

**Gambaran Morfologi Eritrosit Menggunakan Pewarnaan Giemsa 5% Dan Wright Dengan Pembilasan Air Keran
Dan Buffer Phosphate Ph 7,2****Abstract**

1st Rizki Anandra¹

2nd Dwi Purbayanti²

¹Universitas Muhammadiyah

Palangkaraya, Palangkaraya, Kalimantan

Tengah, Indonesia

²Universitas Muhammadiyah

Palangkaraya, Palangkaraya, Kalimantan

Tengah, Indonesia

*email: rizkianandra23@gmail.com

The solution for staining rinses in peripheral blood smear preparations (SADT) is very important especially with regard to pH. A rinse solution that is too acidic can cause decolorization of the SADT. WHO recommends rinsing solutions using phosphate buffers, especially pH 7.2. This study aims to determine the picture of erythrocytes using 5% Giemsa staining and Wright by rinsing using tap water and phosphate buffer pH 7.2. The method used is a descriptive method with a sample in the form of EDTA blood from 2 (two) Thalassemia patients and 5 (five) people from D III Medical Laboratory Technology students, Faculty of Health Sciences, University of Muhammadiyah Palangkaraya. Each of the samples was then given 4 (four) treatments, namely Giemsa staining with tap water rinsing and phosphate buffer pH 7.2 and Wright staining with tap water rinsing and phosphate buffer pH 7.2. A total of 28 slides of edge blood swab preparations were obtained which were then microscopically examined to determine the picture of erythrocytes. In both normal and pathological samples, erythrocytes appeared pink with a clear central pallor on Giemsa staining of 5% and more contrast on Wright. The background of the observation is lighter when rinsed with tap water, while it is cleaner although slightly dark when rinsed with a pH phosphate buffer of 7.2. Overall, Giemsa's 5% and Wright stains were both usable for erythrocyte observations, and erythrocyte stains were not significantly affected by tap water flushing despite their acidic pH (5.0).

Abstrak

Larutan untuk pembilasan pewarnaan pada sediaan apus darah tepi (SADT) sangat penting terutama terkait pH. Larutan pembilas yang terlalu asam dapat menyebabkan dekolorisasi pada SADT. WHO merekomendasikan larutan pembilas menggunakan buffer phosphate terutama pH 7,2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran eritrosit menggunakan pewarnaan Giemsa 5% dan Wright dengan pembilasan menggunakan air keran dan buffer phosphate pH 7,2. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif dengan sampel berupa darah EDTA yang berasal dari 2 (dua) orang pasien Thalasemia dan 5 (lima) orang mahasiswa D III Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. Masing-masing dari sampel tersebut selanjutnya diberi 4 (empat) perlakuan yaitu pewarnaan Giemsa dengan pembilasan air keran dan buffer phosphate pH 7,2 dan pewarnaan Wright dengan pembilasan air keran dan buffer phosphate pH 7,2. Didapatkan total 28 slide sediaan apusan darah tepi yang kemudian diperiksa secara mikroskopis untuk mengetahui gambaran eritrosit. Baik pada sampel normal maupun patologis, eritrosit tampak merah muda dengan central pallor jelas pada pewarnaan Giemsa 5% dan lebih kontras pada Wright. Latar belakang pengamatan lebih terang saat dibilas air keran, sedangkan lebih bersih meski agak gelap saat dibilas dengan buffer phosphate pH 7,2. Secara keseluruhan, pewarnaan Giemsa 5% dan Wright sama-sama dapat digunakan untuk pengamatan eritrosit, dan warna eritrosit tidak terlalu terpengaruh oleh pembilasan air keran meskipun pH-nya asam (5,0).

