

SKRIPSI

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GIEMSA, WRIGHT DAN KOMBINASI
GIEMSA WRIGHT PADA APUSAN DARAH TEPI SAMPEL ANEMIA**



OLEH:

SOLEH ARIF FADILLAH SIREGAR

2210263376

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2024**



a). Tempat/Tgl Lahir : Rantauprapat, 23 Agustus 2000; b). Nama Orang Tua (Ayah) Maskut Siregar (Ibu) Nurmahaya Harahap; c) Program Studi : D4 TLM; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan e). No NIM: 2210263376; f). Tanggal Lulus: 04 September 2024; g). Predikat Lulus: Cumlaude; h). IPK: 3,96; i) Lama Studi: 1 Tahun j). Alamat : Jl Kh. Dewantara Gg Rambutan Kel. Seoldengan kab. Labuhan Batu Sumatera Utara.

PERBANDINGAN PEWARNAAN GIEMSA, WRIGHT DAN KOMBINASI GIEMSA WRIGHT PADA APUSAN DARAH TEPI SAMPEL ANEMIA

SKRIPSI

Oleh : Soleh Arif Fadillah Siregar

Pembimbing 1: Def Primal M. Biomed, 2. Rita Permatasari, M.Biotek

Abstrak

Salah satu jenis pemeriksaan darah lengkap adalah melihat Morfologi darah Tepi dari sediaan Apus darah Tepi untuk melihat sel-sel seperti Eritrosit dan Leukosit. Pemeriksaan ini menggunakan Sediaan Apusan Darah Tepi. Ada 3 metode pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT), yaitu pewarnaan giemsa, wright, dan kombinasi (wright-giemsa). Penelitian bertujuan untuk mengetahui gambaran hasil pewarnaan apusan darah tepi menggunakan giemsa, wright dan kombinasi. sel yang akan dinilai seperti sel Eritrosit, Sel Leukosit dan Latar belakang sediaan dari 3 pewarnaan yang berbeda. Sel dinilai dengan melihat kualitas pewarnaan terhadap masing-masing pewarnaan dimana sel terlihat baik dan jelas. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan pewarna terbaik yang dapat digunakan untuk mengamati sel eritrosit adalah pewarna wright-giemsa, dengan persentase 100%. Untuk inti leukosit bisa menggunakan pewarna wright ataupun kombinasi wright dan giemsa, dengan persentase 100%. Untuk granula basofil bisa menggunakan pewarna kombinasi wright dan giemsa, dengan persentase 70%. Untuk granula sel eosinofil bisa diamati menggunakan pewarna wright, dengan persentase 60%. Untuk granula sel neutrofil bisa diamati menggunakan pewarna giemsa, dengan persentase 60%. Untuk sitoplasma limfosit bisa diwarnai menggunakan giemsa ataupun kombinasi wright-giemsa, dengan persentase 100%. Untuk pengamatan sitoplasma monosit bisa menggunakan pewarna wright, dengan persentase 20%. Untuk pengamatan dari latar belakang Preparat preparat dimana setiap pewarnaan latar belakang sediaan tidak mengganggu melihat sediaan selama sediaan dibilas dengan air mengalir secara menyeluruh. Kesimpulan yang dapat diambil dari Penelitian yang dilakukan terhadap pewarnaan Sediaan apus darah tepi menggunakan 3 jenis pewarnaan yaitu pewarnaan Giemsa baik untuk pewarnaan sel Eosinofil atau Limfosit, pewarnaan Wright baik untuk pewarnaan Inti sel, Monosit, Eosinofil ataupun Basofil dan pewarnaan Giemsa Wright baik untuk Pewarnaan Eritrosit, Inti sel, Limfosit dan Basofil. pada sampel Anemia tidak terdapat perbedaan pewarnaan yang signifikan antara pewarnaan Giemsa, Wright dan Kombinasi Giemsa Wright .

Kata kunci: Giemsa, Pewarnaan Kombinasi, SADT, Wright

Skrripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan **LULUS** pada 25 Maret 2024.

