

Kualitas Makroskopis dan Mikroskopis Morfologi Lekosit pada Sadt Berdasarkan Variasi Suhu Pengeringan

*Macroscopic And Microscopic Quality of Lekosit Morphology
In Peripheral Blood Smear Based On Variation Of Drying Temperature*

Rina Febriyani¹, Budi Santosa^{2*}

^{1,2}Prodi Teknologi Laboratorium Medis Fikkes Universitas Muhammadiyah Semarang
Email : budisantosa@unimus.ac.id

Abstrak

Latar belakang: Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS) di sekolah merupakan upaya untuk memberdayakan seluruh warga sekolah, khususnya siswa agar menyadari pentingnya menjaga kesehatan. Menurut Dinas Kesehatan Provinsi DIY tahun 2012, PHBS di sekolah memiliki delapan indikator. Media promosi kesehatan yang digunakan berupa permainan ular tangga yang peneliti kembangkan berdasarkan hasil studi pendahuluan di SD Negeri Ngablak pada siswa kelas IV. **Tujuan:** untuk mengetahui sejauh mana suhu berpengaruh terhadap morfologi makroskopis SADT dan bagaimana kualitas morfologi untuk sel leukosit pada sediaan SADT. **Metode:** Jenis penelitian yang digunakan adalah metode *Research and Development* (R&D) level 3. Subjek dalam penelitian ini yaitu ahli media, ahli materi dan 12 siswa sebagai pengguna permainan ular tangga PHBS sekolah. instrumen yang digunakan adalah lembar observasi dan seperangkat permainan ular tangga PHBS sekolah. Analisis data yang digunakan adalah analisis data kualitatif. **Hasil:** Media promosi kesehatan berupa permainan ular tangga PHBS di sekolah telah dilakukan uji validitas kedua pada ahli media, ahli materi dan pengguna permainan ular tangga dengan persentase sebesar 86%, 98% dan 90,27%. Hasil tersebut memiliki kategori penilaian sangat baik. Permainan ular tangga yang telah layak digunakan terdiri dari papan ular tangga, kartu pertanyaan, aturan permainan, dadu dan bidak. **Kesimpulan:** Seperangkat permainan ular tangga PHBS di sekolah telah layak digunakan sebagai media promosi kesehatan bagi siswa kelas IV sekolah dasar.

Kata kunci: Permainan Ular Tangga; PHBS; Sekolah; R&D; kelayakan media.

Abstract

Background Clean and Healthy Life Behaviour (PHBS) program is an effort to empower all people at school, particularly student, to have an awareness on being healthy. According to Dinas Kesehatan Provinsi DIY (2012), there are eight indicators of PHBS. The aim of this research is to develop the game as health promotion media for 4th grade student at SDN Ngablak. **Objective:** to determine the extent to which temperature affects the macroscopic morphology of SADT and the morphological quality of leukocyte cells in SADT preparations. **Method:** Third level of Research and Development method was used for this research. The research's subjects were media expert, material expert, and 12 students as they will give review and advice on the 'ular tangga' traditional game development. Data analysis used is qualitative. **Result:** The result of the 2nd validity test by the media expert, material expert, and game users for the 'ular tangga' traditional game as the health promotion media at elementary school were 86%, 98%, and 90,27%, respectively. Overall, the results were very good. **Conclusion:** A set of Clean and Healthy Behaviour 'ular tangga' traditional game is feasible to be used as health promotion media for 4th grade elementary school students.

Keywords: *Clean and Healthy Behaviour; ular tangga; game; school; R&D; media*

PENDAHULUAN

Darah adalah material penting dalam kehidupan yang banyak memberikan informasi terkait kesehatan. Komponen darah meliputi bagian cair dan padat, bagian cair disebut serum/plasma dan bagian padat disebut sel (Kiswari, 2014) (Gary M, 2011). Bagian padat yang berupa sel meliputi eritrosit, leukosit, dan trombosit (Zolla B, 2012). Morfologi dan jumlah sel-sel darah dapat diperiksa di laboratorium baik menggunakan alat manual maupun otomatis. Pada pemeriksaan darah rutin biasanya terdiri dari kadar hemoglobin, jumlah leukosit, laju endap darah (LED), dan hitung jenis leukosit (differential counting). Hitung jenis leukosit hasilnya dinyatakan dalam persen, terdiri dari basophil (0-1%), eosinophil (1-3%), netrofil natang (2-6%), netrofil segmen (40-60%). Loimfosit (20-40%), monosit (2-8%) (4). Validitas hasil differential counting sangat bergantung dari kualitas sediaan. baik secara makroskopis maupun mikroskopis yang berupa morfologi sel leukosit.

