

SKRIPSI

PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN FIKSASI METHANOL TERHADAP HASIL MIKROSKOPIS SEDIAAN APUS DARAH TEPI



Oleh :
SEPTINA YULIA DAMANIK
NIM. 2410263629

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**

	Septina Yulia Damanik a). Tempat/Tanggal Lahir: Payakumbuh /26 September 1990 b). Nama Orang Tua: (Ayah) Jameslin Damanik (Ibu) Rusmida Naibaho ; c). Program Studi: D.IV Analis Kesehatan / TLM; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan; e). No NIM: 2410263629; f). Tgl Lulus: 7 September 2025 g). Predikat Iulus:Pujian; h). IPK: 3,89 ; i) Lama Studi: 1 Tahun; j). Alamat: Simpang Tigo Sungai Asam Kecamatan 2x 11 Enam Lingkung -Padang Pariaman
---	---

"Pengaruh Konsentrasi Larutan Fiksasi Methanol Terhadap Hasil Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi"

SKRIPSI

Oleh : Septina Yulia Damanik

Pembimbing : 1. Def Primal, M. Biomed, PAK 2. Ali Asmul, M.Pd,

ABSTRAK

fiksasi berperan penting untuk merekatkan apusan agar tidak terkelupas, menghentikan metabolisme sel, serta membantu penyerapan warna secara optimal. Kesalahan dalam proses fiksasi dapat berakibat pada perubahan morfologi dan perlakuan sel yang kurang optimal. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi metanol terhadap kualitas mikroskopis sediaan apus darah tepi. Metode penelitian yaitu eksperimental laboratorium dengan enam sampel darah normal yang dibuat menjadi 24 slide apusan dengan empat perlakuan fiksasi yaitu metanol absolut, 96%, 70%, dan 50%. Penilaian dilakukan berdasarkan tiga parameter yaitu warna, bentuk, dan ukuran eritrosit, kemudian dianalisis menggunakan uji Chi-Square. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara variasi konsentrasi metanol terhadap kualitas mikroskopis sediaan. Metanol absolut memberikan hasil terbaik dengan seluruh sediaan berkategori baik, metanol 96% memberikan kualitas sedang, sedangkan metanol 70% dan 50% menghasilkan kualitas buruk. Kesimpulannya, semakin rendah konsentrasi metanol, semakin menurun kualitas sediaan apus darah tepi. Oleh karena itu, disarankan agar laboratorium menggunakan metanol absolut sebagai larutan fiksasi standar agar hasil pewarnaan dan morfologi eritrosit tetap optimal

Kata kunci: metanol, fiksasi, apus darah tepi, eritrosit, mikroskopis

Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan **LULUS** pada
Tanggal 7 September 2025. Abstrak telah di setujui oleh penguji.

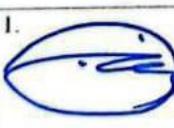
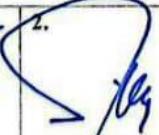
Tanda tangan	1.	2.	3.
Nama Terang	Def Primal, M. Biomed, PAK	Ali Asmul, M.Pd	dr. Tofrizal Sp.PA., M.Biomed., Ph.D., Subsp.K.A(K)

Mengetahui,
Ketua Program Studi: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

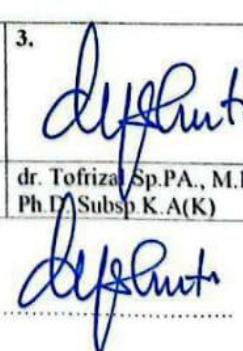
def primal
ali asmul
tofrizal

	Septina Yulia Damanik a).Place/Date of Birth: Payakumbuh, September 26, 1990 b). Parents' Names: (Father) Jameslin Damanik (Mother) Rusmida Naibaho ; c). Study Program: Diploma IV in Medical Laboratory Technology (TLM); d). Faculty: Faculty of Health Sciences e). No NIM: 2410263629; f). Graduation Date: September 7,2025; g). Graduation Predicate:With Distinction; h). GPA: 3.89; i) Duration of Study: 1 Year; j). Address: Simpang Tigo Sungai Asam, 2x11 Enam Lingkung District, Padang Pariaman		
"The Effect of Methanol Fixation Concentration on the Microscopic Results of Peripheral Blood Smear"			
THESIS			
By : Septina Yulia Damanik			
<i>Supervisor : 1. Def Primal, M. Biomed, PAK 2. Ali Asmul, M.Pd,</i>			
ABSTRACT <i>Fixation plays an important role in adhering blood smears to prevent detachment, halting cellular metabolism, and enhancing optimal dye absorption. Errors in the fixation process can cause changes in cell morphology and poor cell adhesion. This study aimed to analyze the effect of different methanol fixation concentrations on the microscopic quality of peripheral blood smear preparations. The research method was an experimental laboratory design using six normal blood samples prepared into 24 smear slides with four fixation treatments: absolute methanol, 96%, 70%, and 50%. Evaluation was conducted based on three parameters color, shape, and size of erythrocytes and analyzed using the Chi-Square test. The results showed a significant difference ($p < 0.05$) between methanol concentration variations and the microscopic quality of the smears. Absolute methanol produced the best results with all smears categorized as good, 96% methanol showed moderate quality, while 70% and 50% methanol resulted in poor quality. In conclusion, the lower the methanol concentration, the poorer the quality of the peripheral blood smear. Therefore, it is recommended that laboratories use absolute methanol as the standard fixative solution to maintain optimal staining results and erythrocyte morphology.</i>			
Keywords: methanol, fixation, peripheral blood smear, erythrocytes, microscopy			

