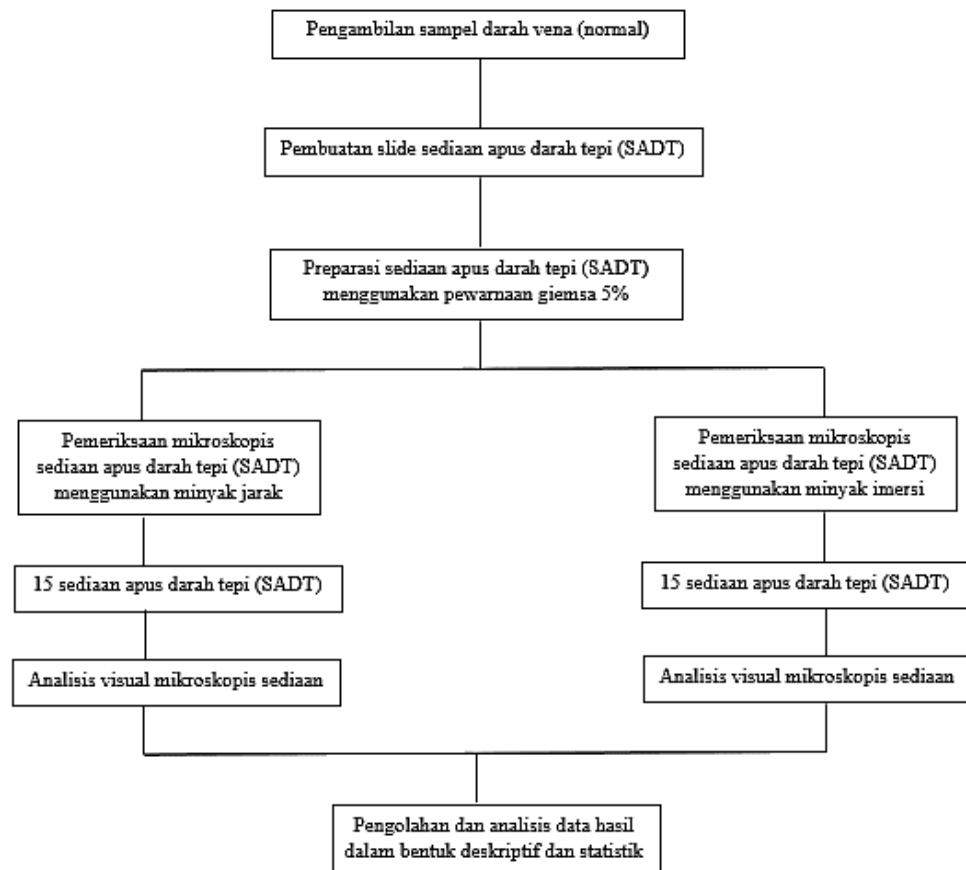
Sumber : Sugiyono, 2019

Keterangan :

- X₁ : Pengamatan mikroskopis menggunakan minyak imersi.
- X₂ : Pengamatan mikroskopis menggunakan minyak jarak.
- O₁ : Kualitas visual tampilan mikroskopis pada sediaan apus darah tepi yang diamati menggunakan minyak jarak.
- O₂ : Kualitas visual tampilan mikroskopis pada sediaan apus darah tepi yang diamati menggunakan minyak imersi.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian ditunjukkan pada Gambar 16.



Gambar 16. Alur Penelitian

C. Subjek Penelitian dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ialah orang, benda, atau lembaga yang secara langsung menjadi sumber data penelitian dan menjadi pihak yang diobservasi dalam variabel penelitian (Arikunto, 2016). Subjek dalam penelitian ini adalah jenis minyak yang digunakan pada proses pengamatan sediaan apus darah tepi (SADT), yakni minyak jarak (*Ricinus communis L*) murni 100%.

