



**PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN FE TERHADAP LAMA WAKTU
INKUBASI PEWARNAAN PADA PREPARAT SUMSUM TULANG**



Ni Luh Putu Evik Oktarini Adi Putri

G1C217241

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript

Dengan Judul

PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN FE TERHADAP LAMA WAKTU INKUBASI PEWARNAAN PADA PREPARAT SUMSUM TULANG

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, September 2018



Pembimbing I

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

Pembimbing II

Andri Sukeksi, SKM, M.Si
NIK. 28.6.1026.024

Perbedaan Hasil Pewarnaan Fe Terhadap Lama Waktu Inkubasi Pewarnaan Pada Preparat Sumsum Tulang

Ni Luh Putu Evik Oktarini Adi Putri¹, Budi Santosa², Andri Sukeksi²

1. Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel	Abstrak
Kata Kunci Lama waktu inkubasi pewarnaan, Pewarnaan Fe, Sumsum Tulang	Pewarnaan Fe dengan metode Perl's merupakan suatu proses reaksi antara hemosiderin yang berpigmen emas dengan kalium ferrosianida yang dapat menghasilkan endapan ferri ferrosianida yang berwarna biru, dan dapat diamati secara mikroskopis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pada preparat sumsum tulang. Jenis penelitian adalah eksperimen dengan sampel sumsum tulang positif anemia, sampel diperiksa dengan pewarnaan Fe metode Perl's. Hasil pemeriksaan menunjukkan terdapat tingkat hasil yang berbeda dari waktu inkubasi 5,10,20 dan 30 menit. Uji statistik <i>Kruskal-Wallis</i> menunjukkan hasil uji kemaknaan $0,007 \leq 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pada preparat sumsum tulang.

Pendahuluan

Leukimia merupakan penyakit pada jaringan hematopoietik bersifat ganas yang ditandai penggantian dari elemen sumsum tulang normal oleh sel darah abnormal atau sel leukemik (Rofinda, 2012). Maturitas sel maupun turunan selnya leukimia dapat diklasifikasi berdasarkan tipe sel akut dan kronik (Lauder *et al*, 2002). Proliferasi dari sel abnormal tersebut berakibat terjadinya kompetisi metabolik yang akan menyebabkan anemia.

Prevalensi anemia dunia menurut *World Health Organization* (WHO) berkisar 40-80%, di negara yang sedang

berkembang terdapat laporan bahwa anemia defisiensi besi mempunyai prevalensi yang lebih tinggi dari kejadian anemia yang lain. Diagnosis anemia defisiensi besi bisa ditegakkan secara sitokimia dengan melihat adanya turunan besi pada sumsum tulang.

Sumsum tulang merupakan sampel yang sering digunakan untuk mendiagnosis suatu kelainan hematologi, selain itu pemeriksaan sumsum tulang merupakan pemeriksaan yang paling diperhitungkan dalam menegakan diagnosis kelainan sel dan turunan besi akibat anemia defisiensi besi. Pemeriksaan sumsum tulang merupakan

*Corresponding Author

Ni Luh Putu Evik Oktarini Adi Putri

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

E-mail : Evikoctha@gmail.com

prosedur tes yang memiliki tingkat hasil informasi pemeriksaan yang tinggi untuk diagnosis atau mengevaluasi kelainan hematologi (Adewoyin *et al.*, 2015).

Pewarnaan Fe dengan deteksi hemosiderin menggunakan metode Perl's dimana aspirat sumsum tulang dianggap sebagai standar emas dari tes lain untuk menilai defisiensi zat besi dan deplesinya (Simth *et al.*, 2005). Pewarnaan Fe dengan metode Perl's merupakan suatu proses reaksi antara hemosiderin yang berpigmen emas dengan kalium ferosianida yang dapat menghasilkan endapan ferri ferrosianida yang berwarna biru, dan dapat diamati secara mikroskopis (Mascher *et al.*, 2012).

Pewarnaan khusus menjadi alat penting dari segi patologis, teknik histokimia, flow sitometri, hibridasi in situ dan teknologi diagnostik lainnya akan menentukan profil medis seorang pasien. Banyak pewarnaan yang telah menjadi kunci dalam mengidentifikasi patogen dan juga berperan penting dalam mendiagnosis pemantauan kanker, klasifikasi leukemia, hemokromatosis atau kekurangan zat besi (Chales *et al.*, 2004).

Pewarnaan untuk mendiagnosis besi menggunakan waktu inkubasi selama 10 menit menurut teori dari Dacie and Lewis Practical Hematologi. Inkubasi dalam pewarnaan ini berfungsi sebagai proses penjaan pada suhu tertentu agar zat warna yang dipakai dapat menyerap secara optimal. Prosedur pewarnaan sumsum tulang di lapangan banyak yang menggunakan waktu inkubasi yang berbeda-beda, sehingga terdapat banyak variasi waktu inkubasi dalam pewarnaan tersebut. Penundaan waktu inkubasi dapat mempengaruhi hasil pewarnaan Fe dimana semakin lama waktu inkubasi maka warna biru yang menunjukkan simpanan Fe pada sumsum tulang akan semakin pekat dan sebaliknya jika waktu inkubasinya sebentar maka warna biru tersebut akan terlihat tidak jelas.