Received: Juli 2025

Accepted: Juli 2025

Published: Desember 2025



PENDAHULUAN

Metode apus darah tepi merupakan salah satu teknik penting yang digunakan untuk pembuatan preparat sediaan darah. Teknik ini dilakukan dengan cara menyebarkan darah secara merata di atas kaca objek, kemudian dibiarkan mengering secara alami di udara. Proses ini bertujuan agar sel-sel darah terlihat dengan jelas, mudah dibedakan, dan bagian sitoplasma dapat tersebar secara optimal. Salah satu penerapan dari metode ini adalah pada pemeriksaan apusan darah tepi, yang berfungsi untuk mengevaluasi morfologi sel darah seperti eritrosit, leukosit, dan komponen darah lainnya. Pemeriksaan tersebut memiliki nilai diagnostik yang tinggi karena mampu memberikan berbagai informasi penting mengenai kondisi fisiologis maupun patologis tubuh (Dhaswara, 2018).

Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dibuat di atas kaca slide dengan menggunakan darah segar dari kapiler atau darah vena yang telah ditambahkan antikoagulan seperti EDTA. Setelah sediaan disiapkan, proses pewarnaan dilakukan untuk memudahkan pengamatan morfologi sel. Teknik pewarnaan Romanowsky merupakan metode yang paling umum digunakan dalam pewarnaan apusan darah. Beberapa pewarnaan yang termasuk dalam metode pewarnaan Romanowsky yaitu pewarnaan Wright, Giemsa, Wright-Giemsa, Leishman, May-Grundwald dan pewarnaan Jenner. Di Indonesia sendiri, pewarna Giemsa merupakan pilihan utama dalam pewarnaan preparat SADT, meskipun pewarna Wright atau kombinasi Wright-Giemsa juga sering digunakan (Ilmiaty, 2021).

Dalam proses pembuatan sediaan, terdapat beberapa tahapan krusial yang harus diperhatikan, mulai dari persiapan, pembuatan sediaan, pewarnaan, hingga pengamatan mikroskopis. Setiap tahapan tersebut memiliki dampak signifikan terhadap kualitas hasil pemeriksaan. Penilaian mikroskopis terhadap SADT meliputi tampilan latar belakang yang jernih, berwarna biru pucat atau kemerahan muda agar tidak

mengganggu proses observasi. Eritrosit harus tampak jelas dengan warna yang kontras, sementara inti leukosit harus terlihat tegas, lengkap dengan granula dan sitoplasma yang jelas serta kontras (Wantini & Huda, 2021). Pada pewarnaan giemsa maupun wright, eritrosit akan terwarnai merah muda hingga kecoklatan dengan ciri-ciri khas, seperti bentuk bikonkaf, tidak memiliki inti sel, mengandung hemoglobin yang memberi warna merah, bersifat elastis, dan umur sekitar 120 hari. Eritrosit juga memiliki diameter sekitar 8 μm . (MERCK, 2023).

Proses pembilasan pada pewarnaan sediaan apus darah tepi (SADT) merupakan tahap krusial yang dapat memengaruhi hasil akhir pewarnaan. Salah satu faktor penting dalam tahap ini adalah tingkat keasaman (pH) larutan pembilas. Penggunaan larutan yang terlalu asam berpotensi menyebabkan dekolorisasi, sehingga hasil pewarnaan menjadi tidak optimal. Untuk mengatasi hal tersebut, *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan larutan buffer phosphate dengan pH 7,2 sebagai larutan pembilas standar (WHO, 2016).

Sementara itu, temuan di lapangan menunjukkan bahwa sebagian besar laboratorium di kota Palangka Raya masih menggunakan air mengalir (air keran) sebagai larutan pembilas dalam proses pewarnaan SADT. Dalam studi yang dilakukan oleh Hartati, et al. (2024), diketahui bahwa 55% dari 20 fasilitas pelayanan kesehatan di kota Jayapura pada tahun 2023 menggunakan air keran sebagai larutan pembilas utama setelah pewarnaan, diikuti oleh penggunaan air penampungan sebesar 35% dan air mineral sebesar 10%. Kondisi ini menunjukkan adanya perbedaan antara praktik lapangan dan standar yang dianjurkan oleh WHO. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan studi mengenai gambaran eritrosit menggunakan metode pewarnaan Giemsa 5% dan Wright, dengan membandingkan hasil antara larutan pembilas air keran dan buffer phosphate pH 7,2.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang akan menjadi pembahasan dalam penelitian ini adalah bagaimana gambaran eritrosit menggunakan pewarnaan Giemsa 5% dan Wright dengan pembilasan menggunakan air keran dan buffer phosphate pH 7,2?

