

Pengaruh waktu pewarnaan giemsa pada teknik apusan darah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) terhadap kualitas preparat



Amylia Ayunda Firdausi ^{a*}, Zahra Dita Alfina Alfianti ^{a *}, Sri Wahyuni ^{a *}

^a Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang

* Email ameliaayundafir@gmail.com

ABSTRAK

Pewarnaan giemsa adalah teknik pewarnaan secara mikrokopis yang bertujuan untuk mengidentifikasi morfologi jenis sel leukosit. Salah satu metode yang menggunakan pewarnaan giemsa adalah metode pemeriksaan sediaan apusan darah tepi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan waktu apusan 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 50 menit terhadap kualitas preparat. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel darah diambil dari kelinci yang kemudian dilakukan apusan sesuai dengan waktu yang telah ditentukan. Analisa data secara deskriptif yaitu dengan membandingkan morfologi yang didapatkan pada masing-masing sediaan. Hasil dari penelitian secara mikrokopis didapatkan hasil bahwa pada pewarnaan giemsa variasi 10 menit memiliki latar belakang sediaan jernih dan menunjukkan sel monosit berwarna biru keunguan, pewarnaan giemsa variasi 20 menit latar belakang sediaan kotor menunjukkan sel monosit berwarna ungu, pewarnaan giemsa normal 30 menit latar belakang sediaan kotor menunjukkan sel limfosit berwarna ungu kebiruan sedangkan, pada pewarnaan giemsa 50 menit latar belakang sediaan gelap dan tidak ditemukan sel leukosit. Kesimpulan dari penelitian ini adalah adanya perbedaan kualitas pada latar belakang sediaan apus darah serta warna dari sel yang terlihat dari masing-masing variasi warna.

Kata kunci: *Oryctolagus cuniculus*, Pewarnaan giemsa, Sediaan apusan darah

PENDAHULUAN

Darah merupakan jaringan berbentuk cair yang terdiri dari dua bagian yaitu plasma darah dan korpuskuli. Korpuskuli terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit (Aridya, N. D., et al., 2023). Salah satu metode metode yang dapat digunakan untuk mengamati struktur dan komponen darah yaitu menggunakan metode apusan darah tepi. Metode ini merupakan prosedur yang dibuat dengan cara meneteskan darah kapiler atau vena pada kaca benda kemudian diwarnai. Menurut Khasanah, N. A. H., et al (2023) bahwa sediaan apusan darah tepi digunakan untuk membantu menilai morfologi berbagai jenis sel darah seperti eritrosit, leukosit dan trombosit serta menghitung jumlah dan jenis leukosit.

Pewarnaan yang sering digunakan dalam pembuatan sediaan apusan darah tepi yaitu pewarnaan giemsa. Pewarnaan giemsa merupakan salah satu pewarnaan Romanowsky yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Hematology (ICSH)* (Rinny, A & Sherly, R., 2018). Pewarnaan Giemsa memiliki beberapa komposisi yaitu eosin yang bersifat asam dikombinasikan *methylene blue* dan *methylene azzure* yang bersifat basa.

Campuran *methylene blue* dan *methylene azure* membentuk eosinat, membentuk hasil pewarnaan lebih stabil (Tahir, K. A., et al., 2020). Komposisi eosin ini memberikan warna merah muda pada sitoplasma sedangkan pada *methylene blue* memberikan warna biru lembayung pada inti sel. Sehingga jika sediaan darah diwarnai dengan pewarnaan giemsa, maka eritrosit akan terwarnai merah muda karena eritrosit tidak memiliki inti, sedangkan pada leukosit sebagai sel berinti akan terwarnai biru lembayung. Leukosit ada yang bergranula dan tidak bergranula (Nurjanah, 2020).

Penelitian ini melibatkan beberapa tahapan, termasuk persiapan sampe darah, penerapan teknik pewarnaan giemsa dengan variasi waktu, serta evaluasi kualitas persiapan menggunakan parameter tertentu seperti kejelasan structural sel dan tingkat pewarnaan. Kajian teoritis menunjukkan bahwa durasi pewarnaan merupakan factor krusial dalam Teknik pewarnaan giemsa. Hasil pewarnaan sediaan apusan darah dengan waktu yang tidak sesuai dengan pengenceran giemsa akan menghasilkan sediaan yang kurang optimal. Secara makroskopik gambaran bentuk sediaan tidak terlihat jernih, gambaran warna sediaan tidak menunjukkan kombinasi warna merah, ungu dan biru. Ketika sediaan diamati dibawah mikroskop, latar belakang sediaan terlihat kotor atau tidak jernih, warna eritrosit dan leukosit tidak kontras dan jelas serta sediaan banyak dipenuhi dengan partikel-partikel giemsa. Berdasarkan uraian di atas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan waktu apusan 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 50 menit terhadap kualitas preparat.

