

Gambaran Morfologi Sel Neutrofil Pada Pewarnaan Giemsa dengan Variasi Waktu Pada Larutan Pengencer Akuades

*Ahdiah Imroatul Muflihah¹⁾, Rian Anggia Destiawan¹⁾, Anas Fadli Wijaya¹⁾, Leny Yulia Widia¹⁾, Queen Nurul Sufi¹⁾, Laila Camelia Nur Azizah¹⁾, Alisa Alfiya Makki¹⁾

¹⁾Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi, Jember, Indonesia

**Correspondence author*: Ahdiah Imroatul Muflihah, ahdiah.muflihah553@gmail.com, Jember, Indonesia

Abstrak

Pewarnaan giemsa adalah teknik pewarnaan secara mikroskopis yang bertujuan untuk mengidentifikasi morfologi jenis sel leukosit. Salah satu metode yang menggunakan pewarnaan giemsa adalah metode pemeriksaan sediaan apus darah tepi yang bertujuan untuk mengevaluasi hitung jenis leukosit. Kualitas pewarnaan giemsa sangat dipengaruhi oleh jenis bahan pengencer yaitu akuades. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran morfologi sel neutrofil pada pewarnaan giemsa dengan variasi waktu pada larutan pengencer akuades. Metode penelitian ini adalah mengambil darah orang dewasa berumur 20-25 tahun dan tidak memiliki riwayat sakit sebanyak 24 sampel. Dibagi menjadi 2 kelompok pengenceran yaitu buffer pH 6,8 dan akuades dimana masing-masing pengenceran dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok 1 perendaman sediaan apusan darah tepi selama 10 menit, kelompok 2 perendaman sediaan apusan darah tepi selama 20 menit, kelompok 3 perendaman sediaan apusan darah tepi selama 30 menit, kelompok 4 perendaman sediaan apusan darah tepi selama 40 menit. Kemudian dilakukan analisa secara kualitatif yaitu dengan membandingkan latar belakang sediaan dan morfologi sel neutrofil secara mikroskopis pada masing-masing kelompok. Hasil dari penelitian ini adalah secara mikroskopis kelompok 1 dan kelompok 2 memiliki latar belakang sediaan jernih, sedangkan pada kelompok 3 dan 4 latar belakang sediaan kotor dan terdapat granula dan morfologi neutrofil pada kelompok 1 dan 2 menunjukkan sel neutrofil berwarna biru gelap, kelompok 3 dan 4 menunjukkan sel neutrofil berwarna ungu dan ungu kebiruan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah berdasarkan latar belakang sediaan, dan morfologi sel neutrofil, kelompok yang memiliki hasil terbaik yaitu kelompok 1 dan 2.

Kata kunci : Akuades, sel eosinofil, sel neutrofil, pewarnaan giemsa,

Abstract

Giemsa staining is a microscopic staining technique that aims to identify the morphology of leukocyte cell types. One of the methods that uses giemsa staining is the method of examining peripheral blood smear preparations which aims to evaluate the calculation of leukocyte type. The dyeing quality of giemsa is greatly influenced by the type of diluent material, namely buffer and aquadest. This study aims to determine the morphological picture of neutrophil cells in giemsa staining with time variations in aquadest diluent solution. The method of this study was to take blood from adults aged 20-25 years and had no history of illness as many as 24 samples. It was divided into 2 dilution groups, namely pH buffer 6.8 and aquadest, where each dilution was divided into 4 groups, namely group 1 soaking the peripheral blood smear preparation for 10 minutes, group 2 soaking the peripheral blood smear preparation for 20 minutes, group 3 soaking the peripheral blood smear preparation for 30 minutes, group 4 soaking the peripheral blood smear preparation for 40 minutes. Then a qualitative analysis was carried out, namely by comparing the background of the preparation and the morphology of neutrophil cells microscopically in each group. The results of this study are that microscopically groups 1 and 2 have a clear preparation background, while in groups 3 and 4 the preparation background is dirty and there are neutrophil granules and morphology in groups 1 and 2 show dark blue neutrophil cells, groups 3 and 4 show purple and bluish-purple neutrophil cells. The conclusion of this study is based on the background of the preparation, and the morphology of neutrophil cells, the group that has the best results is groups 1 and 2.

