



## PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN APUS DARAH TEPI MENGUNAKAN AIR KERAN DAN AQUADES SEBAGAI PENGANTI LARUTAN BUFFER

Amwalia<sup>1\*</sup>, Eva Ayu Maharani<sup>2</sup>, Dewi Astuti<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis,  
Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia

\*Penulis Korespondensi: [amwalia68@gmail.com](mailto:amwalia68@gmail.com)

**Abstract.** In the SADT staining procedure, a buffer solution with a pH range of 6.8-7.2 is used. This pH range is ideal because it is able to provide a balance between staining the cell nucleus by azure B and staining the cytoplasm by eosin Y. Buffer pH affects the quality of staining by regulating dye ionization with cell components. However, the use of standard pH buffers is sometimes limited in the laboratory, so other alternative diluents such as tap water and distilled water are used. This study aims to compare the quality of SADT staining results using pH 6.8 buffer, tap water and distilled water. This research method is quasi experiment, with posttest-only control group design based on scoring assessment of microscopic observations and significant difference test. The results of the average scoring showed a cell picture in tap water 2.50 (not good), distilled water 3.22 (good), and control 3.33 (good). Statistical tests showed no significant difference between groups with a p-value of 0.091 ( $p > 0.05$ ). Conclusion: there are differences in microscopic quality based on scoring results, but statistically there is no significant difference. This shows that although there are differences in microscopic quality, blood cells can be identified.

**Keywords :** SADT staining, pH 6.8 buffer, tap water, distilled water

**Abstrak.** Pada prosedur pewarnaan SADT digunakan larutan penyangga (buffer) dengan pH berkisar 6,8-7,2. Kisaran pH ini ideal karena mampu memberikan keseimbangan antara pewarnaan inti sel oleh azure B dan pewarnaan sitoplasma oleh eosin Y. pH buffer berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan melalui pengaturan ionisasi pewarna dengan komponen sel. Namun, penggunaan buffer pH standar terkadang terbatas di laboratorium, sehingga digunakan alternatif pengencer lain seperti air keran dan aquades. Penelitian ini bertujuan membandingkan kualitas hasil pewarnaan SADT menggunakan buffer pH 6,8, air keran dan aquades. Metode penelitian ini adalah *quasi experiment*, dengan rancangan *posttest-only control group design* berdasarkan penilaian *scoring* pengamatan mikroskopik dan uji beda bermakna. Hasil rerata *scoring* menunjukkan gambaran sel pada air keran 2,50 (tidak baik), aquades 3,22 (baik), dan kontrol 3,33 (baik). Uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok dengan *p-value* 0,091 ( $p > 0,05$ ). Kesimpulan: terdapat perbedaan kualitas mikroskopik berdasarkan hasil *scoring*, akan tetapi secara statistik tidak beda bermakna. Hal ini menunjukkan walaupun secara kualitas mikroskopik terdapat perbedaan, akan tetapi sel darah dapat teridentifikasi sehingga air keran dan aquades dapat dijadikan pengganti buffer pewarnaan Wright-Giemsa.

**Kata Kunci :** Pewarnaan SADT, buffer pH 6,8, air keran, aquades

### 1. LATAR BELAKANG

Pemeriksaan sediaan apus darah tepi (SADT) dilakukan untuk melihat serta menilai berbagai komponen dalam darah seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit serta mencari adanya parasit seperti malaria (Muflihah et al., 2024). Pemeriksaan ini juga bertujuan untuk menganalisis morfologi sel darah seperti bentuk, ukuran, dan warna (Huda, 2023). Pada prosedurnya, pewarnaan SADT menggunakan larutan penyangga atau buffer untuk memberikan keseimbangan antara pewarnaan inti sel (nukleus) oleh azure B dan

pewarnaan sitoplasma oleh eosin Y. pH buffer sebagai larutan pengencer berkisar antara 6,8 - 7,2 (Yati et al., 2023).

pH buffer dapat mempengaruhi kualitas pewarnaan dengan cara mengatur ionisasi pewarna dan komponen sel yang terlibat dalam proses pewarnaan. Pada pH yang tepat, pewarna dapat berinteraksi secara optimal dengan komponen sel, sehingga meningkatkan kontras dan ketajaman hasil pewarnaan (Bezrukov, 2017). Keterbatasan dan efisiensi penggunaan bahan seperti buffer pH standar mengakibatkan penggunaan pengencer lain seperti air keran dan aquades digunakan di laboratorium pendidikan sebagai alternatif buffer untuk penunjang kegiatan praktikum. Pengganti larutan buffer tersebut dinilai lebih praktis dan ekonomis (Bezrukov, 2017; Rahma et al., 2019).