Differential counting adalah pemeriksaan jumlah leukosit berdasarkan macam-macam jenisnya. Pemeriksaan differential counting dapat dilakukan dengan membuat sediaan apus darah tepi (SADT). Prosedur pembuatan SADT sangat mudah, tetapi sangat membutuhkan keterampilan pembuatnya. Pada setiap pembuatan SADT tidak selalu berhasil, hal ini bisa dipengaruhi oleh banyak kemungkinan yaitu preparat kurang bersih, bercak lemak, berlubang, kualitas reagen cat yang digunakan, penyimpanan, dan suhu pengeringan. Prosedur pembuatan SADT meliputi 2 tahap yaitu pembuatan preparat dan pengecatan. Pada pembuatan preparat, perlu disiapkan preparat yang bersih, kering, bebas lemak. Pengecatan preparat dapat dilakukan menggunakan Giemsa, Wright dan lain-lain (Nugraha, 2015) (Gandasoebrata, 2013). Pengaruh eksternal berupa suhu juga perlu diperhatikan, suhu yang terlalu panas dapat mengakibatkan sel darah mengkerut sebaliknya suhu yang terlalu dingin mungkin membuat darah membesar (Kevin PB, 2019).

Sediaan apus darah tepi pada proses pembuatannya diawali dengan mengusap objek glass dengan spreader yang sebelumnya pada ujung objek glass ditetesi darah. Langkah berikutnya adalah difiksasi dengan methanol dan bila sudah mengering dilakukan pengecatan menggunakan giemsa/wright. Pilihan pengecatan Giemsa atau Wright sangat bergantung pada maturasi sel-sel darah. Untuk sel yang sudah matur sebaiknya dilakukan pengecatan Giemsa, sedangkan sel yang masih muda maka pengecatan Wright adalah yang lebih tepat (Nwogoh B, 2012).

Kualitas sediaan apus darah tepi yang baik secara makroskopis maupun mikroskopis sangat penting dalam menegakkan diagnosis dan prognosis penyakit. Secara makroskopis, bentuk dan tampilan preparat merupakan hal yang penting untuk diperhatikan, sediaan kering yang tipis dan telah dipulas memungkinkan untuk mempelajari keadaan sel darah. Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pembuatan sediaan apus darah tepi (SADT) antara lain lama fiksasi, pewarnaan, suhu, dan lain-lain. Lamanya waktu fiksasi memberi pengaruh terhadap bentuk sel darah putih. Kualitas pewarnaan sediaan apus darah tepi tidak memberi pengaruh terhadap bentuk morfologi sel darah. Fungsi pewarnaan yaitu untuk mengidentifikasi selsel darah dan untuk melihat morfologi sel darah. Suhu simpan darah mempengaruhi morfologi eritrist,

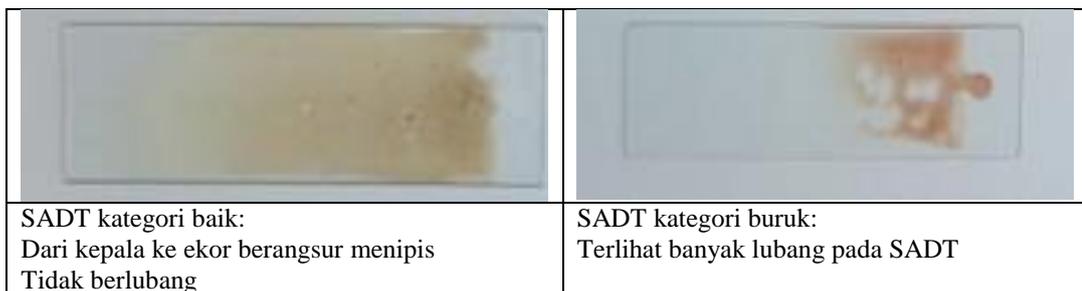
semakin panas tinggi suhunya akan membuat eritrosit mengkerut atau kreasi karena banyak cairan eritrosit yang keluar dari sel (Huppertz, 2014). Faktor suhu sering diabaikan oleh beberapa tenaga laboratorium baik di laboratorium rumah sakit maupun puskesmas atau bahkan laboratorium klinik swasta. Banyaknya permintaan atau sampel pemeriksaan yang memerlukan pembuatan sediaan apus darah tepi dan tuntutan yang mengharuskan untuk mengeluarkan hasil pemeriksaan secepatnya sehingga memungkinkan pengeringan preparat tanpa memperhatikan mengenai suhu. Berdasarkan uraian tersebut, penting untuk diketahui sejauh mana suhu berpengaruh terhadap morfologi makroskopis SADT dan bagaimana kualitas morfologi untuk sel leukosit pada sediaan SADT.