Key words : Aquadest, eosinophil cells, neutrophil cells, Giemsa staining

PENDAHULUAN

Darah merupakan jaringan yang memiliki dua komponen yaitu komponen seluler, terdiri dari sel eritrosit, sel leukosit, dan sel trombosit serta komponen non seluler yang berupa cairan plasma. (Nugraha, 2015). Pemeriksaan hematologi salah satunya pemeriksaan hapusan darah tepi. Pemeriksaan hapusan darah tepi bertujuan untuk menilai berbagai unsur sel darah seperti eritrosit, leukosit, serta trombosit dan mencari adanya parasit seperti malaria, mikrofilaria, dan petunjuk keadaan hemologik yang semula tidak diduga (Kiswari, 2014).

Sediaan apusan darah dilakukan pewarnaan giemsa atau wright sehingga sel terwanai. Pewarnaan giemsa digunakan untuk membedakan inti sel dan morfologi sitoplasma dari sel darah merah, sel darah putih, trombosit, dan parasit yang ada didalam darah. Granula pada sel yang bersifat basa akan menyerap pewarna yang bersifat asam (eosin) dan akan terlihat merah, selain itu pewarna giemsa memiliki pewarna azure B, dimana azure B berfungsi mewarnai trombosit dan memberikan warna biru-ungu pada nukleoprotein, granula basofil dan granula neutrofil (Sari, Tazkiya and Mafira, 2020).

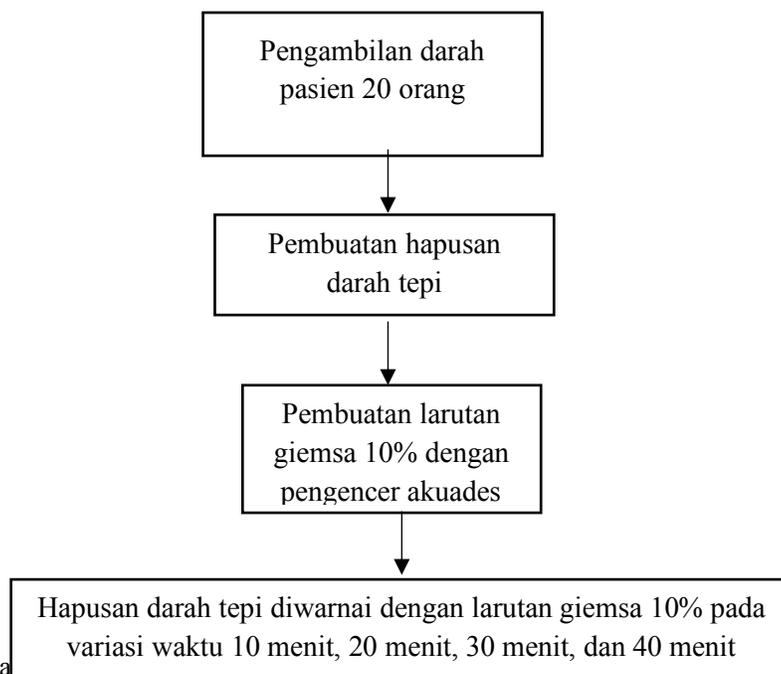
Menurut Departemen Kesehatan RI 2007 pewarnaan giemsa mempunyai standar pengenceran, dan setiap pengenceran mempunyai waktu pewarnaan yang berbeda-beda. Pewarna giemsa dengan pengenceran 10% sebagai pewarna yang umum digunakan agar sediaan terlihat lebih jelas, dengan latar belakang jernih, warna eritrosit dan leukosit terlihat kontras dan jelas. Namun di lapangan, menurut hasil penglihatan atau survey pada laboratorium menggunakan pengenceran giemsa yang tidak sesuai dengan waktu yang sudah ditentukan, waktu yang digunakan lebih lama dari waktu yang sudah ditentukan karena banyaknya pasien dan untuk mempercepat proses pewarnaan maka waktu yang digunakan tidak sesuai dengan pengenceran (Rahmad, 2011). Hasil pewarnaan sediaan dengan menggunakan waktu yang tidak sesuai dengan pengenceran giemsa akan memberikan hasil yang tidak baik diantaranya, secara makroskopik gambaran bentuk sediaan tidak terlihat jernih, gambaran warna sediaan tidak menunjukkan kombinasi warna merah, ungu dan biru. Apabila sediaan dilihat dibawah mikroskop, latar belakang sediaan terlihat kotor atau tidak jernih, warna eritrosit dan leukosit tidak terlihat kontras dan jelas serta sediaan banyak dipenuhi partikel-partikel giemsa (Irianto, 2013). Berdasarkan uraian di atas tujuan penelitian ini adalah untuk melihat gambaran morfologi sel eosinofil dan neutrofil pada pewarnaan giemsa dengan variasi waktu pada larutan pengencer akuades.