2. Objek Penelitian

Menurut (Arikunto, 2010), objek penelitian adalah sasaran ilmiah untuk mendapatkan data dengan tujuan dan kegunaan tertentu tentang sesuatu hal objektif, valid, dan reliabel mengenai suatu variabel tertentu. Objek penelitian merupakan variabel atau hal yang menjadi titik perhatian dari suatu penelitian (Sugiyono, 2019). Pada penelitian ini, kualitas pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) yang dihasilkan menggunakan minyak jarak dibandingkan dengan minyak imersi standar, menggunakan 1 sampel darah EDTA yang direplikasi menjadi 15 preparat sediaan pada masing-masing perlakuan. Sampel darah EDTA didapatkan melalui distribusi kuisioner secara online menggunakan google form kepada mahasiswa Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis Semester 6, dengan kriteria sebagai berikut :

- a) Tidak memiliki riwayat gangguan perdarahan atau kelainan darah (misalnya : anemia, leukimia, hemofilia, dst).
- b) Bersedia menjadi subjek penelitian.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada rentang tanggal 8 - 12 Maret 2026.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis PoltekNIK Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah perlakuan pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) menggunakan medium seperti minyak jarak dan minyak imersi.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah hasil pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) dengan minyak jarak dan minyak imersi, meliputi nilai skor fokus (ketajaman), warna sel darah, kontras sel, dan kecerahan pada kedua minyak.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu penelitian ini adalah keterampilan penilai, obyektivitas penilaian, kualitas minyak jarak, kualitas preparasi sediaan apus darah tepi, dan teknis penggunaan minyak/medium.

4. Skala Ordinal

Skala ordinal penelitian ini adalah penilaian ketajaman dan kejernihan citra, peringkat kualitas gambar berdasarkan skor kualitatif (baik, sedang, buruk).

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Perlakuan pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) adalah proses pengamatan yang dilakukan secara sistematis pada preparat darah tipis yang sudah diwarnai dengan pewarnaan giemsa dengan perbesaran objektif 100x menggunakan minyak imersi dan minyak jarak.
2. Hasil pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) menggunakan minyak jarak dan minyak imersi adalah hasil scoring kualitas visual komponen sel darah yang diperiksa menggunakan perbesaran objektif 100x meliputi fokus (ketajaman), kontras sel, warna sel dan batas dinding sel, serta kecerahan lapang pandang pada kedua minyak.
3. Keterampilan penilai adalah kemampuan atau kemahiran teknis yang dimiliki oleh seorang penilai dalam melakukan pemeriksaan, identifikasi, dan interpretasi terhadap objek yang dinilai berdasarkan standar kompetensi laboratorium yang berlaku
4. Obyektivitas penilaian adalah sikap jujur, bebas dari bias, serta kemandirian penilai dalam memberikan skor atau hasil evaluasi yang didasarkan sepenuhnya pada fakta klinis/laboratorium tanpa dipengaruhi oleh opini pribadi, hubungan emosional, maupun faktor eksternal lainnya.
5. Kualitas preparasi sediaan apus darah tepi (SADT) adalah karakteristik fisik dan mikroskopis dari sediaan apus darah tepi yang dibuat diatas

kaca objek, yang memenuhi syarat teknis sehingga sel-sel darah dapat terwarnai dan teridentifikasi dengan jelas di bawah mikroskop.

6. Teknis penggunaan minyak/medium adalah prosedur dan cara penerapan minyak imersi atau medium alternatif (seperti minyak jarak) pada sediaan yang telah diwarnai, guna meningkatkan indeks bias cahaya saat dilakukan pengamatan menggunakan lensa objektif perbesaran kuat 100x.
7. Minyak jarak adalah minyak alami yang berasal dari ekstrak biji *Ricinus communis* L. dan digunakan sebagai media imersi alternatif untuk meningkatkan kualitas citra mikroskop dengan mengurangi pembiasan cahaya.
8. Minyak imersi adalah media optik berupa minyak yang meningkatkan mutu gambar pada mikroskop dengan indeks bias mirip kaca lensa objektif, mengurangi pembiasan cahaya dan meningkatkan ketajaman serta resolusi gambar pada pembesaran tinggi (100x).

