

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian yang berjudul “Uji Efisiensi dan Efektivitas Preparat pada Alat *chamber stain* Menggunakan Pewarnaan Giemsa 3%” ini telah dilaksanakan pada tanggal 20-22 Februari 2025 di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Pada hari pertama, dilakukan pengambilan sampel darah vena dilanjutkan dengan proses pembuatan sediaan apus darah tepi, proses fiksasi lalu proses pewarnaan, tahapan ini diulangi selama 3 hari berturut-turut. Tahapan selanjutnya adalah dilakukan pembacaan sediaan oleh dua *Expert* Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) yang sudah berpengalaman dan terlatih dalam membaca Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) untuk melakukan diagnosis. Komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta telah menyetujui penelitian ini dengan No. No.DP.04.03/e-KEPK.1/072/2025.

Penelitian ini menggunakan subjek *Chamber stain* yang bertujuan untuk menganalisis penggunaan Giemsa 3% secara berulang terhadap hasil pewarnaan sediaan apus darah tepi. Sampel berasal dari darah mahasiswa Prodi D-III Semester 6 Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta sebanyak 6 orang. Sebelum dilakukan pengambilan darah mahasiswa mengisi kuesioner untuk skrining. Semua hasil skrining responden menunjukkan hasil normal

(sehat). Dari sampel darah tersebut setiap sampel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol metode konvensional dan kelompok eksperimen metode *chamber stain*. Penelitian ini dilakukan selama 3 hari dimana setiap harinya dilakukan 2 pengulangan, sehingga total sampel yang akan digunakan selama penelitian adalah 276 preparat untuk kelompok eksperimen dan 3 preparat untuk kelompok kontrol. Sediaan yang telah diwarnai akan diperiksa secara mikroskopis untuk diamati sel eritrosit dan leukosit. Data primer yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel yang selanjutnya data dianalisis secara deskriptif dan analitik.

2. Analisis Deskriptif

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kualitas hasil pewarnaan sediaan apus darah tepi secara mikroskopis antara sediaan yang terwarnai menggunakan Giemsa 3% metode konvensional dan metode *chamber stain*. Secara umum, kualitas sediaan dideskripsikan dengan membandingkan warna morfologi sel eritrosit dan leukosit dari masing-masing perlakuan sesuai kriteria penilaian pewarnaan eritrosit dan leukosit pada Tabel 3 dan Tabel 4 yang disajikan pada Tabel 6.

Apabila proses pewarnaan SADT berhasil dengan baik, maka pada hasil sediaan apus darah tepi akan tampak dengan jelas warna morfologi sel sesuai kriteria hasil pewarnaan yang baik (Tabel 3).

Tabel 3. Kriteria Hasil Pewarnaan yang Baik

Jenis sel	Warna
-----------	-------

		Inti sel	Sitoplasma	Granula
Eritrosit	Eritrosit	-	Ungu keabu-abuan	-
Leukosit	Neutrofil	Ungu	Merah muda	Ungu
	Eosinofil	Ungu	Merah muda	Merah-oranye
	Basofil	Ungu	Biru	Ungu kehitaman
	Limfosit	Ungu	Biru pucat	-
	Monosit	Ungu	Biru keabu-abuan	-
Trombosit	Trombosit	-	-	Ungu

Sumber: Kiswari, 2014.

Tabel 4. Skor Penilaian Eritrosit dan Leukosit

Aspek penilaian	Kriteria		Skor	Keterangan
	Eritrosit	Leukosit		
Warna	Apusan Menunjukkan area refraktil yang tajam pada kromis (palor sentral)	Apusan yang menunjukkan garis samar pada sel leukosit atau sel tidak ditemukan	0	Tidak Baik
	Pewarnaan kurang baik dimana morfologi eritrosit dan kromia tidak terpelihara dengan baik meskipun area refraktil tidak tajam pada kromia	Pewarnaan kurang baik dimana sel leukosit menunjukkan batas sitoplasma dengan inti sel sudah terlihat jelas namun inti sel masih belum terwarnai dengan baik dan butiran masih kurang terlihat jelas	1	Kurang Baik
	Mencerminkan karakteristik pewarnaan yang sangat baik	Mencerminkan karakteristik pewarnaan yang sangat	2	Baik

dimana morfologi eritrosit dan kromia yang terpelihara dengan baik	baik dimana sel leukosit menunjukkan batas sitoplasma dengan inti sel jelas, inti sel terwarnai dengan baik dan butiran terlihat jelas
--	--