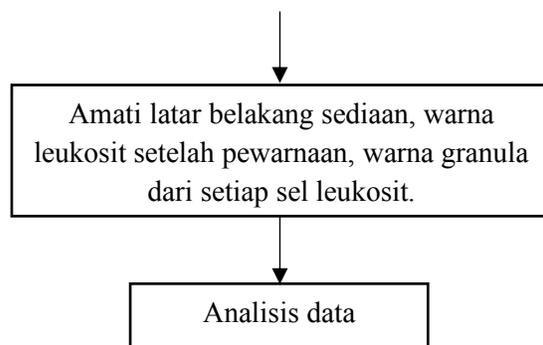
METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni atau *true experiment* yaitu dengan melihat gambaran morfologi sel neutrofil. Penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (buffer pH 6,8) dan kelompok perlakuan (buffer akuades) dengan menggunakan 4 kelompok variasi waktu yang terdiri dari 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 40 menit, pada masing-masing variasi terdiri dari 6 sampel.

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan darah terlebih dahulu sebanyak 24 orang dan kemudian darah yang sudah ada akan dibuat sediaan apusan darah. Pembuatan larutan giemsa 10% dengan pengencer buffer pH 6,8 dan akuades. Sediaan apusan darah tepi akan direndam menggunakan pewarna giemsa kelompok kontrol dan perlakuan pada variasi waktu 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 40 menit.

Pewarnaan giemsa dilakukan dengan cara darah yang sudah di dapatkan, kemudian ditetaskan di objek glass sebanyak satu tetes, kemudian dilakukan apusan darah dengan membentuk lidah kucing, kemudian dibiarkan kering. Preparat yang sudah kering kemudian ditambahkan metanol secara menyeluruh untuk memfiksasi sediaan apusan darah, dan biarkan hingga kering. Kemudian ditambahkan larutan giemsa 10% secara menyeluruh sampai menutupi sediaan dan ditunggu hingga kering. Preparat yang sudah kering kemudian diamati secara mikroskopis sel leukosit dan neutrofil dengan perbesaran 100x, 400x, dan 1000x.