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Menurut Sari dan Putra (2024), data primer adalah data dasar yang dikumpulkan secara langsung dan disengaja dari objek atau subjek penelitian, yang memberikan informasi aktual terkait variabel yang sedang dipelajari. Penelitian ini menggunakan data yang diperoleh dari hasil gambaran pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi

(SADT) menggunakan minyak imersi komersial dan minyak jarak oleh observan.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan melakukan pengamatan dan penilaian hasil menggunakan skor kriteria. Penyusunan data dilakukan dengan melakukan pembuatan sediaan apus darah tepi kemudian dilakukan penilaian hasil dengan pengamatan mikroskopis menggunakan dua minyak berbeda.

Data dikumpulkan dengan melakukan proses scoring pada 15 preparat menggunakan acuan dengan kriteria penilaian sediaan apus darah tepi menurut (Bain, 2015) ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Kriteria Penilaian Sediaan Apus Darah Tepi

Aspek	Kriteria
Kontras warna sel dengan latar belakang	Baik, Cukup, Kurang
Warna sel, batas dinding sel, inti sel, granula, dan sitoplasma	Baik, Cukup, Kurang
Ketebalan, panjang apusan dan posisi sediaan	Baik, Cukup, Kurang
Bentuk ekor, lubang, dan zona evaluasi morfologi sel	Baik, Cukup, Kurang

Sumber : Bain, 2015

Penilaian kualitas sediaan apus darah tepi menggunakan sistem skor yang dimodifikasi dari Bain (2015) dengan penambahan parameter kecerahan dan kejernihan gambar serta ketajaman gambar yang ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Skor Penilaian SADT

Aspek	Skor	Kriteria
Kecerahan dan kejernihan gambar	3	Cerah
	2	Cukup Cerah
	1	Kurang Cerah
Kontras warna sel dan latar belakang	3	Kontras
	2	Cukup Kontras
	1	Kurang Kontras
Ketajaman gambar	3	Tajam
	2	Cukup Tajam
	1	Kurang Tajam
Warna sel, batas dinding sel, inti sel, granula, dan sitoplasma	3	Jelas
	2	Cukup Jelas
	1	Kurang Jelas

Sumber ini dimodifikasi dengan penilaian (Clinical and Laboratory

Standards Institute (CLSI), 2007; Bain, 2015)

Analisis skoring dilakukan untuk mengetahui rerata perbandingan hasil pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) menggunakan minyak imersi sebagai standar dan minyak jarak sebagai alternatif pengganti. Interpretasi persentase efektivitas ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Interpretasi Persentase Efektivitas

Presentase	Kategori Efektivitas
81,5 % - 100 %	Sangat Baik (Sangat Efektif)
62,5% - 81,5%	Baik (Efektif)
43,5% - 62,5%	Cukup Efektif
≤ 43%	Buruk (Tidak Efektif)

Sumber : Adam Malik, 2023

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Mikroskop Cahaya
- b. Pipet Tetes

- c. Mikropipet 10 – 20 μ L
- d. *Object Glass*
- e. Tabung EDTA
- f. *Cover Glass* 18 x 18 mm
- g. Spuit 3 cc
- h. Torniquet
- i. Tip Kuning
- j. pH indikator atau pH meter (Kertas pH)
- k. *Beaker Glass* 100 ml dan 250 ml
- l. Batang Pengaduk
- m. Corong
- n. Rak Pengecatan
- o. Pipet Tetes
- p. Alkohol Semprot
- q. Rak Tabung Reaksi
- r. Ember Sampah
- s. *Safety Box*
- t. Pipet Ukur
- u. *Dispensette Roller*
- v. Rak Pewarnaan
- w. Rak Tabung Ukur
- x. Kapas dan *Alkohol Swab*
- y. Tisu Lensa

z. Timer

2. Bahan

- a. Sampel Darah EDTA < 2 jam
- b. Minyak Jarak 100%
- c. Minyak Imersi
- d. Akuades
- e. Larutan Entellan 100%
- f. Larutan Pewarna (Giemsa Stok) 100%

Komposisi : Giemsa Powder (Azure I, Azure II, Eosin Y) 0,8%
sebanyak 4 g, Gliserol 50% 250 mL, dan Metanol Absolute 50%
250 mL.

