



**SKRIPSI**  
**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS**  
**PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun oleh :  
Yusrizal  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Proposal Penelitian  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal**

**Pembimbing I**



**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M. Biomed, PhD**  
NIDN : 0016097802

**Pembimbing II**



**Def Primal, M. Biomed**  
NIDN : 1026128401

**Penguji**

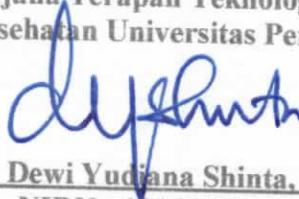


**dr. Meta Zulyati Oktora, Sp.PA, M. Biomed**  
NIDN : 1002108502

Proposal penelitian ini telah memenuhi persyaratan  
sebagai pedoman pelaksanaan penelitian penyusunan skripsi

**Mengetahui :**

**Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis**  
**Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia**



**Dr. Apt. Dewi Yudianta Shinta, M. Si**  
NIDN : 10160176

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia



Disusun Oleh :

YUSRIZAL

NIM. 2110263269

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
2023**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia**

**Disusun Oleh :**

**YUSRIZAL**

**NIM. 2110263269**

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA**

**2023**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP  
KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS  
DARAH TEPI

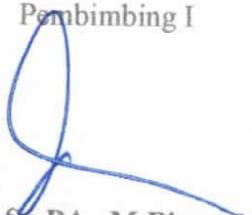
Nama Mahasiswa : Yusrizal

Program Studi : Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media

Skrip ini telah disetujui oleh Pembimbing untuk diajukan dihadapkan dalam ujian  
Kompre, yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan di Prodi  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media pada Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas Perintis Indonesia.

### Menyetujui Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed. PhD  
NIDN : 0016097802

Pembimbing II



Def Primal, M. Biomed  
NIDN : 1026128401

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun Oleh :  
YUSRIZAL  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Komprehensif  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal Februari 2023**

Pembimbing I



Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed. PhD  
NIDN : 0016097802

Pembimbing II



Def Primal, M.Biomed  
NIDN : 1026128401

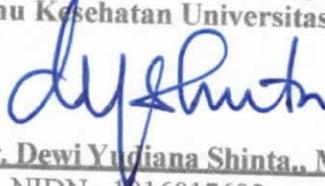
Penguji



dr. Metta Zulvati Oktora, Sp.PA.M.Biomed  
NIDN : 1002108502

Mengetahui :

Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis



Apt. Dr. Dewi Yudianta Shinta, M.Si  
NIDN : 1016017602

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : YUSRIZAL

NIM : 2110263269

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis dengan judul : “PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI” adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan menjadi batal dengan sendirinya.

Padang Februari 2023  
Menyatakan

Materai 10.000

**Yusrizal**

## BIODATA



Nama : Yusrizal  
Tempat, Tanggal Lahir : Air Bangis, 27 April 1985  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki-laki  
Alamat : Jl. Jati II Kampung Cubadak , Kec,  
Lingkuang Aua Kab Pasaman Barat  
Riwayat Pendidikan : 1. Min Air bangis (1991-1997)  
2. SMP PMT Hamka (1997-2000)  
3. SMA N I Palupuah (2000-2003)  
4. D3 ANAKES MH. THAMRIN ( 2006-2009)

**SKRIPSI**  
**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS**  
**PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun oleh :  
Yusrizal  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Proposal Penelitian  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal**

**Pembimbing I**



**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed, PhD**  
NIDN : 0016097802

**Pembimbing II**

**Def Primal, M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**Penguji**

**dr. Meta Zulyati Oktora, Sp.PA, M.Biomed**  
NIDN : 1002108502

Proposal penelitian ini telah memenuhi persyaratan  
sebagai pedoman pelaksanaan penelitian penyusunan skripsi

**Mengetahui :**

**Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis**  
**Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia**



**Dr. Apt. Dewi Yudianta Shinta, M, Si**  
NIDN : 1016017602

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia



**Disusun Oleh :**

**YUSRIZAL**

**NIM. 2110263269**

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
2023**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia**

**Disusun Oleh :**

**YUSRIZAL**

**NIM. 2110263269**

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
2023**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP  
KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS  
DARAH TEPI

Nama Mahasiswa : Yusrizal

Program Studi : Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media

Skripsi ini telah disetujui oleh Pembimbing untuk diajukan dihadapkan dalam ujian  
Kompre, yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan di Prodi  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media pada Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas Perintis Indonesia.

**Menyetujui  
Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed, PhD**  
NIDN : 0016097802

**Def Primal, M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun Oleh :  
YUSRIZAL  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Komprehensif  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal Februari 2023**

Pembimbing I

Pembimbing II

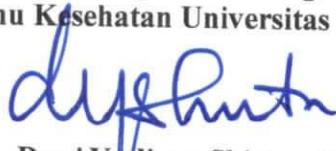
**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed, PhD**  
NIDN : 0016097802

**Def Primal, M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**Penguji**

**dr. Metta Zulyati Oktora, Sp.PA.M.Biomed**  
NIDN : 1002108502

**Mengetahui :**  
**Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis**



**Apt. Dr. Dewi Yudianta Shinta, M.Si**  
NIDN : 1016017602

## **PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : YUSRIZAL

NIM : 2110263269

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis dengan judul : “PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI” adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan menjadi batal dengan sendirinya.

Padang Februari 2023  
Menyatakan

Materai 10.000

**Yusrizal**

## BIODATA



Nama : Yusrizal

Tempat, Tanggal Lahir : Air Bangis, 27 April 1985

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Laki-laki

Alamat : Jl. Jati II Kampung Cubadak , Kec,  
Lingkuang Aua Kab Pasaman Barat

Riwayat Pendidikan : 1. Min Air bangis (1991-1997)  
2. SMP PMT Hamka (1997-2000)  
3. SMA N I Palupuah (2000-2003)  
4. D3 ANAKES MH. THAMRIN ( 2006-2009)

## ABSTRAK

Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) merupakan slide yang salah satu permukaannya dilapisi menggunakan lapisan tipis darah dan diwarnai dengan pengecatan giemsa atau wright. Sebelum pengecatan, preparat terlebih dahulu difiksasi menggunakan methanol (methyl alkohol). Proses fiksasi bertujuan untuk merekatkan apusan darah tepi supaya tidak terkelupas dari preparat dan menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Larutan fiksasi yang tidak baik karena mengalami penguapan atau penurunan konsentrasi mempengaruhi perubahan morfologi sel dan perlekatan yang tidak baik.

Penelitian ini bersifat Pra-Eksperimen dengan desain one shot case study merupakan dimana peneliti hanya melakukan satu kali pengumpulan data untuk satu eksperimen yang dilakukan. Specimen yang digunakan 5 buah sisa sampel darah EDTA anak-anak dengan rentang usia 1-13 tahun di Laboratorium RSUD Pasaman Barat, yang akan dijadikan 20 Sediaan Apus Darah dengan waktu fiksasi methanol yang berbeda disetiap slide dengan 4 waktu fiksasi yang berbeda –beda yaitu waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit.

Hasil penelitian pada pembacaan Makroskopis, Mikroskopis meliputi warna, ukuran sel eritrosit dan sel krenasi . waktu fiksasi yang baik yaitu pada waktu 1 menit dan 5 menit, Berdasarkan uji statistic didapatkan nilai p value = 0,287 dengan  $\alpha > 0,05$  dimana p value  $< \alpha$  ( $0,287 < 0,05$ ) maka  $H_0$  diterima yang artinya tidak ada pengaruh lama fiksasi methanol terhadap sediaan hapus darah tepi (SADT).

## ABSTRACT

Peripheral blood smear (SADT) is a slide in which one surface is coated with a thin layer of blood and stained with Giemsa or Wright stains. Prior to painting, the preparations were fixed using methanol (methyl alcohol). The fixation process aims to glue the peripheral blood smear so that it does not peel off from the preparation and stops the metabolic process without changing the cell structure. Fixation solutions that are not good because they experience evaporation or a decrease in concentration affect changes in cell morphology and poor adhesion.

This research is pre-experimental with a one shot case study design is where the researcher only collects data once one experiment was carried out. The specimens used were 5 pieces of the remaining samples EDTA blood of children with an age range of 1-13 years at the Pasaman Barat Hospital Laboratory, which will be used as 20 blood smears with different methanol fixation times on each slide with 4 different fixation times, namely 1 minute, 5 minutes, 10 minutes and 20 minutes.

The results of research on reading Macroscopically, Microscopically includes color, size of erythrocyte cells and crenation cells. a good fixation time is 1 minute and 5 minutes. Based on statistical tests, it is obtained that the p value = 0.287 with  $\alpha > 0.05$  where the p value  $< \alpha$  ( $0.287 < 0.05$ ) then  $H_a$  is accepted which means there is no effect on the length of fixation methanol against peripheral blood smear preparations(SADT).

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul “Pengaruh pengaruh lama fiksasi methanol terhadap kualitas pewarnaan giemsa sediaan apus darah (SADT)”.

Skripsi ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Teknologi Laboratorium Medik. Dalam penyelesaian skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan baik material maupun moril dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Rer. Nat. Ikhwan Resmala Sudji, S. Si., M. Si selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
2. Ibu Apt. Dr. Dewi Yudiana Shinta, M.Si selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
3. Bapak Dr. Tofrizal,. Sp.PA,. M. Biomed,. PhD selaku Pembing I pada Skripsi yang telah memberi masukan dan arahan sehingga Skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Bapak Def Primal, M. Biomed.PA selaku Pembimbing II Skripsi yang telah memberi masukan dalam perbaikan penulisan sehingga Skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Ibu dr.Meta Zulyati Oktora,Sp.PA,M.Biomed selaku Penguji Skripsi yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis.
6. Terspesial untuk orang tua, dan keluarga tercinta atas segala jasa dan dukungan, baik moril maupun materil serta do'a yang tiada pernah putus-putusnya kepada penulis.
7. Sahabat, teman-teman, dan rekan-rekan yang senasib seperjuangan, atas jasa dan pengorbanannya untuk membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
8. Dan semua pihak yang telah membantu penulis.

Akhir kata penulis menyadari sepenuhnya bahwa Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman. Dengan kerendahan hati penulis mengharapkan segala kritikan dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan Proposal dan penulis berharap semoga Skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dimasa yang akan datang.

