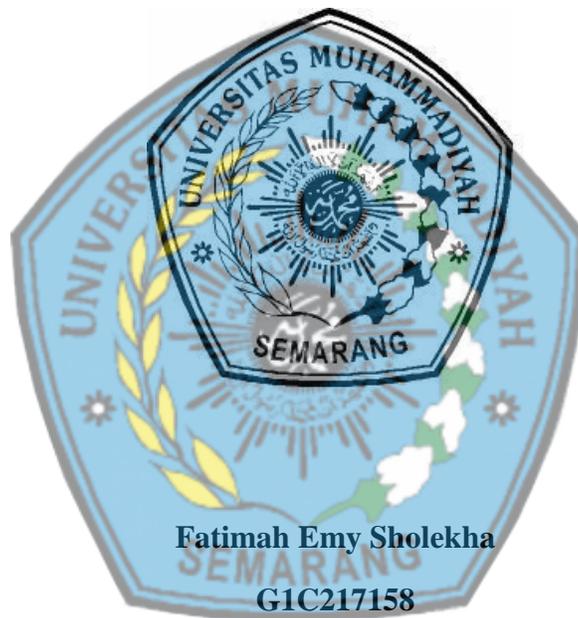


**PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN FIKSASI
TERHADAP HASIL MAKROSKOPIS
DAN MIKROSKOPIS SEDIAAN
APUS DARAH TEPI**

Manuscript



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

2018

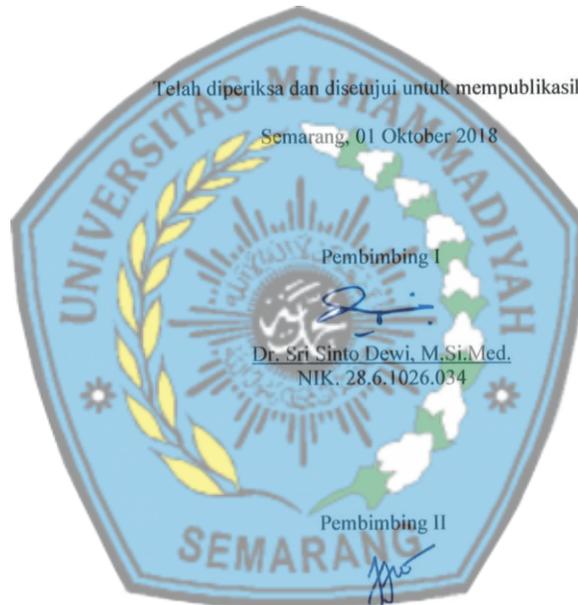
HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

**PENGARUH LAMA FIKSASI TERHADAP GAMBARAN
MIKROSKOPIS DENGAN PEWARNAAN
*Hematoxilyn Eosin (HE)***

Telah diperiksa dan disetujui untuk mempublikasikan

Semarang, 01 Oktober 2018



Pembimbing I

Dr. Sri Sinto Dewi, M.Si.Med.
NIK. 28.6.1026.034

Pembimbing II

Arya Iswara, M.Si.Med
NIK. 28.6.1026.224

PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Fatimah Emy Sholekha
NIM : G1C217158
Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang/D IV analis kesehatan
Jenis Penelitian : Skripsi
Judul : pengaruh konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi
Email : fatimah7945@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
 2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
 3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.
- Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 15 Oktober 2018

Yang Menyatakan

(Fatimah Emy Sholekha)

PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN FIKSASI TERHADAP HASIL MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS SEDIAAN APUS DARAH TEPI

Fatimah Emy Sholekha¹, Budi Santosa², Tulus Ariyadi²

1. Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang
2. Laboratorium Hematologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel

Abstrak

Salah satu pemeriksaan hematologi rutin yaitu pemeriksaan sediaan apus darah tepi yang bertujuan untuk mengetahui morfologi sel bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi tentang keadaan hematologi seseorang. Fiksasi berfungsi merekatkan apusan darah tepi sehingga tidak terkelupas, dapat menyerap warna dengan sempurna, menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan (struktur) sel. Larutan fiksasi yang tidak baik akan menyebabkan perubahan morfologi sel dan perlekatan yang tidak baik. Tujuan penelitian untuk Mengetahui pengaruh konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi. Jenis penelitian ini adalah eksperimental. Sampel yang digunakan adalah darah yang dibuat apusan yang mendapatkan perlakuan fiksasi dan pengulangan sebanyak enam kali. Hasil penelitian pada konsentrasi 90%, 75%, menunjukkan hasil dengan bentuk eritrosit hemolisis dan terjadi pembengkakan, ukuran makrositik, dengan warnanya tidak terdapat central pallor 1/3 dari seluruh bagian eritrosit, sedangkan pada konsentrasi 50% sel eritrosit lisis. Uji *kruskal wallis* menunjukkan nilai $p=0,000$ dimana nilai $p=<0,05$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi.

Keywords

Kualitas preparat sediaan apus darah tepi,
Konsentrasi metanol

*Corresponding Author

Fatimah Emy Sholekha

Laboratorium Hematologi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Email: fatimah7945@gmail.com

Pendahuluan

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan untuk mengetahui keadaan darah, baik sel darah maupun komponen darah dalam plasma. Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen seluler dan komponen non seluler. Komponen seluler yaitu sekitar 45% terdiri dari sel eritrosit, leukosit dan trombosit. Sedangkan komponen non seluler yaitu berbentuk cair (plasma) sekitar 55% dari bagian darah (Nugraha G, 2015).

Salah satu pemeriksaan hematologi rutin yaitu pemeriksaan sediaan apus darah tepi yang bertujuan untuk mengetahui morfologi sel bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi tentang keadaan hematologi seseorang (Nugraha G, 2015). Sel yang bersifat basa akan menyerap pewarna yang bersifat asam (eosin), sehingga tampak berwarna merah. Sedangkan granula yang bersifat asam akan menyerap pewarna yang bersifat basa (azure B) sehingga akan berwarna biru (Irianto, 2004). Didalam pengecatan giensa dilakukan fiksasi terlebih dahulu menggunakan *methanol absolut*, fiksasi tersebut harus dilakukan setelah sediaan kering angin, supaya tidak menimbulkan latar belakang warna biru. Fiksasi menggunakan *methanol absolute* berfungsi untuk merekatkan apusan darah tepi sehingga tidak terkelupas, serta menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan (struktur) sel. Fiksasi ini juga berfungsi supaya apusan darah dapat menyerap warna dengan sempurna. Larutan fiksasi yang tidak baik akan menyebabkan perubahan morfologi sel dan perlekatan yang tidak baik. Hal ini terjadi ketika tidak menggunakan larutan fiksasi *methanol absolute* dikarenakan adanya penguapan sehingga dapat mengubah konsentrasi yang dapat menyebabkan fiksasi tidak sempurna (Houwen Berend, 2000).

Pemeriksaan laboratorium dengan banyaknya sampel memungkinkan terjadi buka tutup

pada botol sehingga terjadi penurunan konsentrasi *methanol absolute* dan terkadang untuk menghemat biaya maka dengan sengaja dilakukan pengenceran larutan metanol, tanpa memperhitungkan hasil dari pengenceran *methanol absolute* dapat mempengaruhi hasil apus darah tepi. Pada kasus ini petugas hanya melihat fisik pasien yang sehat sehingga hasil akan dinormalkan. Hal ini melatar belakangi penulis untuk melakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis pada apusan darah tepi. Metode ini dirancang selain untuk dapat melihat eritrosit, tetapi juga untuk melihat lebih jelas tidak terjadi perubahan pada morfologi sel eritrosit serta dapat membedakan antara eritrosit normal dan tidak normal pada sediaan apus darah tepi dengan fiksasi menggunakan *methanol*. Untuk dapat menentukan konsentari *methanol* yang tepat maka diperlukan penelitian lebih lanjut. Kualitas preparat sediaan juga mempengaruhi hasil pengamatan, sehingga untuk memperoleh hasil pengamatan yang baik preparat sediaan apus darah tepi harus memiliki ketebalan yang tepat tidak terlalu tebal atau terlalu tipis, sediaan tidak terdapat gelembung udara, sediaan harus melekat sempurna dan kering sempurna, serta kaca objek harus bersih dari lemak, kuman dan kotoran.