3. Reagen

- a. Larutan Fiksatif (*Methanol*) 98%
- b. Larutan Buffer PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pH 6.6 - 7.2

I. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian merupakan alat yang digunakan dalam kegiatan penelitian. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1. Mikroskop cahaya adalah alat yang digunakan untuk menganalisis hasil sediaan apusan darah tepi (SADT).
- 2. *Object glass* / kaca preparat adalah alat yang digunakan untuk membuat atau spreader sekaligus media sediaan apus darah tepi (SADT).

J. Uji Validitas Instrumen

Uji validitas adalah proses untuk mengukur sejauh mana sebuah alat ukur atau instrumen penelitian dapat mengukur apa yang seharusnya diukur secara tepat dan akurat; instrumen yang valid akan menghasilkan data yang mencerminkan kondisi nyata dari variabel yang diteliti, sehingga validitas merupakan dasar penting untuk memastikan ketepatan dan kesahihan hasil penelitian sehingga dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Sugiyono, 2019).

Uji validitas penelitian untuk pemanfaatan minyak jarak sebagai alternatif minyak imersi pada pengamatan mikroskopis sediaan apus darah tepi (SADT) diawali dengan penggunaan sediaan kontrol standar yang diamati menggunakan mikroskop dengan minyak imersi komersial sebagai pembanding. Jika, hasil pengamatan menggunakan minyak jarak menunjukkan perbedaan signifikan dari rentang kualitas visual yang diharapkan, maka perlu dilakukan evaluasi menyeluruh pada instrumen dan bahan yang digunakan, seperti pemeriksaan kondisi mikroskop, kebersihan lensa, serta karakteristik fisik minyak jarak (misalnya viskositas dan indeks bias). Evaluasi juga meliputi penyesuaian langkah pemeriksaan prosedur standar pengamatan dengan minyak imersi. Prosedur ini memastikan bahwa penggunaan minyak jarak mampu memberikan hasil pengamatan mikroskopis yang sah dan konsisten dengan standar kualitas visual yang diharapkan dalam pengamatan apus darah tepi.

K. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan
 - a. Perijinan permohonan *Ethical Clearance* diproses ke bagian Komite Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
 - b. Surat permohonan diproses untuk memperoleh sampel.
 - c. Alat dan bahan disiapkan.
2. Tahap Pelaksanaan
 - a. Tahap Pelaksanaan Kontrol Kualitas
 - 1) Sediaan apus darah tepi (SADT) diperiksa menggunakan minyak imersi standar yang dibaca pada mikroskop sama.
 - 2) Hasil analisis citra visual mikroskopis dibandingkan dengan citra normal visual jenis sel darah, jika hasil yang diperiksa menunjukkan nilai normal maka instrumen dapat digunakan untuk penelitian.
3. Tahap Pengolahan Sampel
 - a. Responden melakukan pengisian *informed consent* untuk ikut berpartisipasi dalam penelitian.
 - b. Responden dilakukan pengambilan darah vena.
 - c. Sampel darah vena diolah dengan ketentuan menurut PDS PatKLIn (2018), sebagai berikut :
 - 1) Sampel darah segera dipindahkan dalam tabung ungu/tabung yang berisi EDTA.