Padang, Februari 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PERSETUJUAN	
LEMBAR PENGESAHAN	
LEMBAR PERNYATAAN	
BIODATA	
KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.3.1 Tujuan Umum .....	2
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Sediaan Apus Darah Tepi .....	4
2.2 Pewarnaan Giemsa.....	5
2.3 Fiksasi .....	7
2.4 Methanol .....	17
BAB III METODE PENELITIAN .....	19
3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	19
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.3 Populasi dan Sampel .....	19
3.3.1 <i>Populasi</i> .....	19
3.3.2 <i>Sampel</i> .....	19
3.4 Alat dan Bahan.....	20
3.5 Prosedure Penelitian.....	20
3.5.1 <i>Pembuatan Slide Sediaan Apus Darah Tepi</i> .....	20
3.5.2 <i>Pewarnaan Slide Sediaan Apus Darah Tepi dengan Giemsa</i> .....	21
3.6 Variabel Penelitian .....	21
3.6.1 <i>Definisi Operasional</i> .....	21
3.6.2 <i>Variabel Independen</i> .....	23
3.6.3 <i>Variabel Dependen</i> .....	23
3.7 Kerangka Prosedur .....	23
3.8 Analisa Data .....	23

3.8.1 <i>Analisa Univariante</i> .....	24
3.8.2 <i>Analisa Bivariat</i> .....	24
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>25</b>
4.1 Gambaran Umum Sampel .....	25
4.2 Hasil Penelitian .....	25
4.3 Uji Statistik .....	32
4.4 Pembahasan.....	33
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>35</b>
5.1 Simpulan .....	35
5.2 Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN</b> .....	<b>36</b>

**DAFTAR TABEL**

Halaman

Tabel 3.1 Defenisi Operasional ..... 18

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Eritrosit normal .....	6

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1	Table Makroskopis
LAMPIRAN 2	Table warna sel
LAMPIRAN 3	Table Ukuran sel
LAMPIRAN 4	Table Krenasi sel
LAMPIRAN 5	SPSS
LAMPIRAN 6	Surat PKL

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar belakang

Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) merupakan slide yang salah satu permukaannya dilapisi menggunakan lapisan tipis darah dan diwarnai dengan pengecatan giemsa atau wright. Sebelum pengecatan, preparat terlebih dahulu difiksasi menggunakan methanol (methyl alkohol). Proses fiksasi bertujuan untuk merekatkan apusan darah tepi supaya tidak terkelupas dari preparat dan menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Larutan fiksasi yang tidak baik karena mengalami penguapan atau penurunan konsentrasi mempengaruhi perubahan morfologi sel dan perlekatan yang tidak baik. (Houwen B, 2002)

Menurut M. Ardi (2016) dalam jurnal (Yulianingsih Anwar & Nurhamsiah, 2018), pembuatan sediaan hapus darah tepi yang baik secara makroskopis dan mikroskopis sangat penting dalam menilai keberhasilan dalam pembuatan dan pembacaan slide sediaan apus darah tepi. Secara makroskopis, bentuk dan tampilan preparat merupakan hal yang penting untuk diperhatikan, sediaan yang kering, tipis dan telah dipulas dengan pewarnaan memungkinkan untuk melihat morfologi sel darah. Sehingga pembacaan slide secara mikroskopis dapat ditegakkan menjadi diagnosa.

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Dian Rachmawati tahun 2016 menunjukkan bahwa penguapan larutan fiksasi yang lama dapat menurunkan konsentrasi larutan fiksasi sehingga dapat berpengaruh terhadap hasil makroskopik dan mikroskopik SADT. (Rachmawati D, 2018)

Proses fiksasi dengan methanol absolute selama lima menit berfungsi

untuk membuka dinding sel eritrosit agar cat giemsa dapat masuk sehingga dapat mewarnai sel eritrosit. Methanol yang di biarkan terlalu lama diudara terbuka akan menguap (mengalami penurunan konsentrasi) dan mengandung air sehingga akan mempengaruhi morfologi eritrosit. (Pamungkas KP, 2014).

Waktu fiksasi optimal tergantung dalam beberapa faktor dan bervariasi tergantung penggunaan jenis agen fiksatif yang digunakan.(Musyarifah Z, 2018). Fiksasi berkepanjangan harus dihindari karena reagen mempengaruhi pengecatan selanjutnya dan menyebabkan beberapa penghambatan enzim intraseluler.(Harper TA, 1974).

Banyaknya teori tentang lamanya waktu fiksasi memungkinkan terjadinya variasi waktu fiksasi sesuai dengan acuan yang digunakan. Hal ini akan berdampak pada morfologi sel darah merah dan dapat mempengaruhi hasil Pemeriksaan SADT.

Berdasarkan Permasalahan di atas, peneliti bermaksud melakukan penelitian tentang “ pengaruh lama fiksasi methanol terhadap kualitas pewarnaan giemsa sediaan apus darah tepi (SADT)”.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, didapatkanlah rumusan masalahnya yaitu “Apakah ada Pengaruh Lama Fiksasi Methanol Terhadap Kualitas Pewarnaan Giemsa Pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) ?”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui Pengaruh Lama Fiksasi Methanol Terhadap Kualitas Pewarnaan Giemsa Pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT)

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui Kualitas Pewarnaan Giemsa Pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) dengan fiksasi methanol waktu yang berbeda
2. Untuk mengetahui pengaruh lama waktu Fiksasi yang baik Terhadap morfologi sel darah pada sediaan apus darah tepi (SADT).

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Bagi individu / peneliti

Menambah wawasan terhadap prosesing jaringan dengan lama lama waktu yang berbeda dengan larutan methanol

2. Bagi institusi

Menambah perpustakaan bahwa lama waktu fiksasi juga mempengaruhi pewarnaan

3. Bagi Rumah Sakit

Dapat mempertimbangkan waktu fiksasi untuk memungkinkan perbaikan lama waktu fiksasi yang di perlukan.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

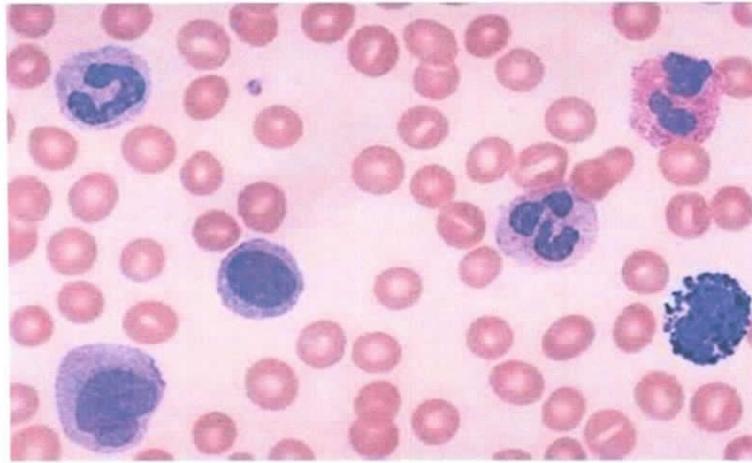
### 2.1 Sediaan Apus Darah Tepi

Sediaan apus darah tepi merupakan hitung jenis sel darah dengan procedure mengoleskan setetes darah pada objek glass kemudian dilakukan pengecatan dengan giemsa/wright. (Yulianingsih Anwar & Nurhamsiah, 2018)

Pembuatan sediaan apus darah menggunakan dua objek glass yang sangat bersih dan bebas dari lemak. Objek glass pertama digunakan sebagai tempat tetes darah yang akan diperiksa dan objek glass kedua untuk meratakan tetes darah agar didapatkan lapisan tipis. Objek glass untuk meratakan darah diletakkan miring dengan sudut kira-kira  $45^{\circ}$  dan digerakkan secara cepat sehingga terbentuklah selapis tipis. Kemudian sampel darah dikeringkan pada suhu ruang dan dilakukan fiksasi menggunakan methanol yaitu dengan cara meneteskan methanol ke seluruh bagian apusan darah dibiarkan kering selanjutnya dilakukan pewarnaan giemsa (Yuniastutik, 2019).

Menurut Kiswari, 2014 dalam jurnal (Arwie & Islawati, 2018), pemeriksaan sediaan apusan darah tepi terdapat beberapa kendala dalam melakukan pemeriksaan yaitu pemeriksaan ditunda setelah sampel berhasil diambil mengakibatkan kerusakan sel-sel dara, kaca objek yang koto

mengakibatkan bintik-bintik pada apusan tetesan terlalu banyak atau terlalu sedikit mengakibatkan apusan yang tebal akan panjang dan terlalu tipis akan pendek, geseran terlalu lambat mengakibatkan penyebaran sel tidak baik, dan penyebab hasil pewarnaan yang tidak baik seperti terlalu biru, terlalu ungu dan hasil pewarnaan pucat.



**Gambar 2.4** Sediaan Apus Darah Tepi normal (Subawa & Santi, 2016)

## 2.2 Pewarnaan Giemsa

Menurut wulandari et al. (2009) dalam jurnal (Yuniastutik, 2019)

Pewarnaan giemsa dilakukan dengan cara memberi beberapa tetes giemsa diatas apusan darah dan didiamkan lalu dibilas keringkan. Tujuan pewarnaan pada pembuatan apusan darah adalah untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen sel, terutama sel-selnya sehingga dapat dibedakan dan ditelaah dengan mikroskop.

Beberapa hal yang harus diperhatikan pada pewarnaan giemsa :

1. Giemsa stok harus disimpan dalam botol kaca berwarna gelap dan hindari dari sinar matahari langsung.

2. Sebaiknya giemsa stok disimpan dalam botol berwarna gelap berukuran 100 ml. Hal ini untuk menghindari rusaknya giemsa stok karena oksidasi dan penguapan akibat seringnya membuka tutup botol.
3. Botol giemsa stok yang akan digunakan tidak boleh dikocok atau diaduk karena endapan/Kristal giemsa akan naik ke permukaan larutan dan dapat menjadi artefak dalam sediaan yang diwarnai.
4. Pengambilan giemsa stok harus menggunakan pipet yang kering, agar giemsa stok di botol tidak tercemar dengan air.
5. Sisa larutan giemsa yang telah dicampur dengan larutan buffer bila tidak digunakan lagi harus dibuang dan dimasukkan kembali ke dalam botol giemsa stok.
6. Larutan giemsa dibuat segera sebelum digunakan dan tidak boleh disimpan/digunakan setelah 1 jam. (Kemenkes RI, 2017).

Ada dua cara dalam menguji mutu giemsa untuk mengetahui apakah giemsa stok yang akan digunakan masih baik :

1. Melakukan pewarnaan pada 1-2 slide kemudian diperiksa dibawah mikroskop. Kalau hasilnya sesuai dengan kriteria standard pewarnaan yang baik, berarti giemsa pengencerannya masih bagus dan dapat digunakan. Pengujian seperti perlu dilakukan setiap kali akan melakukan pewarnaan massal.
2. Melakukan tes menggunakan kertas Whatman No. 2 dan Methanol (metil alcohol) :

- Letakkan kertas saring diatas gelas atau petridisk / cawan petri supaya bagian tengah kertas tidak menyentuh sesuatu.
  - Teteskan 1 – 2 tetes giemsa stok pada kertas saring. Tunggu sampai meresap dan menyebar.
  - Kemudian teteskan 3 – 4 tetes methanol absolut di tengah bulatan giemsa perlahan dengan jarak waktu beberapa detik sampai garis tengah giemsa menjadi 5 – 7 cm, maka akan terbentuk :
    - o Lingkaran biru ( methilen blue ) ditengah
    - o Lingkaran cincin ungu ( methilen azur ) diluarnya, dan
    - o Lingkaran tipis warna merah dan tidak boleh dipakai lagi, bila warna ungu atau merah tidak terbentuk.
- (Kemenkes RI, 2017).