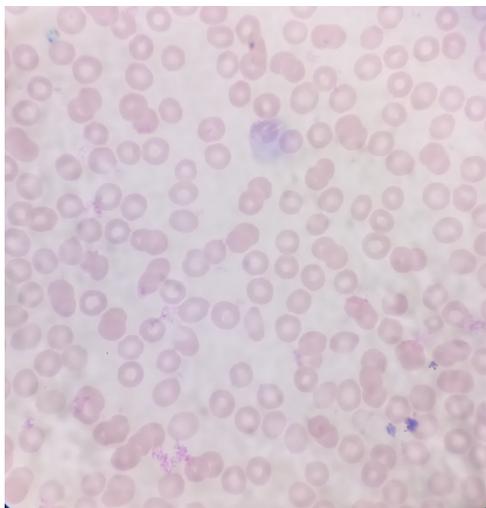




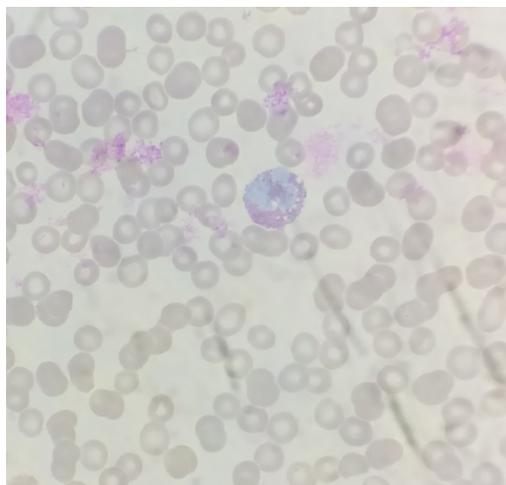
Gambar 1. Prosedur penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

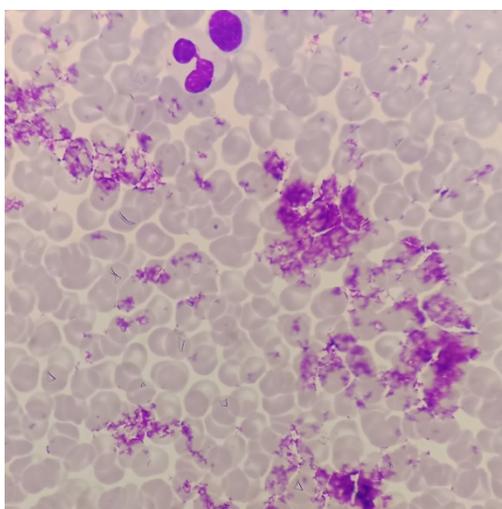
Hasil dari penelitian ini adalah dengan mengamati latar belakang dan morfologi sel neutrofil dari pewarnaan giemsa yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan perbedaan waktu perendaman yaitu 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 40 menit. Latar belakang pada pewarnaan giemsa dibagi menjadi dua, yaitu kelompok kontrol (gambar 2a sampai 2d) serta kelompok perlakuan (gambar 2e dan 2f). Pada kelompok kontrol perendaman giemsa 10 dan 20 menit menunjukkan latar belakang yang bersih dan berwarna pink atau merah muda (gambar 2a dan 2b), namun pada perendaman 30 dan 40 menit menunjukkan latar belakang yang kotor dan terdapat artefak serta warna latar belakang yang berwarna merah muda menuju pekat (gambar 2c dan 2d). Pada kelompok perlakuan, pada perendaman 10 dan 20 menit menunjukkan latar belakang yang bersih dan tidak ada artefak (gambar 2e), namun pada perendaman 30 dan 40 menit menunjukkan latar belakang yang kotor dan terdapat artefak (gambar 2f). Hal ini menunjukkan bahwa terjadi ikatan yang kuat antara apusan darah dengan pewarna giemsa sehingga tidak mudah dibersihkan yang menyebabkan latar belakang pewarnaan menjadi kotor dan terdapat artefak.