Syahidatur Rahmah, dkk (2019) melakukan penelitian menggunakan air keran yang bersumber dari air PDAM dan aquades pada pewarnaan Wright didapati hasil 54% sediaan darah menggunakan air PDAM memiliki kualitas baik dan 100% sediaan darah menggunakan aquades memiliki kualitas baik. Akan tetapi kekurangan dari penelitian tersebut adalah tidak terinfokan secara pasti pH pada kedua sumber air (Rahma et al., 2019).

Penelitian ini akan menganalisis perbandingan kualitas sediaan apus darah tepi (SADT) dengan pewarnaan Wright-Giemsa menggunakan air keran dan aquades sebagai pengganti larutan buffer dengan menggunakan air yang bersumber di lingkungan kampus Poltekkes Jakarta III Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Tujuan umum penelitian ini adalah Untuk mengetahui kualitas larutan pengencer lain yaitu air keran dan aquades sebagai larutan pengganti buffer standar pH 6,8. Tujuan khusus penelitian ini adalah mengetahui gambaran mikroskopik pada sediaan darah menggunakan air keran dan aquades yang dibandingkan dengan larutan buffer pH 6,8, mengetahui kesesuaian gambaran sel darah pada SADT yang menggunakan air keran dan aquades yang dibandingkan dengan buffer pH 6,8 berdasarkan hasil *scoring* serta mengetahui apakah ada perbedaan signifikan hasil *scoring* SADT antara air keran dan aquades sebagai pengganti larutan buffer yang dibandingkan dengan kontrol buffer pH 6,8.

## 2. METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest-only control group design*. Data dikumpulkan menggunakan data primer dari hasil penelitian. Sampel penelitian adalah darah EDTA sembilan orang mahasiswa semester 8 prodi sarjana terapan Teknologi Laboratorium Medis. Besar sampel dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus *Federer*.


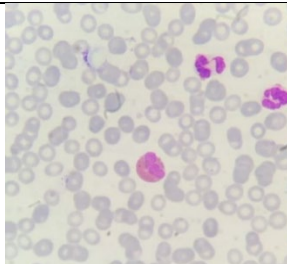
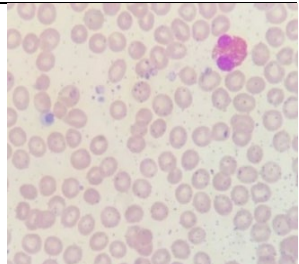
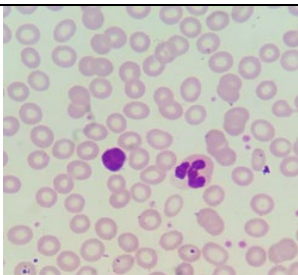
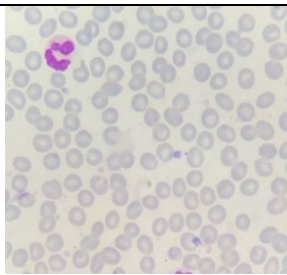
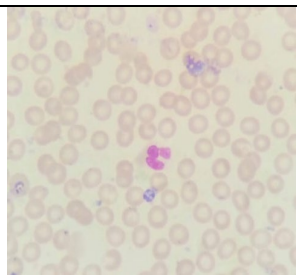