### 2.3 Fiksasi

Fiksasi adalah suatu metode untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Proses fiksasi ini diharapkan setiap molekul pada jaringan yang hidup tetap berada pada tempatnya dan tidak ada molekul baru yang timbul. Pada prosesnya ini tentu tidak akan berjalan dengan sempurna, apabila timbul molekul asing baru pada jaringannya disebut artefak. Tujuan fiksasi ini agar jaringan tersebut tetap utuh. Fiksasi harus dilakukan sesegera mungkin setelah pengangkatan jaringan atau setelah kematian agar tidak terjadi autolisis (Anil & Rajendran, 2008).

Prinsip kerja dari fiksasi adalah mengawetkan bentuk sel dan organel sehingga mendekati bentuk fisiologinya. Cairan fiksatif mengubah komposisi jaringan secara kimiawi dan fisik. Secara kimiawi, protein sel diubah secara fungsional dan struktural dengan cara koagulasi dan membentuk senyawa aditif baru. Senyawa tersebut terbentuk dengan cara ikatan silang dari dua makromolekul yang berbeda, yakni cairan fiksatif dan

protein sel. Hal ini menyebabkan sel resisten terhadap gerakan air dan cairan-cairan lainnya. Akibatnya, struktur sel menjadi stabil, baik di dalam maupun di antara sel-sel. Selain itu, kebanyakan enzim di dalam sel menjadi terinaktivasi, sehingga proses metabolisme sel tidak terjadi, dan mencegah adanya autolisis sel. Secara fisik, membran sel yang awalnya hidrofilik, dilarutkan dengan cairan fiksatif, yang menyebabkan pori-pori sel membesar. Akibatnya, makromolekul dapat memasuki sel. Hal ini membantu untuk teknik setelah fiksasi, khususnya pada proses parafinisasi dan pewarnaan dimana zat-zat tersebut akan dapat masuk ke dalam sel dan menempel dengan mudah (Jamie et al, 2010)

Proses fiksasi yang baik harus memenuhi beberapa syarat, sebagai berikut:

1. Fiksasi dilakukan dengan penekanan yang cepat dan sejajar,
2. Fiksasi tidak menyulitkan dan murah biaya,
3. Fiksasi harus bisa menghambat pembusukan bakteri dan terjadinya autolisis,
4. Fiksasi harus memberikan perbedaan gambaran mikroskopik yang bagus,
5. Fiksasi tidak boleh menyebabkan iritasi, keracunan, dan korosif,
6. Fiksasi tidak boleh menyebabkan penyusutan, pembengkakan, atau perubahan sel lainnya,
7. Fiksasi harus bisa membuat jaringan menjadi tahan lama,
8. Fiksasi harus mendapatkan izin untuk pengembalian warna dasar sebagai objek pengambilan foto (Alwi, 2016).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi fiksasi :

1. pH

pH optimal untuk dilakukan fiksasi adalah 6-8. Jika pH diluar rentang nilai tersebut maka secara garis besar dapat menyebabkan perubahan pada struktur jaringan, menjadi rusak akibat presipitasi sel. Perubahan pH akan mempengaruhi jumlah ion sehingga akan terjadi peningkatan atau penurunan laju reaksi yang memberikan efek

pada pengamatan mikroskopik.

## 2. Suhu

Fiksasi yang akan dilihat dengan mikroskop elektron lebih baik disimpan pada suhu 0-4°C.

## 3. Perubahan volume

Selama fiksasi, volume jaringan biasanya mengalami perubahan. Hal ini disebabkan oleh penghambatan respirasi intraseluler, perubahan permeabilitas, dan perubahan transport ion. Fiksasi dengan formalin yang berkepanjangan akan membuat sel menyusut. Volume sel harus dijaga dalam batas normal agar pada saat pengamatan terlihat seperti sel yang hidup. Volume cairan fiksasi 5-10x sampel.

## 4. Waktu

Fiksasi dilakukan selama 12-24 jam pada suhu ruangan yang berkisar 25-30°C. Waktu fiksasi tergantung dari jenis fiksatifnya.

## 5. Konsentrasi

Konsentrasi memberikan efek positif yaitu dengan mempercepat proses fiksasi melalui banyaknya molekul yang terbentuk.(Alwi, 2016).

Jenis fiksasi Secara umum terdapat dua tipe fiksasi untuk spesimen biologi yaitu fiksasi fisik dan fiksasi kimia.

Fiksasi secara fisik menggunakan temperatur yang sangat rendah (cryo-fixation) atau yang sangat tinggi (boiling dan microwave). Fiksasi panas jarang digunakan untuk spesimen jaringan, biasanya digunakan untuk pemeriksaan smears atau mikroorganisme, meskipun saat ini fiksasi microwave telah banyak digunakan pada pemeriksaan rutin di laboratorium. Berbeda dengan cryo-fixation yang digunakan pada pewarnaan histokimia tapi jarang digunakan untuk diagnostik jaringan.12

Fiksasi kimia biasanya dilakukan dengan merendam jaringan pada larutan fiksatif atau pada sebagian kecil organ seperti paru dengan memasukkan cairan fiksatif pada sistem vaskuler. 12

Fiksasi kimia menjalankan perannya dalam memproteksi sel dan jaringan dengan mendenaturasi protein menggunakan cara koagulasi (fiksasi non-aditif), cross-linking (membentuk senyawa aditif) atau dengan kombinasi keduanya. 1,4,9

Fiksatif kimia adalah yang paling umum digunakan untuk sediaan yang dilihat menggunakan mikroskop.

Tabel 1. Rincian metode fiksasi pada fiksatif yang berbeda

<b>Fiksatif</b>	<b>Metode fiksasi</b>	<b>Kandungan</b>
B5	<i>Denaturasi</i>	5.4% <i>Mercuri Chlorida</i> (w/v), 1.1% <i>Sodium Asetat</i> (w/v), 4% <i>Formaldehid</i> (v/v), <i>Water</i>
<i>Bouin's</i>	<i>Denaturasi, cross-linking</i>	25% of 37% <i>lautan formaldehid</i> , 70% <i>picric acid</i> , 5% <i>acetic acid</i>
<i>Carnoy's</i>	<i>Denaturasi</i>	60% <i>etanol</i> , 30% <i>chloroform</i> , 10% <i>Glacial acetic acid</i>
<i>Glutaraldehid</i>	<i>Cross-linking</i>	2% v/v dari <i>glutaraldehid</i> dalam air/PBS
<i>Methacam</i>	<i>Denaturasi</i>	60% <i>metanol</i> , 30% <i>chloroform</i> , 10% <i>Glacial acetic acid</i>
<i>Neutral buffered formalin</i> (NBF)	<i>Cross-linking</i>	10% of 37% <i>larutan formaldehid</i> pada pH netral
<i>Paraformaldehid</i>	<i>Cross-linking</i>	4% w/v dari <i>paraformaldehid</i> dalam air/PBS
<i>Zenker's</i>	<i>Denaturasi</i>	5% <i>Mercuri Chloride</i> (w/v), 2.5% <i>Potassium Dichromate</i> (w/v), 5% <i>Glacial acetic acid</i> (v/v), <i>Air</i>

Mekanisme fiksasi Secara garis besar terdapat dua mekanisme yang penting dalam fiksasi kompleks protein yaitu denaturasi dan cross-linking atau gabungan keduanya.<sup>11</sup>

### 1. Denaturasi

Efek denaturasi paling umum disebabkan oleh dehidran seperti alkohol dan aseton contohnya adalah larutan Carnoy's dan Methacam.<sup>4</sup> Reagen ini mengubah komposisi jaringan dan menstabilkan jaringan dengan menghilangkan ikatan H- pada kelompok tertentu dalam molekul protein seperti ikatan carboxyl bebas, hydroxyl, amino, amido dan imino dari protein yang menyebabkan perubahan pada struktur tersier protein dengan mendestabilisasi ikatan hidropobik. Hal ini akan menyebabkan perubahan pada solubilitas protein dimana protein yang larut dalam air menjadi tidak larut, koagulasi protein dan penyusutan sel.<sup>4,10</sup>

Larutan fiksatif Carnoy's menambahkan chloroform dan acetic acid ke dalam campuran yang dapat melawan efek penyusutan sel oleh etanol dan mengakibatkan terfiksasinya jaringan melalui ikatan hidrogen sedangkan pada larutan Methacam, dimana etanol digantikan oleh metanol yang bekerja dengan cara yang sama.<sup>4</sup>

### 2. Cross-linking

Larutan fiksatif ini secara kimiawi bereaksi dengan protein serta komponen sel dan jaringan dimana suatu ikatan kimia larutan fiksatif diambil dan menjadi bagian dari jaringan dengan cara mengisi dan membentuk cross-link inter-molekul atau intra - molekul.<sup>4,9,10</sup> Zat fiksatif ini adalah senyawa reaktif yang dapat mengikat berbagai komponen kimia di jaringan sehingga sering mempengaruhi komponen pada tempat ia berikatan (Gambar 2).<sup>10</sup> Hal ini mempunyai efek pada karakteristik pewarnaan berikutnya dari partikel protein sehingga mengganggu konformasi molekul dan kelarutannya. Reaksi utama dari cross-link terjadi antara bagian kelompok amino dari lysine yang akan membentuk methylene bridges (gambar 2).<sup>9,13</sup>

Hasil dari ikatan cross-linking ini adalah perubahan konformasi pada struktur protein dan selanjutnya inaktivasi dari enzim.<sup>9</sup>

Kompleks yang baru terbentuk berbeda dari protein yang tidak terdenaturasi pada profil

dapat meragukan dengan mikroorganisme atau pigmen patologis lainnya. Pigmen ini dapat dihilangkan dengan saturated aqueous picric acid sebelum pewarnaan, tapi sebaiknya hal tersebut dihindari dari awal. Pencegahan hal tersebut dan karena formaldehid bereaksi paling efektif pada pH netral, penambahan buffer diperlukan untuk menjaga agar pH mendekati netral (6,8 – 7,2) dan tekanan osmotik hampir sama dengan cairan ekstraseluler atau yang lebih dikenal dengan neutral buffer formalin (NBF).<sup>2,7</sup>

Saat ini berbagai merk larutan neutral buffered formalin telah dikemas dan siap digunakan dengan harga terjangkau

