

**PENGARUH LAMA PENGUAPAN LARUTAN FIKSASI
TERHADAP HASIL MAKROSKOPIS DAN
MIKROSKOPIS SEDIAAN APUS
DARAH TEPI**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Program Studi Analis Kesehatan



Diajukan Oleh :

Dian Rachmawati

G1C012004

**PROGRAM STUDI DIV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2016**

<http://lib.unimus.ac.id>

Halaman Persetujuan

Skripsi dengan judul “Pengaruh Lama Penguapan Larutan Fiksasi Terhadap Hasil Makroskopis Dan Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi” oleh Dian Rachmawati (NIM : G1C012004).

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan DIV Kesehatan Program Studi Analis Kesehatan.

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I



Andri Sukeksi, SKM. M. Si
NIK. 28.6.1026.024

Pembimbing II



Dr. Budi Santosa, SKM, M. Si Med
NIK. 28.6.1026.033

Tanggal, 26 September 2016

Tanggal, 26 September 2016

Mengetahui

**Ketua Program Studi D IV Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan**



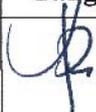
Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si Med
NIK. 28.6.10.26.034

Halaman Pengesahan

Skripsi ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma IV Kesehatan Program Studi Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Tanggal sidang, 14 September 2016

Susunan Tim Penguji

No	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Tulus Ariyadi, SKM, M.Si	Penguji I		26 / 2016 09
2.	Andri Sukeksi, SKM. M.Si	Penguji II		26 / 2016 09
3.	Dr. Budi Santosa, SKM,M.Si. Med	Penguji III		26 / 2016 09

**PENGARUH LAMA PENGUAPAN LARUTAN FIKSASI TERHADAP
HASIL MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS
SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Dian Rachmawati¹, Andri Sukeksi², Budi Santosa³

¹Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,

^{2,3}Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

ABSTRAK

Prosedur pemeriksaan hematologi rutin salah satunya yaitu pemeriksaan sediaan apus darah. Sediaan apus darah tepi merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskopis untuk mengamati morfologi sel darah. Pemeriksaan dilaboratorium dengan banyaknya sampel dan pemeriksaan, memungkinkan sering dilakukan buka tutup pada botol methanol sehingga dapat merubah konsentrasi methanol dan berpengaruh terhadap morfologi sel darah. Mengetahui pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi. Penelitian analitik eksperimental. Sampel penelitian mahasiswa D4 Analis Kesehatan semester tujuh Universitas Muhammadiyah Semarang, dengan teknik *Simple Random Sampling* berjumlah 24 sampel dan dianalisa menggunakan uji chi-squared. Hasil penelitian lama penguapan larutan fiksasi dari waktu segera, 10 menit, 20 menit dan 30 menit ditemukan bahwa berdasarkan makroskopis sediaan apus darah tepi baik. Hasil pengujian nomokrom dan normositik berdasarkan warna dan ukuran dalam kriteria baik. krenasi terjadi perubahan yaitu pada lama fiksasi 10 yang sedang menjadi 16,7%, pada waktu 20 menit yang sedang menjadi 50,0% dan pada waktu 30 menit yang sedang sebanyak 83,5%. Tidak ada pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis untuk warna dan ukuran sediaan apus darah tepi, namun terdapat pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil krenasi sediaan apus darah tepi.

Kata kunci : Lama Penguapan, Larutan Fiksasi, Makroskopis, Mikroskopis, SADT.

**THE EFFECT OF THE LENGTH OF FIXATIVE EVAPORATION TO
MAKROSCOPIC AND MIKROSCOPIC RESULT
TO PERIPHERAL BLOOD SMEAR**

Dian Rachmawati¹, Andri Sukeksi², Budi Santosa³

¹. D IV Study Program Health Analysis Faculty of Nursing and Health Sciences Semarang Muhammadiyah University.

^{2,3}. Pathology of Laboratory Clinic of Nursing and Health Sciences Faculty Semarang Muhammadiyah University.

ABSTRACT

One of the procedural hematologist examinations is peripheral blood smear. Peripheral blood smear is an examination with microscopic technique for observing the morphology of blood cell. The laboratorial examination with the number of sample and examination are frequently unscrew the cap on a bottle of methanol, so it can alter the concentration of methanol and effect on the morphology of blood cell. The aim of the research is to know the effect of the length of fixative evaporation to the macroscopic and microscopic result to peripheral blood smear. The design of the research is analytic experimental. The sample of the research is the health analytic D4 student of Semarang Muhammadiyah University, through Simple Random Simple technique with consist of 24 samples and analyze with chi-squared experiment. The result of the length of fixative evaporation is soon analyzed in 10 minutes, 20 minutes and 30 minutes, it was found that the result of peripheral blood smear is good. The result of normochrom and normositic experiment which based on the color and size are good in both criteria. There are creanation changes in the effect of the length of fixative evaporation, for 10 minutes changes to 16,7%, for 20 minutes changes to 50,0% and for 30 minutes changes to 83,5%. There are no effect of the length of fixative evaporation to the macroscopic and microscopic result for both color and size of peripheral blood smear yet, there are effects of the length of fixative evaporation to peripheral blood smear.

Keywords: the length of evaporation, fixative, macroscopic, microscopic, Peripheral blood smear.

HALAMAN PERNYATAAN ORIGINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana), baik di Universitas Muhammadiyah Semarang maupun di perguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukkan Tim Penguji.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas di cantumkan sebagai sumber acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Semarang, 14 September 2016

Yang membuat pernyataan,



Dian Rachmawati

NIM. G1C012004

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, hidayah dan Inayah-Nya, Sholawat dan salam kepada junjungan kita Baginda Rasulullah SAW beserta keluarga dan para Sahabat-nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Lama Penguapan Larutan Fiksasi Terhadap Hasil Makroskopis Dan Mikrokopis Sediaan Apus Darah Tepi”.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Semarang 2016.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Andri Sukeksi, SKM, M.Si selaku dosen pembimbing pertama yang berkenan membimbing dan memberikan pengarahan serta meluangkan waktu untuk membantu dalam pembuatan Skripsi ini
2. Dr. Budi Santosa, SKM, M.Si, Med selaku dosen pembimbing kedua yang berkenan membantu memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis dalam pembuatan Skripsi ini.
3. Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si, Med selaku Ketua Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
4. Orang tua dan keluarga tercita yang telah memberikan dorongan secara materiil dan spiritual dan kepada responden, serta fihak-fihak yang membantu, rekan-rekan studi seangkatan atas segala bantuan dan kerja samanya, seluruh karyawan universitas Muhammadiyah Semarang.

Penulis menyadari masih banyak ketidak sempurnaan dan kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini. Kritik dan saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Semarang, 14 September 2016

Penyusun



DAFTAR ISI

Nomor	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan.....	iii
Abstrak	iv
Surat Pernyataan Originalitas	vi
Kata Pengantar	vii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.5. Originalitas Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Darah.....	5
2.2. Komposisi Darah.....	6
2.2.1. Sel Darah Putih	6
2.2.2. Sel Darah Merah	6
2.3. Sediaan Apus Darah Tepi.....	8
2.3.1. Preparat Darah Apus Tebal	10
2.3.2. Preparat Darah Apus Khusus	10
2.3.3. Preparat Darah Apus Tipis	10
2.4. Pewarnaan Darah Apus	11
2.5. Pewarnaan Giemsa	12
2.6. Fiksasi	12
2.7. Kerangka Teori.....	14
2.8. Kerangka Konsep	14
2.9. Hipotesis.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1. Desain Penelitian.....	16
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	16
3.4. Variabel Penelitian	17

3.5. Definisi Operasional	18
3.6. Alat dan Bahan	19
3.7. Prosedur Penelitian.....	20
3.8. Alur Penelitian	24
3.9. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Gambaran Umum Sampel	25
4.2. Hasil Penelitian	25
4.3. Uji Statistik	32
4.4. Pembahasan.....	33
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1. Simpulan	36
5.2. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPILARAN – LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Nomer	Halaman
1. Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	4
2. Tabel 2.1 Faktor Penyebab Apusan Tidak Layak Digunakan.....	9
3. Tabel 3.1 Definisi Operasional	18
4. Tabel 4.1 Gambaran Makroskopis SADT.....	25
5. Tabel 4.2 Gambaran Mikroskopis Warna SADT.....	27
6. Tabel 4.3 Gambaran Mikroskopis Ukuran SADT	29
7. Tabel 4.4 Gambaran Mikroskopis Bentuk Krenasi SADT	30



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Gambar 3.1 Prosedur penguapan larutan fiksasi.....	22
2. Gambar 4.1 Makroskopis Kriteria Baik.....	26
3. Gambar 4.2 Mikroskopis Warna Eritrosit.....	28
4. Gambar 4.3 Mikroskopis Ukuran Eritrosit.....	29
5. Gambar 4.4 Mikroskopis Bentuk Eritrosit.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Lampiran 1	39
2. Lampiran 2	40
3. Lampiran 3	41
4. Lampiran 4	42
5. Lampiran 5	43



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan untuk mengetahui keadaan darah, baik sel darah maupun komponen darah terlarut dalam plasma, digunakan untuk mendiagnosis suatu keadaan dan kelainan dalam tubuh. Pemeriksaan hematologi meliputi pemeriksaan hematologi rutin dan pemeriksaan hematologi khusus.

Darah merupakan salah satu jaringan dalam tubuh yang berbentuk cair. Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen seluler dan komponen non seluler. Komponen seluler yang membentuk sekitar 45% yang terdiri dari tiga jenis sel yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Komponen non seluler berupa cairan yang disebut plasma membentuk sekitar 55% bagian darah (Nugraha G, 2015).