METODE

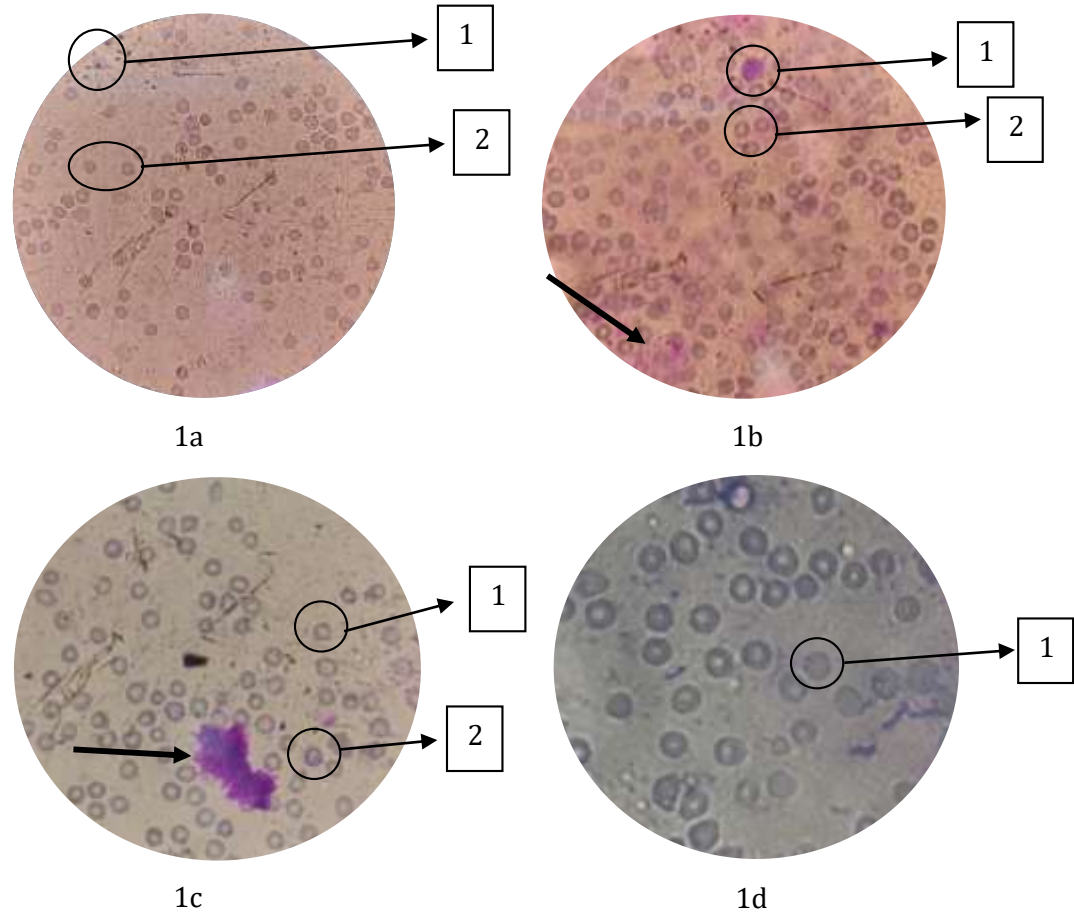
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yaitu dengan mengamati morfologi sel darah setelah proses pewarnaan menggunakan giemsa pada setiap interval waktu yang ditentukan. Sampel darah diambil dari kelinci yang kemudian dilakukan apusan darah pada preparate. Selanjutnya diberi alcohol 100% dan didiamkan selama 10 menit dan kemudian diberi warna giemsa dengan variasi waktu perendaman 10 menit, 20 menit, 30 menit (normal) dan 50 menit secara menyeluruh sampai menutupi sediaan dan ditunggu hingga kering. Dan menetesinya dengan lautan xylol selama 10 menit kemudian diamati secara mikroskopis dengan perbesaran 100x, 400x, dan 1000x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan pada sediaan apusan darah menggunakan darah *Oryctolagus cuniculus* dan pewarnaan Giemsa dengan menggunakan variasi pewarnaan waktu 10 menit, 20 menit, 30 menit dan 50 menit mendapatkan hasil pada pewarnaan Giemsa variasi 10 menit ditemukan bagian monosit dan eritrosit, menunjukkan latar belakang sediaan jernih serta menunjukkan sel monosit berwarna biru keunguan (gambar 1a). Perlakuan variasi 20 menit ditemukan bagian monosit dan eritrosi, menunjukkan latar belakang sediaan kotor serta menunjukkan sel monosit berwarna ungu (gambar 1b). Perlakuan normal 30 menit ditemukan bagian eritrosit dan limfosit, menunjukkan latar belakang sediaan kotor serta menunjukkan sel limfosit berwarna ungu kebiruan (gambar 1c). Sedangkan pada variasi 50 menit hanya didapatkan bagian eritrosit, menunjukkan latar belakang sediaan gelap serta tidak ditemukannya sel leukosit (gambar 1d). Dari masing-masing perlakuan terdapat morfologi bentuk krenasi. Data hasil penelitian ini di sajikan di Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan morfologi darah *Oryctolagus cuniculus*

