

KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN APUS DARAH TEPI (SADT) MENGUNAKAN PEWARNA GIEMSA TANPA PENGECERAN

SALMA RIDWANI

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARSA HUSADA GARUT
PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN**

2024

Jl.Subyadinata No.07 Tlp/Fax 0262 - 235946 Garut - Jawa Barat

email : slmardwni153@gmail.com

ABSTRAK

Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) Menggunakan Pewarna Giemsa Tanpa Pengenceran

Salah satu pemeriksaan laboratorium di bidang hematologi adalah pemeriksaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT), Fungsi pemeriksaan sediaan apus darah tepi untuk menilai keadaan morfologi sel darah, dan untuk mendapatkan informasi serta petunjuk keadaan hematologi yang sebelumnya tidak terduga. Standar prosedur pewarnaan SADT yaitu menggunakan Giemsa dengan pengencer larutan buffer phosphate pH 7,2. Tujuan studi kasus ini adalah untuk mengetahui hasil mikroskopik pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) yang diwarnai dengan giemsa tanpa pengenceran. Studi kasus ini mendeskripsikan tentang pewarnaan SADT menggunakan pewarna giemsa tanpa pengenceran. Objek yang digunakan adalah sampel darah, fokus pada studi kasus ini yaitu ditemukannya jenis leukosit dengan granula tidak nampak pada sitoplasma, data yang dikumpulkan adalah hasil penilaian morfologi sel darah secara mikroskopis. Hasil pengamatan SADT didapatkan eritrosit dan trombosit terwarnai dengan baik, untuk leukosit inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik tetapi granula tidak dapat terwarnai sehingga tidak dapat membedakan jenis leukosit granulosit dengan agranulosit. Pewarnaan dengan giemsa saja tanpa pengenceran buffer tidak mampu berikatan dengan sifat asam atau basa dari granula karena pewarna tersebut tidak stabil sehingga tidak mampu mewarnai granula yang berukuran kecil. Saran dari studi kasus ini adalah disarankan menggunakan penstabil pH alternatif jika tidak tersedia buffer phosphate pH 7,2 atau bisa juga dengan menggunakan pewarna kombinasi Wrig-Giemsa.

Kata Kunci : SADT, Giemsa, Larutan buffer

Jumlah Pustaka : 22 (2006-2024)

ABSTRACT

Staining of Peripheral Blood Smear Preparations (SADT) Using Giemsa stain without Dilution

*One of the laboratory examinations in the field of hematology is the examination of peripheral blood smear preparations (SADT), the function of examining peripheral blood smear preparations to assess the morphological state of blood cells, and to get information with clues to previously unexpected hematological conditions. The standard SADT staining procedure is to use Giemsa with diluent phosphate buffer solution pH 7.2. The purpose of this case study is to find out the microscopic results on Stained Edge Blood Samples (SADT) stained with Giemsa without dilution. This case study describes the coloring of SADT using giemsa dye without dilution. The object used is a blood sample, the focus of this case study is the discovery of leukocyte types with granules not visible in the cytoplasm, the data collected is the result of microscopic assessment of blood cell morphology. The results of SADT observations obtained erythrocytes and platelets are well stained, for leukocytes the nucleus and cytoplasm are well stained but the granules cannot be stained so that it cannot distinguish the type of granulocyte leukocytes from agranulocytes. Staining with giemsa alone without buffer dilution is not able to bind to the acidic or basic nature of the granule because the dye is unstable so it is unable to color small granules. **This case study suggests** that it is advised to use an alternative pH stabilizer if phosphate buffer pH 7.2 is not available or it can also use WriGH-Giemsa combination stains.*

Keyword : SADT, Giemsa, Buffer solution

Bibliography : 22 (2006-2024)

PENDAHULUAN

Salah satu pemeriksaan laboratorium di bidang hematologi adalah pemeriksaan sediaan apus darah tepi (SADT). Pemeriksaan sediaan apus darah tepi sangat penting karena dari sinilah kita akan mendapatkan banyak informasi, bukan hanya berkaitan dengan morfologi sel darah, tetapi dapat memberikan petunjuk keadaan hematologi yang sebelumnya tidak terduga (Victoria dkk., 2019)