METODE

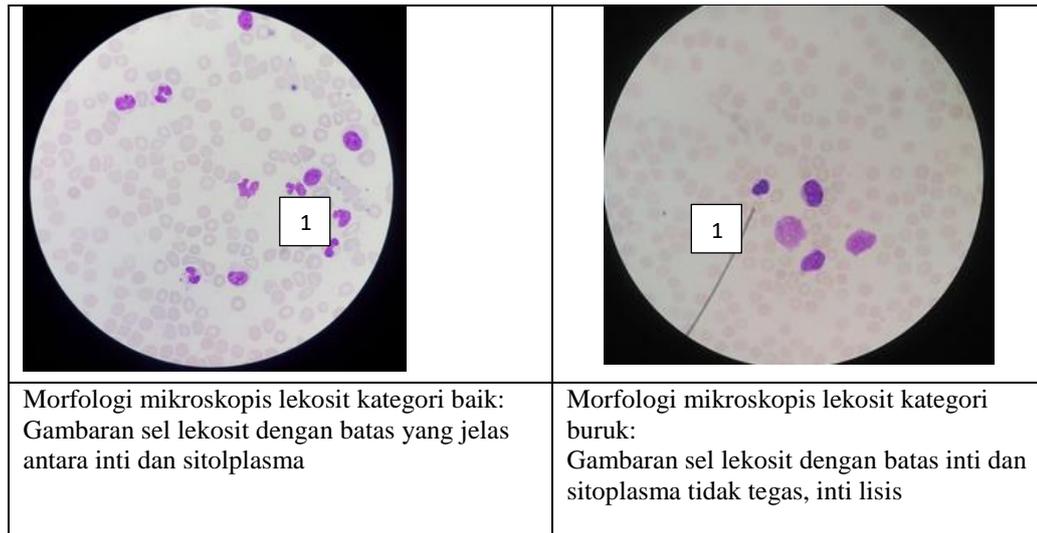
Jenis penelitian quasi eksperimen dengan perlakuan suhu 25oC, 30oC, 35oC dan 40oC. Jumlah sampel dihitung dengan rumus pengulangan yaitu $BS = (t - 1) (r - 1) \geq 15$ sehingga diperoleh $t=4, (4-1)(r-1) \geq 15 \text{ ---} r \geq 6$ per kelompok. SADT dibuat berdasarkan suhu pengeringan dan dilakukan pengecatan. Morfologi SADT maupun morfologi mikroskopis sel leukosit dikelompokkan berdasarkan baik dan buruk. Kriteria morfologi SADT baik adalah jika ketebalan preparat dari bagian kepala hingga ekor berangsur menipis, tidak berlubang, tidak mengelupas. Kriteria morfologi sel leukosit baik adalah sel utuh dengan inti dan sitolpasma yang lengkap. Pengaruh variasi suhu pengeringan terhadap hasil morfologi SADT dan morfologi sel darah putih diuji menggunakan uji Chi Square (9).

HASIL

Gambaran makroskopis SADT dan mikroskopis morfologi sel leukosit dinyatakan baik dan buruk. Berikut ini gambar hasil penelitian yang mendeskripsikan gambaran baik dan buruk pada makroskopis SADT dan mikroskopis morfologi sel leukosit.



Gambar 1. Morfologi SADT baik dan buruk



Gambar 2. Morfologi mikroskopis leukosit kategori baik dan buruk

Jumlah hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis secara rinci disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopis SADT dan Mikroskopis Morfologi sel Leukosit

Suhu(°C)	Makroskopis SADT		Mikroskopis sel leukosit	
	Baik	Buruk	Baik	Buruk
25	6	0	6	0
30	6	0	6	0
35	0	6	1	5
40	0	6	0	6

Berdasarkan tabel 1, hasil pengamatan makroskopis terhadap enam sampel ditemukan bahwa preparat apusan darah dengan pengeringan menggunakan suhu 25°C, 30°C memperlihatkan hasil yang baik sedangkan ketika dilakukan pemanasan pada suhu 35°C dan 40°C menunjukkan hasil yang buruk karena dilakukan pemanasan pada suhu yang tinggi (di atas suhu ruangan) sehingga menyebabkan apusan darah pecah dan terkelupas pada bagian kepala preparat darah