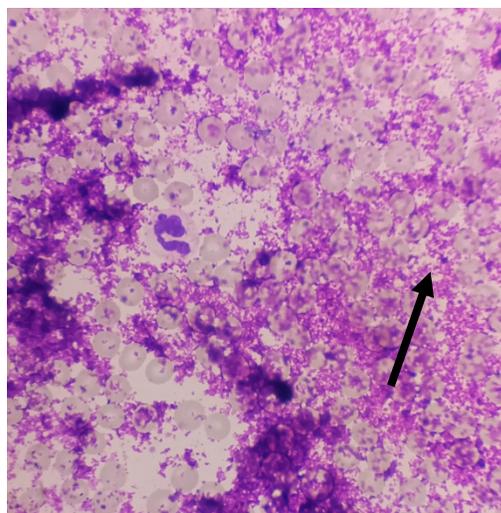
2a



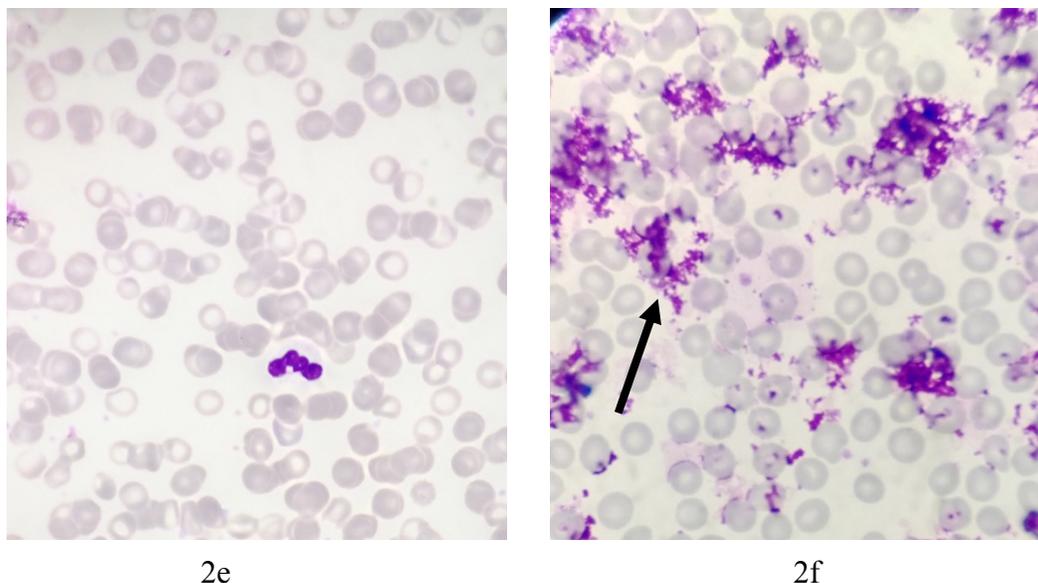
2b



2c

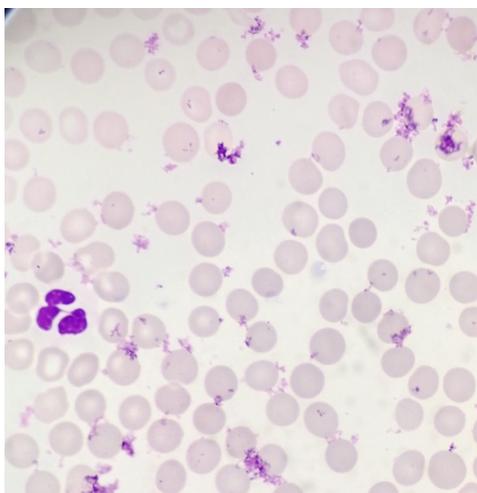


2d

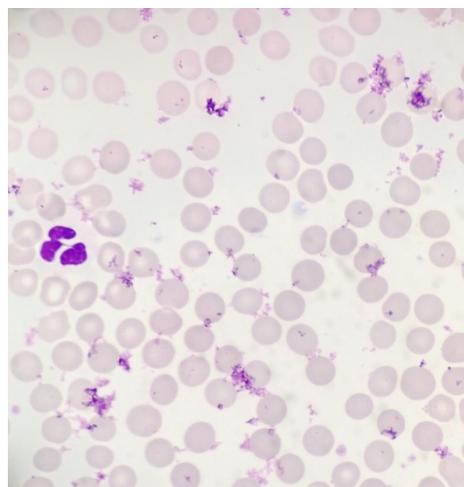


Gambar 2. Latar belakang pewarnaan pada kelompok kontrol. (2a-2b) perendaman 10 dan 20 mneit menunjukkan latar belakang yang bersih dan jernih, serta warnanya pink muda, (2c-2d) menunjukkan latar belakang yang kotor dan terdapat artefak (panah hitam) serta warnanya pink menuju pekat. Pada kelompok perlakuan. (2a) perendaman 10 dan 20 menit, menunjukkan latar bekanag bersih. (2b) perendaman 30 dan 40 menit, menunjukkan latar belakang yang kotor dan terdapat artefak (panah hitam).