| No. Sampel | Waktu Pewarnaan | | | |
|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|
| | 10 menit | 20 menit | 30 menit | 50 menit |
| 1. | Monosit | Monosit | Eritrosit | Eritrosit |
| 2. | Eritrosit | Eritrosit | Limfosit | |



Gambar 1. Latar belakang pewarnaan pada gambar (1a) dengan perendaman 10 menit menunjukkan latar belakang jernih, (1b-1c) dengan perendaman 20 menit dan 30 menit menunjukkan latar belakang yang kotor dan terdapat artefak (panah hitam), serta (1d) dengan perendaman 50 menit menunjukkan latar belakang gelap.

Morfologi berbentuk krenasi

Eritrosit merupakan membrane plasma kantong tertutup yang berisi hemoglobin yang memiliki fungsi untuk mengangkut O₂ di dalam darah (Jabar, M. J., et al., 2023). Monosit merupakan sel darah putih yang menyerupai heterofil, bersifat fagositik yaitu kemampuan untuk menerkam material asing, seperti bakteri (Saputro, B. E., et al., 2016). Sedangkan Limfosit menurut Erniati & Riri, E (2020) merupakan salah satu jenis leukosit (sel darah putih) yang memiliki peranan penting dalam mekanisme system imun tubuh. Pada masing-masing perlakuan tidak ditemukannya bagian neutrophil, monosit, trombosit, dan basophil. Hal

ini terjadi karena beberapa factor yaitu kesalahan dalam Teknik pewarnaan Giemsa karena terlalu lamanya timer yang kurang tepat dapat membuat beberapa jenis sel tidak mudah terlihat. Menurut Hormalia, et al (2017) bahwa jika waktu pewarnaan terlalu cepat menyebabkan apusan tidak terwarnai dengan sempurna, begitu juga sebaliknya jika pewarnaan dilakukan terlalu lama dapat mempengaruhi warna dan bentuk. Serta pewarnaan Giemsa memiliki kelemahan, yaitu kurang kuat mewarnai granula sel-sel granulosit.

Berdasarkan hasil dari pewarnaan Giemsa variasi 10 menit ditemukan bagian monosit dan eritrosit, menunjukkan latar belakang sediaan jernih serta menunjukkan sel monosit berwarna biru keunguan (gambar 1a). Perlakuan variasi 20 menit ditemukan bagian monosit dan eritrosi, menunjukkan latar belakang sediaan kotor serta menunjukkan sel monosit berwarna ungu (gambar 1b). Perlakuan normal 30 menit ditemukan bagian eritrosit dan limfosit, menunjukkan latar belakang sediaan kotor serta menunjukkan sel limfosit berwarna ungu kebiruan (gambar 1c). Sedangkan pada variasi 50 menit hanya didapatkan bagian eritrosit, menunjukkan latar belakang sediaan gelap serta tidak ditemukannya sel leukosit (gambar 1d). Menurut Muflihah, A. I., et al (2024) Hal tersebut terjadi karena ikatan yang kuat antara apusan darah dengan pewarnaan Giemsa sehingga tidak mudah dibersihkan yang menyebabkan latar belakang pewarnaan menjadi kotor dan terdapat artefak serta factor dari pembuatan apusan yang terlalu tebal dapat membuat beberapa jenis darah rusak karena lamanya pemberian alcohol sehingga darah mengering. Pada hasil pengamatan terdapat morfologi bentuk krenasi pada masing-masing perlakuan. Faktor yang mempengaruhi bentuk krenasi eritrosit yaitu perubahan suhu yang tidak stabil, suhu merupakan factor yang dapat mempengaruhi kualitas darah. Jika darah disimpan pada suhu yang tinggi dapat menyebabkan sel darah menjadi rusak yaitu pecahnya membrane sel eritrosit yang disebabkan oleh pemanasan sehingga menyebabkan perubahan pada morfologi eritrosit (Warsitah, N., et al., 2019)