Prosedur pemeriksaan hematologi rutin salah satunya yaitu pemeriksaan sediaan apus darah. Sediaan apus darah tepi merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskopis untuk mengamati morfologi sel darah bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi yang cukup banyak dan bermakna terhadap keadaan hematologik seseorang (Nugraha G, 2015). Sediaan apus darah dilakukan pewarnaan giemsa atau wright sehingga sel terwarnai, agar mudah dibedakan dan dapat terlihat lebih jelas. Pewarnaan giemsa digunakan untuk membedakan inti sel dan morfologi sitoplasma dari sel darah merah, sel darah putih, trombosit dan parasit yang ada didalam darah. Sel mewarnai dirinya dengan pewarna netral atau campuran pewarna asam dan basa serta akan tampak ungu. Granula pada sel yang

bersifat basa akan menyerap pewarna yang bersifat asam (eosin) dan kelihatan merah. Garanula pada sel yang bersifat asam akan menyerap pewarna yang bersifat basa (azure B) dan akan berwarna biru (Irianto, 2004). Dalam pengecatan giemsa sebelumnya sediaan apus darah difiksasi menggunakan *methanol absolute*, fiksasi harus segera dilakukan setelah sediaan kering angin karena apabila tidak dilakukan fiksasi maka akan memberikan latar belakang biru. Fiksasi *methanol absolute* berfungsi agar apusan darah dapat menyerap cat dengan sempurna, juga dapat melekatkan apusan pada obyek glass sehingga apusan darah tidak mengelupas serta menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan (struktur) sebenarnya (Rudyatmi, 2011). Larutan fiksasi yang tidak baik dapat menyebabkan perubahan morfologi sel dan perlekatan yang tidak baik. Ini dapat terjadi apabila larutan fiksasi yang digunakan methanol yang tidak absolute karena telah menguap dan dapat mengubah konsentrasi dari methanol tersebut yang dapat menyebabkan fiksasi yang tidak sempurna (Houwen, Berend 2000).

Pemeriksaan dilaboratorium dengan banyaknya sempel dan pemeriksaan, memungkinkan sering dilakukan buka tutup pada botol methanol sehingga dapat merubah konsentrasi methanol. Hal ini melatar belakangi penulis untuk melakukan penelitian tentang perbedaan lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis pada apusan darah.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu “Apakah Ada Pengaruh Lama Penguapan Larutan Fiksasi Terhadap Hasil Makroskopis Dan Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi?”.

1.3. Tujuan Penelitian

a) Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi.

b) Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi hasil makroskopis pada pewarnaan giemsa sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit, dan 30 menit
2. Mengidentifikasi hasil mikroskopis bentuk, warna dan ukuran sel darah merah pada pewarnaan giemsa sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit, dan 30 menit.
3. Menganalisis pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi wawasan kepada para petugas kesehatan, khususnya kepada analis yang bekerja di laboratorium, tentang pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi.

1.5. Orisinilitas

Tabel 1.1. Orisinilitas

No	Penelitian, Penerbit, Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1	Maryo Vegas Carascallo, 2012	Perbedaan Hasil Pewarnaan Giemsa Dan Wright Terhadap Morfologi Eritrosit Dan Kualitas Cat Pada Preparat Darah Apus	Cat giemsa memiliki kualitas pewarnaan lebih baik dibandingkan cat wright, dan tidak mempengaruhi morfologi eritrosit.
2	Koko Putro Pamungkas, 2014	Gambaran Morfologi Eritrosit Dengan Perbandingan Lama Fiksasi	Tidak ada kelainan warna dan kelainan ukuran pada fiksasi yang lebih dari 5 menit dan untuk kelainan bentuk ditemukan jumlah krenasi yang semakin meningkat dengan dilakukannya fiksasi yang lebih dari 5 menit

Perbedaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya adalah di penelitian ini lebih memperhatikan penggunaan dan konsentrasi *methanol* dalam pengecatan giemsa, karena di rumah sakit dengan banyak sampel dan pemeriksaan, dan memungkinkan penguapan *methanol* karena sering dilakukan buka tutup wadah *methanol* sehingga bisa mempengaruhi hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi padahal hasil pengamatan mikroskopis sangat penting untuk mendukung diagnosis penyakit jika terjadi kesalahan prosedur sangat berpengaruh terhadap tindak lanjut terhadap pasien.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Darah

Darah merupakan salah satu jaringan dalam tubuh yang berbetuk cair berwarna merah (Nugraha G, 2015), merah terang apabila kekurangan oksigen sampai merah tua apabila kaya oksigen. Warna merah pada darah disebabkan oleh hemoglobin, protein pernapasan (respiratori protein) yang mengandung besi dalam bentuk heme, yang merupakan tempat terikatnya molekul - molekul oksigen (Pearce EC, 2006).

Darah memiliki sifat yang berbeda dengan jaringan lain di dalam tubuh, sehingga mengakibatkan darah dapat bergerak dari satu tempat ke tempat lain dan dapat menyebar diberbagai seluruh tubuh. Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen seluler dan komponen non seluler. Komponen seluler yang membentuk sekitar 45% yang terdiri dari tiga jenis sel yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Komponen non seluler berupa cairan yang disebut plasma membentuk sekitar 55% bagian darah.

Fungsi darah dalam sirkulasi adalah sebagai respirasi melalui eritrosit darah yang menyangkut oksigen dari paru-paru menuju jaringan diseluruh tubuh, mengangkut berbagai nutrisi, sebagai system ekskresi, penyeimbang asam basa tubuh, penyeimbang air tubuh, pengatur suhu tubuh, pertahanan terhadap infeksi, transport *hormone* dan pengatur metabolisme, dan pembekuan darah (Koagulase).

Sistem peredaran darah dalam tubuh disebut sistem kardiovaskuler. Sistem tersebut darah dapat diakomodasikan secara teratur dan diedarkan menuju organ

dan jaringan yang tersebar diseluruh tubuh. Darah didistribusikan melalui pembuluh darah dari jantung ke seluruh tubuh dan akan kembali lagi menuju jantung. Sistem ini berfungsi untuk memenuhi kebutuhan sel atau jaringan akan nutrient dan oksgen, serta mentransport sisa metabolisme sel atau jaringan keluar dari tubuh (Nugraha G, 2015).

2.2. Komposisi Darah

Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen seluler dan komponen non seluler. Komponen seluler yang membentuk sekitar 45% sel darah. Komponen non seluler berupa cairan yang disebut plasma membentuk sekitar 55% bagian darah. Komponen seluler terdiri dari :

2.2.1. Sel Darah Putih atau Leukosit (0,2%)

Sel leukosit dengan ukuran lebih besar dibanding dengan sel eritrosit, tidak berwarna dan di dalam sitoplasma memiliki granula yang berasal dari lisosom, sel leukosit ini disebut juga dengan sel granulosit (neutrofil, eosinofil dan basofil) sedangkan leukosit yang tidak bergranula disebut agranulosit (monosit dan limposit). Granula menjadi penting dalam menentukan jenis leukosit selain bentuk dan ukuran, serta sifat dan reaksinya terhadap zat warna (Nugraha G, 2015).

2.2.2. Sel Darah Merah atau Eritrosit (99%)

Eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, berdiameter 7,5 μ m dan tebal 2,0 μ m, bersifat elastis dapat berubah bentuk ketika melalui berbagai macam pembuluh darah yang dilaluinya mengandung hemoglobin dan mengedarkan oksigen (Nugraha G, 2015).

Morfologi sel darah merah terdiri dari bentuk, warna, ukuran dapat diamati pada sediaan apus dengan pewarnaan Giemsa / Wright / lainnya. Bentuk normal bikonkav dengan diameter 6–8 μ m warna kemerah-merahan. Eritrosit normal berukuran sama dengan inti limfosit kecil pada sediaan apus. Kelainan morfologi eritrosit berupa kelainan ukuran (size), kelainan bentuk (shape), kelainan warna (staining characteristics) dan benda-benda inklusi.

Kelainan morfologi eritrosit :

a) Ukuran eritrosit

Eritrosit normal memiliki diameter 6-8 μ m, ukuran eritrosit normal disebut *normositik*, jika ukuran eritrosit lebih kecil dari eritrosit normal disebut *mikrositik* dan ukuran eritrosit yang lebih besar dari eritrosit normal disebut *makrositik*.

b) Warna eritrosit

Eritrosit normal memiliki bagian pucat 1/3 dari keseluruhan eritrosit. Eritrosit yang memiliki bagian pucat lebih dari 1/3 bagian disebut *hipokrom* dan jika memiliki bagian pucat kurang dari 1/3 bagian disebut *hiperkrom*.

c) Bentuk eritrosit

Perubahan bentuk pada pengamatan variasi bentuk eritrosit dapat disebabkan oleh perubahan pada sitoplasma atau membrane sel akibat pengaruh faktor kimia dan fisika. Bentuk abnormal eritrosit yaitu ovalosit, sferosit, schistosit atau fragmentosit, sel target atau leptosit atau sel sasaran, sel sabit atau sickle cell, krenasi, sel burr, akantosit, tear drop cells, poiklositosis, dan rouleaux atau auto aglutinasi (Nugraha, 2015).