This thesis was defended before the examination committee and declared passed in 7 September 2025. The abstract has been approved by the examiners.

Tanda tangan	1. 	2. 	3. 
Nama Terang	Def Primal, M. Biomed, PAK	Ali Asmul, M.Pd	dr. Tofrizal, Sp.PA., M.Biomed., Ph.D, Subsp K.A(K)

Acknowledged,
Head of Study Program: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan hematologi memegang peranan penting dalam memberikan informasi yang mendukung diagnosis, pengobatan, dan perkiraan prognosis. Pemeriksaan tersebut dapat memberikan informasi terkait kondisi darah dan sistem peredaran darah, yang sangat berguna dalam penentuan langkah-langkah pengobatan yang tepat. Dalam hematologi, pemeriksaan diklasifikasikan menjadi dua kategori yang terdiri dari tes rutin dan tes khusus (Dekayana, 2019)

Pemeriksaan sediaan apus darah tepi termasuk salah satu pemeriksaan hematologi rutin yang penting, karena bertujuan untuk mengevaluasi morfologi sel dan komponen lainnya yang dapat memberikan informasi mengenai kondisi hematologi individu (Triyani & Izzati, 2023). Namun, untuk mendapatkan hasil pembacaan yang akurat, sediaan yang dibuat harus memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dan perlu dilakukan pewarnaan untuk mempermudah proses pemeriksaan sel-sel darah (Methods & Diagnosis, 2024).

Teknik pewarnaan yang sering digunakan di Indonesia untuk sediaan apus darah tepi adalah pewarnaan Giemsa, karena hasil pewarnaan ini memiliki ketahanan yang lebih baik dan memberikan gambaran yang lebih jelas. Tujuan utama pewarnaan Giemsa adalah untuk mewarnai sel-sel darah, sehingga memudahkan pengamatan terhadap inti sel serta morfologi dari

berbagai jenis sel, seperti eritrosit, leukosit, sel keping darah , dan parasit yang mungkin ada dalam sel darah (Nugraha, 2021)

Didalam langkah kerja pengecatan giemsa harus dilakukan fiksasi terlebih dahulu. Larutan yang berfungsi dalam proses fiksasi sebaiknya terbebas dari kandungan air atau mengandung air dalam jumlah sedikit yaitu kurang dari 3% . Biasanya larutan yang di gunakan yaitu *methanol absolut*. Fiksasi harus dilakukan setelah sediaan darah benar-benar kering dengan cara pengeringan angin, supaya tidak menimbulkan latar belakang warna biru yang dapat mengganggu kualitas hasil pengecatan dan hasil interpretasi mikroskopis (Triyani & Izzati, 2023). Metanol absolut digunakan sebagai fiksatif untuk merekatkan apusan darah tepi agar tetap menempel dan untuk menghentikan aktivitas metabolisme sel tanpa mengubah struktur sel. Fiksasi ini juga penting agar apusan darah dapat menyerap pewarna dengan baik. Apabila larutan fiksasi tidak tepat, hal tersebut dapat menyebabkan morfologi sel berubah dan perlekatan sel menjadi kurang optimal. Masalah ini sering muncul bila larutan fiksasi yang digunakan tidak sepenuhnya absolut, di mana metanol mengandung lebih dari 3% air dapat mempengaruhi morfologi sel eritrosit, karena kandungan air yang tinggi dapat mengubah struktur sel dan mempengaruhi hasil pewarnaan(Ghofur et al., 2022)

Di lapangan, masih ada dijumpai penggunaan metanol yang diencerkan dengan aquades dalam proses fiksasi preparat apusan darah tepi, daripada menggunakan metanol absolut. Praktik ini umumnya dilakukan dengan alasan untuk menghemat biaya. Namun, pengenceran metanol dengan aquades

dilakukan tanpa mempertimbangkan dampaknya terhadap kualitas fiksasi dan pewarnaan. Pengenceran yang tidak tepat dapat mempengaruhi hasil sediaan apus darah tepi, karena fiksasi yang tidak sempurna dapat merubah morfologi sel. Berdasarkan kondisi tersebut, penulis terdorong untuk meneliti “pengaruh konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil mikroskopis pada sediaan apusan darah tepi”.