METODE PENELITIAN

Terkait dengan tujuan penelitian ini, maka penelitian ini bersifat Deskriptif. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang tujuannya untuk mengetahui gambaran, keadaan, suatu hal secara sistematis dan akurat tentang fakta serta karakteristik populasi dengan cara mendeskripsikannya (Roflin, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran morfologi eritrosit menggunakan pewarnaan giemsa 5% dan wright dengan pembilasan menggunakan air keran dan buffer phosphate pH 7,2. Penelitian ini dimulai dari pembuatan proposal hingga pelaporan hasil penelitian dari bulan Februari-Mei 2025.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangka Raya. Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri atas objek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Roflin, 2019). Populasi dalam penelitian ini adalah pasien Thalasemia dan mahasiswa D III Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya yang bersedia diambil spesimen darahnya untuk menjadi sampel penelitian.

Sampel adalah sebagian dari sebuah populasi, yang artinya sampel dianggap sebagai penduga populasinya atau sebagai populasi dalam bentuk kecil yang berarti besar sampel harus mencukupi untuk menggambarkan populasinya (Roflin, 2019). Teknik pengambilan sampel dalam penelitian adalah *total sampling*. Dalam penelitian ini jumlah sampel minimal ditentukan dengan rumus Federer, sebagai berikut:

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(4-1) (n-1) \geq 15$$

$$(3) (n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq \frac{18}{3}$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

n : Jumlah Sampel

t : Jumlah Perlakuan

Berdasarkan rumus Federer, didapatkan jumlah sampel minimal untuk penelitian adalah sebanyak 6 sampel. Namun dalam penelitian ini diperoleh total sebanyak 7 sampel yang berasal dari 2 (dua) orang pasien Thalasemia dan 5 (lima) orang dari mahasiswa D III Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya.

PEMBAHASAN DAN HASIL

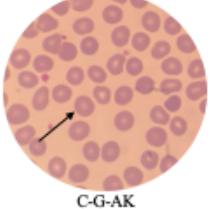
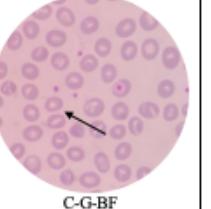
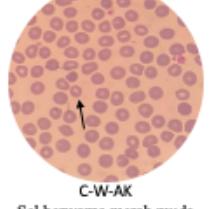
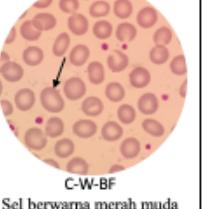
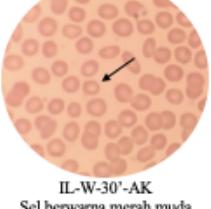
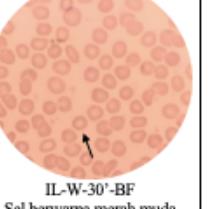
Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Klinik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, selama periode Maret hingga Mei 2025. Sebanyak tujuh sampel dianalisis dalam studi ini, terdiri atas dua sampel patologis dari pasien penderita thalasemia dan lima sampel normal yang diperoleh dari mahasiswa Program Studi D III Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. Masing-masing sampel mendapatkan empat perlakuan berbeda yang melibatkan pewarnaan menggunakan metode Giemsa dan Wright. Kedua metode pewarnaan tersebut dikombinasikan dengan dua teknik pembilasan, yaitu menggunakan air keran dan buffer phosphate dengan pH 7,2. Perlakuan ini menghasilkan 28 slide sediaan apusan darah tepi yang selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop untuk mengevaluasi bentuk dan struktur eritrosit.