2.3. Sediaan Apus Darah Tepi

Sediaan apus darah tepi merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskopik untuk mengamati morfologi sel darah (Nugraha G, 2015), seperti gambaran darah tepi, jumlah eritrosit, indeks eritrosit, jumlah retikulosit, dan trombosit. Sediaan apus darah tepi ini meliputi 2 bagian pemeriksaan yaitu pemeriksaan hitung jenis sel darah putih (termasuk pemeriksaan rutin) dan gambaran sel darah serta unsur-unsur lain, antara lain parasit, sel ganas dan lain-lain (Budiwiyono I, 2002). Sediaan apus yang dibuat dan dipulas dengan baik merupakan syarat mutlak untuk mendapatkan hasil yang baik (Mescher, Anthony L, 2012).

Kriterian sediaan yang baik :

- a) Sediaan tidak melebar sampai pinggir kaca objek, panjangnya $\frac{1}{2}$ sampai $\frac{2}{3}$ panjang kaca.
- b) Harus ada bagian yang cukup tipis pada sediaan untuk diperiksa, pada bagian itu eritrosit terletak bedekatan tanpa bertumpukan dan tidak menyusun gumpalan atau rouleaux.
- c) Pinggir sediaan itu rata dan sediaan tidak boleh berlobang-lobang atau bergaris-garis.
- d) Penyebaran leukosit tidak boleh buruk, leukosit tidak boleh berhimpitan pada pinggir-pinggir atau ujung-ujung sediaan (Subrata G, 2007).

Tabel 2.1. Faktor yang menyebabkan apusan tidak layak digunakan

Faktor Penyebab	Dampak Terhadap Apusan
1. Sampel darah terlalu lama (> 1 Jam).	Perubahan bentuk atau kerusakan sel.
2. Lambat melakukan apusan pada kaca objek.	Penyebaran sel tidak merata.
3. Kaca objek kotor, terutama lemak.	Apusan berlubang-lubang.
4. Tetes terlalu banyak.	Apusan terlalu tebal dan panjang.
5. Tetesan terlalu sedikit.	Apusan terlalu tipis dan pendek.
6. Sudut geseran terlalu besar.	Apusan terlalu tebal dan pendek
7. Sudut geseran terlalu kecil.	Apusan terlalu tipis dan panjang.
8. Geseran terlalu lambat.	Apusan membentuk gelembung dan penyebaran sel tidak baik.
9. Tekanan geseran terlalu kuat.	Apusan terlalu tipis.
10. Tekanan gesekan terlalu lemah.	Apusan tebal dan bagian ekor terputus.
11. Kelembapan ruang tinggi.	Apusan lama mengering dan eritrosit rusak.

Apusan darah dibagi menjadi enam zona berdasarkan distribusi eritrosit. Zona I disebut sebagai zona *irreguller* (tidak teratur, berdesakan, 3%), zona II (tipis tidak rata, berdesakan, 14%), zona III (tebal, bergerombol, rouleux, 45%), zona IV (sama zona II, tipis, 18%), zona V (even zona, tidak berdesakan, tidak bertumpukan, regular, rata, bentuk utuh, 11%), dan zona VI (sangat tipis, lebih longgar dan jarang 9%). Pembacaan sediaan apus darah dengan memilih preparat dengan kriteria yang baik, memilih bagian yang akan dipakai (zona dimana eritrosit tersebar rata). Pembacaan sediaan apus darah tepi dilakukan pada pinggir atas kebawah dan dapat dilakukan pada salah satu bagian yaitu atas atau bawah pada zona baca IV sampai VI, karena kedua bagian atas atau bawah memiliki distribusi sebaran sel yang hampir sama (Santosa B, 2010).

Terdapat beberapa jenis apusan yang digunakan yaitu apusan tetes tebal, apusan tetes tipis dan apusan khusus (Nugraha G, 2015).

2.3.1. Preparat Darah Apus Tebal

Preparat darah apus tebal dibuat dari tetesan darah pada kaca objek yang di apus secara spiral menggunakan ujung kaca objek atau kaca penutup. Preparat darah apus tebal pada umumnya digunakan untuk pemeriksaan parasit malaria, dengan teknik apus darah tebal eritrosit akan lisis dan memudahkan dalam melakukan pemeriksaan malaria (Nugraha G, 2015).

2.3.2. Preparat Darah Apus Khusus

Apusan darah khusus merupakan apusan yang digunakan untuk pemeriksaan tertentu seperti *buffy coat smear* yang dapat digunakan untuk pemeriksaan sel lupus (Nugraha G, 2015).

2.3.3. Preparat Darah Apus Tipis

Preparat apus darah tipis merupakan apusan yang digunakan didalam laboratorium hematologi. Apus darah tipis terdapat dua teknik pembuatan preparat yaitu menggunakan kaca penutup atau menggunakan kaca objek (Nugraha G, 2013).

Bahan pemeriksaan yang terbaik adalah darah segar yang berasal dari kapiler atau vena dan dapat pula digunakan darah EDTA (Subrata G, 2007).

Sediaan apus darah tepi sering digunakan dalam laboratorium hematologi di Indonesia adalah apusan darah tetes tipis. Hasil sediaan yang baik untuk pemeriksaan dapat dinilai secara visual atau secara makroskopis. Sediaan apusan darah tepi yang baik harus tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor dengan ketebalan apusan tersebut menggambarkan distribusi sel darah (Nugraha G, 2015).

2.4. Pewarnaan Darah Apus

Mempermudah pengamatan sel dan komponennya pada apus darah tepi secara tepat, maka perlu dilakukan suatu teknik pewarnaan. Terdapat berbagai macam teknik pewarnaan yang digunakan untuk SADT sesuai tujuan pemeriksaan, misalnya dengan menggunakan pewarnaan menurut Romanowsky ada empat macam pewarnaan preparat darah apus yaitu pewarnaan wright's stain, pewarnaan lieshman, pewarnaan may grunwald, pewarnaan giemsa (Nugraha G, 2015).

Teknik pewarnaan yang umum digunakan untuk SADT yaitu pengecatan Giemsa, karena ketahanan hasil zat warna tersebut lebih baik dengan hasil pewarnaan lebih jelas (Nugraha G, 2015).

Prinsip pengecatan preparat darah : Sediaan apus darah difiksasi dengan metanol selama 5 menit dan digenangi dengan zat warna giemsa yang sudah diencerkan dibiarkan 20 menit setelah itu dibilas dengan air ledeng dan dibiarkan sampai mengering (Subrata G, 2007).

Kriteria pembuatan dan pewarnaan sediaan darah yang baik, yaitu :

- a) Inti leukosit berwarna ungu.
- b) Trombosit berwarna ungu muda dan merah muda.
- c) Sisa – sisa eritrosit muda berwarna biru atau biru muda.
- d) Sitoplasma limfosit kelihatan biru pucat.
- e) Sitoplasma monosit berwarna biru.
- f) Granula eosinofil berwarna orange.
- g) Latar belakang sediaan bersih dan keliatan biru pucat (J. Samidja Onggawaluyo, 2001).

Preparat yang baik akan menunjukkan warna kontras merah, biru keunguan dan biru tua, karena eritrosit berwarna merah, leukosit berwarna ungu dan granula yang berada di dalam sitoplasma berwarna biru sampai biru tua.

Faktor yang mempengaruhi mutu pewarnaan Giemsa antara lain :

- a) Kualitas giemsa baik tidak tercemar air, pengenceran giemsa dengan perbandingan tepat.
- b) Waktu pewarnaan dan fiksasi.
- c) Ketebalan pewarnaan, kebersihan sediaan.

2.5. Pewarnaan Giemsa

Pewarnaan giemsa merupakan pewarnaan Romanowsky, pewarnaan yang menggunakan zat warna azure B (*trimethylthionin*, produk oksidasi *methylen blue*) yang memiliki warna biru dan eosin (eosin B atau eosin Y) dengan warna merah, kombinasi kedua zat warna dapat bersifat polikromatik yang dapat menghasilkan beberapa warna terhadap SADT. Pewarnaan giemsa digunakan untuk membedakan inti sel dan morfologi sitoplasma dari sel darah merah, sel darah putih, trombosit dan parasit yang ada didalam darah. Pewarna giemsa tersedia dalam bentuk cair (giemsa stock) atau padat. Giemsa yang akan digunakan untuk pewarnaan dibuat dari giemsa padat atau melarutkan giemsa stock yang diencerkan sebanyak 20 kali menggunakan larutan buffer pH 6,8 dengan perbandingan 1 bagian giemsa stock : 19 bagian pelarut (Nugraha G, 2015).