Teknik pewarnaan yang umum digunakan di laboratorium klinik untuk SADT yaitu Giemsa, karena ketahanan hasil zat warna lebih baik dengan hasil pewarnaan lebih jelas. Sediaan apus darah sebelum diwarnai menggunakan giemsa dilakukan Fiksasi dengan methanol absolut (Rachmawati, 2009). Fiksasi dilakukan selama 2-3 menit (WHO., 2011). Larutan Giemsa sebelum digunakan untuk mewarnai SADT harus diencerkan terlebih dahulu. Menurut (WHO, 2016) pengenceran untuk membuat larutan giemsa 10% menggunakan buffer phosphate pH 7,2. Pembuatan larutan giemsa 10% memiliki perbandingan antara larutan Giemsa dengan buffer phosphate yaitu 1:9, yang dimana mencampurkan 1 ml giemsa stok dengan 9 ml buffer phosphate kemudian di homogenkan. Standar waktu yang digunakan pada pewarnaan giemsa ini yaitu 20 menit, setelah 20 menit sediaan di bilas pada air mengalir. Jika waktu pengecatan terlalu cepat akan menyebabkan

apus tidak terwarnai dengan sempurna, begitu juga sebaliknya jika pengecatan dilakukan terlalu lama dapat memengaruhi warna dan bentuk pada sel darah sehingga hasil pembacaan hapusan untuk melihat sel darah sulit dibedakan.

Larutan giemsa dan buffer phosphate adalah dua larutan penting dalam pewarnaan sediaan apus darah tepi. Giemsa memberi warna merah muda pada sitoplasma dan metilen biru yang memberi warna biru pada inti sel sedangkan buffer phosphate berfungsi sebagai larutan pengencer untuk mempertahankan zat dalam keadaan pH saat jumlah kecil asam atau basa ketika dicampurkan pada larutan, dengan demikian kombinasi pewarna giemsa dan buffer phosphate sangat penting dalam pewarnaan SADT. Keduanya bekerja bersama untuk menghasilkan pewarnaan yang berkualitas pada sel darah yang diamati.

Salah satu sel yang dapat diamati pada sediaan apus darah tepi adalah leukosit. Jenis leukosit dalam darah terdapat enam jenis leukosit yaitu neutrofil segmen, neutrofil batang, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. (Nugraha, 2015). Sehingga keenam jenis sel tersebut memiliki perberbedaan dalam ukuran, bentuk, inti, warna sitoplasma serta granula didalamnya.

Identifikasi jenis leukosit merupakan salah satu parameter pemeriksaan yang penting dan

sering dilakukan karena tujuannya agar dapat membedakan leukosit terhadap warna sitoplasma, bentuk, warna inti serta granula pada setiap jenis leukosit yang berbeda (Putri, 2019)

Berdasarkan penelitian Dayinta Wintang Maharani pada tahun 2019 yang berjudul “Gambaran Hasil Pewarnaan Sel darah pada Sediaan Apus Darah Tepi dengan Giemsa 5% dan 10%”, mengatakan hasil pewarnaan sel darah pada SADT selain dipengaruhi oleh konsentrasi giemsa, juga dipengaruhi oleh kebersihan dan ketebalan sediaan, proses fiksasi, kualitas zat warna (Giemsa pokok), kualitas larutan pengencer giemsa serta lama waktu pewarnaan (Maharani, D.W, 2019).

Pada studi kasus yang ditemukan yaitu dilakukannya pewarnaan pada SADT yang diwarnai dengan giemsa tanpa pengenceran didapatkan hasil pada lapang pandang menunjukkan gambaran eritrosit, trombosit dan leukosit. Pada leukosit ditemukan jenis sel neutrofil batang, dan neutrofil segmen yang dimana hanya dapat dibedakan pada bentuk inti, dan warna sitoplasmanya sedangkan granula pada jenis leukosit tersebut tidak terwarnai, karena pada saat pewarnaan larutan giemsa tidak di encerkan terlebih dahulu menggunakan buffer phosphate pH 7,2. Pemeriksaan tersebut tetap

dilakukan meskipun larutan pengencer buffer phosphate tidak tersedia.

