



**PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN SUDAN BLACK  
B YANG DIFIKSASI DENGAN METANOL DAN FORMALIN PADA  
SUMSUM TULANG PENDERITA LEUKEMIA**

*Manuscript*

**Muhammad Ashar**

**G1C216170**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
2017**

## PERNYATAAN PERSETUJUAN

*Manuscript*  
Dengan judul

### **PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN SUDAN BLACK B YANG DIFIKSASI DENGAN METANOL DAN FORMALIN PADA SUMSUM TULANG PENDERITA LEUKEMIA**

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, September 2017



**Pembimbing I**

**Dr. Budi santosa, M.Si, Med**  
**NIK. 28.6.1026.033**

**Pembimbing II**

**Dr. Stalis Norma Ethica, M.Si**  
**CP. 1026.040**

# PERBANDINGAN KUALITAS HASIL PEWARNAAN SUDAN BLACK B YANG DIFIKSASI DENGAN METANOL DAN FORMALIN PADA SUMSUM TULANG PENDERITA LEUKEMIA

Muhammad Ashar<sup>1</sup>, Budi Santosa<sup>2</sup>, Stalis Norma Ethica<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>3</sup>Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Semarang

## Info Artikel

### Kata Kunci

fiksasi formalin, fiksasi metanol, kualitas hasil pewarnaan sudan black B

## Abstrak

Pewarnaan sudan *black B* adalah pewarnaan sitokimia yang biasanya difiksasi dengan formalin dan belum pernah dilaporkan menggunakan fiksasi metanol. Preparat sumsum tulang selama ini dilaboratorium menggunakan fiksasi formalin untuk pewarnaan sudan *black B* sedangkan fiksasi metanol belum pernah dilaporkan selama ini. Tujuan penelitian membandingkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi menggunakan metanol dengan yang difiksasi menggunakan formalin pada preparat sumsum tulang penderita leukemia. Jenis penelitian yaitu analitik. Sampel diambil secara *accidental sampling* yaitu dilakukan pada bulan juli tanggal 23 sampai 29 didapatkan sampel sebanyak 2 penderita leukemia di RSUP Kariadi Semarang, kemudian sampel dibuat preparat spread sebanyak 16 preparat, 8 preparat difiksasi formalin dan 8 preparat lainnya difiksasi menggunakan metanol. Hasil penelitian menunjukkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi formalin sebanyak 8 preparat berkualitas baik, sedangkan menggunakan fiksasi metanol didapatkan 8 preparat kualitas buruk. Hal ini menunjukkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi formalin lebih baik dibandingkan yang difiksasi metanol. Uji statistik Pada uji *chi square* diperoleh nilai  $p = 0,000$ , karena nilai  $p < 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara perbandingan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* pada fiksasi metanol dan formalin.

## \*Corresponding Author

Muhammad Ashar

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : azharj229@gmail.com

## Pendahuluan

Leukemia merupakan suatu keganasan pada alat produksi sel darah berupa proliferasi patologis sel hemopoetik muda kemudian ditandai adanya kegagalan sumsum tulang dalam membentuk sel darah normal dan adanya infiltrasi ke jaringan tubuh lain (Indonesia. 2000). Berdasarkan data *International Agency For Research on Cancer* (WHO. 2008) di dunia terdapat insiden leukemia pada penduduk sebesar 5 per 100.000 dengan angka kematian 3,6 per 100.000.

Leukemia terjadi akibat pertumbuhan yang bersifat irreversibel dari sel induk (Suryani & Salamah. 2014). Data sistem registrasi kanker di Indonesia (Srikandi tahun 2005-2007) menunjukkan bahwa leukemia merupakan kanker tertinggi yang terjadi pada anak yaitu sebesar 2,8 per 100.000 kasus (Kemenkes. 2012). Sedangkan menurut Sistem Informasi RS (SIRS), diketahui jumlah penderita kanker leukemia sebanyak 4.342 orang atau sekitar 10,4% (Depkes. 2014).