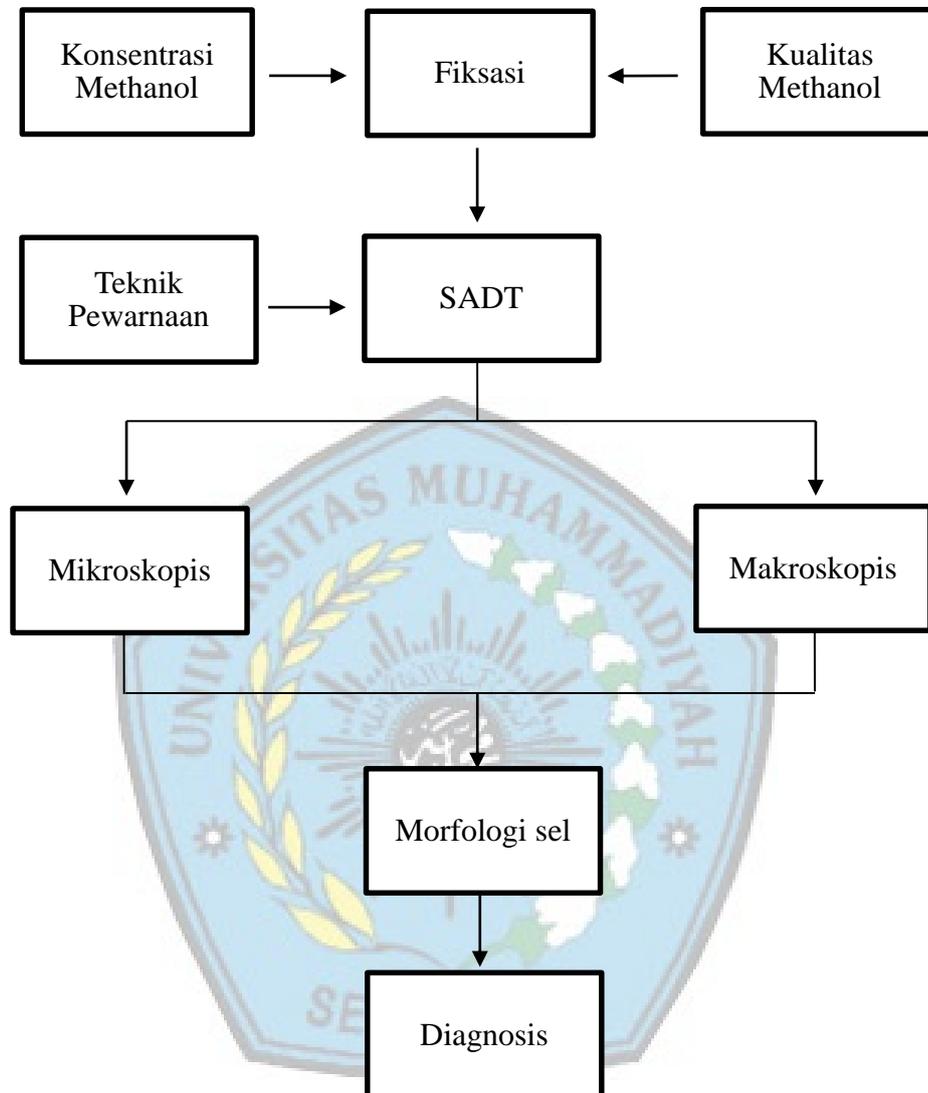
2.6. Fiksasi

Dalam pembuatan sediaan apus darah tepi harus dilakukan fiksasi, fiksasi merupakan langkah yang penting untuk hasil sediaan yang baik. Fiksasi berfungsi untuk merekatkan sel darah dan mudah untuk diwarnai. Tujuan fiksasi adalah

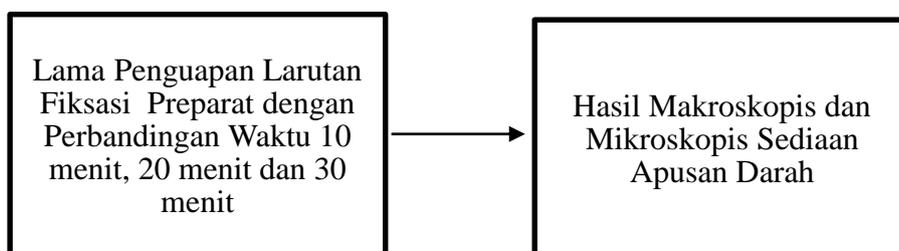
untuk menghentikan proses metabolisme secara cepat, mencegah kerusakan jaringan, mempertahankan keadaan sebenarnya (Rudyatmi, 2011). Fiksasi yang sering dilakukan dalam pembuatan sediaan darah apus yaitu dengan fiksasi basah menggenangi preparat dengan larutan *methanol absolute*. Konsentrasi methanol dalam pengecatan sangat berpengaruh, sebaiknya menggunakan *methanol absolute* dalam proses masuknya zat warna ke dalam sel darah. Penyimpanan methanol yang tidak baik akan menyebabkan hasil preparat sediaan darah apus mengalami perbedaan.

Methanol dalam pewarnaan digunakan untuk melisiskan dinding sel sehingga zat warna bisa masuk ke dalam sel darah. Preparat sediaan apus darah setelah dikering anginkan segeralah dilakukan fiksasi dengan *methanol absolute* selama 5 menit. Fiksasi yang tidak segera dilakukan < 1 jam maka menyebabkan preparat berwarna kebiruan. Larutan fiksasi yang tidak baik dapat menyebabkan perubahan morfologi, warna dan perlekatan yang tidak baik. Ini mungkin dapat terjadi apabila larutan fiksasi yang digunakan methanol yang tidak absolute, methanol mempunyai kandungan air > 3%, karena telah menguap dan dapat mengubah konsentrasi dari methanol tersebut yang dapat menyebabkan fiksasi yang tidak sempurna (Houwen, Berend 2000). Sel darah merah yang dimasukkan dalam larutan hipertonis, maka tekanan osmosis akan terjadi dari dalam sel keluar sel yang akan menyebabkan sel akan mengalami krenasi (pengerutan), sedangkan apabila eritrosit berada dalam lingkungan yang hipotonis, maka tekanan osmosis akan terjadi dari luar ke dalam sel yang akan menyebabkan sel akan menggebung hingga sel burr (Pasini dkk, 2006).

2.7. Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



2.9. Hipotesis

Terdapat pengaruh antara lama penguapan larutan fiksasi dengan hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental, karena penelitian ini melakukan perlakuan terhadap variabel waktu penguapan larutan fiksasi.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang jalan Raya Kedung Mundu No. 18 Semarang. Waktu Penelitian dilakukan bulan Juni 2016.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah Mahasiswa D4 Analisis Kesehatan semester 7 Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Penelitian ini populasinya homogen, dengan menggunakan teknik *Simple Random Sampling*, untuk menentukan besar sampel menggunakan rumus menurut Murdiyanto (2005):

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

$$(4 - 1) (r - 1) \geq 15$$

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

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 15 + 3$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 18/3$$

$$r = 6$$

keterangan : t : Perlakuan

r : Besar Sampel

15 : faktor nilai derajat kebebasan

Berdasarkan perhitungan di atas maka sampel dalam penelitian ini berjumlah 24 sampel, yang berasal dari 6 sampel sebagai kontrol dan 6 sampel dengan perlakuan.

3.4. Variabel Penelitian

Variable Bebas : Variasi lama penguapan larutan fiksasi selama 10 menit, 20 menit, dan 30 menit.

Variable Terikat : Pengaruh terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis preparat apus darah.



3.5. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi oprasional.

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala
1.	Makroskopis SADT	Evaluasi preparat darah apus dengan melihat perlekatan sel darah pada objek glass dan warna preparat setelah dilakukan pewarnaan giemsa.	Melihat hasil preparat darah apus dan melakukan penilaian hasil preparat. Hasil berdasarkan perlekatan preparat yang baik dan buruk. Preparat yang baik akan menunjukkan perlekatan yang baik yaitu perlekatan yang sempurna tidak mengelupas. Preparat yang buruk menunjukkan perlekatan yang kurang sempurna atau dapat terkelupas.	Nominal
2.	Mikroskopis SADT	Evaluasi preparat darah apus menggunakan mikroskop dan dilihat kelainan morfologi sel darah merah antara lain : warna, ukuran dan bentuk (krenasi) akibat pengerutan sel pada cairan dalam keadaan hipertonis dimana cairan dari sel darah merah akan keluar dari sel tersebut.	Melihat hasil preparat darah apus dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Hasil : Baik/normal : sel eritrosit ukuran normositik, warna normokrom dan Tidak baik/ tidak normal : sel eritrosit ukuran mikrositik dan makrositik dan warna hipokrom/ hiperkrom. Dengan penilaian baik, sedang dan buruk dimana : Baik : tidak menunjukkan adanya kelainan morfologi (krenasi). Sedang : menunjukkan terjadinya kelainan morfologi (krenasi) yang jumlahnya < 3 sel krenasi. Sedang yang buruk : menunjukkan terjadinya kelaianan morfologi (krenasi) yang nilainya > 3 sel krenasi. Penilaian dilakuakan dalam 10 Lapang pandang dan dirata-rata.	Ordinal
3.	Lama penguapan larutan fiksasi	Waktu yang dibutuhkan untuk menguapkan larutan fiksasi methanol absolut.	<i>Methanol absolute</i> sengaja dilakukan penguapan terlebih dahulu sebelum dipakai dengan cara menuangkan larutan 50 ml kedalam empat staning jar kemudian setiap tutup staining jar dibuka selama segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit dan 30 menit agar methanol menguapa dengan sendirinya tanpa dipanaskan, lalu staining jar ditutup kembali dan siap digunakan untuk fiksasi	Nominal

3.6. Alat dan Bahan

a) Alat :

Alat yang dipakai dalam penelitian ini yaitu spuit, tourniquet, kapas, tabung sampel (*vacuum tube*), gelas ukur, pipet pasteur, objek glass, pinset, staining jar, stopwatch, rak pewarna, dan mikroskop.

b) Bahan :

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini yaitu antikoagulan EDTA, alkohol 70%, cat Giemsa dengan pengencer buffer 7, aquadest, *methanol absolute*, dan minyak imersi.