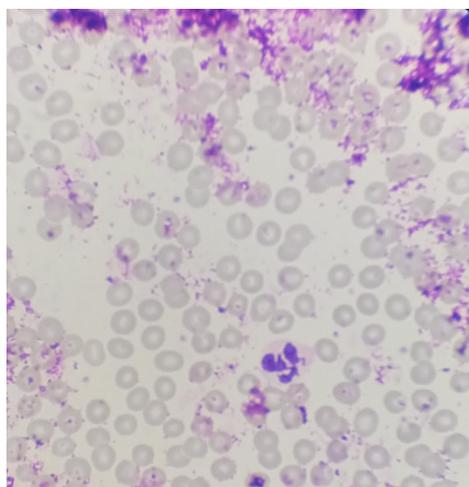
Berdasarkan morfologi sel neutrofil, perendaman 10 menit dan 20 menit pada kelompok kontrol (gambar 3a dan 3b) menunjukkan sel neutrofil berwarna ungu dan inti memenuhi sitoplasma, serta kelompok perlakuan, pada perendaman 10 dan 20 menit menunjukkan sel neutrofil berwarna biru gelap (gambar 3e dan 3f) serta inti yang hampir memenuhi sitoplasma, perendaman 30 menit pada kelompok kontrol (gambar 3c) menunjukkan sel neutrofil berwarna biru dan inti memenuhi bagian sitoplasma, dan yang terakhir adalah perendaman 40 menit pada kelompok kontrol (gambar 3d) menunjukkan sel neutrofil berwarna ungu muda dan tidak memiliki sitoplasma, serta kelompok perlakuan, pada perendaman 30 dan 40 menit menunjukkan inti sel neutrofil berwarna ungu (gambar 3g) dan berwarna ungu kebiruan (gambar 3h) dan sel tidak memiliki sitoplasma.