Abstak telah disetujui oleh penguji

Tanda Tangan	1.	2.	3.
Soleh Arif Fadillah Siregar	1. Def Primal M. Biomed	2. Rita Permatasari, M. Biotek	3. dr. Tofrizal, Sp.PA,M.Biomed., PhD

Mengetahui

Ketua Program Studi:

Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

NIDN : 1016017602

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sitologi berasal dari dua kata yaitu *cytos* yang berarti sel dan *logos* yang berarti ilmu pengetahuan. Jadi definisi sitologi adalah ilmu yang mempelajari tentang sel-sel tubuh manusia baik yang terlepas sendiri atau diambil dengan cara tertentu. Pemeriksaan sitologi adalah pemeriksaan dari cairan tubuh manusia yang kemudian dilakukan fiksasi, sampai siap menjadi slide atau preparat apusan yang kemudian dilakukan pembacaan dengan mikroskop (Amalia, 2018). Metode apus merupakan suatu metode pada mikroteknik yang digunakan untuk membuat preparat Sediaan. Beberapa yang bisa dibuat dengan metode apus ialah darah, limfa, cairan sum-sum tulang belakang, sperma serta sediaan air seni. Sel darah umumnya diamati di sediaan apus yang dibuat dengan meneteskan setetes darah sebagai satu lapisan tipis di kaca objek. Darah wajib beredar secara merata di atas kaca serta dibiarkan mengering di udara sehingga sel-sel tampak jelas, bisa dibedakan dan sitoplasmanya tersebar. Pemeriksaan apusan darah tepi mampu menilai morfologi sel seperti eritrosit, leukosit dan lain sebagainya. Apusan darah tepi memberikan banyak informasi petunjuk keadaan tubuh (Dhaswara, 2018).

Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dibuat diatas slide dengan bahan darah segar dari kapiler ataupun darah yang telah diberi antikoagulan EDTA. Slide yang telah dibuat diwarnai dengan cat untuk mempermudah pengamatan. Pewarnaan

Romanowsky adalah pewarnaan yang sering digunakan. Di Indonesia untuk mewarnai preparat apusan darah tepi menggunakan pewarnaan Giemsa dan terkadang Wright atau kombinasi Wright-Giemsa. (Ilmiaty, 2021) Dalam pembuatan sediaan ada hal-hal yang perlu diperhatikan seperti dimulai dari persiapan, pembuatan, pewarnaan sampai dengan pengamatan sediaan darah. Hal-hal tersebut akan sangat mempengaruhi hasil akhir dari pemeriksaan sediaan darah. Secara mikroskopik SADT dinilai dari latar belakang jernih, biru pucat atau pucat kemerahan sehingga tidak mengganggu pengamatan, sel-sel eritrosit warna kontras dan jelas lalu Inti leukosit terlihat jelas Kontras beserta Granula dan sitoplasmanya. (Wantini and Huda, 2021).

Anemia adalah kondisi penurunan sel darah merah secara kuantitas yang sering disertai dengan kadar hemoglobin (Hb) yang rendah atau perubahan morfologi pada sel darah merah. Terdapat beberapa faktor risiko anemia antara lain sosial ekonomi rendah, usia, jenis kelamin, dan tempat tinggal. Berdasarkan data WHO Pasien dewasa dianggap Anemia jika nilai kadar Hb < 11 g/dL dan dikategorikan menjadi 3 yaitu Anemia Ringan (Hb 9 - 10 g/dL), Anemia Sedang (Hb 7 - 8 g/dL) dan Anemia Berat (Hb <7 g/dL) (WHO, 2012).

Apus darah tepi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium pada pasien dengan anemia yang biasa dilakukan dan memberikan informasi penting tentang sifat anemia. Pemeriksaan Apus darah tepi merupakan alat penting untuk diagnosa dalam

diagnosis banding dan indikasi pemeriksaan yang diperlukan lebih lanjut, Diagnosis spesifik dan merupakan peran utama untuk diagnosis Anemia. (Ilmiaty, 2021).