METODOLOGI PENELITIAN

Rancangan Studi Kasus

Penelitian ini mendeskripsikan tentang kasus di bidang hematologi mengenai hasil pengamatan mikroskopik pada Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) yang diwarnai dengan giemsa tanpa pengenceran.

Objek Studi Kasus

Objek studi kasus yang digunakan adalah sampel darah.

Fokus Studi Kasus

Fokus studi kasus pada penelitian ini adalah ditemukannya jenis leukosit dengan ciri-ciri sel bergranula, namun granulanya tidak nampak pada sitoplasma, sehingga sulit membedakan sel granulosit dengan agranulosit karena granulanya tidak terwarnai.


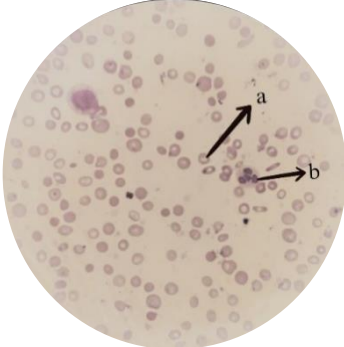
Pengumpulan Data Studi Kasus

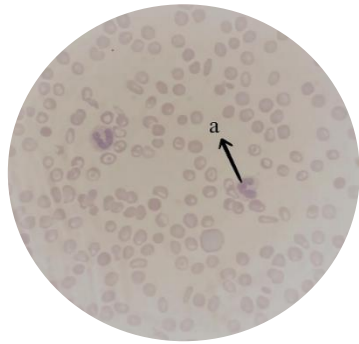
Pada studi kasus ini data yang dikumpulkan adalah hasil penilaian morfologi sel berdasarkan ciri pada inti, sitoplasma dan granula.

HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan SADT dengan pewarnaan giemsa tanpa pengenceran buffer

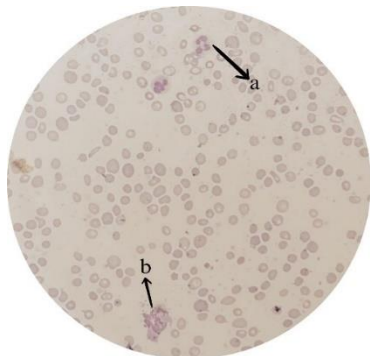
phosphate pH 7,2 di laboratorium X, pada tanggal 29 Februari 2024 diuraikan sebagai berikut :

| Gambar Hasil Pemeriksaan | Keterangan |
|--|---|
|  | Preparat SADT yang diwarnai dengan giemsa tanpa pengencer larutan buffer phosphate pH 7,2, didapatkan hasil warna preparat berwarna ungu kemerahan. |
|  <p>a) Pewarnaan menggunakan giemsa yang diencerkan dengan perbandingan 1: 9, pada gambar tersebut menunjukkan Eritrosit, dan Neutrofil segmen.</p> | <p>a. Eritrosit, dengan ciri berwarna merah, berbentuk bikonkaf di tengah terdapat bagian pucat.</p> <p>b. Neutrofil segemen, dengan ciri sel berlobus 3, inti berwarna ungu, warna sitoplasma merah muda, namun tidak ditemukannya granula pada sitoplasma sel tersebut.</p> |



b) Pewarnaan menggunakan giemsa yang diencerkan dengan perbandingan 1: 9, pada gambar tersebut menunjukkan Neutrofil batang.

a. Neutrofil batang, dengan ciri sel yang membentuk seperti tapal kuda, berwarna ungu, dengan sitoplasma berwarna merah pucat, namun tidak ditemukannya granula pada sitoplasma tersebut



c) Pewarnaan menggunakan giemsa yang diencerkan dengan perbandingan 1: 9, pada gambar tersebut menunjukkan Neutrofil segmen dan Trombosit.

a. Neutrofil segemen, dengan ciri sel berlobus 4, inti berwarna ungu, warna sitoplasma merah muda, namun tidak ditemukannya granula pada sitoplasma sel tersebut.
 b. Trombosit, dengan ciri berbentuk bulat bergerombol, berwarna ungu merata.