#### b. Glutaraldehid

Glutaraldehid atau dialdehid glutarat ( $\text{CHO}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$ ) dianggap sebagai aldehid bifungsional, memiliki kelompok aldehid di kedua ujung molekul yang memiliki potensi untuk bereaksi dengan kelompok kimia yang sama seperti formaldehid. Fiksasi jaringan menggunakan glutaraldehid akan lebih ekstensif melakukan cross-linked daripada formalin sehingga menyebabkan efek yang kurang baik pada pewarnaan imunohistokimia tapi ia dapat memfiksasi sangat cepat serta memberi detail terbaik pada sitoplasma dan inti dan menjaga ultrastruktural dengan sangat baik sehingga digunakan sebagai fiksatif utama untuk mikroskop elektron <sup>7,14</sup>

Glutaraldehid sangat buruk dalam penetrasi dan direkomendasikan pada jaringan dengan ketebalan pemotongan < 1 mm.<sup>7</sup>

Glutaraldehid secara perlahan akan terurai membentuk asam glutarik dan akan berpolimerisasi menjadi bentuk cyclic dan oligomerik. Glutaraldehid biasanya ditambahkan buffer yang sesuai pada pH 7,2 – 7,4 (biasanya cacodylate, phosphate atau maleate) menghasilkan konsentrasi larutan glutaraldehid 3%.<sup>14</sup>

## 2. Merkuri Chlorida

Merkuri Chlorida ( $\text{HgCl}_2$ ) adalah salah satu reagen yang digunakan pertama kali untuk fiksasi jaringan. Mekanisme fiksasi belum sepenuhnya dipahami, merkuri

chlorida bereaksi dengan amina, amida, asam amino dan kelompok sulphhydryl. Selama fiksasi menggunakan larutan yang mengandung merkuri dapat terbentuk pigmen merkuri yaitu artefak amorf berwarna coklat-kehijauan yang secara acak dideposit di jaringan (gambar 5).<sup>7,9</sup>

Pigmen tersebut dapat dihilangkan menggunakan iodine dan larutan sodium thiosulfat sebelum pewarnaan. Contoh larutan yang mengandung merkuri chlorida adalah larutan B-5 dan Zenker's. Ada beberapa kelemahan menggunakan larutan fiksatif yang mengandung merkuri yaitu harganya yang lebih mahal dibandingkan larutan fiksatif lainnya, sangat korosif, sangat toksik, diabsorpsi kulit dan berakumulasi menjadi racun.<sup>9,10</sup>

### 3. Zinc Salt

Zinc sulphate ( $ZnSO_4$ ) dan zinc chloride ( $ZnCl_2$ ) telah digunakan sebagai pengganti untuk merkuri chlorida. Garam ditambahkan ke larutan formalin 10% dengan konsentrasi sekitar 1%, tapi terdapat beberapa masalah yang dilaporkan terkait dengan presipitasi dari zinc atau garam buffer selama persiapan. Zinc salts akan bereaksi dengan grup akhir dari jaringan meliputi amino, carboxyl dan sulphhydryl, membentuk produk reaksi reversibel yang dapat dihilangkan dengan sitrat atau EDTA. Zinc dikatakan dapat meningkatkan fiksasi dan pewarnaan, khususnya inti sel dengan cara yang mirip dengan merkuri klorida. Zinc diklaim memiliki keunggulan dalam menjaga immuno-reaktivitas bila dibandingkan dengan formalin saja dalam menghindari kebutuhan untuk pengambilan antigen pada beberapa epitop.<sup>7</sup>

### 4. Acrolein

Acrolein atau acrylic aldehyd ( $H_2C=CH.CHO$ ) bereaksi dengan molekul makro seperti formaldehid melakukan cross-links yang reversibel. Acrolein bereaksi dengan asam lemak melalui ikatan ganda. Penetrasi acrolein ke jaringan secara cepat, tapi jarang dipakai sebagai larutan fiksatif karena tidak nyaman digunakan, pH alkaline yang tidak stabil dan siap membentuk polimer. Acrolein biasanya digunakan untuk enzim histokimia dan untuk fiksasi tanaman.<sup>7</sup>

## 5. Glyoxal

Glyoxal atau diformyl ( $\text{CHO}\cdot\text{CHO}$ ) merupakan dialdehid sederhana dimana kedua rantainya dapat membentuk cross-links.<sup>7,9</sup> Glyoxal bereaksi hampir sama dengan formaldehid menghasilkan gambaran morfologi yang sama. Glyoxal dianggap sebagai pengganti formalin karena dianggap kurang toksik dibandingkan formaldehid.<sup>7</sup>

Larutan ini harus ditambahkan buffer sampai pH sekitar 4 agar stabil dan mengandung sedikit metanol yang dapat mengkatalisis reaksi glyoxal dengan protein. Fiksasi adekuat dengan glyoxal adekuat pada spesimen kecil dapat dicapai dalam satu jam. Saat ini belum ada bukti yang sudah dipublikasikan mengenai keefektifan larutan fiksatif campuran dengan menggunakan glyoxal sebagai bahan utama.<sup>9</sup>

Larutan glyoxal yang paten biasanya digunakan untuk histologi secara umum dan imunohistokimia. Ada beberapa perbedaan glyoxal dengan formaldehid (NBF) yaitu glyoxal dapat menekan pewarnaan pada jaringan dengan protein arginin yang banyak, hanya sedikit menguap pada suhu kamar karena mempunyai tekanan uap yang sangat rendah pada suhu kamar dan biodegradable sehingga lebih mudah terurai dibandingkan formalin.<sup>7,9</sup>

## 6. Oxidizing Agent

Oxidizing agents meliputi larutan fiksatif permanganate (potassium permanganate), dichromate (potassium dichromate) dan osmium tetroxide. Mereka merupakan fiksatif cross-links tapi menyebabkan denaturasi yang ekstensif.<sup>14</sup>

## 7. Picric Acid

Picric acid atau trinitro phenol ( $\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3\text{OH}$ ) adalah kristalin berwarna kuning cerah yang harus disimpan basah dengan air untuk menghindari risiko meledak oleh panas dari material yang kering.<sup>7</sup>

Picric acid sebagai larutan fiksasi yang selalu digunakan secara kombinasi dengan agen fiksatif lainnya (contohnya larutan Bouin's dan Hollande's). Picric acid adalah fiksatif koagulan yang mengubah muatan pada rantai protein yang berion dan mengganggu elektrostatis dan ikatan hidrogen. Hal tersebut akan membentuk garam (picrates) dengan grup utama dari protein yang mengakibatkan koagulasi. Picric acid tidak digunakan untuk lipid atau karbohidrat tapi direkomendasikan sebagai komponen fiksatif untuk mempertahankan glikogen.<sup>7</sup>

#### 8. Alkohol

Etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) dan metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) adalah fiksatif koagulan yang mendenaturasi protein. Mereka mengganti ikatan air pada jaringan sehingga mengganggu ikatan hidropobik dan hidrogen kemudian mengekspos bagian hidropobik internal dari protein dan mengganggu struktur tersiernya dan solubilitasnya di air.<sup>7,9</sup>

Metanol berinteraksi lebih kuat pada area hidropobik daripada etanol. Fiksasi dimulai dari konsentrasi 50-60% untuk etanol dan >80% untuk metanol.<sup>7</sup>

Keduanya tidak digunakan secara rutin untuk jaringan karena mereka menyebabkan jaringan menjadi terlalu rapuh dan keras.<sup>14</sup>

Etanol kadang-kadang digunakan untuk menjaga glikogen tapi akan menyebabkan kerusakan pada detail inti dan sitoplasma. Metanol biasanya digunakan untuk fiksasi blood film dan kultur sel sedangkan etanol 95% digunakan sebagai fiksatif untuk apusan sitologi tetapi biasanya dikombinasikan dengan reagen lain ketika digunakan sebagai fiksatif untuk spesimen jaringan

#### 9. Aseton

Aseton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) memiliki kerja yang sama dengan alkohol dan telah digunakan sebagai fiksatif dan dehidran pada pengolahan jaringan, terutama pengolahan cepat manual dari spesimen yang kecil. Aseton direkomendasikan sebagai fiksasi untuk histokimia dengan suhu yang rendah ( $4^\circ\text{C}$ ). Karena sangat mudah menguap dan mudah terbakar umumnya tidak digunakan pada pengolahan jaringan otomatis.<sup>7</sup>

## 10. Asam asetat

Asam asetat (  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ) adalah koagulan yang bereaksi dengan asam nukleat tetapi umumnya tidak memfiksasi protein. Umumnya aseton bergabung dalam larutan fiksatif lainnya untuk membantu mencegah hilangnya asam nukleat dan karena dapat membuat kolagen membengkak, asam asetat digunakan untuk mengurangi penyusutan yang disebabkan oleh bahan-bahan lain seperti etanol. Asam asetat penetrasinya sangat cepat tapi fiksatif ini dapat melisiskan eritrosit.<sup>7</sup>

Berbagai formulasi telah dibuat untuk berbagai larutan fiksatif dan telah ditulis pada buku acuan standar histokimia. Formulasi ini memiliki variasi yang berbeda antara buku yang satu dengan yang lainnya, tapi variasi ini tidak menyebabkan masalah dalam pemakaiannya. Berbagai formulasi larutan fiksatif.

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fiksasi :

### 4. Konsentrasi ion hidrogen (pH)

Fiksasi sebaiknya dilakukan dengan pH netral, sekitar 6-8. Hipoksia pada jaringan dapat menurunkan pH, sehingga harus ada fungsi buffering pada cairan fiksatif untuk mencegah keasaman yang berlebihan.

Keasaman dapat mempengaruhi pembentukan pigmen formalin-heme yang muncul sebagai warna hitam yang dideposit dalam jaringan.<sup>14</sup>

Buffer yang umum digunakan meliputi fosfat, bikarbonat, cacodylate dan veronal. Formalin yang biasa digunakan menggunakan buffer dengan fosfat pada pH 7. Fiksatif yang hipertonic akan menyebabkan sel menjadi menyusut sedangkan fiksatif hipotonik akan mengakibatkan pembengkakan sel.<sup>11,14</sup>

## 2.4 Metanol

Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan

bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri (Hermansyah, 2015).

Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri. Hasil proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol tersebut akan teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbon dioksida dan air. Karena sifatnya yang beracun, metanol sering digunakan sebagai bahan aditif bagi pembuatan alkohol untuk penggunaan industri. Penambahan racun ini akan menghindarkan industri dari pajak yang dapat dikenakan karena etanol merupakan bahan utama untuk minuman keras (minuman beralkohol) (Hermansyah, 2015).