Menurut Penelitian Oleh Lestari (2018) Kurangnya Hemoglobin dapat mempengaruhi jumlah eritrosit ataupun leukosit dalam sediaan sehingga dapat mempengaruhi bentuk, jumlah dan warnanya. Untuk mengetahui penyebab anemia maka perlu dilihat morfologi darah secara jelas. Oleh karena itu dibutuhkan juga sediaan yang baik dengan pewarnaan yang tepat agar sel yang terlihat dalam mikroskop terlihat jelas sehingga dapat memudahkan diagnosa.(Lestari, 2018)

Penelitian oleh Ardianti *et al.* (2016) tentang Gambaran morfologi apus darah tepi dan karakteristik pasien anemia dimana data diambil dari hasil rekam medis pasien dan sampel dibagi ke dalam 3 Kategori yaitu Anemia berat, anemia sedang dan anemia ringan.(Ardianti *et al.*, 2016)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ilmiaty (2021) terdapat perbedaan kualitas warna sel dengan menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright dan Giemsa Wright pada slide apusan darah dimana gambaran Warna sel dinilai dari Latar belakang sediaan, Warna sel eritrosit, Inti Leukosit, serta Granula dan sitoplasma dari jenis sel Leukosit. (Ilmiaty, 2021).

Berdasarkan latar belakang tersebut Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **“Perbandingan Pewarnaan Giemsa, Wright, dan Kombinasi Giemsa Wright Pada Apusan Darah Tepi Sampel Anemia”**.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah Melihat Perbedaan Kualitas Pewarnaan Giemsa, Wright dan Kombinasi Giemsa Wright pada Sediaan Apusan Darah Tepi Sampel Anemia

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Perbandingan Pewarnaan Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright dan Kombinasi Giemsa Wright pada Sampel Anemia

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk melihat kualitas hasil Pewarnaan menggunakan Giemsa Berdasarkan Latar belakang Sediaan, Eritrosit, Inti sel Leukosit beserta Granula dan Sitoplasmanya.
2. Untuk melihat kualitas hasil Pewarnaan menggunakan Wright Berdasarkan Latar belakang Sediaan, Eritrosit, Inti sel Leukosit beserta Granula dan Sitoplasmanya.
3. Untuk melihat kualitas hasil Pewarnaan menggunakan Kombinasi Giemsa Wright Berdasarkan Latar belakang Sediaan, Eritrosit, Inti sel Leukosit beserta Granula dan Sitoplasmanya.

4. Untuk menentukan pewarnaan yang paling baik dalam Pembuatan SADT pada Sampel Anemia

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Mengetahui bagaimana sediaan dalam Pewarna yang berbeda-beda serta menambah wawasan dalam membuat sediaan mikroskopis Sediaan Darah tepi yang baik

1.4.2 Bagi Institusi

Menambah sumber referensi dan pemberdayaan Skripsi di Universitas Perintis Indonesia, khususnya bagi Tenaga Teknis Laboratorium dalam bidang Sitohistopatologi

1.4.3 Bagi Teknisi Laboratorium

Mengetahui Pewarnaan sediaan Darah Tepi yang paling baik sehingga hasil sediaan terlihat jelas di mikroskop.

BAB V

PEMBAHASAN

2.1 Pewarnaan Giemsa

Berdasarkan hasil Penelitian yang dilakukan dapat diketahui bahwa Latar belakang sediaan terlihat baik berwarna biru pucat sehingga tidak mengganggu dalam melihat sel lainnya. Pada pewarnaan Giemsa Eritrosit cenderung berwarna merah keabuan sehingga sel terlihat gelap. Inti sel leukosit berwarna Biru Keunguan dimana ia menyerap Pewarna kationik (Azure B) yang terkandung pada Giemsa. Untuk Granula sel leukosit cenderung berwarna Merah kecoklatan dimana Neutrofil akan menyerap Pencampuran zat warna Asam dan Basa menghasilkan warna kemerahan yang samar, untuk Eosinofil granula tidak terlihat jelas karena menyerap pencampuran antara pewarna Eosin yang bersifat asam menghasilkan warna kecoklatan yang pudar dan Basofil akan menyerap pencampuran warna Azure B dan Methylene Blue Menyebabkan warna biru yang pekat sehingga Granula cenderung Menutupi Inti Leukosit dan sulit untuk diidentifikasi. (Ilmiaty, 2021).

Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Ilmiaty (2021) dimana granula basofiil tidak terlihat pada pewarnaan giemsa tetapi akan berwarna merah kecoklatan pada granula neutrofil ini disebabkan pewarnaan Giemsa menghasilkan karakteristik pewarnaan yang lebih halus. Ini merupakan gabungan eosin Y dengan Azur B dan metilen biru dalam metanol dengan gliserin sebagai penstabil. Untuk Sitoplasma

Limfosit inti cenderung Kontras ungu dengan sitoplasma berwarna biru kecoklatan dan sel Monosit berwarna Pudar.(Ilmiaty, 2021).

2.2 Pewarnaan Wright

Dari Hasil Penelitian didapatkan bahwa warna Sel eritrosit tidak kontras berwarna Kuning kemerahan dan latar sediaan jelas berwarna Biru pucat.Inti Leukosit Kontras berwarna Ungu dimana nukleus menyerap zat warna Methylene Blue saat fiksasi dari pewarna Wright sehingga warna cenderung ungu.Untuk Granula sel berwarna Kuning Kemerahan dari kombinasi Pewarna Eosin dan Methylene blue cocok untuk sel Eosinofil yang akan menyerap pewarna yang bersifat asam (Eosin) dan sel Basofil yang akan menyerap zat warna Basa (Methylene Blue) yang menyebabkan basofil berwarna Ungu tetapi Inti sel masih terlihat sehingga lebih mudah diidentifikasi. (Victoria, 2018)

Ini sesuai dengan penelitian oleh Victoria (2018) yang menyatakan bahwa Untuk pewarnaan Granula basofil pada giemsa granula tampak larut sehingga menutupi inti sel dan pada pewarna wright berwarna keunguan padat sehingga selnya lebih mudah untuk diidentifikasi. Untuk Sitoplasma Limfosit inti cenderung Kontras ungu dengan sitoplasma berwarna yang kurang jelas dan sel Monosit berwarna Pudar Kuning Kemerahan (Victoria, 2018).

2.3 Pewarnaan Kombinasi Giemsa Wright

Pewarnaan Kombinasi dari giemsa wright merupakan Modifikasi dari Pewarnaan Romanowsky yang diharapkan dapat menutupi kekurangan sehingga hasil pewarnaan menjadi terlihat lebih jelas. Berdasarkan hasil Penelitian didapatkan bahwa warna eritrosit berwarna jingga kemerahan dan latar belakang berwarna biru pucat, Inti dari Leukosit juga Kontras Berwarna Ungu. Granula dari sel Leukosit dari Neutrofil berwarna kebiruan begitu juga dengan granula Eosinofil yang berwarna Biru pudar. Pada Granula Basofil Granula terlihat Kasar berwarna biru Keunguan dimana inti masih terlihat lebih kontras sehingga dapat diidentifikasi. (Ardina 2018)

Ini sesuai dengan penelitian oleh Ardina (2018) dimana menyatakan setiap kekurangan dari setiap pewarnaan dikombinasikan sehingga diharapkan akan didapati pewarnaan dengan kualitas yang baik dan tahan lama sedangkan penelitian oleh Ilmiaty, 2021 menyatakan bahwa penggunaan pewarnaan kombinasi giemsa wright cocok untuk pewarnaan sel eritrosit, nukleus atau sitoplasma pada sel apusan darah tepi dimana sel eritrosit akan terlihat lebih jelas dibanding dengan pewarnaan giemsa, inti leukosit terlihat warna ungu dan sitoplasma terlihat jelas. Ini disebabkan karena adanya kombinasi antara pewarnaan wright dan giemsa, dimana pewarnaan wright terdiri dari metilen blue teroksidasi dan azure eosin. (Ardina 2018)

2.4 Perbandingan Pewarnaan Giemsa, Wright dan Giemsa Wright pada sampel Anemia

Berdasarkan hasil penelitian pada sediaan yang sudah di warnai dengan menggunakan pewarnaan Giemsa, Wright dan Giemsa Wright didapatkan hasil yang menunjukkan perbedaan pada pada tiap sel yang diamati.