Pada hasil pengamatan sediaan SADT yang diwarnai dengan giemsa tanpa pengenceran buffer phosphate pH 7,2 didapatkan jenis leukosit yang termasuk dalam kelompok sel granulosit, tetapi pada hasil pengamatan jenis sel tersebut tidak ditemukannya granula pada sitoplasma. Sedangkan secara standar morfologi dari jenis leukosit yang termasuk kedalam kelompok sel granulosit yaitu memiliki granula halus menyebar pada sitoplasma.

PEMBAHASAN

Manfaat dari pewarnaan giemsa pada SADT yaitu untuk mewarnai sitoplasma, bentuk, warna inti serta granula pada setiap jenis leukosit yang berbeda (Putri, 2019). Pewarnaan giemsa memiliki standar pengenceran, lalu setiap pengenceran memiliki waktu pewarnaan yang berbeda-beda. Pewarnaan SADT dengan giemsa pengenceran 10% adalah pewarna yang umum digunakan agar sediaan terlihat lebih jelas, pada sediaan apus darah tepi

menggunakan cat giemsa dengan pengencer buffer pH 7,2. Pembuatan pengenceran larutan giemsa untuk pewarnaan SADT dengan konsentrasi 10% yaitu sesuai pada kebutuhannya dengan perbandingan 1:9, 1 ml bagian giemsa + 9 ml larutan buffer phosphate. Buffer phosphate pada pewarnaan giemsa digunakan untuk mempertahankan zat dalam keadaan pH saat jumlah kecil asam atau basa, maka pH asam akan berikatan dengan basa dan pH basa akan berikatan dengan asam sehingga ketika dicampurkan pada larutan pewarna giemsa dapat memperkuat warna pada sel darah (Maharani, DW, 2019)

Salah satu sel darah yaitu leukosit yang dimana leukosit ini memiliki jenis sel yang bergranula, granula ini memiliki ukuran yang sangat kecil sehingga bersifat lemah dalam mengikat zat warna. Adapun sel yang bergranula yaitu, sel neutrofil memiliki inti, sitoplasma dan granula yang bersifat asam maupun basa sehingga dapat menyerap zat

warna bersifat netral maka menghasilkan warna granula yang berwarna ungu, sedangkan pada sel eosinofil inti, sitoplasma, dan granula bersifat basa yang dapat menyerap zat warna bersifat asam maka menghasilkan warna granula merah, dan sel basofil memiliki inti, sitoplasma, dan granula yang bersifat asam sehingga menyerap zat warna bersifat basa maka menghasilkan warna granula biru gelap/kehitaman (Bakta, 2006).

Berdasarkan hasil pewarnaan pada SADT yang sudah diwarnai menggunakan pewarna giemsa yang tidak di encerkan terlebih dahulu dengan buffer phosphate pH 7,2 didapatkan hasil pengamatan eritrosit, trombosit dan leukosit pada inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, tetapi pada jenis leukosit yang termasuk pada kelompok sel granulosit, granula pada sitoplasma tidak dapat terwarnai sehingga sulit dalam membedakan sel granulosit dan agranulosit. Buffer phosphate pH7,2 berfungsi sebagai

larutan pengencer dalam pewarnaan giemsa serta dapat mempertahankan zat pH dalam jumlah kecil, ketika giemsa tidak di encerkan dengan buffer phosphate pH 7,2 maka pewarnaan giemsa tersebut tidak dapat mempertahankan zat pH dalam jumlah kecil. Pada studi kasus ini tidak dilakukannya pengenceran pada giemsa dikarenakan tidak tersedianya larutan buffer phosphate pH 7,2. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Museyaroh dkk pada tahun 2024, mereka menggunakan larutan pengencer pengganti buffer phosphate dengan aquabidest karena aquabidest memiliki pH netral, selain itu secara ekonomis lebih murah dan mudah didapatkan. Hasil dari penelitian tersebut didapatkan pengamatan morfologi sel darah pada sediaan hapus darah tepi pewarnaan giemsa menggunakan larutan pengencer buffer phosphate yaitu didapatkan pengamatan pada eritrosit berwarna merah kecoklatan, trombosit berwarna ungu muda dan merah, inti leukosit berwarna ungu, sel

basofil tidak ditemukan, sel eosinofil granula berwarna merah kecoklatan, granula neutrofil berwarna merah kecoklatan, sitoplasma limfosit berwarna biru pucat, sitoplasma monosit berwarna biru.