Dahulu metanol juga disebut sebagai *wood alcohol* karena merupakan produk samping dari distilasi kayu. Saat ini metanol dihasilkan melalui proses multi tahap. Secara singkat, gas alam dan uap air dibakar dalam tungku untuk membentuk gas hidrogen dan karbon monoksida. Kemudian, gas hidrogen dan karbon monoksida ini bereaksi dalam tekanan tinggi dengan bantuan katalis untuk menghasilkan metanol. Tahap pembentukannya adalah endotermik dan tahap sintesisnya adalah eksotermik (Hermansyah, 2015).

Penggunaan methanol sering sebagai pelarut dan sebagai antibeku, dan larutan fiksatif. Methanol sebagai pelarut karena memiliki kemampuan yang baik dalam menarik berbagai senyawa polar maupun nonpolar (Herlina, 2008). Hal lain yang menjadi alasan dalam penggunaannya sebagai pelarut adalah harganya yang cukup murah dibandingkan dengan pelarut lain seperti etanol atau aseton (Hermansyah, 2015).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini berupa Pra-Eksperimen dengan desain *one shot case study* dimana peneliti hanya melakukan satu kali pengumpulan data untuk satu eksperimen yang dilakukan (Wantini & Huda, 2021) .

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 - Januari 2023 di Laboratorium RSUD Pasaman Barat Kabupaten Pasaman barat, Sumatera Barat.

#### **3.3 Populasi dan sampel**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah Sediaan Apus Darah Tepi 5 Sampel Anak - Anak dengan rentang usia 1 - 13 tahun.

##### **3.3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel Sediaan Apus Darah Tepi Anak – Anak yang berasal dari sisa sampel pemeriksaan darah vena di Laboratorium RSUD Pasaman Barat. Sampel akan dibuat menjadi 20 Sediaan Apus Darah dari 5 Orang Anak – Anak setiap 1 orang anak mempunyai 4 SADT. Setiap sediaan akan di fiksasi dengan 4 waktu yang berbeda- beda yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit, 20 menit.

### 3.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Alat-alat gelas yang digunakan untuk mengencerkan Giemsa
- Objek glass,
- Cover glass,
- Timer,
- Mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

- Darah EDTA Anak-Anak,
- larutan giemsa dengan merek Indo Reagen konsentrasi 15 %
- Aguades,
- Methanol dengan merek Indo Reagen 96 %
- dan emersi oil

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan Slide Sediaan Apus Darah Tepi

Teknik pembuatan slide Sediaan Apus Darah tepi sesuai dengan prosedur menurut (Hormalia, 2018) adalah sebagai berikut :

1. Siapkan objekglass dan dekglass yang bersih kering dan bebas lemak.
2. Hisap darah sebanyak 10 ul dengan mikropipat dari tabung EDTA diteteskan pada permukaan objek glass.
3. Buat lidah api dengan meletakkan kaca pemulas membentuk sudut 30-40 °c kemudian geser kaca pemulas kebelakan
4. Tetesan akan melebar disepanjang pinggir kaca pemulas. Segera dorong kaca pemulas kedepan dengan cepat dan tekanan yang cukup.

Lalu keringkan (Hormalia, 2018)

### 3.5.2 Pewarnaan Slide Sediaan Apus Darah Tepi dengan Giemsa

Teknik Pewarnaan Slide Sediaan Sediaan Apus Darah tepi sesuai dengan prosedur menurut (Hormalia, 2018) adalah sebagai berikut :

1. Letakkan sediaan yang akan dipulas diatas rak tempat memulas dengan sediaan darah ke atas
2. Genangi dengan larutan metanol selama 1 Menit, 5 Menit, 10 Menit, 20 Menit Sediaan Hapus Darah , Sehingga waktu fiksasi setiap slide akan berbeda dengan waktu pewarnaan dengan giemsa yang sama.
3. Buang sisa-sisa metanol
4. Genangi slide dengan pewarna giemsa.
5. Bilas dengan air mengalir
6. Keringkan.
7. Lihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali (Hormalia, 2018)

### 3.6 Variabel penelitian

#### 3.6.1 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Defenisi Operasional	Cara ukur	Skala
1.	Makroskopis SADT	Evaluasi preparat darah apus dengan melihat perleketaan sel darah pada objek glass dan warna preparat setelah dilakukan pewarnaan giemsa ( Rahmawati,Dian 2016).	Melihat hasil preparat darah apus dan melakukan penilaian preparat. Hasil berdasarkan perlekatan preparat yang baik dan buruk. Preparat yang baik akan menunjukan perlekatan yang baik, yaitu perlekatan yang sempurna tidak mengelupas. Preparat yang buruk menunjukkan perlekatan yang kurang sempurna atau dapat terkelupas ( Rahmawati,Dian 2016).	Nominal

2	Mikroskopis SADT	Evaluasi preparat darah apus menggunakan mikroskop dengan melihat 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 ( Rahmawati,Dian 2016).	Melihat hasil preparat darah apus di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 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 sel krenasi) Sedang (menunjukkan terjadinya kelainan morfologi sel krenasi yang jumlahnya <3 sel krenasi) Buruk (menunjukkan terjadinya kelainan morfologi sel (krenasi) yang jumlahnya >3 sel krenasi) ( Rahmawati,Dian 2016).	Ordinal
3	Lama waktu fiksasi	Waktu yang digunakan untuk fiksasi atau menggenangi SADT dengan larutan metanol( Rahmawati,Dian 2016).	Fiksasi Pulasan SADT dengan mengganti metanol di atasnya dengan variasi waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit, dan 20 menit ( Rahmawati,Dian 2016).	Nominal

Klasifikasi sediaan Apus Darah tepi yaitu:

Melihat adanya Sel Krenasi (Pengerutan sel) dengan kriteria sebagai berikut:

Baik (tidak menunjukkan adanya kelainan morfologi sel krenasi),

Sedang (menunjukkan terjadinya kelainan morfologi sel krenasi yang jumlahnya <3 sel krenasi),

Buruk (menunjukkan terjadinya kelainan morfologi sel (krenasi) yang jumlahnya >3 sel krenasi)

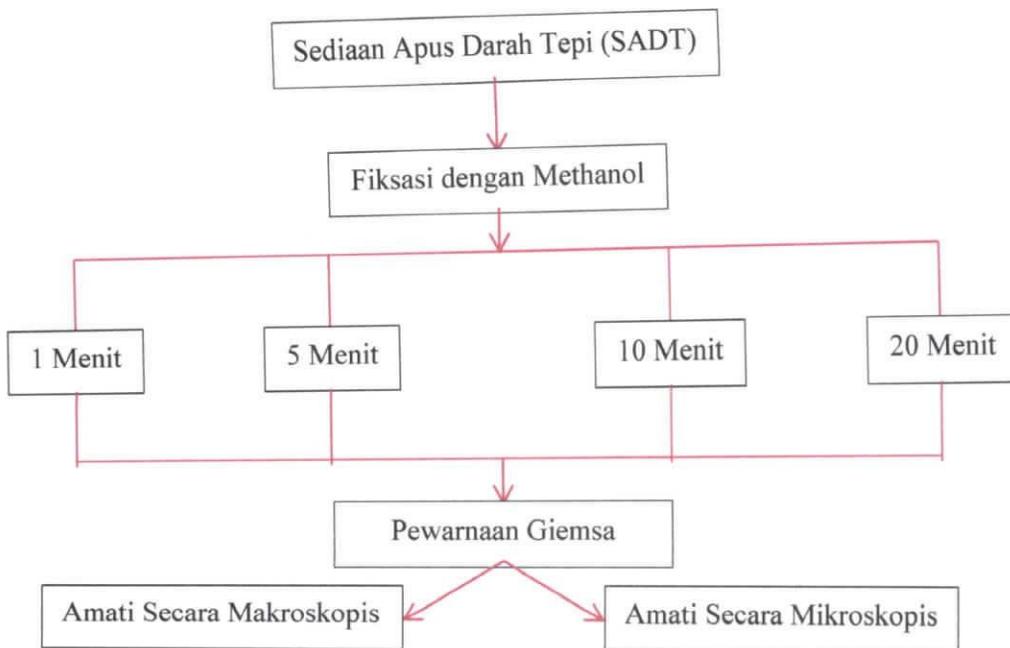
### 3.6.2 Variabel Independen

Variabel bebas dari penelitian ini adalah lama fiksasi Methanol selama 1 menit, 5 menit, 10 menit, 20 menit pada sediaan apus darah tepi (SADT).

### 3.6.3 Variabel Dependen

Variable terikat dalam penelitian ini adalah hasil makroskopis dan mikroskopis morfologi sel pada sediaan apus darah tepi (SADT).

### 3.7 Kerangka Prosedur



**Gambar 3.1** Kerangka Prosedur

### **3.8 Teknik pengumpulan dan analisis data**

Data hasil penelitian diperoleh hasil pemeriksaan langsung tentang makroskopis dan mikroskopis pada apusan darah tepi berdasarkan lama fiksasi methanol 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit. Data-data tersebut diolah di tabulasi dan dianalisa menggunakan uji *chi-squared* dengan program SPSS.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Gambaran Umum Sempel

Sampel diambil dari pasien anak rentang usia 1 – 13 Tahun di Laboratorium RSUD Pasaman Barat menggunakan *Simple Random Sampling* yang berjumlah lima orang pada bulan November – Januari 2023. Darah diambil sebanyak  $\pm$  1-3 ml kemudian dimasukkan tabung vacumtube yang berisi antikoagulan EDTA dan diberi label, sampel tersebut kemudian dibuat apusan darah kemudian dikering anginkan, setelah kering dilakukan fiksasi dengan larutan methanol selama 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 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

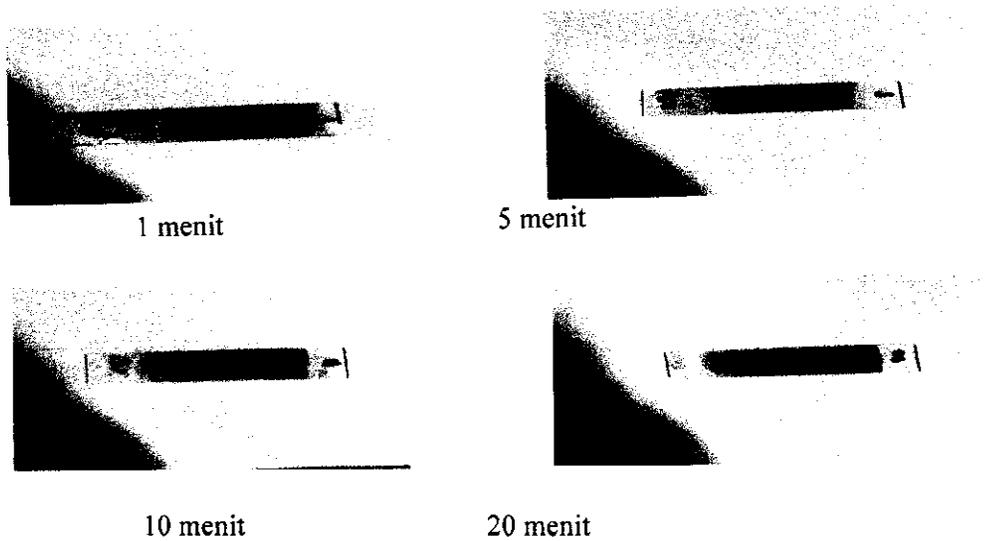
##### 4.2.1. Gambaran makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit

Tabel 4.1. Gambar makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit.