Penelitian Menurut Ilmiaty (2021) bahwa pewarna yang paling baik mewarnai eritrosit, inti atau sitoplasma dari sel darah ialah Kombinasi giemsa wright. Untuk pewarnaan Giemsa cocok untuk mengamati sel Neutrofil dan pewarna Wright untuk melihat sel Eosinofil. Pewarna yang paling baik ialah menggunakan Kombinasi Giemsa Wright dimana sel akan menyerap pewarna methylene blue dari Wright dan menyerap gabungan dari Azure dengan Eosin dari pewarna Giemsa. Pada Eritrosit sel akan berwarna kontras kemerahan begitu juga dengan inti sel leukosit. ini sesuai dengan (Ilmiaty, 2021)

Menurut Ardianti (2016) menyatakan bahwa Pada sampel pasien anemia tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara warna standar, Karakteristik dan Morfologi dengan sampel pasien yang sehat. Hasil ini sesuai dengan data SPSS dilakukan Uji Normalitas Didapatkan Nilai Sig diatas (0,05) maka data terdistribusi normal maka kemudian dilanjutkan dengan Uji One way Anova Didapatkan Hasil Analisa dengan menggunakan Uji One Way Anova Menunjukkan Nilai P-Value 1,00 dimana nilai P-Value lebih dari 0,05 maka berdasarkan hipotesis H_a Diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan atau tidak berbeda nyata antara Pewarnaan Giemsa, Wright dan Kombinasi Giemsa Wright pada Sediaan Apus Darah Tepi menggunakan sampel Anemia. (Ardianti, 2016)

Dalam penelitian yang dilakukan terdapat beberapa hal secara keseluruhan yang dapat menyebabkan kualitas pewarnaan menjadi kurang baik. Hal yang dimaksud ialah larutan stok Giemsa dimana dalam menyiapkan larutan stok, Giemsa sebelumnya telah dipisah sebagian besar dari giemsa stok untuk menghindarkan kemungkinan terkontaminasi lalu giemsa yang telah dipisahkan sebelumnya digunakan untuk pengenceran menggunakan buffer .Larutan giemsa yang sudah terpapar cahaya juga dapat mempengaruhi hasil pewarnaan hal-hal lain seperti pewarna yang sudah terkontaminasi tanpa disaring sehingga meninggalkan bercak di Slide Apusan darah Tepi,suhu ruangan yang terlalu panas, fiksasi yang kurang sempurna atau sampel yang tidak segera difiksasi.(Widyastuti, 2019)

Untuk pewarna Wright pewarna tidak dipisah dan langsung diambil dari stock. Wright memiliki kandungan metanol yang tinggi sehingga mudah menguap. Penutupan yang tidak rapat atau tidak ditutup sehabis menggunakan dapat menyebabkan pewarna menjadi rusak. Hal ini dapat mempengaruhi kualitas pewarnaan sediaan Apusan Darah Tepi saat dilihat di Mikroskop (Rahmah *et al.*, 2017)

Hal-hal lain yang dapat mengganggu hasil dari pewarnaan ialah Penundaan Pengerjaan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ialah sampel EDTA yaitu sampel yang sudah bercampur dengan Anti Koagulan sehingga sampel tidak lagi segar. Sampel EDTA dapat digunakan dalam pemeriksaan Apus Darah Tepi dalam suhu ruang setidaknya 10-12 jam. Sampel yang tidak langsung dikerjakan dapat berakibat berkurangnya sel atau saat dibuat apusan sampel menjadi lebih encer. (Ardianti, 2016)