Sebelum proses pewarnaan dilakukan, bahan-bahan yang digunakan terlebih dahulu diuji kualitasnya. Pengukuran pH air keran dan buffer phosphate dilakukan dengan kertas pH universal, dengan hasil pH air keran sebesar 5,0 dan buffer phosphate berada pada pH 7,2 dengan skala acuan 7,0.

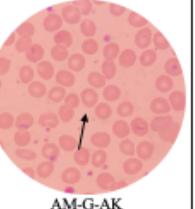
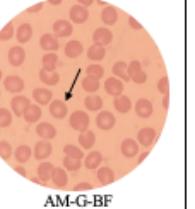
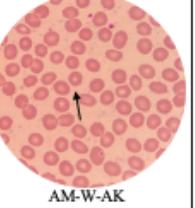
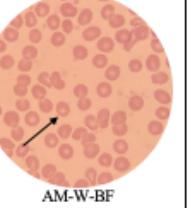
Uji terhadap metanol menunjukkan bahwa zat tersebut cepat menguap setelah diteteskan pada kulit, menandakan bahwa metanol dalam kondisi baru dan layak pakai. Uji kualitas terhadap pewarna giemsa dan wright menunjukkan bahwa kedua pewarna menghasilkan tiga warna utama, yaitu merah, ungu, dan biru pada kertas saring, namun pada wright warna merah eosin yang dihasilkan lebih banyak dari giemsa.

Pengamatan mikroskopis terhadap slide menunjukkan karakteristik morfologi eritrosit pada masing-masing perlakuan, baik dengan pewarnaan Giemsa maupun Wright, serta pembilasan menggunakan air keran maupun buffer phosphate pH 7,2. Hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Gambaran Eritrosit Pada Sampel

Kode Sampel	Pewarna	Air Keran	Buffer Phosphate 7,2
C	Giemsa 5%		
	Wright		
IL	Wright		

Tabel 2. Gambaran Eritrosit Pada Sampel Normal

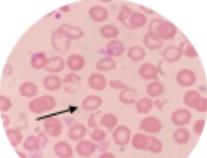
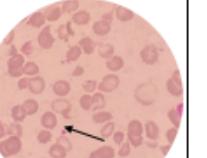
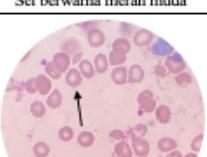
Kode Sampel	Pewarna	Air Keran	Buffer Phosphate 7,2
AM	Giemsa 5%		
		AM-G-AK Sel berwarna merah muda	AM-G-BF Sel berwarna merah muda
	Wright		
		AM-W-AK Sel berwarna merah muda keabuan	AM-W-BF Sel berwarna merah muda kecoklatan

Pada tabel 2 dan 3 (kode sampel Chel), pada pewarnaan Giemsa 5% teramati sel eritrosit berwarna merah muda dengan *central pallor* yang terlihat jelas, namun eritrosit tampak lebih kontras dan tegas secara warna pada pewarnaan Wright. Kemudian berdasarkan latar belakang lapangan pandang untuk pengamatan eritrosit, tampak lebih terang pada pembilasan menggunakan air keran baik pada pewarnaan Giemsa 5% maupun Wright. Sedangkan, pada pembilasan menggunakan buffer phosphate pH 7,2, latar belakang pengamatan eritrosit tampak lebih bersih meskipun sedikit lebih gelap dibandingkan pada pembilasan menggunakan air keran.