Sumber: Tata dan Mannem, 2022 (dimodifikasi)

Tabel 6. Hasil Penilaian Sediaan Apus Darah Tepi

No	Kode sampel	Kontrol	Chamber Stain					
			Ke-1	Ke-2	Ke-3	Ke-4	Ke-5	Ke-6
1	A	2	2	2	2	1	0	0
2	B	2	2	2	1	2	0	0
3	C	2	2	2	2	2	1	1
4	D		2	1	2	0	0	0
5	E		2	2	1	0	2	0
6	F		2	2	2	2	1	0
7	G		2	2	1	1	0	0
8	H		2	1	1	1	0	0
9	I		2	2	2	2	1	1
10	J		2	2	2	0	1	1
Total		6	20	18	16	11	6	3
Rata-rata skor		2	2	1,8	1,6	1,1	0,6	0,3

Sumber: Data Primer Terolah, 2025

Berdasarkan tabel di atas, hasil penilaian sediaan apus darah tepi oleh 2 penilai menunjukkan bahwa hasil pewarnaan pada kontrol dan eksperimen ke-1 seluruh sediaan terwarnai dengan sempurna. Namun, pada pengulangan ke-2 mulai terjadi penurunan hasil pewarnaan yaitu, sebanyak 8 sediaan baik dan 2 sediaan kurang baik. Pada eksperimen ke-3 terdapat 6 sediaan yang tergolong baik dan 4 sediaan kurang baik. Hasil pada penilaian eksperimen ke-4 menunjukkan penurunan lebih lanjut yaitu, terdapat 4 sediaan baik, 3 sediaan kurang baik dan 3 sediaan kurang

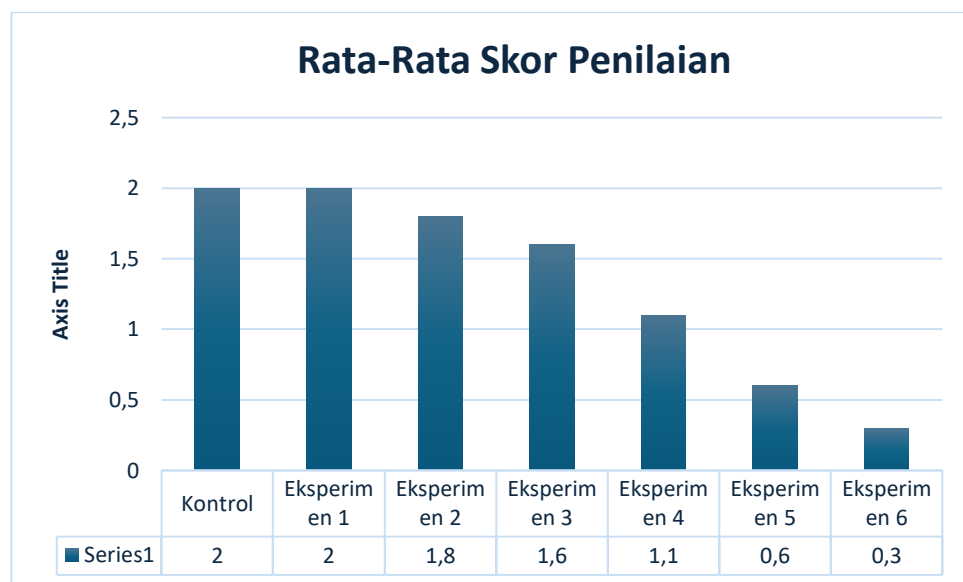
baik. Eksperimen ke-5 mengalami penurunan yang cukup signifikan yaitu 1 sediaan baik, 4 sediaan kurang baik dan 5 sediaan tidak baik. Pada eksperimen ke-6 seluruh sediaan mengalami penurunan yang sangat signifikan yaitu, didapatkan 3 sediaan kurang baik dan 7 sediaan tidak baik.