Observasi di lapangan, ternyata terdapat banyak rumah sakit yang menggunakan banyak variasi waktu inkubasi dalam pewarnaan Fe terhadap sumsum tulang. Latar belakang diatas menunjukkan bahwa sangat menarik untuk dilakukan penelitian dalam mengetahui bagaimana perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pewarnaan pada sumsum tulang dalam menegakan diagnosis anemia.

Banyak dilapangan umumnya mengharapkan menggunakan waktu inkubasi pewarnaan yang lebih cepat sehingga dapat mempercepat proses dari pewarnaan besi pada preparat sumsum tulang tersebut.

Metode

Jenis penelitian ini merupakan *true eksperimen* dan rancangan penelitian yang digunakan yaitu *posttest only control*. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Hematologi Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Jalan Kedung Mundu Raya No. 18 Semarang 50248. Waktu penelitian dilaksanakan Juni 2018. Objek penelitian adalah aspirat sumsum tulang dari pasien. Pengambilan sampel aspirat menggunakan metode random sampling. Kriteria sampel yakni aspirat sumsum tulang pasien terdiagnosa anemia dengan indikasi pemeriksaan sumsum tulang. Sumsum tulang dibuat apusan dengan metode spread. Preparat sumsum tulang kemudian difiksasi menggunakan methanol selama 5-10 menit. Larutan HCL ditambahkan $\frac{1}{2}$ bagian chamber dan diinkubasi selama 10 menit didalam waterbath pada suhu 56°C. Larutan kalium ferosianida 4% ditambahkan $\frac{1}{2}$ bagian ke dalam chamber. Sediaan sumsum tulang dimasukkan ke dalam chamber hingga tercelup semua bagian. Sediaan sumsum tulang diinkubasi dalam waterbath pada suhu 56°C selama 5 menit, 10 menit, 20 menit dan 30 menit pada masing-masing preparat. Sediaan

sumsum tulang dicuci dengan air mengalir selama 1 menit. Safranin 1% ditambahkan ke dalam sediaan sumsum tulang selama 20 detik. Sediaan sumsum tulang dicuci dengan air mengalir. Sediaan sumsum tulang di kering anginkan. Dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x-1000x Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, waterbath, rak pewarna, chamber, neraca analitik, mikroskop, objek gelas, dan beker gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini aspirat sumsum tulang yang memiliki fragmen. Reagen yang digunakan methanol, kalium ferisianida 4%, HCL 1N, safranin 1% dan akuades.

Hasil dan Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 6 (enam) sampel, setiap sampel diulang sebanyak 4 kali dalam waktu inkubasi yang berbeda. Hasil pemeriksaan Perbedaan Hasil Pewarnaan Fe terhadap Lama Waktu Inkubasi Pewarnaan pada Preparat Sumsum tulang dapat dilihat pada tabel 4.1. Didapatkan hasil positif tertinggi (+3) dan positif terendah (+1) dari 6 sampel yang masing-masing diulang sebanyak 4 kali.

Tabel 1. Hasil pewarnaan Fe dengan lama waktu inkubasi pewarnaan (5,10,20 dan 30 menit)

Menit	S1	S2	S3	S4	S5	S6
5 M	+2	+1	+1	+1	+1	+1
10 M	+2	+1	+1	+1	+1	+1
20 M	+3	+2	+1	+1	+2	+2
30 M	+3	+2	+2	+2	+3	+2

Keterangan : M = Menit , S = Sampel

Hasil pewarnaan Fe yang telah diamati secara visual menggunakan mikroskop, pada waktu inkubasi 30 menit hasil yang terlihat memiliki tingkatan yang lebih tinggi (+2 dan +3) jika dibandingkan dengan waktu inkubasi yang lainnya (5 menit, 10 menit dan 20 menit).

Secara statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* menunjukan nilai *Asymp sig* 0.007 dimana nilai yang diperoleh lebih kecil dari 0.05 (< 0.05) yang berarti ada perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pewarnaan pada preparat sumsum tulang.

Hasil pewarnaan Fe pada preparat sumsum tulang yang diamati menggunakan mikroskop didapat hasil dengan rentang tingkatan dari positif 1 (+1) sampai positif 3 (+3). Dikatakan positif satu (+1) pada perbesaran 10x partikel besi yang diamati terlihat tidak begitu jelas, tetapi bila dilihat pada perbesaran 40x terlihat partikel besi yang kecil. Dikatakan positif 2 (+2) bila pada perbesaran 10x partikel besi terlihat kecil dan sedikit, pada perbesaran 40x terlihat partikel besi yang jelas dan sedikit. Dikatakan positif 3 (+3) bila pada perbesaran 10x terlihat banyak partikel besi dan pada perbesaran 40x terlihat partikel besi yang jelas dan banyak.