Bahan dan metode

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu mikroskop, kaca slide, mikropipet, spuit 3cc, kapas alkohol, kapas kering, tabung hematologi, rak pewarna, pipet tetes, botol coklat kecil, tip. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larutan *methanol absolute* dan sediaan apus darah tepi.

Cara Kerja

Ambil slide yang bersih, teteskan sebanyak 20 μ l sampel darah, geser menggunakan kaca objek menggunakan tangan kanan, apusan tidak boleh terlalu tebal dan tipis. Letakkan SADT diatas rak pewarnaan, fiksasi menggunakan methanol dengan variasi konsentrasi, tunggu hingga mengering dan lakukan pewarnaan menggunakan giemsa 1:9, bias dengan air mengalir, tunggu hingga kering, amati dibawah mikroskop 10 kali, dilanjutkan dengan perbesaran 40 kali.

Hasil

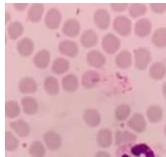
Sampel diambil dari mahasiswa D4 analis kesehatan semester 7 fakultas ilmu keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang dengan menggunakan tehnik random sampling. Penilaian dengan melihat makroskopis dan mikroskopis SADT.



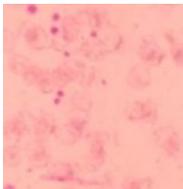
Gambar 4.1 makroskopis dan mikroskopis SADT



Gambar 4.2 makroskopis dan mikroskopis SADT



Gambar 4.3 makroskopis dan mikroskopis SADT



Gambar 4.4 makroskopis dan mikroskopis SADT

Hasil makroskopis dan mikroskopis warna pada pewarnaan giemsa dengan perbandingan fiksasi yaitu absolute (tanpa pengenceran) memiliki hasil makroskopis yang baik dengan ditandai perlekatan pada sediaan apus darah tepi dan memiliki ketebalan yang baik (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis), pada hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan absolute (tanpa pengenceran) memiliki hasil yang baik yaitu bentuk pada eritrosit normal (tidak terjadi hemolysis), sel eritrosit berwarna merah, ukuran eritrosit normal dan terdapat central pallor 1/3 dari seluruh bagian eritrosit. Pada pengenceran 90% memiliki hasil yang buruk ditandai dengan bentuk pada eritrosit yang mengalami perubahan yaitu terjadi pembengkakan pada eritrosit, sel eritrosit berwarna merah namun tidak terdapat central pallor 1/3 dari seluruh bagian sel eritrosit. Pada pengenceran 75% memiliki hasil yang buruk ditandai dengan adanya ukuran pada sel eritrosit menjadi makrositik, memiliki warna merah namun tidak terdapat central pallor pada sel eritrosit, serta memiliki bentuk hemolysis. Pada pengenceran 50% memiliki hasil yang buruk yaitu semua sel eritrosit tidak memiliki warna, terjadi bentuk hemolysis.

Diskusi

Hasil penelitian ditemukan bahwa berdasarkan makroskopis sediaan apus darah tepi memiliki hasil yang baik setelah dilakukan pengenceran konsentrasi larutan fiksasi absolute (tanpa pengenceran), pengenceran 90%, 75%, dan 50%. Artinya bahwa proses pengenceran konsentrasi larutan fiksasi tidak menyebabkan perubahan pada makroskopis sediaan apus darah tepi.