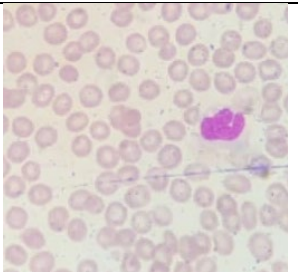
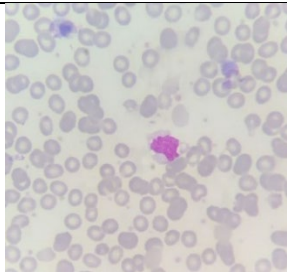
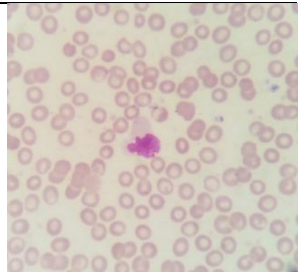
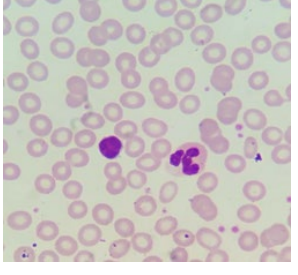
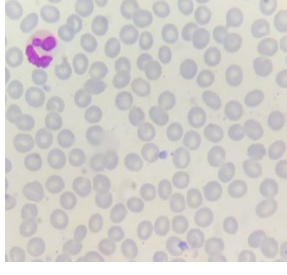
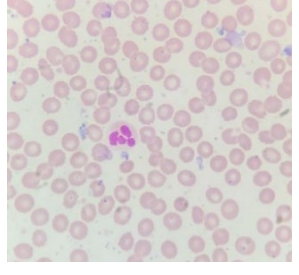
Tahapan penelitian dimulai dengan pengambilan sampel darah vena dari responden yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel darah dibuat sediaan apus darah tepi (SADT) dan difiksasi menggunakan metanol. Proses pewarnaan dilakukan menggunakan metode Wright-Giemsa. Larutan Wright diteteskan hingga menutupi apusan darah dan dibiarkan selama dua menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Sediaan diberi pewarna Giemsa yang telah diencerkan 20 kali dengan masing-masing larutan pengencer (buffer pH 6,8, air keran, dan aquades) lalu didiamkan selama 20 menit. Preparat dibilas kembali dengan air mengalir, dikeringkan, dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 1000x menggunakan oil imersi.

Kualitas sediaan apus darah tepi diukur dengan sistem scoring mikroskopis. Penilaian didasarkan pada intensitas warna inti, sitoplasma, dan granula sel darah. Kriteria skor yang digunakan adalah: skor 1 (sangat tidak baik), skor 2 (tidak baik), skor 3 (baik), dan skor 4 (sangat baik). Penilaian dilakukan oleh dua orang *observer* secara independen untuk mengurangi kemungkinan bias subjektif. Data diolah dan dideskripsikan dalam bentuk tabel dan narasi, kemudian dilakukan analisis uji reabilitas *Cohen's Kappa* untuk mengukur konsistensi instrumen penelitian dalam menghasilkan data yang sama. Uji tidak beda bermakna dilakukan dengan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji hipotesis *Kruskal-Wallis*.

**PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN APUS DARAH TEPI MENGGUNAKAN AIR KERAN DAN AQUADES SEBAGAI PENGGANTI LARUTAN BUFFER**

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bagian Gambaran sel pada kelompok kontrol buffer pH 6,8 dan kelompok perlakuan air keran dan aquades sebagai berikut:

Buffer pH 6,8	Air Keran	Aquades
		
		
		
		
		

**Gambar 1.** Gambaran Mikroskopik Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) hasil pewarnaan Wright-Giemsa pada kelompok kontrol buffer pH 6,8 dan kelompok perlakuan air keran dan aquades dengan perbesaran 100X objektif.

Berdasarkan Gambar 1 sel eritrosit pada air keran lebih pucat dan berwarna biru keabuan, sel leukosit cenderung berwarna keunguan pucat dengan sitoplasma memiliki batas yang kurang tegas cenderung lebih pudar serta granula tidak terlihat. Meskipun kurang optimal tetapi sel leukosit pada kelompok air keran masih bisa diidentifikasi. Gambaran sel pada kelompok aquades memiliki hasil yang mendekati kontrol dengan sel eritrosit cenderung berwarna merah muda dengan inti sel leukosit berwarna ungu kemerahan sitoplasma berwarna merah muda dengan granula yang masih dapat teramati.

Hasil penelitian di kelompokkan sesuai dengan kriteria *scoring* penilaian. Skor 1 sangat tidak baik = seluruh sel eritrosit, leukosit, dan trombosit tidak terwarnai. Skor 2 tidak baik = sel eritrosit terwarnai samar, sitoplasma leukosit terwarnai tapi granula tidak terwarnai, trombosit terwarnai samar. Skor 3 baik = sel eritrosit cukup terwarnai, granula leukosit terwarnai samar, trombosit terwarnai. Skor 4 sangat baik = eritrosit terwarnai dengan sel jelas, sitoplasma dan granula leukosit terwarnai jelas, trombosit terwarnai jelas (Alawiyah, N, 2023).