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, hasil pengamatan apusan darah *Oryctolagus cuniculus* menunjukkan hasil yang bervariasi pada pewarnaan giemsa variasi 10 menit memiliki latar belakang sediaan jernih dan menunjukkan sel monosit berwarna biru keunguan, pewarnaan giemsa variasi 20 menit latar belakang sediaan kotor menunjukkan sel monosit berwarna ungu, pewarnaan giemsa normal 30 menit latar belakang sediaan kotor dan menunjukkan sel limfosit berwarna ungu kebiruan sedangkan, pada pewarnaan giemsa 50 menit latar belakang sediaan gelap dan tidak ditemukan sel leukosit. selain itu faktor seperti kesalahan dalam proses pewarnaan, ketebalan darah, serta paparan alcohol yang terlalu lama turut mempengaruhi hasil. Semua perlakuan menunjukkan morfologi krenasi pada eritrosit, yang dipengaruhi oleh ketidakstabilan suhu dan proses pengeringan darah. Hal ini menunjukkan bahwa optimalisasi waktu dan kondisi pewarnaan sangat penting untuk menghasilkan visualisasi sel darah yang lebih akurat. Untuk meningkatkan hasil pewarnaan giemsa, peneliti menyarankan untuk mengoptimalkan waktu proses apusan, khususnya durasi pewarnaan, untuk memastikan visibilitas yang lebih baik dari semua jenis sel darah. memperhatikan dengan cermat terhadap konsistensi ketebalan apusan darah juga penting

untuk menghindari kerusakan sel selama fiksasi alkohol. Selain itu, pengendalian suhu selama penyiapan dan penyimpanan sampel darah sangat penting untuk mencegah perubahan morfologi eritrosit, khususnya krenasi. penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menyempurnakan protokol pewarnaan dan meminimalkan kontaminasi latar belakang dan artefak untuk identifikasi sel darah yang lebih jelas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada pihak yang sudah membantu dalam penelitian ini yaitu mahasiswa dan dosen pembimbing, serta institute Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Malang sebagai pelaksana Seminar Nasional Pendidikan Biologi IX.

REFERENSI

- Aridya, N. D., et al. (2023). Perbedaan Kadar Eritrosi dan Hemoglobin Mahasiswa Biologi dengan Mahasiswa Olahraga Universitas Negeri Padang. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(1), 38-43.
- Erniati & Riri, E. (2020). Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Rumput Laut. *Acta Aquatica Sciences Journal*, 7(2), 79-86.
- Hormalia, et al. (2017). Pengaruh Variasi Pengenceran Giemsa Terhadap Pewarnaan Giemsa *Plasmodium sp* Pada Pemeriksaan Sediaan Darah Tipis. *Jurnal Ergasteri*, 05(01), 23-37.
- Jabar, M. J., et al. (2023). Analisis Perbandingan Kadar Hemoglobin, Jumlah dan Struktur Eritrosit pada Lima Kelas Vertebrata. *Jurnal Life Science*, 12(2), 128-136.
- Khasanah, N. A. H., et al. (2023). Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitorea ternatea*). *Jurnal Bina Cipta Husada*, 19(1), 67-76.
- Muflihah, A. I., et al. (2024). Gambaran Morfologi Sel Neutrofil pada Pewarnaan Giemsa dengan Variasi Waktu pada Pengenceran Akuades. *Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 10(1), 126-135.
- Nurjanah. (2020). *Pewarnaan Sitologi pada Epitel Mukosa Menggunakan Giemsa Modifikasi*. Semarang: Karya Tulis Ilmiah Unimus.
- 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.
- Saputro, B. E., et al. (2016). Pengaruh Ransum Yang Berbeda Pada Itik Jantan Terhadap Jumlah Leukosit Dan Diferensial Leukosit. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 4(3), 176-181.
- Tahir, K. A., et al. (2020). Uji Aktivitas Antiplasmodium Dari Isolat Kulit Batang Kayu Tammate (*Lamnea coromandelica* Houtt. Merr) Secara In-Vitro. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(1), 16-21.
- Warsitah, N., et al. (2019). Pengaruh Lama Penundaan Pengenceran Setelah Fiksasi Apusan Darah Tepi Terhadap Morfologi Eritrosit. *Jurnal Analisis Medika Bio Sains*, 6(2), 125-129.