Kualitas hasil pewarnaan pada metode konvensional menunjukkan hasil yang cenderung lebih konsisten baik. Eritrosit menunjukkan warna sitoplasma ungu keabuabuan yang jelas dan merata, sedangkan sel leukosit seperti neutrofil, eosinofil, limfosit dan monosit memiliki warna inti, sitoplasma dan granula yang jelas sesuai kriteria pada Tabel 3. Sebaliknya, pada metode *chamber stain*, sebagian besar sediaan menunjukkan hasil kurang baik. Warna sitoplasma eritrosit terlihat pucat serta pada beberapa jenis sel leukosit warna inti, sitoplasma dan granula menunjukkan warna yang lebih pucat dari seharusnya.

3. Analisis Analitik

Penilaian skor dilakukan terhadap 63 sediaan apus darah tepi yang terdiri dari 3 sediaan kelompok kontrol dan 60 sediaan kelompok eksperimen, penilaian ini dilakukan guna memudahkan proses identifikasi perbedaan diantara dua perlakuan. Penilaian dilakukan oleh 2 orang Expert ATLM untuk meminimalisir keterbatasan penilaian ini yaitu sifat subjektif dalam menilai kualitas sediaan apus darah tepi sesuai kriteria pada Tabel 2. Data hasil penilaian kualitas sediaan apus darah tepi kemudian dihitung rata-rata total jumlah skor dari seluruh penilai sehingga didapatkan perbedaan hasil rata-rata total skor penilaian pewarnaan morfologi eritrosit dan leukosit pada sediaan apus darah tepi menggunakan Giemsa 3%

metode konvensional dan metode *chamber stain*. Perhitungan hasil penilaian kualitas sediaan selanjutnya diolah menjadi grafik yang ditunjukkan pada gambar 13.



Gambar 13. Grafik Perbedaan Hasil Rata-rata Total Skor Penilaian Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi
Sumber: Data Primer Terolah, 2025

Gambar 13 menunjukkan terdapat perbedaan hasil rata-rata total skor penilaian sediaan apus darah tepi yang diwarnai menggunakan Giemsa 3% metode konvensional sebagai kontrol dan metode *chamber stain* sebagai eksperimen. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata skor metode konvensional adalah 2 sedangkan rata-rata skor penilaian metode *chamber stain* pada eksperimen ke-1 adalah 2, eksperimen ke-2 1,8, eksperimen ke-3 1,6, eksperimen ke-4 1,1, eksperimen ke-5 0,6 dan eksperimen ke-6 0,3. Grafik menunjukkan selisih rata-rata skor penilaian antara metode konvensional dan metode *chamber stain*, di mana rata-rata skor pada kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok

eksperimen, Hasil rata-rata skor penilaian SADT kemudian dianalisis dengan menghitung presentase efektivitas dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Presentase efektivitas} = \frac{\text{Rerata skor pewarnaan metode chamber stain}}{\text{Rerata skor pewarnaan metode konvensional}} \times 100\%$$

$$\text{a. Presentase efektivitas eksperimen ke-1} = \frac{2}{2} \times 100\%$$

$$= 100\%$$

$$\text{b. Presentase efektivitas eksperimen ke-2} = \frac{1,8}{2} \times 100\%$$

$$= 90\%$$

$$\text{c. Presentase efektivitas eksperimen ke-3} = \frac{1,6}{2} \times 100\%$$

$$= 80\%$$

$$\text{d. Presentase efektivitas eksperimen ke-4} = \frac{1,1}{2} \times 100\%$$

$$= 55\%$$

$$\text{e. Presentase efektivitas eksperimen ke-5} = \frac{0,6}{2} \times 100\%$$

$$= 30\%$$

$$\text{f. Presentase efektivitas eksperimen ke-6} = \frac{0,3}{2} \times 100\%$$

$$= 15\%$$

Hasil presentase efektivitas rata-rata skor penilaian sediaan apus darah tepi tersebut kemudian diinterpretasikan ke dalam tingkat kriteria efektivitas pada tabel 5.