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah yang diangkat adalah “Apakah ada pengaruh konsentrasi larutan fiksasi pada hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh konsentrasi larutan fiksasi terhadap hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk menilai hasil mikroskopis berupa bentuk (hemolisis), warna, dan ukuran sel eritrosit pada sediaan yang diwarnai menggunakan Giemsa dengan perbandingan konsentrasi fiksasi yaitu absolute (tanpa pengenceran), pengenceran 96%, 70% dan 50%.
- b. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi metanol pada mutu pewarnaan Giemsa dalam preparat apus darah tepi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Memperkaya pengetahuan dan pemahaman peneliti tentang bagaimana konsentrasi larutan fiksasi memengaruhi hasil pemeriksaan mikroskopis apus darah tepi.

1.4.2 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi pada peningkatan pengetahuan bagi petugas kesehatan, khususnya Ahli Teknologi Laboratorium Medik yang bekerja di laboratorium, mengenai pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi terhadap kualitas mikroskopis sediaan apus darah tepi. Selain itu, penelitian ini dapat menjadi sumber informasi awal atau bahan kajian dasar yang bermanfaat sebagai referensi bagi penelitian lanjutan dalam bidang hematologi dan teknik fiksasi.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Interpretasi Pengaruh Konsentrasi Larutan Fiksasi Methanol

Terhadap Hasil Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi methanol terhadap kualitas mikroskopis sediaan apus darah tepi. Hasil penelitian memperlihatkan adanya keterkaitan yang bermakna antara variasi konsentrasi larutan fiksasi metanol dengan mutu mikroskopis sediaan apus darah tepi. Semakin tinggi konsentrasi metanol yang digunakan, semakin baik kualitas hasil mikroskopis yang diperoleh.

Hal ini terlihat dari seluruh sediaan yang difiksasi dengan metanol absolut (100%) menunjukkan kualitas yang baik, dengan warna eritrosit normokrom,bentuk normal (tidak lisis),dan ukuran normositik. Kondisi ini mengindikasikan bahwa methanol absolut memiliki kemampuan optimal dalam mempertahankan morfologi eritrosit. Fiksasi yang baik sangat penting dalam menjaga integritas struktur sel darah, terutama eritrosit yang sangat rentan terhadap kerusakan jika medium fiksatif tidak tepat.Ini mengindikasikan bahwa methanol absolut memiliki kemampuan optimal dalam mempertahankan morfologi eritrosit. Fiksasi yang baik sangat penting dalam menjaga integritas struktur sel darah, terutama eritrosit yang sangat rentan terhadap kerusakan jika medium fiksatif tidak tepat. Sebaliknya, pada metanol 96%, hasil penelitian memperlihatkan bahwa warna dan bentuk eritrosit masih normal, tetapi terjadi

penyusutan ukuran eritrosit menjadi mikrositik. Hal ini menyebabkan kategori kualitas keseluruhan menurun menjadi sedang. Perubahan ukuran ini diduga disebabkan oleh kandungan air yang masih terdapat dalam metanol 96%, sehingga mengganggu stabilitas membran eritrosit. Kualitas mikroskopis menurun secara signifikan pada sampel yang difiksasi dengan methanol 70% dan 50%, di mana seluruh hasil tergolong kategori buruk. Slide yang difiksasi dengan konsentrasi ini memperlihatkan morfologi eritrosit yang abnormal, seperti hemolisis, warna pucat (hipokrom), dan variasi ukuran eritrosit. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan air dalam larutan methanol, semakin menurun kualitas mikroskopis sediaan apus darah tepi. Penurunan ini diduga kuat disebabkan oleh berkurangnya kemampuan fiksasi larutan methanol dalam mengkoagulasi protein dan mempertahankan struktur sel.

Fiksasi berfungsi untuk menghentikan aktifitas metabolisme tanpa mengubah keadaan yang sebenarnya, fiksasi juga berfungsi untuk merekatkan sediaan apus darah tepi, dan membantu penyerapan warna dengan sempurna. Kandungan air yang melebihi 3% dapat mengganggu mekanisme koagulasi protein dan menyebabkan perubahan struktur membran eritrosit. Seperti yang dikemukakan oleh (Ghofur et al., 2022), metanol dengan kandungan air tinggi dapat mempengaruhi morfologi sel, menyebabkan lisis sel, dan menurunkan kualitas hasil pewarnaan. Ghofur et al. (2022) meneliti pengaruh lama fiksasi, sedangkan penelitian ini fokus pada variasi konsentrasi metanol pada darah pasien dengan eritrosit normal, sehingga variabel dan konteksnya berbeda.

