

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian dengan judul “Pemakaian Giemsa 10% Secara Berulang Pada Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) Menggunakan *Chamber Stain*” ini dilakukan pada bulan Februari - Maret 2025 di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan sediaan darah Mahasiswa Diploma Tiga Semester 6 Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta yang dibuat SADT kemudian dilakukan dua perlakuan dalam pengecatan menggunakan Giemsa 10% yaitu kelompok eksperimen dan kelompok kontrol.

Penelitian ini diawali dengan uji kualitas terhadap bahan-bahan yang digunakan, yaitu cat Giemsa, metanol, minyak imersi, dan buffer pH 6,8. Hasil uji menunjukkan bahwa seluruh bahan memenuhi syarat kualitas, sehingga penelitian dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya. Penelitian ini terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Kelompok kontrol menggunakan teknik konvensional pada sediaan apus darah tepi dengan Giemsa dan terdiri dari 5 slide. Sementara itu, kelompok eksperimen menggunakan metode pewarnaan dengan *chamber stain* dan terdiri dari 100 slide. Penilaian mikroskopis untuk kelompok eksperimen, diambil 5 slide sebagai perwakilan.

Penilaian mikroskopis morfologi darah pada masing-masing kelompok dilakukan oleh 2 Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) di Rumah Sakit Akademik Universitas Gajah Mada (RSA UGM), Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/073/2025.

1. Analisis Deskriptif

a. Efisiensi Penggunaan *Chamber stain* dengan Teknik konvensional

Efisiensi dari penggunaan *chamber stain* pada penelitian ini adalah kemudahan dalam proses pewarnaan karena dapat menampung hingga 46 slide untuk mewarnai secara bersamaan sehingga dapat mempersingkat waktu pengerjaan dan pemakaian volume pewarnaan yang terukur. Sedangkan jika menggunakan teknik konvensional dengan jumlah sediaan apus yang banyak tidak efisien dari waktu, tenaga dan volume yang tidak terukur. Oleh karena itu, pada penelitian ini teknik konvensional digunakan sebagai kelompok kontrol, karena proses pewarnaan yang dilakukan sesuai dengan Standar Operasional (SOP).

Jumlah volume pewarnaan yang digunakan antara *chamber stain* dan teknik konvensional dihitung untuk mengetahui apakah efisien dalam penggunaan alat tersebut. Jika Pewarnaan SADT menggunakan teknik konvensional memerlukan 3 ml reagen giemsa untuk setiap 1 SADT, sehingga untuk mewarnai 100 slide

dibutuhkan total volume sebanyak 300 ml. Sementara itu, penelitian ini menggunakan *chamber stain* dengan volume 400 ml yang dapat mewarnai 100 slide dan pewarnaan giemsa digunakan secara berulang sampai hari ke-5 menyisahkan volume sebanyak 360 ml. Hal ini menunjukkan adanya penghematan volume giemsa yang sudah terukur dalam penggunaan *chamber stain* dibandingkan dengan teknik konvensional.

b. Efektivitas penggunaan *chamber stain* dengan teknik konvensional

Penggunaan *chamber stain* dalam penelitian ini dapat efektif yaitu pencapaian hasil yang sesuai dengan tujuan, seperti menghasilkan sediaan apus yang terwarnai dengan baik dan dapat diinterpretasi secara akurat seperti pewarnaan yang digunakan dengan teknik konvensional atau sesuai Standar Operasional (SOP). Kemudian, pewarnaan SADT menggunakan *chamber stain* memudahkan proses pewarnaan yaitu dapat mewarnai preparat secara bersamaan dengan banyaknya preparat dan posisi preparat diletakkan secara vertikal sehingga memungkinkan tidak adanya pengendapan dari cat pewarna dibandingkan dengan teknik konvensional yang diwarnai dengan meneteskan beberapa cat secara horizontal sehingga memungkinkan adanya endapan dari cat pewarnaan.

Efektivitas pada penelitian ini diperoleh dari rata-rata skor kualitas pewarnaan *chamber stain* terhadap teknik konvensional disetiap harinya dan di persentasekan untuk mendapatkan kriteria.

Tabel 6. Kriteria Penilaian Efektivitas.

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

Sumber: Kemendagri 1996 dalam Nabilah dan Setiawan ,2022.