Waktu	Baik	Makroskopis		%	Total	%
		%	Buruk			
1 menit	5	100	0	0,0	5	100
5 menit	5	100	0	0,0	5	100
10 menit	5	100	0	0,0	5	100
20 menit	5	100	0	0,0	5	100
Jumlah	20	100	0	0,0	20	100

Berdasarkan Tabel 4.1 Makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit diperoleh hasil bahwa makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol ditemukan lima sampel 100% dalam keadaan baik, baik dari waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit.

Gambaran makroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 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

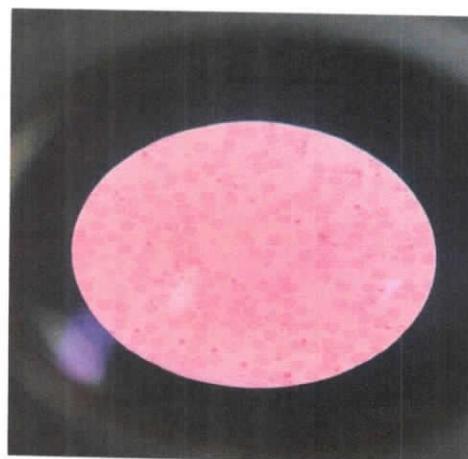
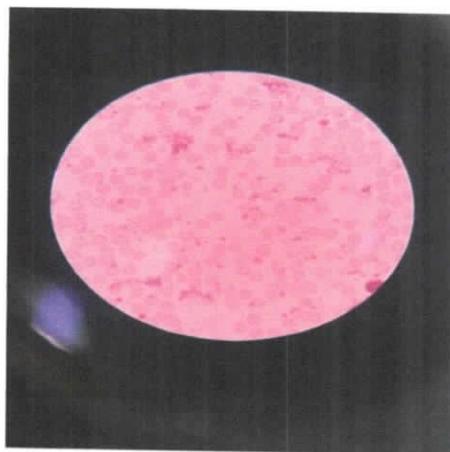
4.2.2. Gambaran mikroskopis sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit

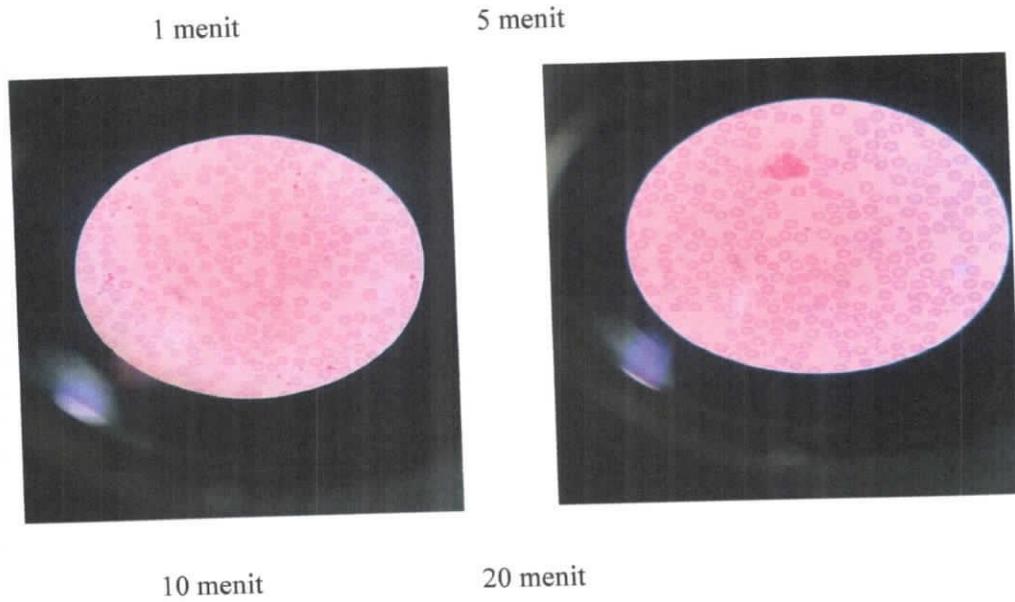
Tabel 4.2. Gambaran mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit

Waktu	Warna				Total	%
	Normokrom	%	Hipokrom/ hiperkrom	%		
1 menit	5	100	0	0,0	5	100
5 menit	5	100	0	0,0	5	100
10 menit	5	100	0	0,0	5	100
20 menit	5	100	0	0,0	5	100
Jumlah	20	100	0	0,0	20	100

Berdasarkan Tabel 4.2. Mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit diperoleh hasil bahwa preparat apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol ditemukan lima sampel 100% memiliki warna yang baik, baik pada waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit.

Gambaran mikroskopis warna sediaan apus darah tepi dengan perbandingan lama penguapan larutan fiksasi yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit dapat dilihat pada gambar di bawah ini.





**Gambar 4.2.** Mikroskopis Warna Eritrosit

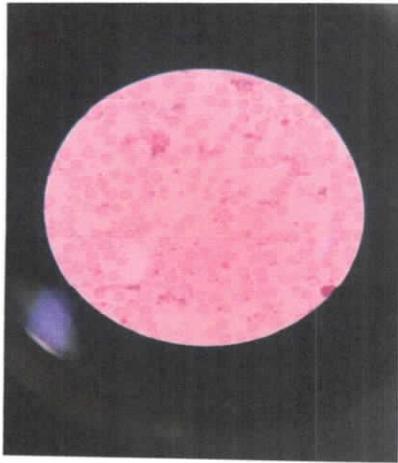
Berdasarkan Gambar 4.2 secara mikroskopis warna ke empat preparat apus darah tepi dalam kriteria baik (normokrom), karena sel eritrosit memiliki bagian pucat  $1/3$  dari keseluruhan eritrosit.

Tabel 4.3 Gambaran mikroskopis ukuran sediaan apus darah tepi dengan perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit

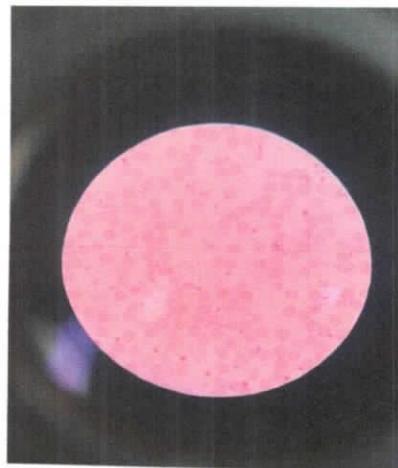
Waktu	Ukuran				Total	%
	Normositik	%	Mikrositik/ Makrositik	%		
1 menit	5	100	0	0,0	5	100
5 menit	5	100	0	0,0	5	100
10 menit	5	100	0	0,0	5	100
20 menit	5	100	0	0,0	5	100
Jumlah	20	100	0	0,0	20	100

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil mikroskopis terhadap enam sampel ditemukan bahwa preparat apus darah tepi perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol pada waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit menunjukkan hasil mikroskopis ditemukan lima sampel 100% memiliki ukuran yang baik, baik pada waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit.

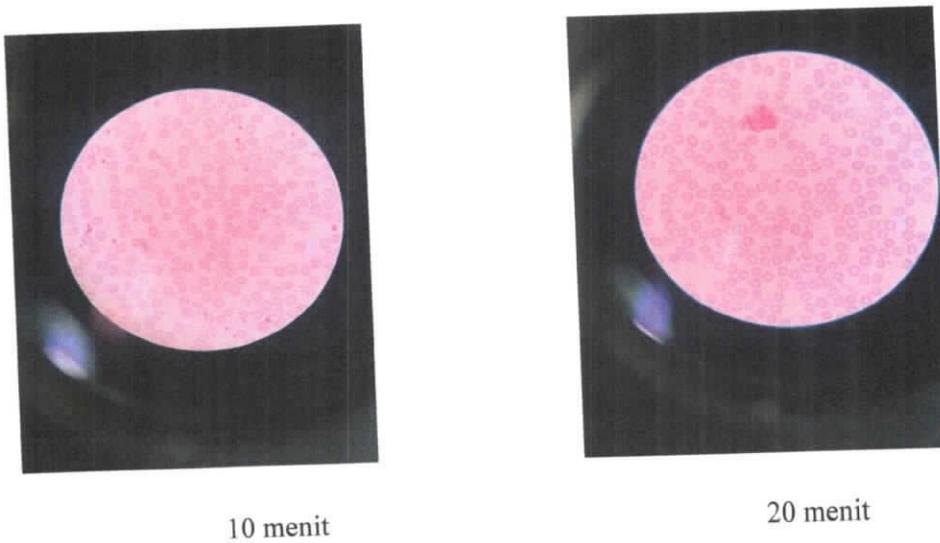
Gambaran mikroskopis ukuran sediaan apus darah tepi berdasarkan perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit dapat dilihat sebagai berikut:



1 Menit



5 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.

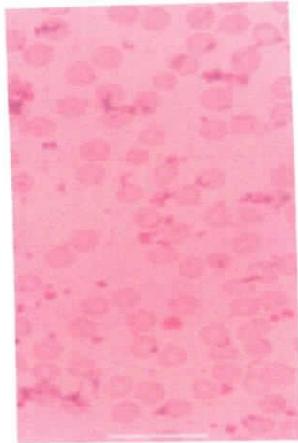
Tabel 4.4. Gambaran mikroskopis bentuk krenasi sediaan apus darah tepi perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit

Waktu	Buruk	%	Krenasi		Baik	%	Total	%
			Sedang	%				
1 menit	0	0,0	0	0,0	5	100	5	100
5 menit	0	0,0	0	0,0	5	100	5	100
10 menit	0	0,0	2	40,0	3	60,0	5	100
20 menit	0	0,0	4	80,0	1	20,0	5	100
Jumlah	0	0,0	6	30,0	14	70,0	20	100

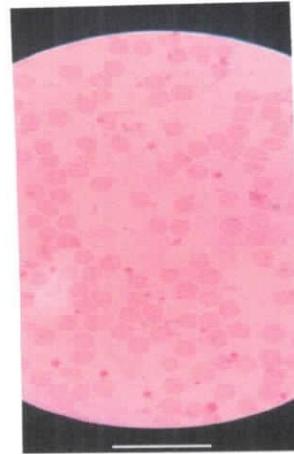
Hasil pada Tabel 4.4 berdasarkan hasil mikroskopis bentuk krenasi terhadap lima sampel didapatkan hasil bahwa preparat apus darah tepi perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol pada waktu 1 menit ditemukan 5 preparat (100%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik. Pengamatan sediaan apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu 5 menit ditemukan 5 preparat (100%). Pengamatan sediaan apus darah tepi dengan lama penguapan larutan fiksasi pada waktu 10 menit ditemukan 3 preparat (60,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 2 preparat (40,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang. Pengamatan sediaan

apus darah tepi perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol pada waktu 20 menit ditemukan 1 preparat (20,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 4 preparat (80,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang.