- 2) Sampel darah segera dibuat apusan maksimal 2 jam setelah proses pengambilan darah untuk mencegah perubahan morfologi.
- 3) Sediaan apusan darah tepi yang sudah jadi segera dilakukan fiksasi dan pengecatan giemsa, kemudian dikeringkan dan diberi label.

d. Persiapan reagen

Reagen diperhatikan batas *expired date*, stabilitas fisik dan kimia reagen, serta kondisi kemasan reagen tidak rusak serta warna reagen yang tidak berubah.

e. Prosedur pemeriksaan

- 1) Reagen giemsa dibuat sebesar 5% dengan cara mencampurkan giemsa stok dengan buffer pH 6.8 – 7.2. Untuk 400 mL dilakukan pencampuran 20 mL giemsa stok + 380 mL larutan buffer pH 6.8 – 7.2, atau pada rasio 1 : 20 (stok : buffer) yang disesuaikan dengan rumus pengenceran giemsa 5% :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan :

C_1 : konsentrasi giemsa stok (100%)

V_1 : volume larutan stok yang diperlukan (mL)

C_2 : konsentrasi larutan akhir yang diinginkan (5%)

V_2 : volume larutan akhir yang diinginkan (400 mL)

- 2) Darah EDTA < 2 jam dibuat apusan darah tipis dengan cara mengapus tetesan darah menggunakan spreader kemiringan 30 - 45° dari kaca objek, apusan dikeringkan dan difiksasi

menggunakan metanol absolut selama 1-3 menit (hingga seluruh apus terlapisi). Sediaan apusan darah tipis dilakukan pengecatan giemsa selama 15 - 20 menit. Sediaan dibilas dengan air mengalir hingga tidak ada pewarna tersisa pada tepi slide dan warna terlihat kontras (tidak digosok apus).

- 3) Sediaan apusan darah tipis yang sudah diamati dan kering ditetesi entellan 100% dan ditutup dengan *cover glass*. Sediaan yang sudah diwarnai dan dibiarkan hingga kering dan diamati dengan mikroskop dimulai dari objektif 10x untuk menemukan zona morfologi, lalu ke 100x. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan minyak imersi sesuai standar dan minyak jarak sebagai alternatif.

L. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh dimasukan dalam bentuk tabel dan diagram dengan skor penilaian 1-3 yang disajikan. Data dianalisis secara deskriptif dalam perhitungan penyebaran data melalui penghitungan rerata hasil penilaian sediaan apus darah tepi yang diamati menggunakan minyak imersi dan yang diamati menggunakan minyak jarak.

2. Analisis Statistik

Data dianalisis dengan mencantumkan data sesuai dengan perlakuan sampel, kemudian dilakukan uji menggunakan SPSS. Hasil tersebut

dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro Wilk*. Jika data berdistribusi normal dengan nilai signifikan $p \geq \alpha$ (0,05) maka selanjutnya dilakukan uji *Independent Sample T-Test*. Namun, jika salah satu variabel tidak normal maka dapat menggunakan uji *Wilcoxon* sebagai pengganti uji *Independent Sample T-Test*.

3. Analisis Efektivitas

Data dianalisis menggunakan rerata hasil pengamatan menggunakan minyak imersi dan minyak jarak dalam bentuk presentase. Data dikategorikan dalam sebuah interpretasi efektivitas.

4. Analisis Reliabilitas

Data dianalisis menggunakan total hasil pengamatan masing masing preparat dan masing-masing penilai. Data diukur tingkat korelasinya menggunakan *Uji Koefisien Intra Kelas ICC (2,1)* untuk menghasilkan komponen perhitungan ICC yang terdiri dari : *Grand Mean*, MS_S , MS_R , MS_E . Data *mean* diukur menggunakan uji koefisien intra kelas ICC (2,1) dan hasil akan diinterpretasi uji realibilitas pada Tabel 8.

Tabel 8. Interpretasi Reliabilitas

Nilai Koefisien Intra Kelas	Interpretasi
> 0.8	Sangat Baik
0.6 – 0.8	Baik
< 0.6	Sedang

Sumber :Mardapi, 2016

M. Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh Surat Keterangan Layak Etik atau *Ethical Clearence* dengan nomor DP.04.03/e-KEPK.1/062/2026 oleh Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta pada tanggal 15 Januari 20