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

$$\text{Persentase efektivitas} = \frac{0,88}{1} \times 100\%$$

$$\text{Persentase efektivitas} = 88\%$$

Data tersebut diperoleh dari jumlah rata-rata sampai hari ke-5 sebesar 88%, hasil persentase tersebut dalam kriteria ”cukup efektif” terhadap pewarnaan pada sediaan apus darah tepi menggunakan giemsa 10% antara *chamber stain* dibandingkan teknik konvensional.

c. Kualitas Hasil

Tabel 7. Skor Penilaian Pewarnaan.

Skor	Eritrosit	Leukosit			Trombosit
		Sitoplasma	Inti	Granula	
1	Ungu keabuan	Biru	Merah	Ungu atau merah oranye	Ungu
0	Tidak bewarna (tidak ungu keabuan)	Tidak Bewarna (tidak bewarna biru)	Tidak bewarna (tidak merah)	Tidak bewarna	Tidak bewarna (tidak ungu)

Sumber: Hassor, dkk., 2023.

Penilaian mikroskopis terhadap morfologi darah pada masing-masing kelompok dilakukan oleh dua Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) di Rumah Sakit Akademik Universitas Gadjah Mada (RSA UGM). Penilaian dilakukan berdasarkan kriteria pewarnaan morfologi dengan mengambil perwakilan preparat dari setiap hari pengamatan. Hasil menunjukkan bahwa pada hari ke-1 hingga hari ke-4, pewarnaan menggunakan Giemsa 10% yang disimpan secara berulang dalam *chamber stain* tetap menghasilkan kualitas pewarnaan yang baik (skor 1) dan tidak terdapat perbedaan signifikan antara penggunaan *chamber stain* dengan teknik konvensional. Namun, pada hari ke-5 terjadi penurunan kualitas pewarnaan, yang ditandai dengan memudarnya warna inti leukosit.

Kualitas pewarnaan merujuk pada seberapa baik dan akurat suatu preparat terwarnai, sehingga dapat memberikan kontras yang jelas dan mudah diamati di bawah mikroskop. Oleh karena itu, terdapat skor untuk menentukan kriteria pewarnaan pada pengamatan morfologi Sediaan Apus Darah Tepi (SADT).

Tabel 8. Skor Kriteria Kualitas Pewarnaan

Kriteria	Baik	Cukup	Kurang
Skor	0,8 – 1	0,4 – 0,7	0 – 0,3

Tabel 9. Penilaian Skor Kriteria Kualitas Pewarnaan

Hari	Perlakuan	Eritrosit	Leukosit			trombosit	Rata-rata skor	kriteria
			Sitoplasma	Granula	inti			
1	Kontrol	1	1	1	1	1	1	Baik
	Eksperimen	1	1	1	1	1	1	Baik
2	Kontrol	1	1	1	1	1	1	Baik
	Eksperimen	1	1	1	1	1	1	Baik
3	Kontrol	1	1	1	1	1	1	Baik
	Eksperimen	1	0,9	0,95	0,9	0,85	0,92	Baik
4	Kontrol	1	1	1	1	1	1	Baik
	Eksperimen	0,75	0,9	0,95	0,9	0,75	0,85	Baik
5	Kontrol	1	1	1	0	1	1	Baik
	Eksperimen	0,6	0,6	0,75	0,6	0,6	0,63	Cukup

Data tersebut didapatkan dari jumlah seluruh kelompok eksperimen yaitu 100 preparat yang dilakukan selama 5 hari, hasil tersebut diamati pada 20 preparat di setiap harinya dan di rata-rata jumlah seluruh preparat kelompok eksperimen untuk mendapatkan skor kriteria pewarnaan. Hasil data tabel tersebut didapatkan baik pada hari ke-1 sampai hari ke-4 dan didapatkan hasil cukup pada

hari ke-5, karena pada hari ke-5 didapatkan penurunan kualitas pewarnaan pada morfologi sel.