Dalam penelitian ini terjadi suatu kesalahan saat pewarnaan SADT yaitu peneliti menggunakan pewarna Wright yang dibiarkan selama kurang lebih 30 menit untuk mewarnai 2 (dua) slide yang tampak pada tabel 3 (kode sampel IL), dimana hasil pengamatan terhadap eritrosit menunjukkan warna yang lebih pudar (merah muda kecoklatan) dibandingkan dengan slide lainnya yang diwarnai segera. Terjadinya penurunan kualitas pewarnaan pada dua slide dalam penelitian ini disebabkan karena pewarnaan yang digunakan melebihi batas waktu standar pewarnaan. Menurut prosedur operasional standar (SOP) pewarnaan apus darah tipis dari WHO (2016), pewarna yang telah disiapkan sebaiknya tidak digunakan jika telah melewati batas waktu 15 menit. WHO

merekomendasikan agar pewarnaan yang sudah melewati waktu tersebut segera diganti dengan pewarna baru untuk memastikan hasil pewarnaan tetap optimal.

Tabel 3. Gambaran Eritrosit Pada Sampel Patologis

Kode Sampel	Larutan Pembilasan	Air Keran	Buffer Phosphate 7,2
72EK	Giems 5%	 72EK-G-AK Sel berwarna merah muda	 72EK-G-BF Sel berwarna merah muda
	Wright	 72EK-W-AK Sel berwarna merah muda	 72EK-W-BF Sel berwarna merah muda

Pada tabel 4 (kode sampel 72EK), pada pewarnaan Giemsa 5% teramati sel eritrosit abnormal dengan bentuk bervariasi, berwarna merah muda dengan *centralpallor* yang terlihat jelas, akan tetapi eritrosit tampak lebih kontras dan tegas secara warna pada pewarnaan Wright. Kemudian berdasarkan latar belakang lapangan pandang untuk pengamatan eritrosit, tampak lebih terang pada pembilasan menggunakan air keran baik pada pewarnaan Giemsa 5% maupun Wright. Sedangkan, pada pembilasan menggunakan buffer phosphate pH 7,2, latar belakang pengamatan eritrosit tampak lebih bersih meskipun sedikit lebih gelap dibandingkan pada pembilasan menggunakan air keran.

Berdasarkan pengamatan peneliti secara umum, gambaran mikroskopis eritrosit pada SADT dengan pewarnaan Giemsa 5% menunjukkan latar belakang pengamatan yang lebih terang/jernih dibandingkan hasil pewarnaan Wright. Meskipun demikian, jika dilihat dari gambaran morfologi sel-sel darah terutama eritrosit, eritrosit tampak lebih jelas dan lebih baik dengan pewarnaan Wright yang dibilas dengan menggunakan buffer phosphate pH 7,2 dibandingkan

air keran baik pada sampel normal maupun patologis. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa untuk pengamatan eritrosit, ATLM dapat menggunakan pewarnaan Giemsa 5% maupun Wright dan warna eritrosit tidak terlalu terpengaruh dengan pembilasan menggunakan air keran meskipun pH air keran adalah 5,0 (asam) hal itu kemungkinan dikarenakan komponen pewarna anionik yang bersifat asam akan menempel pada bagian sel yang bersifat basa, seperti hemoglobin dalam eritrosit, dan memberikan warna merah hingga oranye (Islawati et al, 2021) atau kata lainnya eritrosit mengambil warna merah dari eosin yang bersifat asam, sehingga pewarna tetap menempel dengan baik pada sel tersebut meskipun pH air keran asam.

Di Indonesia, pewarnaan yang umum digunakan untuk mewarnai sediaan apus darah tepi adalah Giemsa. Giemsa sangat baik untuk mengidentifikasi berbagai sel granulosit dan sel-sel darah lainnya, menghasilkan gambaran inti yang jelas, sangat baik dalam membedakan komponen basofilik atau eosinofilik dari sel limfoid dan mieloid, dan keunggulan utama giemsa ialah lebih tahan lama dalam iklim tropis, sehingga pewarnaan giemsa menjadi pewarnaan paling umum digunakan di laboratorium klinik di Indonesia (Ardina & Rosalinda, 2018). Sedangkan keunggulan dari pewarnaan wright adalah kemampuannya dalam memperjelas gambaran sitoplasma dan inti sel. Hal ini disebabkan oleh kandungan pewarna wright yang terdiri dari methylene blue yang mampu memberikan warna biru pada inti sel (nukleus) yang mengandung DNA, sedangkan eosin dapat memberikan warna merah pada sitoplasma. Namun, kelemahan dari teknik pewarnaan wright adalah ketidakmampuannya bertahan lama di iklim tropis (Wuan, 2019).