Penggunaan variasi waktu inkubasi yang berbeda-beda bertujuan untuk mendapatkan hasil pewarnaan yang baik dan tepat. Waktu inkubasi sangat berpengaruh dalam proses pewarnaan karena pada proses inkubasi terjadi suatu reaksi ion ferisianida menjadi ferro ferri, atau perubahan warna larutan dari kuning menjadi biru, sehingga waktu yang diperlukan harus sesuai (Perl's, 1867).

Faktor yang dapat mempengaruhi penyerapan pewarna Kalium Ferosianida pada preparat sumsum tulang yaitu , kandungan Fe itu sendiri, Konsentrasi Kalium Ferosianida, lama pengecatan dan faktor cemaran Fe.

Faktor-faktor lain yang dapat berpengaruh dalam pewarnaan Fe pada sumsum tulang adalah konsentrasi larutan pewarna, jumlah fragmen, pH larutan, dan fiksasi. Dalam proses dilakukannya pewarnaan Fe pada sumsum tulang alat-alat yang digunakan harus bebas dari cemaran Fe dengan membilas terlebih dahulu menggunakan larutan HCL 20%.

Pewarnaan Fe sitokimia dilaboratorium dapat dilakukan dengan cara manual dan otomatis. Metode manual yang dilakukan mengharuskan adanya ketelitian dan ketepatan dalam pemilihan waktu inkubasi, larutan pewarna, proses pewarnaan dan pengamatan untuk hasil yang akurat.

Kesimpulan dan Saran

- a. Hasil penelitian pewarnaan Fe dari 6 sampel sumsum tulang menunjukkan hasil pada waktu inkubasi pewarnaan 5 menit terdapat 5 sampel positif 1 (+1) dan 1 sampel positif 2 (+2).
- b. Hasil penelitian pewarnaan Fe dari 6 sampel sumsum tulang menunjukkan hasil pada waktu inkubasi pewarnaan 10 menit terdapat 5 sampel positif 1 (+1) dan 1 sampel positif 2 (+2).
- c. Hasil penelitian pewarnaan Fe dari 6 sampel sumsum tulang menunjukkan hasil pada waktu inkubasi pewarnaan 20 menit terdapat 2 sampel positif 1 (+1), 3 sampel positif 2 (+2) dan 1 sampel positif 3 (+3).
- d. Hasil penelitian pewarnaan Fe dari 6 sampel sumsum tulang menunjukkan hasil pada waktu inkubasi pewarnaan 30 menit terdapat 4 sampel positif 2 (+2) dan 2 sampel positif 3 (+3).
- e. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan adanya perbedaan hasil pewarnaan Fe terhadap lama waktu inkubasi pewarnaan pada preparat sumsum tulang dengan nilai *Asymp sig* 0.007 dimana nilai yang diperoleh lebih kecil dari 0.05 (< 0.05).

Berdasarkan hasil yang didapatkan dalam penelitian ini, disarankan kepada tenaga laboratorium yang bertugas dalam proses pewarnaan Fe pada preparat sumsum tulang untuk melakukan prosedur pewarnaan Fe metode Perl's menggunakan waktu inkubasi 10 menit.

Ucapan Terimakasih

Melalui kesempatan ini yang pertama peneliti mengucapkan rasa syukur dan terimakasih pada Tuhan Yang

Maha Esa yang telah memberikan kehidupan ini.

Terimakasih kepada dr. Muji Rahayu, M.Si, Med, SpPk selaku penguji, Dr. Budi Santosa, M.Si, Med selaku pembimbing I dan Andri Sukeksi, SKM, M.Si selaku pembimbing II serta seluruh staf dan dosen di Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah banyak membantu peneliti selama berada di kampus.

Terimakasih kepada kedua orang tua, seluruh keluarga dan sahabat-sahabat peneliti yang selalu memberikan dukungan disetiap langkah peneliti.

Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah menjadi wadah untuk mengembangkan ilmu.

Dan terimakasih kepada seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Referensi

- Adewoyin, A.S., Ezire, E.S., Adeyemi, O., Idubor, N.T. and Edewor-okiyo, D.O. 2015. Bone Marrow Aspiration Cytology Studies In A Tertiary Hospital, Nigeria : A Serie Of 88 Cases. *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*. Volume 2: A108-A114.
- Chales, M., Couture, R., Holiday, J.M., Smith, S., Stanforth, D.A. 2004. *Guide Tp Special Stain*. California USA : DakoCytomation.
- Launder TM, Lawnicki LC, Perkins ML. 2002. *Introduction to leukemia and the acute leukemias*. In: *Harmening DM, eds. Clinical hematology and fundamental of hemostasis edition 4*. Philadelphia: FA. Davis Company. 272-357
- Mescher, A.L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks Dan Atlas*. Edisi 11. Jakarta : EGC.
- Perl's, M. 1867. *Arch Pathol* V39, p42.

- Rofinda, Z.D.,2012.Kelainan Hemostasis pada Leukimia. *Jurnal Kesehatan Andalas* (2):1
- Smith, S.E.S., Hughes, D.A., Bain, B.J., 2005. Are Routine Iron On Bone Marrow Trephine Biopsy Specimens Necessary?. *Journal Clin Pathol* (58): 269-272.