Leukemia (kanker darah) merupakan suatu jenis penyakit kanker yang menyerang sel-sel darah putih yang diproduksi oleh sumsum tulang. Pada tubuh manusia terdapat sumsum tulang yang memproduksi tiga tipe sel darah diantaranya sel darah putih (leukosit), sel darah merah dan platelet atau keping darah (Sihombing & Ayub. 2015).

Untuk menegakkan diagnosis leukemia dapat dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium berupa pemeriksaan darah apus. Pewarnaan sediaan apus darah tepi terkadang menggunakan metode giemsa atau wright belum memuaskan untuk membedakan seri leukosit untuk menunjang diagnosis leukemia. Oleh karena itu diperlukan pewarnaan sitokimia seperti sudan *black B* (SBB), *periodic acid schiff* (PAS) dll.

Sudan *black B* (SBB) merupakan pewarnaan khusus untuk mewarnai granula leukosit yang sebgayaan terdiri dari fosfolipid. Pada umumnya sel dengan peroksidase positif memberi reaksi positif terhadap

pewarnaan sudan *black B* yang berwarna cokelat hitam pada seri granula di sitoplasma (Khosasih & Kosasih. 2008).

Pewarnaan sudan *black B* selama ini difiksasi menggunakan formalin untuk merekatkan sediaan apus pada preparat (Gandasoebrata. 2004). Namun penggunaan formalin sebenarnya cukup beresiko. Selain itu formalin merupakan senyawa yang bersifat karsinogenik (menyebabkan kanker) dan bersifat mutagen (menyebabkan perubahan fungsi sel) serta menyebabkan bahaya lain pada tubuh manusia karena residu yang ditinggalkan (Syahrizal. 2016).

Bahan fiksasi selain formalin yang biasa digunakan untuk pewarnaan sediaan apus adalah metanol. Metanol diketahui dapat digunakan untuk membantu apusan darah dapat menyerap cat dengan sempurna, hal ini berarti fiksasi metanol juga dapat merekatkan apusan darah pada obyek glass sehingga apusan darah tidak terkupas dari gelas obyek serta menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan struktur sel sebenarnya pada pewarnaan giemsa (Rudyatmi. 2011).

Sampai saat ini pewarnaan sudan *black B* yang menggunakan fiksasi metanol belum pernah dilaporkan, Hal ini merupakan alasan perlunya dilakukan penelitian dengan fiksasi metanol dan belum pernah dilaporkan. Penelitian tentang perbandingan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi dengan metanol dan formalin pada sumsum tulang penderita leukemia. Penelitian ini berguna untuk menyerahkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* terhadap sumsum tulang penderita leukemia yang difiksasi dengan metanol dan dibandingkan dengan fiksasi formalin sebagai control

## Bahan dan Metode

Desain penelitian ini merupakan penelitian analiti. Objek penelitian ini adalah 2 orang yang mempunyai penyakit leukemia kemudian diambil sampel sumsum tulang pada tanggal 23 sampai 29 Juli 2017 di RSUP. Dr. Kariadi Semarang dengan perlakuan sampel A dibuat 8 preparat, 4

preparat difiksasi metanol dan 4 preparat fiksasi menggunakan formalin setelah kering dilakukan pewarnaan sudan *black B*, dilakukan hal yang sama pada sampel B, total preparat 16 prepat. Dilakukan di laboratorium hematologi Universitas Muhammadiyah Semarang pada bulan juli 2017. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mikroskop, chamber, tabung reaksi, rak tabung, objek glass, tissue, pipet tetes, oil emersi, pensil, label, cawang petri, gunting, penjepit, pipet volume, pipet ukur, labu ukur dan kertas saring. Bahan yang digunakan adalah sumsum tulang, phenol, ethanol 70%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O, aquadest, sudan *black B*, formalin, metanol, dan safranin 1%. Pemeriksaan leukemia pada sumsum tulang menggunakan metode pewarnaan sudan *black B*. Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan setelah semua data dikumpulkan kemudian diproses menggunakan aplikasi pada komputer untuk dianalisis. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *chi square*.

## Hasil

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumsum tulang pada penderita leukemia kemudian difiksasi dengan metanol dan formalin sebagai kontrol.