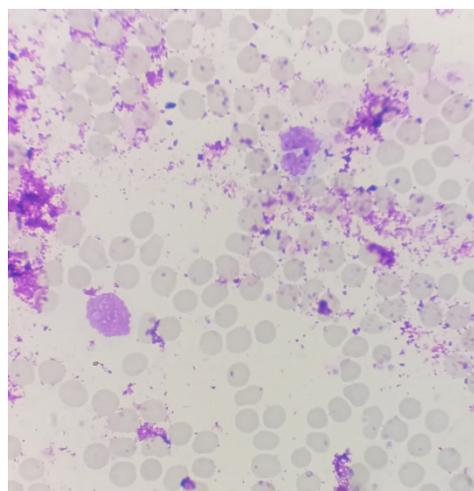
3a



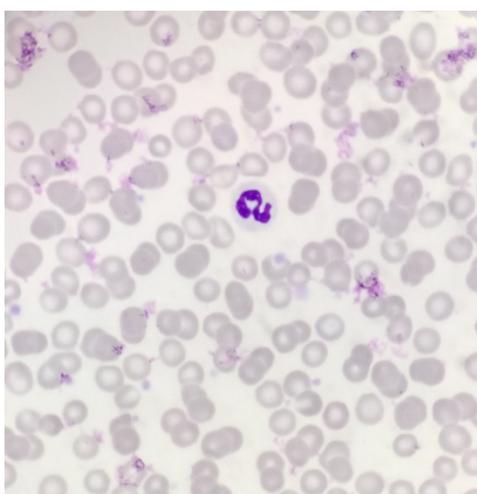
3b



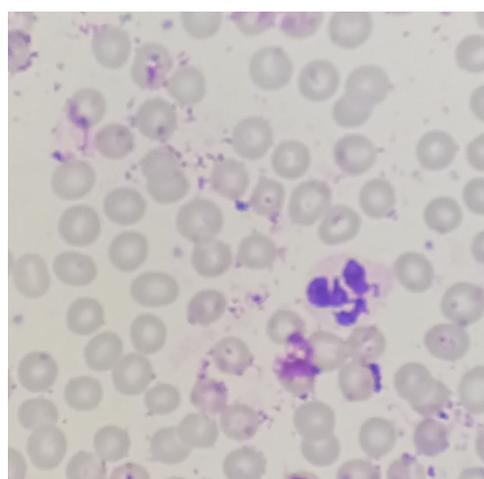
3c



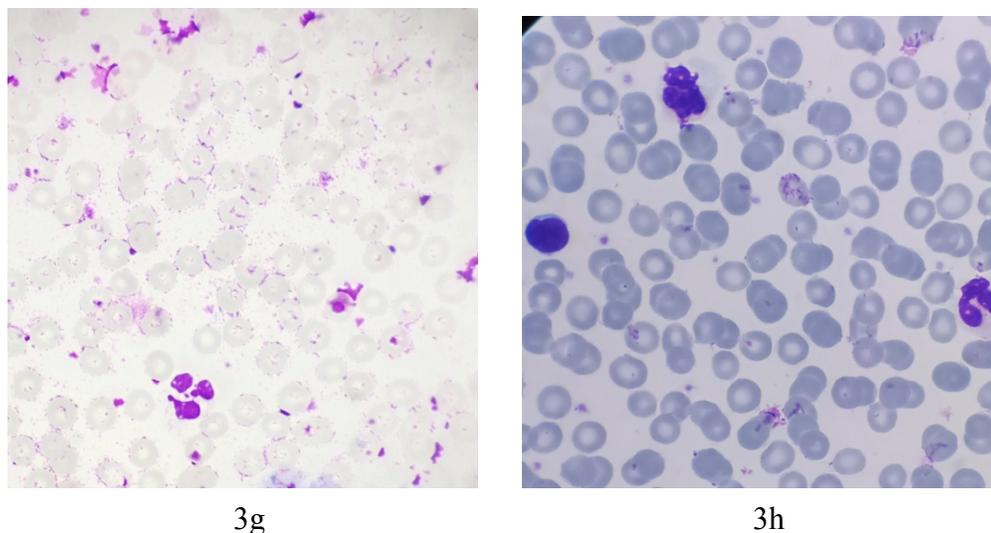
3d



3e



3f



Gambar 3. Gambaran morfologi neutrofil pada pewarnaan giemsa. Kelompok kontrol (3a-3d) dan kelompok perlakuan (3e-3h).

Pewarnaan giemsa merupakan pewarnaan yang direkomendasikan dalam pembuatan sediaan apusan darah darah tepi (SADT) (Aini *et al.*, 2023) yang bertujuan untuk mengamati komponen sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit) serta komponen darah yang lain (resbian 2022). Pewarna giemsa terdiri dari beberapa komponen diantaranya *azure*, *methylene blue*, dan eosin, selain komponen pewarna tersebut, terdapat larutan sebagai penyangga yaitu buffer dengan pH 6,8. Penggunaan buffer 6,8 bertujuan untuk mempertahankan pH dari pewarna giemsa sehingga tidak menjadi basah dan tidak menjadi asam (Darmadi; Darmawati, 2022).

Berdasarkan kelompok kontrol perendaman 10 dan 20 menit (gambar 2a dan 2b) dan kelompok perlakuan 10 dan 20 menit (gambar 2e) terjadi perbedaan background dimana pada kelompok kontrol background berwarna pink muda sedangkan pada kelompok perlakuan berwarna biru transparan, hal ini dikarenakan terdapat perbedaan pH yang digunakan. pH buffer yang digunakan adalah 6,8 sehingga mampu untuk mempertahankan sifat asam dan basa, namun pada pengencer akuades pH yang digunakan tidak tentu, sehingga background yang dihasilkan biru. Selain perbedaan background terdapat pula perbedaan tingkat kebersihan sediaan antara menit 10, 20, 30, dan 40 baik menggunakan buffer maupun akuades, perendaman pewarna giemsa selama 30 dan 40 menit menggunakan buffer dan akuades menyebabkan ikatan pewarna giemsa dan sel sangat kuat, yang menyebabkan warna menjadi biru pekat pada bagian tertentu, sehingga ketika di cuci menggunakan akuades atau air ikatan tersebut tidak akan lepas.