Selain itu, pH larutan untuk pembilasan pewarnaan pada SADT juga merupakan salah satu faktor yang sangat penting untuk menghasilkan SADT yang baik. Apabila larutan pembilas terlalu asam maka dapat menyebabkan dekolorisasi pada SADT. WHO sangat merekomendasikan larutan pembilasan menggunakan buffer phosphate terutama buffer

phosphate pH 7,2 (WHO, 2016). Kebanyakan laboratorium di kota Palangka Raya melakukan pembilasan pewarnaan SADT menggunakan air mengalir (berupa air keran). Hartati, et al (2024) menemukan sebanyak 55% dari 20 fasilitas layanan kesehatan di kota Jayapura tahun 2023 menggunakan air keran sebagai larutan pembilas setelah pewarnaan diikuti air penampungan (35%) dan air mineral (10%). Oleh karena itu, sangat disarankan kepada laboratorium klinik yang selama ini menggunakan air keran sebagai media pembilasan pewarnaan SADT untuk mengecek terlebih dahulu pH air keran yang digunakan untuk menghindari penurunan kualitas pewarnaan SADT.

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Baik pada sampel normal maupun patologis pada pewarnaan Giemsa 5% teramat sel eritrosit berwarna merah muda dengan *central pallor* yang terlihat jelas, namun eritrosit tampak lebih kontras dan tegas secara warna pada pewarnaan Wright. Kemudian berdasarkan latar belakang lapangan pandang untuk pengamatan eritrosit, tampak lebih terang pada pembilasan menggunakan air keran baik pada pewarnaan Giemsa 5% maupun Wright. Sedangkan, pada pembilasan menggunakan buffer phosphate pH 7,2, latar belakang pengamatan eritrosit tampak lebih bersih meskipun sedikit lebih gelap dibandingkan pada pembilasan menggunakan air keran. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa untuk pengamatan eritrosit, ATL^M dapat menggunakan pewarnaan Giemsa 5% maupun Wright dan warna eritrosit tidak terlalu terpengaruh dengan pembilasan menggunakan air keran meskipun pH air keran adalah 5,0 (asam).

Saran

Dalam pewarnaan sediaan apus darah tepi sangat perlu dilakukan pengecekan kualitas bahan, seperti uji kualitas pembilas, uji kualitas pelarut atau pengencer, uji kualitas Giemsa, Wright dan Metanol.

Selain itu, untuk peneliti selanjutnya yang ingin melakukan penelitian dengan topik serupa dapat melakukan uji kualitas pewarnaan berdasarkan variasi waktu pembuatan pewarnaan (0 menit, 10 menit, 15 menit dan 30 menit).

DAFTAR PUSTAKA

1. Sari, P., & Prabowo, R. (2019). *Perbandingan hasil pewarnaan darah menggunakan metode Giemsa dan Wright dalam analisis morfologi eritrosit*. Jurnal Penelitian Kesehatan, 13(2), 178-185.
2. Schneider, J., et al. (2019). *Pengaruh variabilitas pH dalam air kran terhadap hasil pewarnaan mikroskopis sel darah*. Journal of Microscopy Science, 18(2), 255-263.
3. Soleh Arif Fadillah Siregar, S. (2024). *Perbandingan pewarnaan giemsa, wright dan kombinasi giemsa wright pada apusan darah tepi sampel anemia* (Doctoral dissertation, Universitas Perintis Indonesia).
4. Wantini, S., & Huda, M. (2021). Pengaruh konsentrasi dan waktu pengecatan giemsa pada pemeriksaan mikroskopik malaria. *Jurnal Analis Kesehatan*, 10(1), 8-13.