5.2 Analisis Statistik dan Validitas Hasil

Berdasarkan hasil analisis menggunakan uji statistik Chi-Square, diperoleh nilai signifikansi sebesar $p = 0.000$, yang menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara variasi konsentrasi larutan metanol dengan kualitas mikroskopis sediaan apus darah tepi. Karena nilai p lebih kecil dari 0.05 ($p < 0.05$), maka hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_1) diterima. Artinya, terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan fiksasi methanol terhadap kualitas sediaan apus darah tepi. Nilai tersebut menunjukkan bahwa variasi kualitas tidak terjadi secara kebetulan, melainkan dipengaruhi langsung oleh perlakuan fiksasi. Selain itu, hasil *Linear-by-Linear Association* yang signifikan juga mengindikasikan adanya *hubungan linier*, yaitu semakin tinggi konsentrasi methanol, semakin tinggi pula kemungkinan diperolehnya kualitas sediaan yang baik. Temuan ini memperkuat validitas hasil observasi dan menegaskan adanya pola hubungan yang sistematis dan konsisten.

5.3 Perbandingan dengan Penelitian Terdahulu

Penelitian ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi methanol berpengaruh terhadap hasil mikroskopis sediaan apus darah tepi, khususnya pada morfologi eritrosit. Pada konsentrasi methanol 96% ditemukan perubahan ukuran eritrosit menjadi mikrositik. Pada konsentrasi 70% terjadi perubahan

warna eritrosit berupa hipokrom dengan ukuran mikrositik, sedangkan pada konsentrasi 50% hasil mikroskopis menunjukkan eritrosit mengalami hemolisis sehingga tidak dapat dinilai warna maupun ukurannya.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Solekha (2018) yang melaporkan bahwa pengenceran methanol 90%, 75%, dan 50% menyebabkan perubahan morfologi eritrosit pada sediaan apus darah tepi. Solekha menemukan bahwa perubahan tersebut meliputi warna hipokrom, ukuran makrositik, serta hemolisis pada konsentrasi pengenceran rendah. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan methanol dengan konsentrasi di bawah absolut berpotensi menimbulkan artefak pada morfologi eritrosit. Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Solekha (2018) terletak pada jenis perubahan ukuran eritrosit yang ditemukan. Solekha melaporkan adanya pembesaran eritrosit (makrositik), sedangkan penelitian ini menemukan adanya penyusutan ukuran eritrosit (mikrositik). Perbedaan ini diduga dipengaruhi oleh variasi konsentrasi methanol yang digunakan serta perbedaan teknik fiksasi. Menurut (Triyani & Izzati, 2023), kandungan air dalam methanol dapat memengaruhi morfologi eritrosit akibat perbedaan tekanan osmotik. Pada kondisi *hipotonik*, air akan masuk ke dalam eritrosit sehingga sel tampak membengkak (makrositik), sedangkan pada kondisi *hipertonik* atau pada larutan dengan efek dehidrasi kuat, air akan keluar dari sel menyebabkan eritrosit tampak mengecil (mikrositik), bahkan berlanjut hingga hemolisis

Secara teoritis, peningkatan kandungan air dalam larutan metanol akan menurunkan tekanan osmotik sehingga bersifat lebih hipotonik terhadap eritrosit. Namun, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun menggunakan metanol 96% dan 70%, eritrosit tetap mengalami penyusutan. Fenomena ini dapat dijelaskan oleh adanya efek dehidrasi kimiawi metanol, di mana metanol memiliki kemampuan menarik air dari sitoplasma eritrosit meskipun mengandung air dalam jumlah tertentu. Dengan demikian, perubahan morfologi yang terjadi merupakan hasil kombinasi antara pengaruh tekanan osmotik dan sifat dehidrasi kimia dari fiksatif, yang keduanya berperan dalam menurunkan volume eritrosit. Penjelasan ini menunjukkan bahwa faktor fiksatif tidak hanya memengaruhi morfologi melalui tekanan osmotik semata, tetapi juga melalui interaksi kimia antara pelarut dan struktur seluler. Oleh karena itu, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi kadar metanol, semakin kuat efek dehidrasinya terhadap eritrosit, yang dapat memperbaiki fiksasi dan mempertahankan integritas morfologi. Sebaliknya, penurunan konsentrasi metanol meningkatkan kandungan air yang dapat mengganggu keseimbangan osmotik dan menyebabkan distorsi bentuk sel. Dengan demikian, meskipun terdapat perbedaan detail hasil, kedua penelitian sama-sama menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi methanol, semakin buruk kualitas morfologi eritrosit yang diamati secara mikroskopis pada sediaan apus darah tepi.