Penilaian yang dilakukan oleh dua ATLM sejalan dengan hasil pengamatan peneliti, yaitu tidak terdapat perbedaan signifikan antara metode pewarnaan Giemsa 10% menggunakan *chamber stain* dan teknik konvensional selama empat hari pertama. Namun, pada pewarnaan *chamber stain* di hari ke-5 terjadi penurunan kualitas yang ditandai dengan pucatnya warna inti sel, menurunnya kontras antara inti dan sitoplasma, serta ketidaktegasan pada trombosit.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil pewarnaan Giemsa 10% pada morfologi Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) antara *chamber stain* dibandingkan teknik konvensional atau sesuai standar operasional (SOP) dan mengetahui efisiensi dan efektivitas pewarnaan pada sediaan apus darah tepi menggunakan giemsa 10% antara *chamber stain* dibandingkan teknik konvensional.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan *chamber stain* memberikan efisiensi yang tinggi dalam proses pewarnaan SADT. *Chamber stain* memiliki kapasitas volume 400 ml dan mampu menampung hingga 46 slide sekaligus. Dalam penelitian ini, digunakan larutan metanol dan Giemsa 10% sebanyak 400 ml yang digunakan secara berulang hingga hari ke-5. Setiap harinya, dilakukan pewarnaan terhadap 20 preparat SADT,

sehingga total sebanyak 100 preparat telah diwarnai pada kelompok eksperimen.

Efisiensi dalam penelitian ini diperoleh melalui penggunaan larutan pewarna secara berulang yang mampu mengurangi pemborosan dan dapat menampung slide hingga 46 slot untuk diwarnai secara bersamaan sehingga waktu lebih singkat. Hal ini berbeda dengan metode konvensional yang dilakukan dengan cara meneteskan larutan pewarna satu per satu secara horizontal, volume yang tidak terukur, sehingga kurang efisien dari segi waktu dan penggunaan bahan.

Oleh karena itu, penggunaan *chamber stain* sangat direkomendasikan untuk pewarnaan dalam jumlah banyak, seperti pada skrining malaria, karena mampu mempercepat proses dan menghemat bahan pewarna. Namun, untuk jumlah sampel yang sedikit, penggunaannya kurang efisien karena tetap memerlukan volume larutan yang banyak (400 ml), yang dapat menyebabkan pemborosan.

Penggunaan *chamber stain* dalam penelitian ini terbukti cukup efektif sebesar 88%. Efektif pada penelitian ini ditandai dengan pencapaian hasil yang sesuai dengan tujuan. Preparat SADT yang diwarnai menunjukkan kualitas pewarnaan yang baik dan dapat diinterpretasi secara akurat, sebanding dengan hasil pewarnaan menggunakan teknik konvensional atau sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP). Selain itu, metode pewarnaan menggunakan *chamber stain* mempermudah proses pewarnaan karena dapat mewarnai secara bersamaan dan preparat

diletakkan dalam posisi vertikal selama proses pewarnaan, yang mencegah terjadinya endapan zat warna. Hal ini berbeda dengan teknik konvensional, dimana pewarnaan dilakukan secara horizontal dengan cara meneteskan larutan pewarna ke setiap slide, sehingga memungkinkan adanya endapan yang dapat mengganggu kualitas pewarnaan.

Penelitian ini menggunakan pewarnaan giemsa dengan pengenceran 10% dengan waktu pewarnaan 20 menit baik metode konvensional maupun *chamber stain*. Penelitian ini memberikan hasil yang sesuai dengan penelitian Muflihah dkk, 2024 yaitu Pewarna giemsa dengan pengenceran 10% sebagai pewarna yang umum digunakan agar sediaan terlihat lebih jelas, dengan latar belakang jernih, warna eritrosit dan leukosit terlihat kontras dan jelas. Menurut penelitian Hassor dkk, 2023 hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa waktu terbaik pewarnaan giemsa konsentrasi 10% yaitu pada waktu 20 menit. Oleh karena itu, pada penelitian ini pewarnaan giemsa 10% waktu 20 menit pada SADT menghasilkan pewarnaan yang baik atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan penggunaan *chamber stain* dan teknik konvensional.