**Tabel 1.** Hasil *Scoring* Penilaian Sediaan

Pengulangan	Buffer pH 6,8		Air Keran		Aquades	
	Penilai 1	Penilai 2	Penilai 1	Penilai 2	Penilai 1	Penilai 2
1	2	2	3	3	4	4
2	4	4	3	3	3	4
3	3	3	2	3	4	4
4	4	4	3	2	3	4
5	4	4	2	2	4	4
6	4	4	2	2	2	2
7	4	4	3	2	2	2
8	2	2	3	3	4	4
9	3	3	2	2	2	2
Rerata % kriteria sediaan sangat baik	55,6%		0%		55,6%	

**PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN APUS DARAH TEPI MENGGUNAKAN AIR KERAN DAN AQUADES SEBAGAI PENGGANTI LARUTAN BUFFER**

Rerata % kriteria sediaan baik	22,2%	50%	11,1%
Rerata % kriteria sediaan tidak baik	22,2%	50%	33,3%

Hasil dari Tabel 1 buffer ph 6,8 menghasilkan 55,6% sediaan dengan kriteria sangat baik, 22,2% sediaan dengan kriteria baik dan 22,2% sediaan dengan kriteria tidak baik. Sediaan menggunakan air keran menghasilkan 0% sediaan dengan kriteria sangat, 50% sediaan dengan kriteria baik dan 50% sediaan dengan kriteria tidak baik. Sediaan menggunakan aquades menghasilkan 55,6% sediaan dengan kriteria sangat baik, 11,1% sediaan dengan kriteria baik dan 33,3% sediaan dengan kriteria tidak baik.

**Tabel 2.** Uji Reabilitas *Cohen's Cappa*

	Value	Approximate Significance
Kappa	0,722	<0,001
N of Valid Cases	27	

Berdasarkan uji *Cohen's Cappa* diperoleh nilai Kappa sebesar 0,722 dengan nilai signifikansi  $p < 0,001$ . Nilai Kappa sebesar 0,722 menunjukkan tingkat kesepakatan yang *substantial* (baik) antara kedua penilai, sesuai interpretasi Landis dan Koch (1997).

**Tabel 3.** Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Variabel	p-value
Buffer pH 6,8	0,005
Air Keran	0,035
Aquades	0,003

Pada Tabel 3 hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa hasil buffer pH 6,8, air keran dan aquades memiliki sebaran data yang berdistribusi tidak normal.

**Tabel 4.** Uji Hipotesis *Kruskal-Wallis*

<i>Kruskal-Wallis H</i>	4,791
<i>df</i>	2
<i>Asymp. Sig.</i>	0,091

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai sig 0,091 ( $>0,05$ ), maka dapat disimpulkan bahwa  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak yang artinya tidak terdapat perbedaan skor kualitas pewarnaan SADT yang dihasilkan dengan menggunakan air keran dan aquades.

## **DISKUSI**

Pewarnaan merupakan teknik yang bertujuan untuk memperjelas dan mempertajam struktur elemen jaringan, terutama sel-selnya, sehingga dapat dibedakan dan dianalisis menggunakan mikroskop. Pewarnaan membantu dalam identifikasi morfologi sel, pola distribusi, serta kelainan yang mungkin terjadi pada jaringan atau darah (Dewi Yayuningsih, AMAK, S.Si. et al., 2017). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi gambaran mikroskopik sel terutama pada proses pewarnaan salah satunya adalah pH larutan pengencer. Saat ini keterbatasan dan efisiensi penggunaan bahan seperti buffer pH standar mengakibatkan penggunaan pengencer lain seperti air keran dan aquades digunakan di laboratorium pendidikan sebagai alternatif buffer untuk penunjang kegiatan praktikum.

Pada Gambar 1 sediaan menggunakan buffer pH 6,8 menghasilkan pewarnaan yang lebih baik dengan gambaran sel yang lebih jelas dan kontras hal ini disebabkan oleh sifat buffer yang bersifat isotonis dengan pH 6,8 yang dapat menstabilkan pH meskipun larutan mengalami pengenceran, menjadikannya sebagai larutan penyangga atau dapar (Mustafa et al., 2024). Kandungan asam lemah dan basa konjugat pada buffer pH 6,8, seperti natrium fosfat dan asam sitrat monohidrat menjadikan pH buffer tetap stabil ketika penambahan asam atau basa dari pewarna (Malik, 2023).

Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol buffer pH 6,8, sediaan yang menggunakan air keran menghasilkan warna eritrosit, leukosit dan trombosit cenderung pucat dan tampak lebih samar sedangkan gambaran sel pada kelompok aquades memiliki hasil yang mendekati kontrol dengan gambaran sel eritrosit cenderung berwarna merah muda dengan inti sel leukosit berwarna ungu kemerahan serta sitoplasma berwarna merah muda dengan granula yang masih dapat teramati. Warna sel eritrosit kemerahan disebabkan oleh pH aquades yang cenderung asam dan akan memaksimalkan penyerapan warna eosin sehingga sel eritrosit dan sitoplasma leukosit menjadi lebih merah atau merah muda (Oktiyani et al., 2023)

**PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN APUS DARAH TEPI MENGGUNAKAN AIR KERAN DAN AQUADES SEBAGAI PENGGANTI LARUTAN BUFFER**

Sel eritrosit pada kelompok air keran cenderung lebih biru keabuan dan tampak lebih pucat dengan sel leukosit cenderung memiliki inti sel berwarna keunguan dengan batas sitoplasma kurang tegas dan berwarna lebih pudar serta memiliki granula yang tidak terlihat, sedangkan sel trombosit memiliki warna biru pucat dan tampak samar. Air keran yang digunakan bersumber dari tanah memiliki rentang 6-7 dan cenderung tidak stabil serta tidak mampu mempertahankan pH selama proses pewarnaan. pH air keran yang cenderung basa menyebabkan tingginya penyerapan azur B pada sel eritrosit sehingga akan tampak lebih biru. Kandungan ion mineral pada air keran yang bersumber dari tanah seperti kalsium dan natrium yang bermuatan positif akan menetralkan komponen sel yang bersifat negatif seperti membran eritrosit, oleh karena itu terjadi netralisasi muatan negatif pada permukaan sel yang akan mengurangi afinitas pewarna Wright-Giemsa terhadap komponen seluler sehingga gambaran sel akan tampak lebih pucat (Muflihah et al., 2024). Meskipun pewarnaannya kurang optimal tetapi sel leukosit pada kelompok air keran masih dapat diidentifikasi.

Gambaran sel pada kelompok aquades memiliki hasil yang mendekati kontrol dengan gambaran sel eritrosit cenderung berwarna merah muda dengan inti sel leukosit berwarna ungu kemerahan serta sitoplasma berwarna merah muda dengan granula yang masih dapat teramati. Warna sel eritrosit kemerahan disebabkan oleh pH aquades yang cenderung asam dan akan memaksimalkan penyerapan warna eosin sehingga sel eritrosit dan sitoplasma leukosit menjadi lebih merah atau merah muda (Oktyani et al., 2023).

Hasil uji Kappa menunjukkan nilai 0,722 yang termasuk dalam kategori *substantial agreement*. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat tingkat kesepakatan yang kuat antara dua penilai dalam menilai kualitas pewarnaan sediaan apus darah. Nilai Kappa yang tinggi mengindikasikan bahwa metode penilaian yang digunakan memiliki reliabilitas yang baik, sehingga hasil penilaian dapat dianggap konsisten dan dapat diandalkan.

Hasil *scoring* pada Tabel 1 menunjukkan sediaan menggunakan air keran hanya memiliki 50% sediaan berkriteria baik dan tidak mempunyai sediaan dengan kriteria sangat baik dengan rerata skor 2,50. Hal tersebut menyatakan bahwa terdapat penurunan kualitas dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa air keran dapat menghasilkan hingga 54% sediaan berkriteria baik (Rahma et al., 2019). Penurunan kualitas ini dapat disebabkan oleh perbedaan sumber air keran yang digunakan serta perbedaan pH dan konsentrasi kandungan mineral pada sumber air yang digunakan.