Berdasarkan morfologi sel neutrofil terjadi perbedaan antara inti neutrofil kelompok kontrol (gambar 3a-3d) dan kelompok perlakuan (gambar 3e-3h). Pada kelompok kontrol, warna inti dari sel neutrofil berwarna ungu, hal ini dikarenakan azure B dan Eosin Y yang terdapat dalam giemsa dengan buffer 6,8 menyebabkan warna ungu pada inti sel neutrofil (Oktiyani *et al.*, 2022). Sedangkan pada kelompok perlakuan (gambar 3e-3h) warna inti dari sel neutrofil berwarna biru, hal ini dikarenakan buffer yang digunakan adalah akuades dengan pH di atas 6,8. Penggunaan larutan buffer (akuades) dengan pH di atas 6,8 menyebabkan tingginya penyerapan azure B sehingga granula dan inti sel neutrofil berwarna gelap. Pada sel eritrosit, penggunaan pH buffer yang tinggi menyebabkan tingginya penyerapan azure B sehingga eritrosit berwarna biru gelap (Oktiyani *et al.*, 2022). Pada sel leukosit, salah satunya sel eosinofil, penggunaan buffer pH yang tinggi menyebabkan meningkatnya penyerapan azure B pada sel tersebut sehingga granula dan inti berwarna biru gelap (Bain, 2021).

SIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, hasil pewarnaan apusan darah menggunakan pewarna giemsa dengan buffer akuades secara kualitatif tidak berbeda nyata jika dibandingkan pewarna giemsa dengan buffer standar pH 6,8. Berdasarkan lama waktu perendaman pewarna giemsa, pada perendaman 10 menit dan 20 menit latar belakang lebih baik dan lebih bersih jika dibandingkan dengan perendaman 30 menit dan 40 menit. Serta morfologi dari sel neutrofil dengan pewarna giemsa dengan buffer pH 6,8 berwarna ungu dibandingkan dengan pewarna giemsa dengan buffer akuades yang berwarna biru gelap.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada pihak yang sudah membantu dalam penelitian ini yaitu mahasiswa serta Institusi Universitas dr. Soebandi sebagai pemberi dana dalam penelitian ini.

REFERENSI

Aini, N. *et al.* 2023. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (Sadt) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitorea ternatea*) Pendahuluan Pemeriksaan apusan darah tepi merupak? *Jurnal Bina Cipta Husada Vol . XIX*. pp. 67–76.

Bain, B. (2021) *Blood cells: a practical guide*. John Wiley & Sons, Ltd.

- Darmadi; Darmawati, H. 2022. Perbedaan Hasil Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi Menggunakan Buffer Fosfat pH 6,4 dan NaCl 0,9%'. *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*. pp. 120–126.
- Irianto, K. (2013) *Mikrobiologi : Mengungkap Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung: Yrama Widya.
- Kiswari, R. (2014) *Hematologi dan transfusi*. Jakarta: Erlangga.
- Nugraha, G. (2015) *Panduan pemeriksaan laboratorium hematologi dasar*. Jakarta: Trans Info Media.
- Oktyani, N. *et al.* (2022) 'Utilization of Alternative Buffer Solutions for Staining Thin Blood smears by the Giemsa, Wright stain and Romanowsky method', *Tropical Health and Medical Research*, 5(1), pp. 34–45.
- Rahmad, A.P. (2011) *Atlas Diagnostik Malaria*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Sari, A.N., Tazkiya, A. and Mafira, Y. (2020) 'Ekstrak Air Bunga Kencana Ungu Sebagai Pewarnaan Alternatif Preparat Sediaan Apusan Darah Tepi', *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 1(1), pp. 373–377.