Tabel 5. Kriteria Efektivitas

Presentase	Kriteria
>100%	Sangat Efektif

90-100%	Efektif
80-90%	Cukup Efektif
60-80%	Kurang Efektif
<60%	Tidak Efektif

Sumber: Nabilah & Hernadi Moorcy, 2022

Sesuai dengan hasil perhitungan efektivitas tersebut, didapatkan bahwa hasil pewarnaan Giemsa 3% metode *chamber stain* eksperimen ke-1 dan ke-2 termasuk dalam kriteria efektif, eksperimen ke-3 termasuk dalam kriteria cukup efektif, sedangkan eksperimen ke-4 hingga ke-6 termasuk dalam kriteria tidak efektif.

Selanjutnya, jumlah volume pewarnaan yang digunakan antara metode *chamber stain* dan metode konvensional dihitung untuk mengetahui seberapa efisien penggunaan alat tersebut. Setiap satu eksperimen terdiri atas 46 sediaan, sehingga total sediaan yang digunakan hingga eksperimen ke-6 adalah 276 sediaan. Jumlah volume reagen yang diperlukan untuk metode konvensional adalah 3 ml reagen kerja Giemsa untuk setiap 1 sediaan apus darah tepi sehingga untuk mewarnai 138 SADT dibutuhkan total volume reagen sebesar:

$$3 \text{ ml} \times 276 \text{ SADT} = 828 \text{ ml}$$

Sementara itu metode *chamber stain* hanya memerlukan 400 ml reagen kerja Giemsa untuk mewarnai jumlah sediaan yang sama. Ini menunjukkan adanya penghematan volume reagen yang digunakan. Jumlah volume pewarnaan ini kemudian dihitung menggunakan rumus efisiensi, sebagai berikut

Presentase efisiensi

$$= \frac{(Volume\ metode\ konvensional - Volume\ metode\ Chamber\ stain)}{Volume\ metode\ konvensional} \times 100\%$$

$$Presentase\ efisiensi = \frac{(828-400)}{414} \times 100\%$$

$$Presentase\ efisiensi = \frac{428}{414} \times 100\%$$

$$Presentase\ efisiensi = 51,69\%$$

Hasil presentase efisiensi volume pewarnaan kemudian diinterpretasikan ke dalam kriteria efisiensi pada tabel 6.

Tabel 6. Kriteria Efisiensi

Presentase	Kriteria
>100%	Sangat Efisien
90-100%	Efisien
80-90%	Cukup Efisien
60-80%	Kurang Efisien
<60%	Tidak Efisien

Sumber: Nabilah & Hernadi Moorcy, 2022

Sesuai dengan hasil perhitungan efisien tersebut, didapatkan bahwa hasil pewarnaan Giemsa 3% metode *chamber stain* termasuk dalam tidak efisien.

4. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar efektivitas dan efisiensi metode *chamber stain* untuk pengecatan Giemsa 3% secara berulang. Dalam penelitian ini, dilakukan perbandingan antara hasil pewarnaan sediaan apus darah tepi metode konvensional sebagai kontrol dan metode *chamber stain* sebagai eksperimen. Sampel yang digunakan berasal dari darah EDTA mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta non patologis yang selanjutnya dibuat sediaan apus darah tepi dan diwarnai dengan pewarna Giemsa 3% selama 45 menit.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan hasil pewarnaan antara metode konvensional dan metode *chamber stain*. Pada metode konvensional, hasil penilaian sediaan cenderung lebih konsisten baik untuk eritrosit ataupun leukosit. Hasil pewarnaan morfologi yang baik ditandai dengan eritrosit memiliki warna sitoplasma ungu keabu-abuan yang jelas, sedangkan leukosit memiliki warna inti, sitoplasma dan granula yang tajam dan jelas. Sedangkan pada metode *chamber stain*, sebagian sediaan khususnya mulai eksperimen ke 4 menunjukkan penurunan kualitas warna morfologi sel, yaitu warna inti dan sitoplasma terlihat sedikit pucat pada beberapa jenis sel seperti monosit dan limfosit serta pada sel eosinofil dan neutrofil granula terlihat tidak jelas.

Penelitian ini dilakukan secara berkelompok beranggotakan 4 orang, di mana masing-masing anggota menggunakan konsentrasi reagen Giemsa yang berbeda, yaitu 3%, 5%, 10%, dan 15%. Berdasarkan hasil pengamatan, konsentrasi Giemsa 5%, 10%, dan 15% menunjukkan hasil yang sangat efektif dan efisien dalam mewarnai sediaan apus darah, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok eksperimen dengan metode *chamber stain*. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi tersebut mampu menghasilkan pewarnaan yang optimal dan konsisten pada eritrosit dan leukosit. Sedangkan konsentrasi Giemsa 3% memberikan hasil yang kurang maksimal pada morfologi sel darah. Hasil penelitian ini juga berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Beatrix rumpaidus et al., 2023, di mana hasil pewarnaan menggunakan Giemsa

konsentrasi 3% menunjukkan hasil baik dibandingkan dengan Giemsa konsentrasi 5%.

Penurunan kualitas pewarnaan giemsa ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu seperti penguapan pelarut yang mempengaruhi konsentrasi pewarna dan efektivitasnya, komponen pewarna giemsa yang teroksidasi menyebabkan perubahan warna dan hilangnya kemampuan untuk mewarnai, paparan cahaya yang berlebihan dapat mempercepat degradasi komponen pewarna, penyimpanan suhu yang tidak terkontrol dapat mempengaruhi stabilitas pewarnaan. Menurut *World Health Organization* (2016) Jika larutan disimpan dalam kondisi yang kurang optimal, efektivitasnya akan menurun dan Menurut kemenkes (2017) Saat pewarnaan, penting untuk memperhatikan unsur simpan larutan Giemsa yang digunakan untuk pewarnaan. Campuran giemsa yang telah disiapkan harus segera digunakan dan tidak boleh disimpan atau digunakan lebih dari satu jam. Salah satu sifat pewarna Giemsa adalah mudah mengalami oksidasi jika terpapar udara terlalu lama, terutama jika penyimpanan tidak dilakukan dengan baik dalam wadah tertutup rapat. Oleh karena itu tidak disarankan untuk menggunakan pewarnaan giemsa secara berulang agar menghindari faktor yang mempengaruhi kualitas pewarnaan sel morfologi

Kualitas sediaan apus darah tepi merupakan faktor penting dalam menentukan hasil pewarnaan. Sediaan apus darah tepi yang terlalu tebal dapat mempengaruhi penyebaran sel darah menjadi tidak merata. Hal ini mengakibatkan sebagian area mengandung terlalu banyak sel sehingga sel

saling menumpuk. Penumpukan sel menyebabkan pewarna Giemsa sulit menembus ke dalam seluruh bagian sediaan. Akibatnya, hasil pewarnaan menjadi tidak merata dan beberapa sel tidak terwarnai dengan optimal sehingga berpengaruh pada proses pengamatan dan penilaian kualitas sediaan apus darah tepi. Selain itu, kadar hemoglobin (Hb) responden juga dapat mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan. Kadar Hb yang terlalu tinggi dapat membuat sediaan apus darah tepi terlihat terlalu tebal atau berwarna coklat pekat (Dellagi dan Guermazi, 1997).