Hasil pengujian mikroskopis berdasarkan skoring pada 24 slide mulai terlihat perubahan yang buruk pada pengenceran 90% hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna pada sel eritrosit yaitu tidak memiliki central pallor 1/3 dari seluruh bagian sel eritrosit. Hasil uji kruskal wallis menunjukkan $p < 0,000 (< 0.05)$ sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada konsentrasi larutan fiksasi

terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi. Hasil mikroskopis menunjukkan bahwa dari pengenceran 90%, 75%, dan 50% memiliki hasil yang buruk. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan pada bentuk sel eritrosit (hemolysis, dan terjadi pembengkakan), hal ini dapat terjadi karena aquades pada pengenceran larutan fiksasi memiliki tekanan osmosis kedalam atau keluar sel, sedangkan sel eritrosit akan hemolysis jika terkena air. Ukuran sel eritrosit yang mengalami perubahan yaitu menjadi makrositik (mengalami pembengkakan) hal ini dapat disebabkan karena sel darah merah yang dimasukkan dalam larutan hipotonis, sehingga tekanan osmosis akan terjadi dari luar sel kedalam sel kemudian sel akan mengembang dan sel akan burr atau lisis (Sumardjo, 2009). Tekanan osmosis yaitu proses membesarnya atau mengalirnya pelarut kedalam larutan melalui selaput semipermeabel (selaput yang hanya dapat dilewati oleh partikel dengan ukuran tertentu).

Fiksasi berfungsi untuk menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah keadaan yang sebenarnya, fiksasi juga berfungsi untuk merekatkan sediaan apus darah tepi, dan membantu penyerapan warna dengan sempurna. Methanol memiliki kandungan air sebanyak > 3% didalamnya yang dapat menyebabkan pengaruh morfologi sel eritrosit (Houwen berend,2000). Perubahan morfologi pada sel eritrosit akan terjadi apabila fiksasi tidak menggunakan *methanol absolute*. Hal ini dapat terjadi karena methanol akan menguap sehingga meninggalkan aquades pada proses fiksasinya, hal ini kemudian sediaan apus darah tepi mengalami perubahan pada hasil mikroskopisnya.

Kesimpulan dan Saran

a. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan konsentrasi larutan

fiksasi tidak ditemukan pengaruh terhadap makroskopis sediaan apus darah tepi.

2. Hasil mikroskopis warna, ukuran, dan bentuk (hemolysis) sediaan apus darah tepi dengan perbandingan konsentrasi larutan fiksasi tanpa pengenceran (*methanol absolute*), pengenceran 90%, 75%, dan 50% terdapat perubahan pada eritrosit.
3. Terdapat pengaruh pada perbandingan konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi

b. Saran

Dari kesimpulan diatas maka penulis menyarankan :

1. Bagi petugas kesehatan yang bekerja di laboratorium agar lebih memperhatikan reagen yang digunakan untuk fiksasi seperti konsentrasi larutan fiksasi agar terhindar dari kesalahan hasil mikroskopis.
2. pada Peneliti selanjutnya disarankan agar meneliti lebih lanjut terhadap hasil mikroskopis leukosit dan trombosit menggunakan methanol 90%, dan 75%.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiwiyono,I. 2002. *Prinsip Pemeriksaan Preparat Apus Darah Tepi*. FK UNDIP, Semarang.
- Irianto,K. 2004. *Struktur Dan Fungsi Tubuh Manusia Untuk Paramedis*. Bandung.
- Nugraha,G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Trans Info Media. Jakarta.
- Pasini,EM, Kirkeguard,M, Motensen,P, Hens U, Lutz, Thomas,AW dan Mann,M. 2006. *Blood. The American Society of Hematology*. Washington DC.
- Rachmawati,L, Kusfebriani,R, dan Kusebriani,A. 2011. *Sediaan Apus Darah*. Jakarta. FMIPA Universitas Negeri Jakarta.

Santosa,B. 2010. *Differentiation Counting Berdasarkan Zona Baca Atas Dan Bawah Pada Preparat Darah Apus*. Patologi Klinik. UNIMUS, Semarang Indonesia.