Sediaan menggunakan aquades memiliki 56,5% berkriteria sangat baik dan 11,1% sediaan berkriteria baik dengan rerata skor 3,22. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan dengan aquades lebih baik dibandingkan dengan air keran walaupun belum setara dengan kontrol buffer pH 6,8 yang memiliki sediaan berkriteria baik sebanyak 22,2% lebih besar dibandingkan dengan kelompok aquades.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* antara buffer pH 6,8 dengan air keran menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan begitu juga antara buffer pH 6,8 dengan aquades, dengan nilai *p-value* 0,091 ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa air keran dan aquades dapat dijadikan alternatif pengganti larutan buffer. Walaupun uji statistik menunjukkan tidak beda bermakna, tetapi persentase kriteria sediaan antara air keran dan aquades belum setara dengan buffer pH 6,8. Selain itu, pada sel leukosit juga bisa teridentifikasi dengan baik walaupun terdapat sedikit perbedaan pada gradasi warna.

#### **4. KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan signifikan hasil *scoring* SADT antara air keran dan aquades sebagai pengganti larutan buffer yang dibandingkan dengan kontrol buffer pH 6,8. Secara mikroskopik terdapat perbedaan kategori penilaian antara air keran, aquades dengan kontrol buffer pH 6,8 akan tetapi perbedaan kategori tersebut hanya ada pada tampilan eritrosit. Tampilan sel leukosit pada kedua kelompok terdapat perbedaan penyerapan warna tetapi inti dan sitoplasma masih bisa teramati oleh karena itu kelompok air keran dan aquades mampu mewarnai sel sehingga dapat digunakan sebagai pengganti larutan buffer untuk pengamatan hitung jenis leukosit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada seluruh dosen dan staff Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

## DAFTAR REFERENSI

- Alawiyah, N, N. (2023). *Kualitas Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tipis Dengan Menggunakan Ekstrak Kulit Terong Ungu (Solanum melongena L.)*.
- Bezrukov, A. V. (2017). Romanowsky staining, the Romanowsky effect and thoughts on the question of scientific priority. *Biotechnic and Histochemistry*, 92(1), 29–35. <https://doi.org/10.1080/10520295.2016.1250285>
- Dewi Yayuningsih, AMAK, S.Si., M., Hendro Prayitno, Am. A., & Roudhotul Mazidah, Am. A. (2017). *HEMATOLOGI: program keahlian teknologi laboratorium medik*. EGC.
- Huda, G. (2023). *Apusan Darah Tepi*. Alomedika. <https://www.alomedika.com/tindakan-medis/hematologi-dan-onkologi/apus-darah-tepi>
- Malik, M. A. (2023). *What is a pH buffer?* Hampton University. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Introductory\\_Chemistry/Introduction\\_to\\_General\\_Chemistry\\_\(Malik\)/06:\\_Acids\\_and\\_bases/6.08:\\_pH\\_Buffers](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_Chemistry/Introduction_to_General_Chemistry_(Malik)/06:_Acids_and_bases/6.08:_pH_Buffers)
- Muflihah, A. I., Destiawan, R. A., Wijaya, A. F., Yulia, L., Sufi, Q. N., Camelia, L., Azizah, N., Makki, A. A., & Imroatul, A. (2024). *Gambaran Morfologi Sel Neutrofil Pada Pewarnaan Giemsa dengan Variasi Waktu Pada Larutan Pengencer Akuades*. 10(1), 126–135.
- Mustafa, A., Astuti, T. D., & Widyantara, A. B. (2024). *Perbedaan Apusan Darah Metode Giemsa Menggunakan Buffer Fosfat, Aquades dan NaCl Fisiologis*. 6(September), 7837–7842.
- Oktiyani, N., Muhlisin, A., Roebiakto, E., & Norsiah, W. (2023). *Utilization of Alternative Buffer Solutions for Staining Thin Blood smears by the Giemsa , Wright stain and Romanowsky method*. 5(1), 34–45.
- Rahma, S., Muhlisin, A., & Arsyad, M. (2019). Perbedaan Kualitas Hasil Pewarnaan Sediaan Darah Metode Wright Menggunakan Air Pdam, Aquadest Dan Buffer pH Standar 6,8. *Jurnal Ergastrio*, 5(2), 16–21. <http://jurnalstikesborneolestari.ac.id/index.php/analisborles/article/view/158>
- Yati, M., Muhlisin, A., Muntaha, A., & Roebiakto, E. (2023). Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Metode Giemsa Menggunakan Alternatif Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral. *Jurnal Karya Generasi Sehat*, 1(1). <https://doi.org/10.31964/jkgs.v1i1.66>