3.7. Prosedur Penelitian

a) Pengambilan Sampel Darah Vena

Memasangkan tourniquet pada bagian lengan atas probandus, disarankan agar tangan mengempal dan membuka, hal itu dilakukan berkali-kali agar vena tampak jelas. Kapas yang telah diberi alkohol 70%, letak vena pengambilan darah diusapkan dengan kapas tersebut yang bertujuan sebagai desinfektan. Menegangkan kulit diatas vena jari-jari tangan kiri agar vena tidak dapat bergerak. Menusukkan jarum dengan ujung jarum menghadap keatas sampai ujung jarum kedalam lumen vena. Meregangkan pembendungan dan perlahan-lahan menarik penghisap spuit sampai spuit terisi sesuai yang diinginkan. Melepaskan tourniquet dan menempelkan kapas yang dibasahi alkohol tersebut. Lalu segera masukkan darah kedalam tabung yang telah berisi antikoagulan (*vacuum tube*) (Subrata G, 2007).

b) Membuat Sediaan Apus Darah

Memilih objek glass yang bersih dari debu, bebas lemak dan harus kering. Diletakkan satu tetes darah pada objek glass kira-kira 2 cm dari ujungnya. Kaca penghapus dipersiapkan, dipilih yang bertepi benar-benar rata. Kaca penghapus diletakkan di sebelah kiri tetesan darah dengan tangan kanan, kaca disentuh pada tetesan darah dan dibiarkan hingga darah menyebar keseluruh sisi kaca tersebut. Menunggu sampai darah mengenai titik $\frac{1}{2}$ cm dari sudut kaca. Sudut kaca penghapus diatur antara 30-45°C dan segera menggerakkan kaca kearah kiri sambil memegangnya dengan sudut, jangan menekan kaca penggeser kebawah. Darah diusahakan telah habis sebelum kaca penghapus mencapai ujung lain dari objek glass. Hapusan darah tidak boleh terlalu tipis atau terlalu tebal. Ketebalan dapat diatur dengan mengubah sudut antara kedua kaca objek dan kecepatan menggeser. Makin besar sudut atau makin cepat menggeser, makin tipis apusan darah yang dihasilkan. Biarkan kering angin (Subrata G, 2007 dan Rachmawati dkk, 2011).

c) Langkah Penguapan Larutan Fiksasi

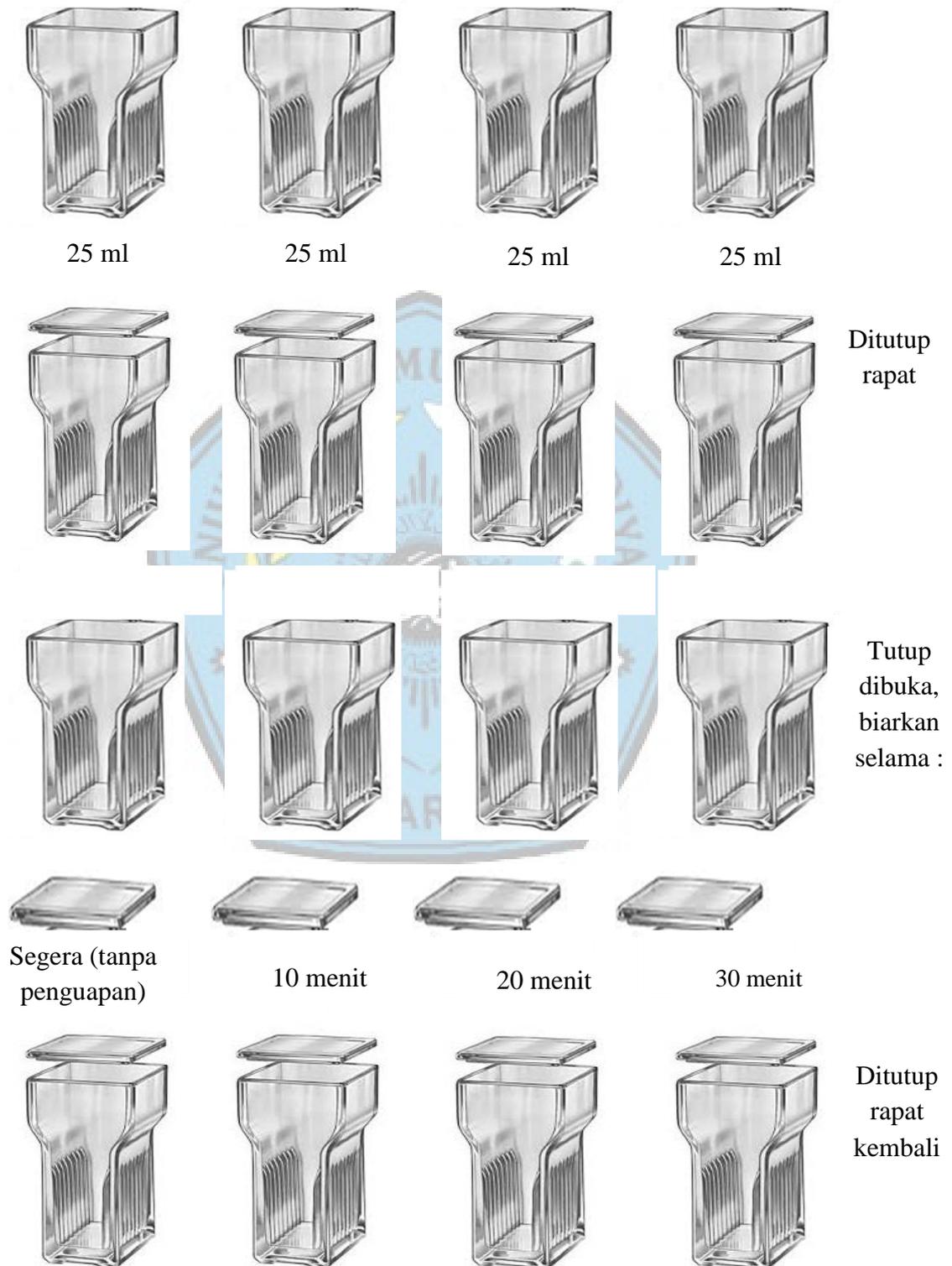
Stock *methanol absolute* dituangkan sebanyak masing-masing 25 ml kedalam 4 staining jar dan tutup rapat (meletakkan staining jar yang berisi methanol absolute di suhu ruang). Staining jar nomor 1 dibiarkan tertutup rapat tanpa dilakukan pembukaan tutup. Staining jar nomor 2 dilakukan pembukaan tutup dan dibiarkan membuka selama 10 menit agar methanol menguap dengan sendirinya tanpa dipanaskan setelah itu tutup rapat kembali. Dilakukan juga hal yang sama terhadap staining jar nomor 3 dan 4 masing-masing dilakukan

pembukaan tutup selama 20 menit dan 30 menit. Larutan fiksasi siap digunakan untuk fiksasi SADT.



Gambar 3.1. Prosedur penguapan larutan fiksasi

Larutan *methanol absolute* dituangkan kedalam masing-masing staining jar

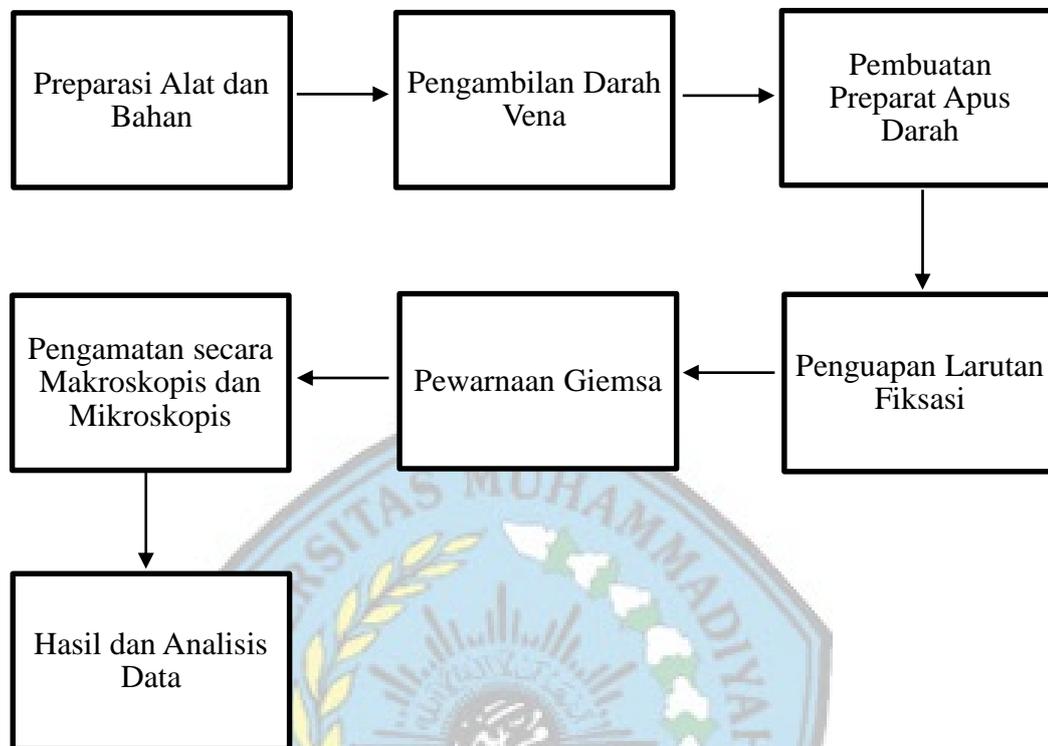


Larutan methanol siap digunakan untuk fiksasi

d. Pewarnaan Sediaan Apus Darah

Sediaan yang akan dipulas diletakkan diatas rak pewarnaan dengan lapisan darah keatas. Methanol yang telah menguap tadi diteteskan ke atas sediaan hingga bagian yang terlapisis darah tertutup seluruhnya. Dibiarkan selama 5 menit. Kelebihan methanol dari kaca dibuang. Sediaan diliputi dengan Giemsa yang telah diencerkan dengan larutan buffer dan dibiarkan selama 20 menit, kemudian dibilas dengan air suling. Sediaan dibiarkan dalam sikap vertikal dan dibiarkan mengering pada udara. Sediaan diobservasi dengan perbesaran lemah (lensa objektif 10 x dan lensa okuler 10 x) untuk mendapat gambaran menyeluruh. Fokus diarahkan ke lapang pandang dengan penyebaran sel-sel darah yang telah cukup merata. Selanjutnya melihat dengan lensa objektif 40 x dengan perbesaran ini diberikan penilaian terhadap eritrosit. Bila perlu diteliti lebih lanjut pada sediaan apus dengan menggunakan lensa objektif 100 x menggunakan minyak emersi. Satu tetes minyak emersi diteteskan pada sediaan apus, menggunakan objektif yang sesuai (Rachmawati dkk, 2011).