Tabel 1. Kualitas pewarnaan sudan *black B* pada fiksasi metanol dan formalin.

Jenis fiksasi	Kualitas pewarnaan			
	Baik		Buruk	
	Jumlah	(%)	Jumah	(%)
Methanol	0	0 %	8	100 %
Formalin	8	100 %	0	0 %

Hasil fiksasi metanol dan formalin yang terdapat pada Tabel 1 dengan kategori kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* baik dan buruk. Pada fiksasi metanol dari jumlah total sebanyak 8 preparat diperoleh hasil dengan kategori baik sebanyak 0 dengan presentasi 0%, sedangkan yang buruk sebanyak 8 preparat dengan presentasi 100%.

Pada fiksasi formalin dari jumlah total sebanyak 8 preparat diperoleh hasil dengan kategori baik sebanyak 8 dengan presentasi 100%, sedangkan yang buruk sebanyak 0 dengan presentasi 0%. Data hasil penelitian diuji secara statistik dan hasilnya disajikan pada uji *chi square* diperoleh nilai  $p = 0,000$ , karena nilai  $p < 0.05$ , sehingga  $H_0$  ditolak dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan. Fiksasi metanol atau formalin pada dasarnya bertujuan untuk melekatkan apusan pada obyek glass sehingga apusan tidak terkupas dari gelas obyek serta menghentikan metabolisme tanpa mengubah struktur sel sebenarnya sehingga bisa menyerap cat dengan sempurna dari pewarnaan sudan *black B* (SBB).

## Diskusi

Bahan fiksasi selain formalin yang biasa digunakan untuk pewarnaan sediaan apus adalah metanol. Metanol diketahui dapat digunakan untuk membantu apusan darah dapat menyerap cat dengan sempurna, hal ini berarti fiksasi metanol juga dapat merekatkan apusan darah pada obyek glass sehingga apusan darah tidak terkupas dari gelas obyek serta menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan struktur sel sebenarnya pada pewarnaan giemsa (Rudyatmi. 2011).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pewarnaan sudan *black B* menggunakan fiksasi formalin memberikan hasil yang baik karena sel dari jajaran seri granulosit berhasil menyerap cat sudan *black B* berwarna coklat kehitaman, preparat tidak terkupas dan warna tidak pudar terlihat pada gambar 3. Sel dari seri granulosit dengan fiksasi formalin menggunakan pewarnaan sudan *black B* menunjukkan hasil yang baik 8 preparat sedangkan yang buruk 0 karena fiksasi formalin dan zat warna SBB bereaksi melalui enzim sehingga memberikan warna coklat kehitaman pada membran granula leukosit yang mengandung fosfolipid.

Di lain pihak pewarnaan sudan *black B* dengan fiksasi metanol menunjukkan hasil yang buruk sebanyak 8 preparat sedangkan

yang baik 0. Hal ini karena hasil fiksasi metanol tidak bereaksi dengan zat warna sudan *black B* terbukti dengan membran granula yang tidak menyerap cat sudan *black B* sehingga warnanya terlihat pudar pada gambar 6.

Sementara itu pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi formalin berhasil menyerap cat sudan *black B*, preparat tidak terkupas dan warna tidak pudar bila dibandingkan dengan fiksasi metanol. Hal ini karena hasil fiksasi metanol tidak menyerap cat sudan *black B* disebabkan fiksasi metanol mengganggu enzim MPO yang mengandung lipid sehingga membran granula tidak bewarna coklat kehitaman (Hardjoeno, 2003).

Penggunaan fiksasi formalin dalam preparat sumsum tulang pada penderita leukemia menunjukkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang baik. Hal ini karena fiksasi formalin yang digunakan tidak merusak aktivitas enzim sehingga zat warna sudan *black B* bereaksi dengan aktivitas enzim yang terdapat dalam granula leukosit sehingga akan lebih optimal dalam mewarnai sel seri granulosit berwarna coklat kehitaman, preparat tidak terkupas dan warna tidak pudar.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan kepada peneliti dan institusi, terkhusus kepada tenaga analis kesehatan yang bekerja dilaboratorium, tentang perbandingan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* yang difiksasi dengan metanol dan formalin pada sumsum tulang penderita leukemia.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan perbandingan fiksasi formalin dan fiksasi metanol terhadap kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* sebagai berikut :

1. Fiksasi formalin pada kualitas pewarnaan sudan *black B* menunjukkan hasil yang baik sebanyak 8 preparat dengan presentase 100%, sedangkan yang buruk

sebanyak 0 preparat dengan presentase 0%.