Faktor yang berpengaruh lainnya adalah lama pewarnaan sediaan. Menurut Beatrix rumpaidus, 2023, lama waktu pemberian zat warna juga berpengaruh karena jika pewarnaan terlalu cepat menyebabkan sediaan apus darah tepi tidak terwarnai dengan sempurna, sebaliknya jika pewarnaan terlalu lama dapat menyebabkan *overstaining* yang justru mengaburkan morfologi sel. Kesalahan pada penelitian ini adalah pada pengulangan pewarnaan ke-4 lama waktu pewarnaan lebih singkat daripada lama waktu seharusnya, sehingga hasil pewarnaan pada eksperimen ke-4 mengalami penurunan yang cukup signifikan.

Kestabilan pH juga merupakan faktor yang harus diperhatikan, karena perubahan pH dapat mempengaruhi daya ikat zat warna terhadap komponen morfologi sel darah. Semakin asam pH, semakin kuat warna inti atau kromatin dan semakin lemah warna sitoplasma. Sebaliknya, semakin basa pH, semakin terang warna inti atau kromatin dan semakin banyak warna sitoplasma (Asmawati, 2023). Hal ini dapat terjadi karena

inti sel darah yang bersifat asam sehingga akan bereaksi dengan azure B yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma dan granula sel dapat menyerap pewarna yang bersifat asam ataupun basa tergantung pada jenis granula, komponen sitoplasma dan jenis pewarnaan yang digunakan.

Perubahan pH dapat terjadi karena sebagian zat aktif, seperti azrue B (yang bersifat basa) dan eosin Y (yang bersifat asam) telah bereaksi atau terpakai selama proses pewarnaan yang dapat mengganggu keseimbangan asam-basa dalam larutan, sehingga pH juga ikut berubah. Jika ditemukan perubahan pH, larutan dapat dinetralisir dengan penambahan tetesan NaOH atau HCl, tergantung arah perubahan pH (Budiwati, 2019). Oleh karena itu, pengaturan pH dalam proses pewarnaan sangat penting dalam proses penggunaan cat secara berulang.

Material *chamber stain* juga dapat memengaruhi kualitas pewarnaan. *Chamber stain* dalam penelitian ini terbuat dari bahan plastik hasil 3D printing, yang berpotensi menurunkan kualitas larutan pewarna. Hal ini disebabkan oleh kemungkinan terjadinya interaksi kimia antara bahan plastik dengan zat pewarna seperti Giemsa, larutan buffer dan metanol. Metanol yang digunakan untuk fiksasi apusan darah, dikenal sebagai pelarut efektif untuk beberapa jenis plastik (*National Center for Biotechnology Information*, 2025). Interaksi ini dapat menyebabkan adsorpsi zat aktif pada permukaan *chamber* atau degradasi kimiawi zat warna, sehingga menurunkan kualitas pewarnaan. Oleh karena itu, disarankan untuk mengoptimalkan penggunaan *chamber stain* dengan

bahan yang lebih stabil seperti aluminium, guna mempertahankan kualitas pewarnaan secara konsisten.

Penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan, khususnya melalui perbaikan alat *chamber stain* yang digunakan. Optimalisasi alat ini penting agar pH dan suhu di dalam *chamber stain* bisa lebih stabil terutama pada saat penyimpanan reagen setelah digunakan untuk pewarnaan pertama. Hal ini dilakukan untuk mencegah kemungkinan terjadinya oksidasi selama proses penyimpanan pewarna berulang yang dapat menyebabkan perubahan warna, penurunan kemampuan pengikatan warna pada komponen sel serta timbulnya endapan pada larutan (WHO,2016).

Kelemahan pada penelitian ini adalah proses pembuatan sediaan apus darah tepi. Sebagian besar sediaan yang dibuat masih terlalu tebal, sehingga hasil pewarnaan kurang maksimal. Hal ini berkaitan dengan ketrampilan peneliti dalam membuat sediaan apus darah tepi yang ideal.