3.8. Alur Penelitian



3.9. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil penelitian diperoleh hasil pemeriksaan langsung tentang makroskopis dan mikroskopis pada apusan darah berdasarkan lama penguapan larutan fiksasi selama segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit dan 30 menit. Rata-rata tersebut diolah ditabulasi dan dianalisa menggunakan uji *chi-squared* dengan program SPSS.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Gambaran Umum Sempel

Sampel diambil dari mahasiswa D4 Analis Kesehatan Semester 7 Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang menggunakan *Simple Random Sampling* yang berjumlah enam orang. Darah diambil sebanyak \pm 1-3 ml kemudian dimasukkan tabung vacumtube yang berisis antikoagulan EDTA dan diberi label, sampel tersebut kemudian dibuat apusan darah kemudian dikering anginkan, setelah kering dilakukan fiksasi lima menit dengan larutan fiksasi methanol yang telah diuapkan terlebih dahulu selama 0 menit (Segera), 10 menit, 20 menit dan 30 menit lalu digenangi pewarna Giemsa selama 20 menit kemudian di periksa. Penilaian dengan melihat makroskopis preparat dan mikroskopis sel darah merah.

4.2. Hasil Penelitian

4.2.1. Gambaran makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit dan 30 menit

Tabel 4.1. Gambar makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit dan 30 menit.

Waktu	Makroskopis				Total	%
	Baik	%	Buruk	%		
0 menit	6	100	0	0,0	6	100
10 menit	6	100	0	0,0	6	100
20 menit	6	100	0	0,0	6	100
30 menit	6	100	0	0,0	6	100
Jumlah	24	100	0	0,0	24	100

Berdasarkan Tabel 4.1 Makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit dan 30 menit diperoleh hasil bahwa makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi ditemukan enam sampel 100% dalam keadaan baik, baik dari waktu Segera, 10 menit, 20 menit maupun 30 menit.

Gambaran makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4.1 Makroskopis SADT

Berdasarkan Gambar 4.1 secara makroskopis ke empat preparat dalam kriteria baik karena kriteria sediaan yang baik yaitu apusan tidak terkelupas.

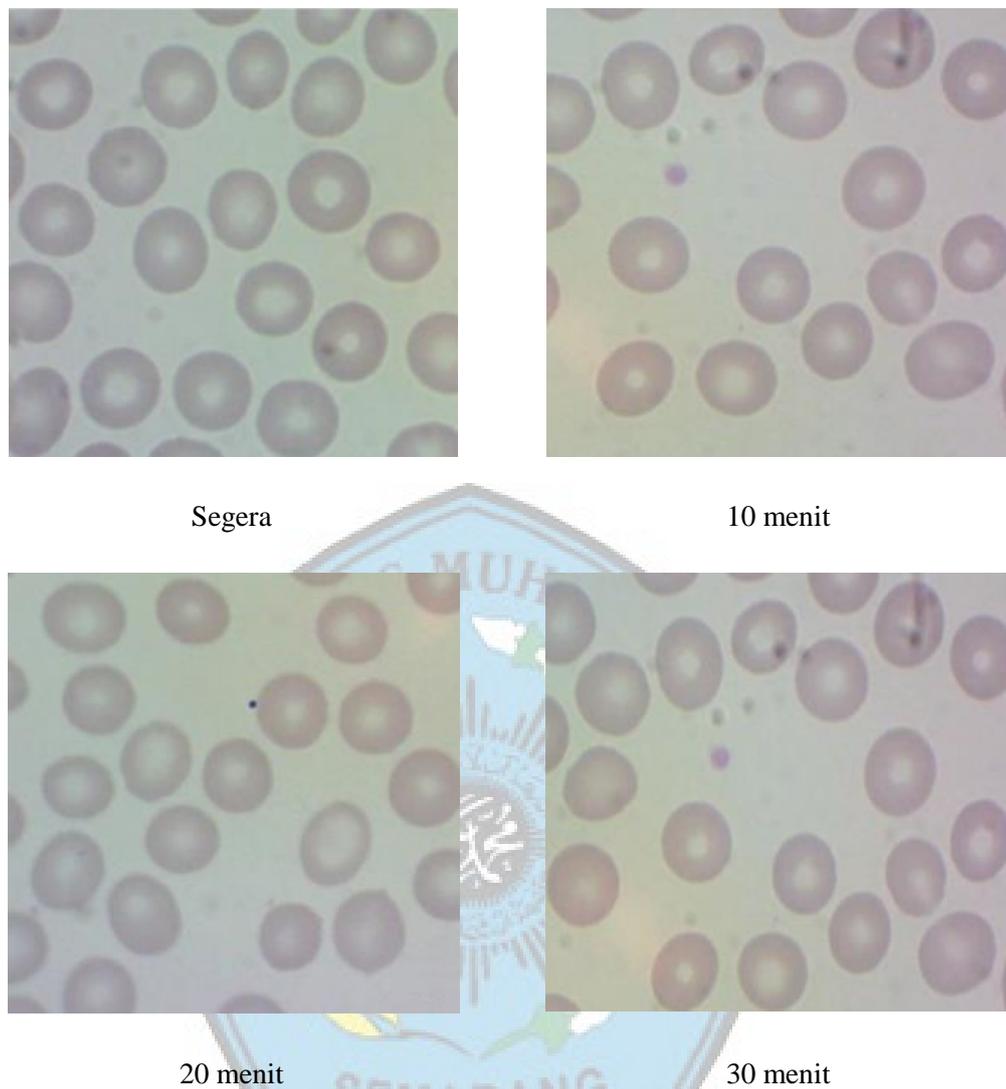
4.2.2. Gambaran mikroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit, dan 30 menit

Tabel 4.2. Gambaran mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit

Waktu	Warna				Total	%
	Normokrom	%	Hipokrom/ hiperkrom	%		
Segera	6	100	0	0,0	6	100
10 menit	6	100	0	0,0	6	100
20 menit	6	100	0	0,0	6	100
30 menit	6	100	0	0,0	6	100
Jumlah	24	100	0	0,0	24	100

Berdasarkan Tabel 4.2. Mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit diperoleh hasil bahwa preparat apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi ditemukan enam sampel 100% memiliki warna yang baik, baik pada waktu segera, 10 menit, 20 menit maupun 30 menit.

Gambaran mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 4.2. Mikroskopis Warna Eritrosit

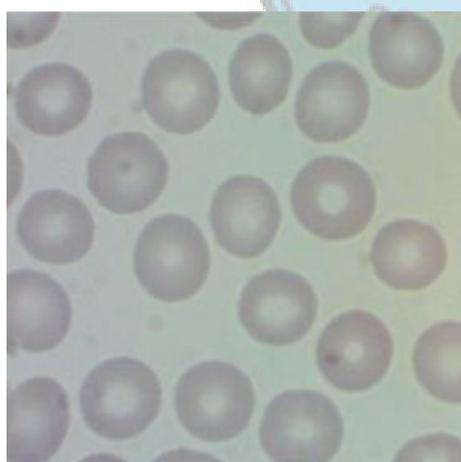
Berdasarkan Gambar 4.2 secara mikroskopis warna ke empat preparat apus darah tepi dalam kriteria baik (normokrom), karena sel eritrosit memiliki bagian pucat $\frac{1}{3}$ dari keseluruhan eritrosit.

Tabel 4.3 Gambaran mikroskopis ukuran sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit

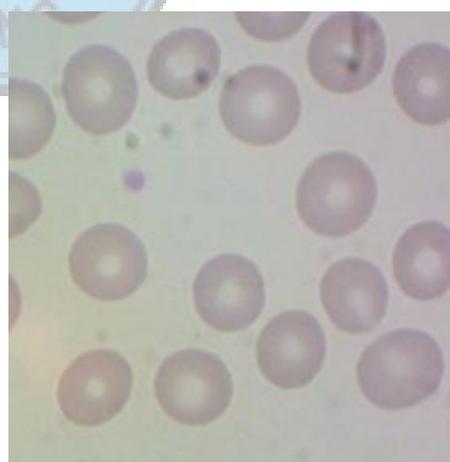
Waktu	Ukuran				Total	%
	Normositik	%	Mikrositik/ Makrositik	%		
Segera	6	100	0	0,0	6	100
10 menit	6	100	0	0,0	6	100
20 menit	6	100	0	0,0	6	100
30 menit	6	100	0	0,0	6	100
Jumlah	24	100	0	0,0	24	100

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil mikroskopis terhadap enam sampel ditemukan bahwa preparat apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu segera tanpa penguapan dan penguapan 10 menit, 20 menit dan 30 menit menunjukkan hasil mikroskopis ditemukan enam sampel 100% memiliki ukuran yang baik, baik pada waktu segera, 10 menit, 20 menit maupun 30 menit.