Sedangkan hasil pengamatan morfologi sel darah pada sediaan hapus darah tepi pewarnaan giemsa menggunakan larutan pengencer aquabidest yaitu, eritrosit berwarna merah kecoklatan, trombosit ungu muda dan merah muda, inti leukosit berwarna ungu, tidak ditemukan basofil, eosinofil granula berwarna merah kecoklatan, sitoplasma limfosit berwarna biru pucat dan sitoplasma monosit berwarna biru. Sehingga hasil pengamatan morfologi sel darah pada sediaan hapus darah tepi pewarnaan giemsa dengan larutan pengencer buffer phosphate menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna dengan hasil pengamatan morfologi sel darah pada sediaan hapus darah tepi dengan pengenceran menggunakan larutan pengencer aquabidest dan hasil

pengamatan morfologi sel darah tersebut masih termasuk kriteria sesuai standar.

Hasil penelitian Museyaroh dkk, jika di persentasekan dari hasil pengamatan tersebut didapatkan sediaan hapus darah tepi pewarnaan giemsa dengan aquabidest yang termasuk dalam kategori “baik” lebih tinggi yaitu sebesar 81,82% dibandingkan dengan persentase sediaan hapus darah tepi pewarnaan giemsa dengan buffer phosphate yang termasuk pada kategori “baik”, yaitu sebesar 76,47% (Museyaroh, 2024). Maka dapat dikatakan jika larutan pengencer buffer phosphate pH 7,2 tidak tersedia untuk pewarnaan SADT adapun larutan alternative untuk pengenceran dan mendapatkan hasil yang baik yaitu menggunakan menggunakan larutan pengencer aquabidest dengan pH 6,8-7,2 atau netral.

Berbeda dengan penelitian yang dilakukan (Rinny & Sherly, 2018), yang dimana mereka melakukan penelitian pewarnaan preparat pada apus darah tepi

dengan kombinasi Wright-Giemsa dengan waktu pewarnaan 15 menit. Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan secara mikroskopis pada apusan darah tepi yang sudah diwarnai menggunakan pewarnaan kombinasi Wright-Giemsa menunjukkan warna granula dan inti pada jenis leukosit terwarnai dengan sangat baik dan menonjol. Pewarnaan Wright-Giemsa merupakan modifikasi pewarnaan Romanowsky yang mengandung kombinasi zat warna basa seperti methylene blue dan produk oksidatifnya, azure A dan azure B, dan zat warna asam seperti eosin. Pewarnaan ini sudah rutin digunakan di laboratorium hematologi untuk mewarnai apusan darah tepi dan sumsum tulang. Teknik pewarnaan dengan Wright-Giemsa diketahui baik untuk menilai morfologi eosinofil-neutrofil-basofil, dan Wright untuk basophil (Barcia, 2014 ; Sudiro, dkk., 2010). Sehingga jika pewarnaan SADT tidak menggunakan giemsa yang di encerkan dengan buffer phosphate pH 7,2

maka pewarnaan pada SADT bisa menggunakan kombinasi Wright-Giemsa, selain hasil yang baik juga pewarnaan kombinasi Wright-Giemsa dapat bertahan lama sekitar 5 hari.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi kasus tersebut dapat disimpulkan bahwa pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) dengan giemsa tanpa pengenceran mampu mewarnai inti sel, sitoplasma, eritrosit, trombosit dan leukosit tetapi tidak mampu mewarnai granula leukosit, karena pewarna giemsa tanpa larutan pengencer buffer phosphate pH 7,2 tidak dapat mempertahankan zat dalam keadaan pH saat jumlah kecil asam atau basa pada granula.