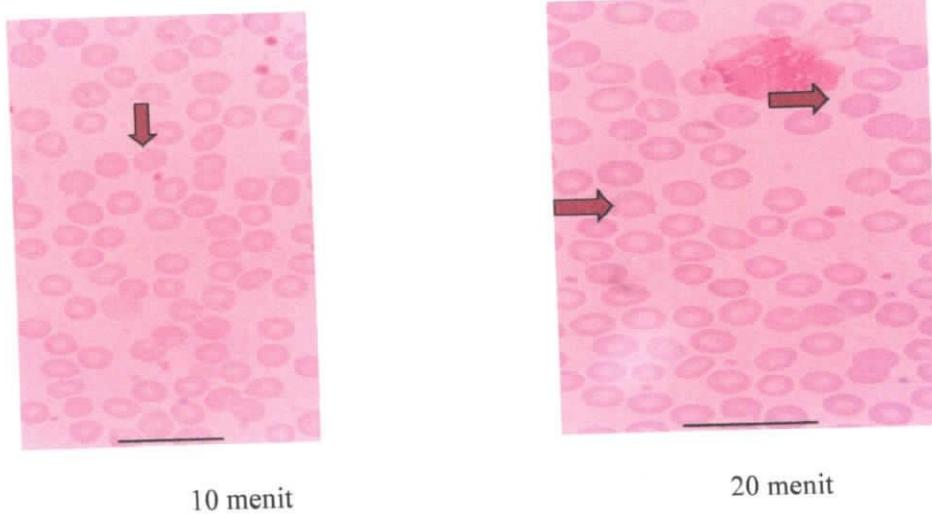
Hasil krenasi sediaan apus darah tepi perbandingan fiksasi dengan larutan Methanol yaitu 1 menit, 5 menit, 10 menit, dan 20 menit dapat dilihat pada gambar berikut:



1 menit



5 menit



**Gambar 4.4.** Mikroskopis Bentuk Eritrosit

Berdasarkan Gambar 4.4 secara mikroskopis bentuk sel eritrosit dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol pada waktu 1 menit dan 5 menit tidak menunjukkan kelainan bentuk, sedangkan pada lama penguapan larutan fiksasi dengan waktu 10 menit, 20 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

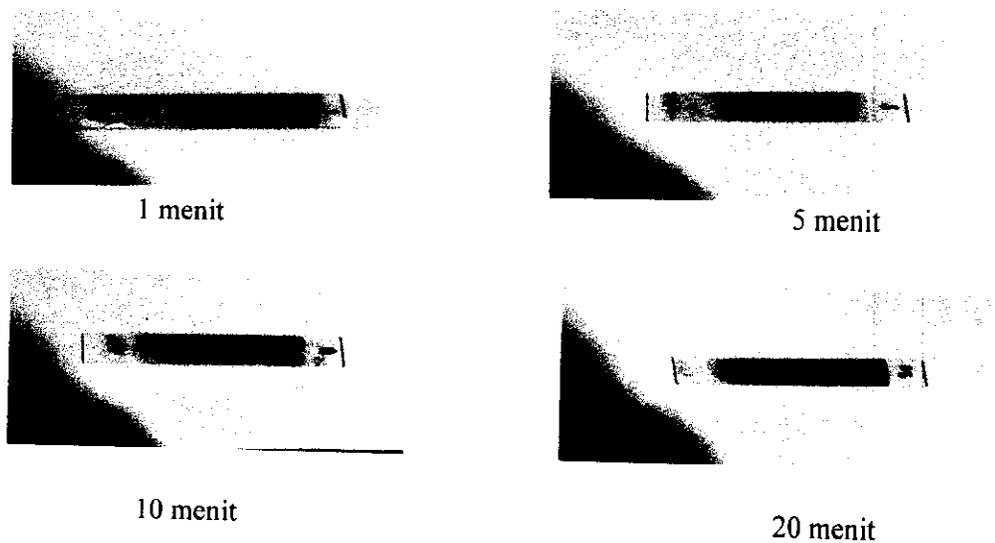
Data yang didapat dari penelitian merupakan data yang memiliki skala nominal dan ordinal sehingga pengujian dilakukan menggunakan analisis Chi-Square untuk menguji ada tidaknya pengaruh dari 4 kelompok perlakuan. Pengujian Chi-Square tidak dapat dilakukan pada hasil makroskopis, mikroskopis warna dan 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 14 preparat (70,0%) memiliki

mikroskopis bentuk sel darah merah yang baik dan 6 preparat (30,0%) memiliki mikroskopis bentuk sel darah merah yang sedang (tabel 4.4).

#### 4.4. Pembahasan

##### 4.4.1 Pengaruh lama fiksasi methanol terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi

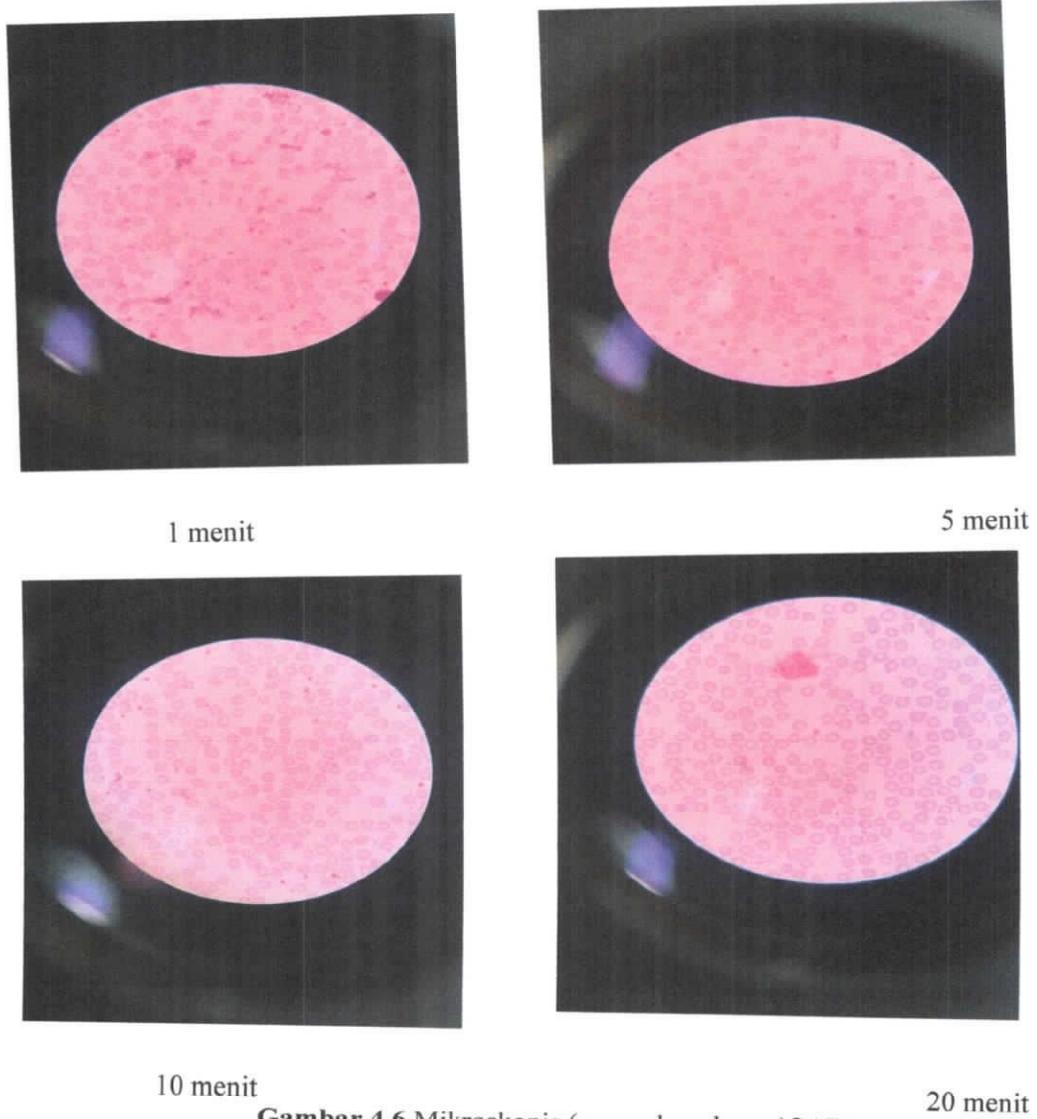
Hasil penelitian ditemukan bahwa berdasarkan makroskopis sediaan apus darah tepi tidak mengalami perubahan setelah dengan perbandingan fiksasi larutan Methanol waktu 1 menit, waktu 5 menit, waktu 10 menit, waktu 20menit. Dari Hasil uji menemukan semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi yang baik. Artinya bahwa proses lama fiksasi larutan methanol tidak menyebabkan perubahan makroskopis pada sediaan apus darah tepi. sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati, dian 2016 dengan perbedaan waktu fiksasi yang lebih panjang yaitu segera, 10 menit, 20 menit dan 30 menit.



**Gambar 4.5** Makroskopis SADT

Hasil pengujian mikroskopis berdasarkan warna dan ukuran juga ditemukan tidak terjadi perubahan baik dari waktu 1 menit, 5 menit, 10 menit dan 20 menit. Hal ini menunjukkan bahwa semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi baik. yaitu segera, 10 menit, 20 menit dan 30 menit

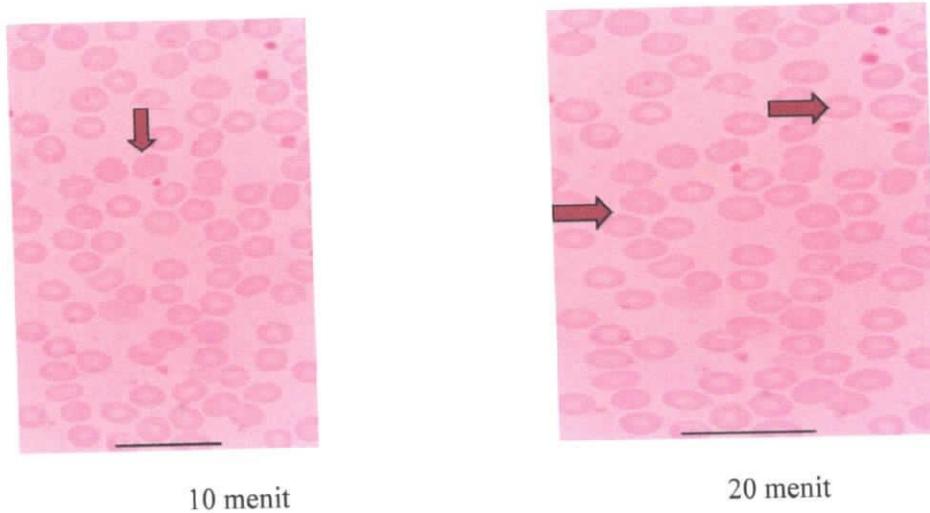
Variasi warna menunjukkan kandungan sitoplasma yang dapat disebabkan kurangnya besi atau menggambarkan ketidak matangan sel. Sedangkan perubahan ukuran eritrosit dapat disebabkan oleh terganggunya proses mitosis, sintesis hemoglobin, kelainan organel sel dan lainnya (Nugraha G, 2015).