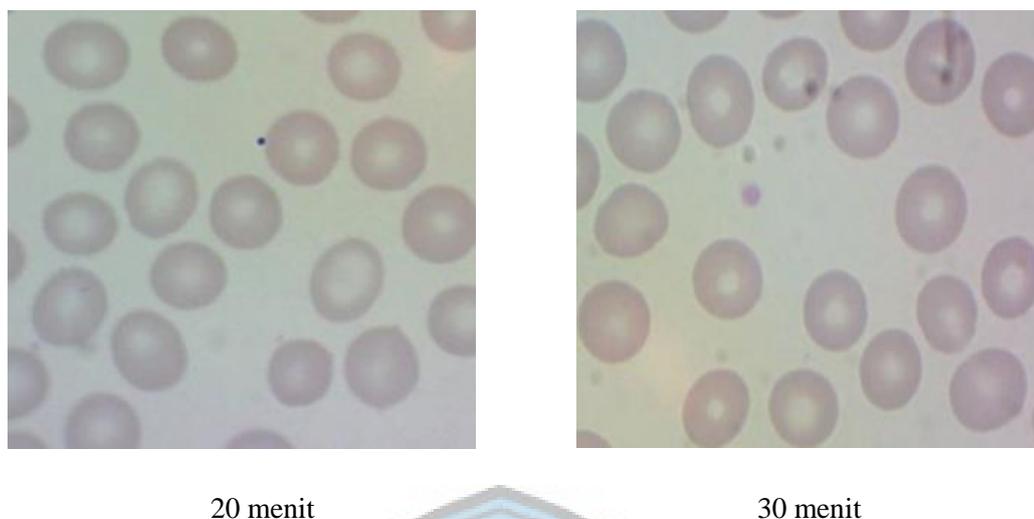
Gambaran mikroskopis ukuran sediaan apus darah tepi berdasarkan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit, dan 30 menit dapat dilihat sebagai berikut:



Segera



10 menit



Gambar 4.3. Mikroskopis Ukuran Eritrosit

Berdasarkan Gambar 4.3 secara mikroskopis ukuran sel eritrosit ke empat preparat dalam kriteria baik, karena sel eritrosit memiliki diameter/ ukuran dengan variasi yang sama yaitu normositik.

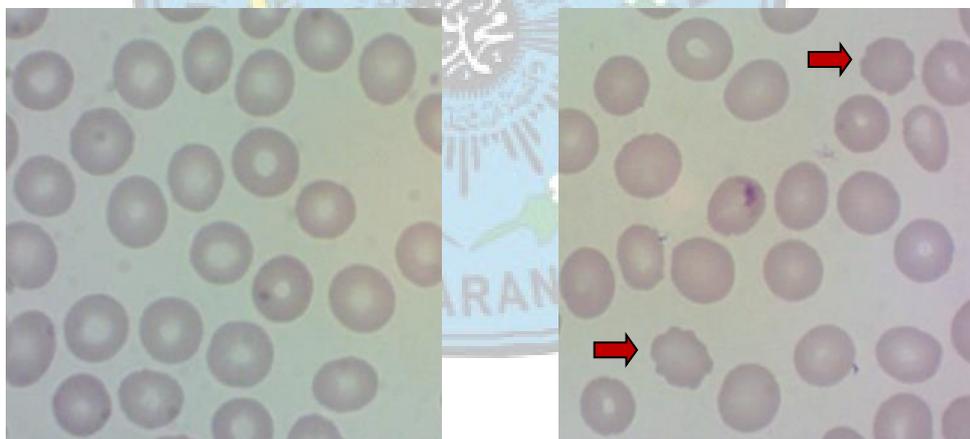
Tabel 4.4. Gambaran mikroskopis bentuk krenasi sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu segera, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit

Waktu	Krenasi						Total	%
	Buruk	%	Sedang	%	Baik	%		
Segera	0	0,0	0	0,0	6	100	6	100
10 menit	0	0,0	1	16,7	5	83,3	6	100
20 menit	0	0,0	3	50,0	3	50,0	6	100
30 menit	0	0,0	5	83,3	1	16,7	6	100
Jumlah	0	0,0	9	37,5	15	62,5	24	100

Hasil pada Tabel 4.4 berdasarkan hasil mikroskopis bentuk krenasi terhadap enam sampel didapatkan hasil bahwa preparat apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu segera (tanpa penguapan) ditemukan 6 preparat (100%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik. Pengamatan sediaan apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu 10 menit ditemukan 5 preparat (83,3%) memiliki mikroskopis bentuk sel

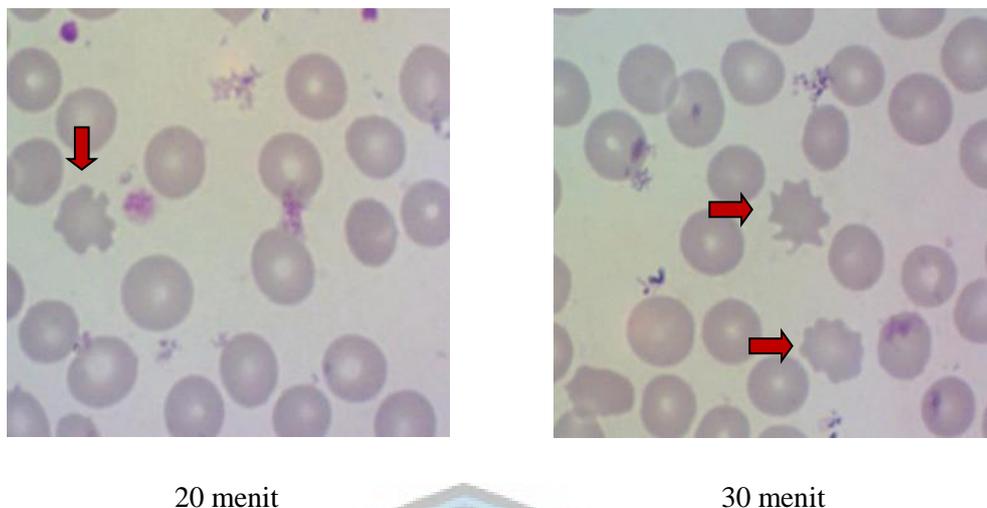
darah merah yang baik dan 1 preparat (16,7%) memiliki mikroskopis sel darah merah yang sedang. Pengamatan sediaan apus darah tepi dengan lama pengupuan larutan fiksasi pada waktu 20 menit ditemukan 3 preparat (50,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 3 preparat (50,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang. Pengamatan sediaan apus darah tepi dengan lama pengupuan larutan fiksasi pada waktu 30 menit ditemukan 1 preparat (16,7%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 5 preparat (83,3%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang.

Hasil krenasi sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama pengupuan larutan fiksasi yaitu segera (tanpa pengupuan), 10 menit, 20 menit, dan 30 menit dapat dilihat pada gambar berikut:



Segera

10 menit



Gambar 4.4. Mikroskopis Bentuk Eritrosit

Berdasarkan Gambar 4.4 secara mikroskopis bentuk sel eritrosit dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu segera tidak menunjukkan kelainan bentuk, sedangkan pada lama penguapan larutan fiksasi dengan waktu 10 menit, 20 menit maupun 30 menit menunjukkan bahwa sel eritrosit mengalami kelainan bentuk eritrosit yaitu krenasi (ditunjukkan tanda panah merah) akibat pengaruh faktor kimia larutan fiksasi.

4.3. Uji Statistik

Data yang didapat dari penelitian merupakan data yang memiliki skala nominal dan ordinal sehingga pengujian dilakukan menggunakan analisis Chi-Square untuk menguji ada tidaknya pengaruh dari 4 kelompok perlakuan. Pengujian Chi-Square tidak dapat dilakukan pada hasil makroskopis, mikroskopis warna dan mikroskopis ukuran sediaan apus darah tepi dikarenakan hasil dari ketiga pengamatan tersebut didapat hasil 100% baik, dan yang dapat dilakukan pengujian Chi-Square hanya pada hasil mikroskopis bentuk krenasi sel darah merah karena hasil pengamatan ditemukan 15 preparat (62,5%) memiliki

mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 9 preparat (37,5%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang (tabel 4.4).

Hasil uji *Chi Square* mikroskopis bentuk sel darah merah pada lama penguapan larutan fiksasi waktu segera (tanpa penguapan), waktu 10 menit, waktu 20 menit, waktu 30 menit didapatkan nilai p sebesar 0,015 ($<0,05$) sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna terhadap hasil mikroskopis bentuk sel darah merah dengan lama penguapan larutan fiksasi sediaan apus darah tepi.

4.4. Pembahasan

4.4.1 Pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi

Hasil penelitian ditemukan bahwa berdasarkan makroskopis sediaan apus darah tepi tidak mengalami perubahan setelah penguapan larutan fiksasi selama segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit dan 30 menit. Hasil uji menemukan semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi yang baik. Artinya bahwa proses lama penguapan larutan fiksasi tidak menyebabkan perubahan makroskopis pada sediaan apus darah tepi.

Hasil pengujian mikroskopis berdasarkan warna dan ukuran juga ditemukan tidak terjadi perubahan baik dari waktu segera (tanpa penguapan), 10 menit, 20 menit dan 30 menit. Hal ini menunjukkan bahwa semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi baik. Variasi warna menunjukkan kandungan sitoplasma yang dapat disebabkan kurangnya besi atau menggambarkan ketidak matangan sel. Sedangkan perubahan ukuran eritrosit dapat disebabkan oleh terganggunya

proses mitosis, sintesis hemoglobin, kelainan organel sel dan lainnya (Nugraha G, 2015).