SARAN

Adapun saran yang dapat disampaikan dari studi kasus ini adalah pewarnaan giemsa harus dilakukan dengan pengenceran menggunakan pelarut yang mampu

menstabilkan pH. Untuk mendapatkan hasil pewarnaan yang optimal dapat menggunakan pelarut alternatif lainnya seperti menggunakan aquabidest pH 6,8-7,2 atau dengan menggunakan pewarna kombinasi Wright-Giemsa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewoyin, AS & Nuwogoh, B. (2014). Haematology and Blood Transfusion. 72-73.
- Ardina, R. (2018). "Profil Kadar Hemoglobin dan Indeks Eritrosit pada Perokok Aktif di Kelurahan Tanjung Pinang Kota Palangka Raya". *Jurnal Surya Medika*, 58.
- Astarini. (2014). Pengaruh Penyimpanan Darah EDTA terhadap Jumlah dan morfologi sel. *Skripsi*.
- Bain, B. J. (2019). Hematologi Kurikulum Inti. Jakarta: EGC: Alih bahasa : Anggraini I.
- Bakta, M. I. (2006). *Hematologi Klinik Ringkas*. Jakarta. EGC.
- Barcia, J.J, dkk. (2007). The Giemsa Stain:Its History and Applications. *International Journal of Surgical Pathology*, 292-296.
- Freud. (2011). *Heckner Atlas Hematologi Praktikum Hematologi Dengan Mikroskop Edisi 11*. Jakarta: kedokteran EGC.
- Gandasoebrata. (2017). *Penuntun Laboratorium*. Jakarta:: Dian Rakyat.
- Maharani, DW. (2019). *GAMBARAN HASIL PEWARNAAN SEL DARAH PADA SEDIAAN APUS DARAH TEPI DENGAN GIEMSA 5% DAN 10%*. Semarang: Poltekes Kemenkes Semarang.
- Museyaroh, Nabilah HM Endarini, & Lully HE. (2024). PERBEDAAN MORFOLOGI SEL DARAH PADA PEMERIKSAAN HAPUSAN DARAH TEPI DENGAN PEWARNAAN GIEMSA MENGGUNAKAN LARUTAN

- PENGECER BUFFER
PHOSPHAT DAN LARUTAN
PENGECER AQUABIDEST.
Jurnal Ilmiah Obsgin, 518-520.
- Nugraha, G. (2015). *Panduan pemeriksaan laboratorium hematologi dasar*. Jakarta: CV Trans Info Medika.
- Nurhayati, B., dkk. (2022). *HEMATOLOGI*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Putri. (2019). *Pengaruh Variasi Waktu Pewarnaan Menggunakan Giemsa*. :Kupang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
- Rachmawati, D. (2009). Pengaruh Lama Penguapan Larutan Fiksasi Terhadap Hasil Makroskopis dan Mikroskopis Sediaan Apus Darah Tepi. *Thesis, Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Rinny, A., & Sherly, R. (2018). 'Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, dan Kombinasi Wright-Giemsa'. *Jurnal Surya Medika*, 3(2), 5-12.
- Sanyi. (2020). "Gambaran Morfologi Plasmodium Sp pada Pewarnaan Giemsa dengan Pengenceran Menggunakan Larutan NaCl 0,9% dan Air Mineral".
- Subowo. (2019). *Imunobiologi Klinik*. Bandung: Angkasa Bandung.
- Victoria, Y., Slamet, & Supriyanto. (2019). Analisa Sel Basofil Pada Sediaan Apus Darah Tepi Dengan Metode Pewarnaan Giemsa, Wright Dan Modifikasi Wright Giemsa. *JLK*, 3(1).
- Wahid AA. Purwaganda, W. (2015). Jurnal Ilmu-ilmu Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, 5(9):3-6.
- World Health Organization. (2011). Pedoman Teknik Dasar Untuk Laboratorium. *Jakarta: EGC*.
- WHO. (2016). *GIEMSA STAINING OF MALARIA BLOOD FILMS MALARIA MICROSCOPY*

STANDARD

OPERATING

Yullynalis. (2013). *Hitung Jenis Leukosit*

PROCEDURE

(Differential Count) dan evaluasi

Hapusan Darah Tepi (HDT).