**Gambar 4.6** Mikroskopis (warnadan ukuran)SADT

Hasil krenasi ditemukan terjadi perubahan dari masing-masing waktu fiksasi, semakin lama waktu fiksasi ditemukan bahwa hasil krenasi mengalami kecenderungan perubahan menjadi lebih buruk. Pada waktu segera 1 menit semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi baik 100%, pada lama fiksasi 5 menit semua sediaan apus darah tepi masih dalam kondisi baik 100%, pada waktu 10 menit yang sedang menjadi 40,0% dan pada waktu 20 menit yang sedang

sebanyak 80,0%.



**Gambar 4.7** Mikroskopis (krenasi)SADT

Berdasarkan uji statistik didapatkan nilai p value = 0,287 dengan  $\alpha = 0,05$  dimana p value  $< \alpha$  maka  $H_a$  diterima yang artinya tidak ada pengaruh lama fiksasi methanol terhadap sediaan apus darah tepi. Berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati, dian 2016. Dimana penelitian tersebut terdapat perbedaan lama waktu fiksasi yaitu segera , 10 menit, 20 menit dan 30 menit dimana terdapat pengaruh lama 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 dalam sel yang akan menyebabkan sel mengalami krenasi ( pengkerutan ), sedangkan apabila eritrosit berada dalam lingkungan hipotonis maka osmosis akan terjadi dari luar kedalam sel yang akan menyebabkan sel akan menggelembung sehingga 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. Tidak ada pengaruh kualitas pewarnaan dan lama waktu fiksasi terhadap morfologi sel darah pada sediaan apus darah tepi (SDAT)
2. Tidak ada pengaruh lama fiksasi dengan Larutan methanol 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 disarankan penggunaan lama fiksasi methanol 1 dan 5 menit dengan gambaran krenasi minimal.
2. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat melanjutkan penelitian dengan Variasi waktu fiksasi yang lebih lama 30 menit, 40 menit dan seterusnya supaya akan lebih kelihatan pengaruhnya serta menambah jumlah sampel penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Rachmawati, Dian. 2016. Pengaruh Lama Penguapan Larutan Fiksasi Terhadap Hasil Makroskopis Dan Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi. Universitas Muhammadiyah. Semarang.
- 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 Helmintologi: 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.

## Lampiran 1

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

Sampel	Lama fiksasi dengan methanol			
	1 menit	5 menit	10 menit	20 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

## Lampiran 2

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

Sampel	Lama fiksasi dengan methanol			
	1 menit	5 menit	10 menit	20 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

### Lampiran 3

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

Sampel	Lama fiksasi dengan methanol			
	1 menit	5 menit	10 menit	20 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

## Lampiran 4

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

Sampel	Lama fiksasi dengan methanol			
	1 menit	5 menit	10 menit	20 menit
1	0	0	0	2
2	0	0	1	2
3	0	0	1	1
4	0	0	0	0
5	0	0	0	2

Lampiran 5

**Frequencies**

**Statistics**

		Waktu	Makroskopis	warna	Ukuran	Krenasi
N	Valid	20	20	20	20	20
	Missing	0	0	0	0	0

**Frequency Table**

**Makroskopis**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Baik	20	100.0	100.0	100.0

**Warna**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Normokrom	20	100.0	100.0	100.0

**Ukuran**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Normositik	20	100.0	100.0	100.0

**Krenasi**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Buruk	4	20.0	20.0	20.0
	Sedang	6	30.0	30.0	50.0
	Baik	10	50.0	50.0	100.0
	Total	20	100.0	100.0	

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu * Markoskopis	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

### Waktu \* Makroskopis Crosstabulation

		Makroskopis		Total
		Baik		
Waktu	1	Count	5	5
		% within Waktu	100.0%	100.0%
5	Count	5	5	
		% within Waktu	100.0%	100.0%
10	Count	5	5	
		% within Waktu	100.0%	100.0%
20	Count	5	5	
		% within Waktu	100.0%	100.0%
Total	Count	20	20	
		% within Waktu	100.0%	100.0%

### Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	<sup>a</sup>
N of Valid Cases	20

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	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

### Waktu \* Warna Crosstabulation

			Warna	
			Normokrom	Total
Waktu	1	Count	5	5
		% within Waktu	100.0%	100.0%
5	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
10	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
20	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
Total	Count	20	20	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	

### Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	a
N of Valid Cases	20

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 * Ukuran	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

### Waktu \* Ukuran Crosstabulation

			Ukuran	
			Normositik	Total
Waktu	1	Count	5	5
		% within Waktu	100.0%	100.0%
5	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
10	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
20	Count	5	5	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	
Total	Count	20	20	
	% within Waktu	100.0%	100.0%	

### Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	a
N of Valid Cases	20

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 * Ukuran	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

### Waktu \* Krenasi Crosstabulation

			Krenasi		Total
			Sedang	Baik	
Waktu 1	Count	0	5	5	
	% within Waktu	.0%	100.0%	100.0%	
5	Count	1	4	5	
	% within Waktu	20.0%	80.0%	100.0%	
10	Count	2	3	5	
	% within Waktu	40.0%	60.0%	100.0%	
20	Count	4	1	5	
	% within Waktu	80.0%	10.0%	100.0%	
Total	Count	7	13	20	
	% within Waktu	35.0%	65.0%	100.0%	

### Crosstab

Count		fiksasi 10m		Total
		0	1	
Sampel	1	1	0	1
	2	0	1	1
	3	0	1	1
	4	1	0	1
	5	1	0	1
Total		3	2	5

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,000 <sup>a</sup>	4	,287
Likelihood Ratio	6,730	4	,151
Linear-by-Linear Association	,333	1	,564
N of Valid Cases	5		

a. 10 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,40.

**Crosstab**

Count

	fiksasi 20m		Total
	0	1	
1	0	1	1
2	0	1	1
Sampel 3	0	1	1
4	1	0	1
5	0	1	1
Total	1	4	5

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,000 <sup>a</sup>	4	,287
Likelihood Ratio	5,004	4	,287
Linear-by-Linear Association	,500	1	,480
N of Valid Cases	5		

a. 10 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,20.

**Your Dream is Our Mission**

Nomor : 102/ADAK&FEEDER-UPERTIS/IX/2022

Lamp : -

Perihal : Izin Penelitian

**Kepada Yth,  
Direktur RSUD PASAMAN BARAT**

Di-

**Tempat**

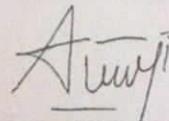
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan kepada Bapak/Ibu bahwa dalam tahap penyelesaian pendidikan diprogram Studi D IV Analisis Kesehatan/Teknologi Laboratorium Medik Universitas Perintis Indonesia, maka kepada mahasiswa diwajibkan untuk membuat skripsi dibidang kesehatan sejalan dengan hal ini, maka mahasiswa kami:

Nama Mahasiswa	: Yusrizal
NIM	: 2110263269
Judul Proposal	: PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAN APUS DARAH TEPI
Jadwal penelitian	: 01 november 2022 - Januari 2023

Demikianlah surat ini kami sampaikan kepada Bapak/Ibu, atas perhatian dan pertimbangannya kami ucapkan terimakasih

**Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan**



**Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M.Si**  
NIK : 10103579145

**SKRIPSI**  
**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS**  
**PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun oleh :  
Yusrizal  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Proposal Penelitian  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Dr.Tofrizal,Sp.PA.,M.Biomed,PhD**  
NIDN : 0016097802

**Def Primal,M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**Penguji**

**dr. Meta Zulyati Oktora, Sp.PA,M.Biomed**  
NIDN : 1002108502

Proposal penelitian ini telah memenuhi persyaratan  
sebagai pedoman pelaksanaan penelitian penyusunan skripsi

**Mengetahui :**  
**Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis**  
**Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia**

**Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M, Si**  
NIDN : 1016017602

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia



**Disusun Oleh :**

**YUSRIZAL**

**NIM. 2110263269**

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
2023**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Tinggi  
Program Serjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik  
Universitas Perintis Indonesia**

**Disusun Oleh :**

**YUSRIZAL**

**NIM. 2110263269**

**PROGRAM STUDI D IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
2023**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP  
KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS  
DARAH TEPI

Nama Mahasiswa : Yusrizal

Program Studi : Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media

Skrip ini telah disetujui oleh Pembimbing untuk diajukan dihadapkan dalam ujian Kompre, yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan di Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Media pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

**Menyetujui  
Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed. PhD**  
NIDN : 0016097802

**Def Primal, M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN  
GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI**

Disusun Oleh :  
YUSRIZAL  
NIM : 2110263269

Telah diseminarkan dengan pembimbing Seminar Komprehensif  
Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

**Pada tanggal Februari 2023**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed. PhD**  
NIDN : 0016097802

**Def Primal, M.Biomed**  
NIDN : 1026128401

**Penguji**

**dr. Metta Zulvati Oktora, Sp.PA.M.Biomed**  
NIDN : 1002108502

**Mengetahui :  
Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis**

**Apt. Dr. Dewi Yudiana Shinta., M.Si**  
NIDN : 1016017602

## **PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : YUSRIZAL

NIM : 2110263269

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis dengan judul : “PENGARUH LAMA FIKSASI METHANOL TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN GIEMSA SEDIAAN APUS DARAH TEPI” adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan menjadi batal dengan sendirinya.

Padang Februari 2023  
Menyatakan

Materai 10.000

**Yusrizal**

## BIODATA



Nama : Yusrizal  
Tempat, Tanggal Lahir : Air Bangis, 27 April 1985  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki-laki  
Alamat : Jl. Jati II Kampung Cubadak , Kec,  
Lingkuang Aua Kab Pasaman Barat  
Riwayat Pendidikan : 1. Min Air bangis (1991-1997)  
2. SMP PMT Hamka (1997-2000)  
3. SMA N I Palupuah (2000-2003)