Pewarnaan yang dilakukan dengan teknik konvensional sebagai kelompok kontrol pada penelitian ini memang menghasilkan kualitas pewarnaan yang baik, akan tetapi penggunaan teknik konvensional ini kurang efisien dan efektif jika digunakan untuk sampel yang banyak, hal tersebut memungkinkan menghasilkan kualitas yang tidak konsisten yang dapat mempengaruhi interpretasi secara mikroskopis. Oleh karena itu, pada

penelitian ini terdapat *chamber stain* untuk memudahkan pewarnaan SADT, karena efisiensi dan efektivitas yang menjadi keunggulannya

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pewarnaan Giemsa 10% pada sediaan apus darah tepi (SADT) menggunakan *chamber stain* memperoleh skor 1 (baik) dari dua penilai Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) pada hari ke-1 hingga hari ke-4. Namun, pada hari ke-5 terjadi penurunan kualitas pewarnaan yang ditandai dengan skor 0 (tidak baik), khususnya pada warna inti sel leukosit yang tampak memudar. Sebagai pembanding, pewarnaan menggunakan teknik konvensional yang dijadikan kontrol menunjukkan skor 1 (baik) hingga hari ke-5.

Penilaian yang dilakukan oleh dua ATLM sejalan dengan hasil pengamatan peneliti, yaitu tidak terdapat perbedaan signifikan antara metode pewarnaan Giemsa 10% menggunakan *chamber stain* dan teknik konvensional. Akan tetapi, jika pemakaian giemsa dilakukan secara berulang memang terdapat perbedaan hasil terhadap metode yang digunakan pada penelitian ini. Pada penelitian ini pemakaian giemsa yang digunakan secara berulang dengan metode *chamber stain* terdapat penurunan kualitas dihari ke-5, dibandingkan dengan teknik konvensional (kelompok kontrol) yang menggunakan pewarna giemsa baru menghasilkan kualitas baik. Penurunan kualitas tersebut ditandai dengan pudarnya warna inti sel, menurunnya kontras antara inti dan sitoplasma, serta ketidaktegasan pada trombosit. Penurunan kualitas pewarnaan pada kelompok eksperimen dapat

disebabkan oleh penggunaan giemsa yang digunakan secara berulang, hal itu dikarenakan sifat asam dan basa pada cat giemsa sudah tidak optimal.

Hasil penelitian terhadap kelompok eksperimen menunjukkan adanya penurunan kualitas pewarnaan mulai dari hari ke-3 hingga hari ke-5. Pada hari ke-3 diperoleh skor 0,92 dan pada hari ke-4 diperoleh skor 0,85. Meskipun terdapat penurunan, kedua skor tersebut masih berada dalam kategori kualitas "baik" (0,8–1). Namun, pada hari ke-5 terjadi penurunan yang lebih signifikan dengan skor 0,63, karena termasuk dalam kategori "cukup". Penurunan kualitas ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain kualitas larutan Giemsa yang mulai menurun karena penggunaan giemsa berulang, perubahan pH, perubahan suhu, serta material *chamber stain* yang mungkin memengaruhi kestabilan larutan. Selain itu, variasi dalam konsentrasi dan durasi pewarnaan juga dapat memengaruhi kualitas hasil pengamatan mikroskopis pada sediaan apus darah tepi (SADT) (Suryanta, 2012).

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 umur 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. Oleh karena itu disarankan tidak menggunakan pewarnaan giemsa secara berulang agar menghindari faktor yang mempengaruhi kualitas pewarnaan sel morfologi.

Perubahan pH terjadi karena sebagian zat aktif, seperti azure B (yang bersifat basa) dan eosin Y (yang bersifat asam) telah bereaksi atau terpakai selama proses pewarnaan yang dapat keseimbangan asam-basa dalam larutan terganggu, sehingga pH larutan dapat berubah. Menurut penelitian Asmawati, 2023 pewarnaan giemsa sangat dipengaruhi oleh pH, dengan pH rendah sel darah merah tampak dan pH tinggi sel darah merah tampak biru, abu-abu hingga ungu tua. Semakin asam pH, maka semakin kuat warna inti dan semakin lemah warna sitoplasma. Sebaliknya, semakin basa pH maka semakin terang warna inti dan semakin kuat warna sitoplasma. Jika ditemukan perubahan pH, larutan dapat dinetralkan dengan penambahan tetesan NaOH atau HCl, tergantung arah perubahan pH (Budiwati, 2019). Oleh karena itu, pengaturan pH dalam proses pewarnaan sangat penting untuk mempertahankan keseimbangan dari zat warna tersebut.

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.

Kelemahan dari penelitian ini adalah keterbatasan referensi terkait *chamber stain* dan penggunaan giemsa berulang, terdapat perubahan Ph, material *chamber stain* dan penurunan kualitas pewarnaan giemsa yang digunakan secara berulang.