2. Fiksasi metanol pada kualitas pewarnaan sudan *black B* menunjukkan hasil yang baik sebanyak 0 preparat dengan presentase 0%, sedangkan yang buruk sebanyak 8 preparat dengan presentase 100%.
3. Ada perbedaan yang signifikan antara fiksasi formalin dan fiksasi metanol terhadap kualitas hasil pewarnaan sudan *black B*.

### Saran

Untuk mendapatkan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B* dengan menggunakan fiksasi formalin yang baik karena berdasarkan gambaran mikroskopis sel seri granulosit berwarna coklat kehitaman, preparat tidak terkupas dan warna tidak pudar bila dibandingkan dengan fiksasi metanol terkhusus untuk menentukan kualitas hasil pewarnaan sudan *black B*.

### Ucapan Terima Kasih

Alhamdulillah dengan rahmat ALLAH Jalla Jalalu yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan inayah-Nya, Sholawat dan salam kepada junjungan Nabi kita Rasulullah shallallahu 'alaihi wa sallam beserta keluarga dan para Sahabat-Nya, sehingga *manuscript* ini dapat terselesaikan. Penulis mengucapkan terimakasih kepada, Dr. Budi Santosa, SKM, M.Si, Med dan Dr. Stalis Norma Ethica, M.Si sebagai dosen Pembimbing yang senantiasa membimbing penulis mulai dari pembuatan proposal, pengerjaan penelitian sampai penyusunan *manuscript* ini. Terimakasih juga disampaikan kepada Andri Sukeksi, SKM, M.Si selaku Ketua Program Studi yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat *manuscript* ini dan semua Staf Laboratorium tempat pelaksanaan penelitian ini, Keluarga besar Prodi D IV Analis Kesehatan Teman-teman D IV Jasus Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah

Semarang dan tak lupa ucapan terimakasih untuk keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan D IV Analisis kesehatan. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan penulisan *manuscript* ini.

## Referensi

- Depkes (2014). Seminar Sehari dalam Rangka Memperingati Hari Kanker Sedunia 2013.
- Gandasoebrata (2004). Penuntun Laboratorium Klinik Edisi ketujuh.
- Indonesia (2000). Kapita Selekta Kedokteran. International Agency for Research on Cancer Ed (2008). *Methods for evaluating tobacco control policies* (Vol. 12). World Health Organization.
- Suryani & Salamah (2014). Identifikasi Penyakit Acute Myeloid Leukemia (AML) Menggunakan 'Rule Based System' Berdasarkan Morfologi Sel Darah Putih Studi Kasus: AML2 dan AML4. *Semantik 2014*.
- Kemendes (2012). Profil data kesehatan Indonesia tahun 2011. *Jakarta: Kementerian Kesehatan RI*, 104-5.
- Khosasih & Kosasih (2008). Tafsiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Klinik. Edisi Kedua.
- Notoatmodjo (2010). Metodologi penelitian kesehatan.
- Rudyatmi (2011). Bahan Ajar Mikroteknik.
- Sihombing & Ayub (2015). Sistem Pakar Berbasis Web sebagai Alat Bantu Pembelajaran Mahasiswa Kedokteran untuk Penyakit Kanker Darah pada Anak. *Jurnal Informatika*, 6(1).
- Syahrizal (2016). Analisis Kuantitatif Formalin pada Buah Impor pada Swalayan di Kota Banda Aceh.

*Aceh Nutrition Journal*, 1(2), 135-140.

Hardjoeno (2003). Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik. *Makassar. Lembaga penerbitan universitas anuddin (Lephas)*.