Hasil krenasi ditemukan terjadi perubahan dari masing-masing waktu penguapan, semakin lama penguapan ditemukan bahwa hasil krenasi mengalami kecenderungan perubahan menjadi lebih buruk. Pada waktu segera (tanpa penguapan) semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi baik 100%, pada lama fiksasi 10 menit yang sedang menjadi 16,7%, pada waktu 20 menit yang sedang menjadi 50,0% dan pada waktu 30 menit yang sedang sebanyak 83,3%. Hasil uji *Chi Square* didapatkan nilai p sebesar 0,015 ($<0,05$) sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil mikroskopis krenasi sediaan apus darah tepi. Hal ini terjadi karena sel darah merah yang dimasukkan dalam larutan hipertonis, maka tekanan osmosis akan terjadi dari dalam sel keluar sel yang akan menyebabkan sel mengalami krenasi (pengerutan), sedangkan apabila eritrosit berada dalam lingkungan yang hipotonis, maka osmosis akan terjadi dari luar ke dalam sel yang akan menyebabkan sel akan menggeembung hingga sel burr (Pasini dkk, 2006).

Fiksasi berfungsi agar apusan darah melekat pada obyek glass serta menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan/ struktur sebenarnya sehingga yakin bahwa sel-sel di dalamnya strukturnya tetap normal dan mampu menyerap cat dengan sempurna. Fiksasi yang tidak baik menyebabkan perubahan morfologi dan warna sediaan. Ini mungkin terjadi apabila fiksasi dilakukan menggunakan methanol yang tidak absolut karena telah menyerap uap air akibat penyimpanan yang tidak baik. Terlalu lama diluar metanol akan menguap dan

memiliki kandungan air > 3% didalamnya yang dapat menyebabkan morfologi krenasi (Houwen, Berend 2000) sehingga larutan menjadi hipertonis. Larutan hipertonis terjadi apabila sel darah merah terdapat di dalam lingkungan hipertonis maka akan melepaskan air ke keluar sel dan menjadi berkerut.



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

1. Hasil makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi ditemukan tidak ada perubahan baik dari waktu segera, 10 menit, 20 menit maupun 30 menit.
2. Hasil mikroskopis warna dan ukuran sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi ditemukan tidak ada perubahan baik dari waktu segera, 10 menit, 20 menit maupun 30 menit. Hasil krenasi terjadi perubahan yaitu pada lama fiksasi 10 yang sedang menjadi 16,7%, pada waktu 20 menit yang sedang menjadi 50,0% dan pada waktu 30 menit yang sedang sebanyak 83,5%.
3. Tidak ada pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis untuk warna dan ukuran sediaan apus darah tepi. Terdapat pengaruh lama penguapan larutan fiksasi terhadap hasil krenasi sediaan apus darah tepi.

5.2. Saran

Dari kesimpulan diatas, maka penulis menyarankan :

1. Bagi petugas kesehatan yang bekerja di laboratorium lebih memperhatikan mengenai reagen terutama konsentrasi larutan fiksasi agar tidak terjadi kesalahan dalam pemeriksaan.
2. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat melanjutkan penelitian dengan memperhatikan variasi konsentrasi larutan fiksasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiwiyono, I. 2002. *Prinsip Pemeriksaan Preparat Hapus Darah Tepi*. FK UNDIP, Semarang.
- D.G. Muhammad Chalid, Sugiarto, C dan Sadeli, L. 2013. *Morfologi Eritrosit Pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) Sampel Dengan Hasil Pemeriksaan One Tube Osmotic Fragility Test (Otoft) Positif*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung.
- Gandasoebrata, R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat, Jakarta.
- Houwen, Berend. 2000. *Blood Film Preparation and Staining Procedures*. Loma Linda University School of medicine. California.
- Irianto, K. 2004. *Struktur dan Fungsi Tubuh Manusia untuk Paramedis*. Bandung.
- Mescher dan Anthony, L. 2012. *Histologi Dasar JUNQUIERA*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Murdiyanto, B. 2005. *Rancangan Percobaan*. <http://www.ikanlaut.tripod.com/xdeign.pdf>. Diakses tanggal 15 januari 2016.
- Nugraha, G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Trans Info Media. Jakarta.
- Onggowaluyo, JS. 2001. *Parasitologi Medik I Helminologi: Pendekatan Aspek Identifikasi, Diagnosis dan Klinik*; Edisi 1. Editor: Monica Ester. Jakarta: EGC. Hal 12-17.
- Pasini, EM, Kirkeguard, M, Motensen, P, Hens U, Lutz, Thomas, AW dan Mann, M. 2006. *Blood. The American Society of Hematology*. Washington DC.
- Paleari, Renata, Mosca, Andrea. 2008. *Controversies on the Osmotic Fragility Test*. Milan University of Milano.
- Peare, EC. 2006. *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Gramedia, Jakarta.
- Pamungkas, KP. 2014. *Gambaran Morfologi Eritrosit dengan perbandingan lama fiksasi*. Skripsi. UNIMUS, Semarang.
- Rachmawati, L, Kusfebriani, R, dan Kusfebriani, A. 2011. *Sediaan Apus Darah*. Jakarta. FMIPA Universitas Negeri Jakarta.
- Rudyatmi, E. 2011. *Bahan Ajar Mikroteknik*. Semarang : jurusan Biologi FMIPA UNNES.
- Santosa, B. 2010. *Differential Counting Berdasarkan Zona Baca Atas Dan Bawah Pada Preparat Darah Apus*. Petologi Klinik. UNIMUS, Semarang Indonesia.

Vegas, M. 2012. *Perbedaan Hasil Pewarnaan Giemsa Dan Wright Terhadap Morfologi Eritrosit Dan Kualitas Kerataan Cat Pada Preparat Darah Apus*. KTI. UNIMUS, Semarang.



Lampiran 1

Penilaian perlekatan apusan darah pada objek glass setelah fiksasi dan pengecatan giemsa.

Sampel	Lama penguapan larutan fiksasi			
	Segera	10 menit	20 menit	30 menit
1	Baik	Baik	Baik	Baik
2	Baik	Baik	Baik	Baik
3	Baik	Baik	Baik	Baik
4	Baik	Baik	Baik	Baik
5	Baik	Baik	Baik	Baik
6	Baik	Baik	Baik	Baik

Lampiran 2

Penilaian warna sel darah merah pada sediaan apus darah tepi dengan pengecatan giemsa.

Sampel	Lama penguapan larutan fiksasi			
	Segera	10 menit	20 menit	30 menit
1	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom
2	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom
3	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom
4	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom
5	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom
6	Normokrom	Normokrom	Normokrom	Normokrom

Lampiran 3

penilaian ukuran sel darah merah pada sediaan apus darah tepi dengan pengecatan giemsa.

Sampel	Lama penguapan larutan fiksasi			
	Segera	10 menit	20 menit	30 menit
1	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik
2	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik
3	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik
4	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik
5	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik
6	Normositik	Normositik	Normositik	Normositik

Lampiran 4

Penilaian krenasi dinding sel darah merah pada sediaan apus darah tepi dengan pengecatan giemsa.

Sampel	Lama penguapan larutan fiksasi			
	Segera	10 menit	20 menit	30 menit
1	0	0	0	4
2	0	0	2	0
3	0	0	0	3
4	0	2	7	3
5	0	0	4	6
6	0	0	0	1

Lampiran 5

Frequencies

Statistics

		Waktu	Makroskopis	Warna	Ukuran	Krenasi
N	Valid	24	24	24	24	24
	Missing	0	0	0	0	0

Frequency Table

Makroskopis

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Baik	24	100.0	100.0	100.0

Warna

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Normokrom	24	100.0	100.0	100.0

Ukuran

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Normositik	24	100.0	100.0	100.0

Krenasi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Buruk	4	16.7	16.7	16.7
	Sedang	7	29.2	29.2	45.8
	Baik	13	54.2	54.2	100.0
	Total	24	100.0	100.0	

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu * Makroskopis	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Waktu * Makroskopis Crosstabulation

			Makroskopis	
			Baik	Total
Waktu	Segera	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	10 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	20 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	30 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
Total		Count	24	24
		% within Waktu	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	24

a. No statistics are computed because Makroskopis is a constant.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu * Warna	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Waktu * Warna Crosstabulation

			Warna	
			Normokrom	Total
Waktu	Segera	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	10 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	20 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	30 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
Total		Count	24	24
		% within Waktu	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	24

a. No statistics are computed because
Warna is a constant.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu * Ukuran	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Waktu * Ukuran Crosstabulation

			Ukuran	
			Nornositik	Total
Waktu	Segera	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	10 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	20 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
	30 menit	Count	6	6
		% within Waktu	100.0%	100.0%
Total		Count	24	24
		% within Waktu	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	24

a. No statistics are computed because Ukuran is a constant.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu * Krenasi	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Waktu * Krenasi Crosstabulation

			Krenasi		Total
			Sedang	Baik	
Waktu	Segera	Count	0	6	6
		% within Waktu	.0%	100.0%	100.0%
	10 menit	Count	1	5	6
		% within Waktu	16.7%	83.3%	100.0%
	20 menit	Count	3	3	6
		% within Waktu	50.0%	50.0%	100.0%
	30 menit	Count	5	1	6
		% within Waktu	83.3%	16.7%	100.0%
Total		Count	9	15	24
		% within Waktu	37.5%	62.5%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.489 ^a	3	.015
Likelihood Ratio	12.624	3	.006
Linear-by-Linear Association	9.847	1	.002
N of Valid Cases	24		

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.489 ^a	3	.015
Likelihood Ratio	12.624	3	.006
Linear-by-Linear Association	9.847	1	.002

a. 8 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.25.