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi sel darah putih terhadap enam sampel yang dibuat sediaan apus darah kemudian dikeringkan pada suhu ruang 25°C, 30°C, 40°C dan 45°C diperoleh hasil bahwa preparat apusan darah dengan pengeringan menggunakan suhu ruang (25°C) dan suhu 30°C memiliki morfologi yang baik. Pengamatan preparat apusan darah dengan pengeringan menggunakan suhu 35°C terhadap enam preparat ditemukan 1 preparat memiliki morfologi baik dan 5 preparat memiliki morfologi buruk, sedangkan pengamatan preparat apusan darah dengan pengeringan menggunakan suhu 40°C didapatkan hasil morfologi buruk. Pengaruh variasi suhu pengeringan terhadap hasil morfologi sel darah putih juga dapat dilihat pada hasil uji *Chi Square* pada table dibawah ini.

Tabel 2. Hasil uji statistic morfologi sel leukosit berdasarkan variasi suhu

Suhu (^o C)	Morfologi Leukosit						p-value
	Baik		Buruk		Total		
	n	%	n	%	n	%	
25	6	100	0	0	6	100	0,00
30	6	100	0	0	6	100	
35	1	16,67	5	83,33	6	100	
40	0	0	6	100	6	100	

Berdasarkan tabel 2, menunjukkan hasil p-value $0,0001 < \alpha (0,05)$, hal ini berarti H_0 ditolak artinya ada pengaruh yang bermakna pada variasi suhu pengeringan preparat apusan darah terhadap hasil morfologi sel darah putih.

PEMBAHASAN

Pengeringan sediaan apusan darah pada suhu 25°C dan 30 °C tidak memberikan hasil berbeda terhadap morfologi sel darah putih, karena pada semua lapang pandang menunjukkan hasil yang baik, sedangkan pada suhu 35 °C dan 40 °C memberikan hasil berbeda pada morfologi sel darah putih, pada suhu 35 °C hanya satu dari enam sampel yang memiliki hasil lapang pandang yang baik, sedangkan pada suhu 40oC semua lapang pandang yang diamati menunjukkan hasil yang buruk. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa pada suhu 35 °C dan 40 °C sel darah putih mengalami kerusakan sehingga gambaran mikroskopisnya terlihat buruk. Pengeringan sediaan apusan pada suhu 35 °C dan 40 °C akan menyebabkan leukosit yang ada pada sediaan apusan darah tersebut terpapar langsung oleh suhu panas sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada dinding sel dan mengalami kelainan morfologi seperti ukuran sel darah putih mengecil, bentuk tidak bulat dan warna menjadi kemerahan (Gary M, 2011) (Maurer, 2001).

Pengeringan terhadap hasil morfologi sel darah putih juga dapat dilihat pada hasil uji Chi Square menunjukkan hasil p-value $0,0001 < \alpha (0,05)$, hal ini berarti H_0 ditolak, artinya ada pengaruh yang bermakna pada variasi suhu pengeringan preparat apusan darah terhadap hasil morfologi sel darah putih.

Proses pengeringan menggunakan suhu yang tepat dapat menentukan kualitas sediaan darah tepi baik morfologi preparat maupun morfologi sel darah putih. Ada satu tahapan supaya kualitas preparat baik yaitu perlekatan spesimen (darah perifer) dengan objek glass. Pada tahapan tersebut jika terlalu panas maka preparat lebih cepat mengering sehingga waktu pembuatan bisa segera selesai. Kelemahannya adalah kekuatan perlekatan spesimen dengan objek glass menurun yang dibuktikan pada hasil penelitian banyak preparat yang mengelupas pada suhu tinggi (35 °C dan 45 °C). Penyimpanan darah pada suhu yang tinggi dapat menyebabkan dinding sel darah mengalami kerusakan (berlubang, mengkerut) (Huppertz, 2014). Apabila kualitas preparat dipaksakan untuk di cat dan dibaca, maka sel-sel yang diidentifikasi menjadi tidak jelas sehingga hasil pembacaan pada preparat menjadi bias. Diagnosis penyakit yang membutuhkan konfirmasi dari pembacaan SADT akan terganggu (Santoso B, 2010). Beberapa penyakit yang membutuhkan hasil pembacaan SADT antara lain pada penyakit infeksi, anemia, dan leukemia.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Pengeringan SADT dengan suhu 25⁰C dan 30⁰C memberikan gambaran makroskopis morfologi sediaan maupun mikroskopis morfologi sel lekosit semuanya baik, sementara pada suhu 35⁰C dan 40⁰C morfologi sel lekosit semuanya buruk.
2. Terdapat perbedaan signifikan antara variasi suhu pengeringan SADT terhadap mikroskopis morfologi sel lekosit.

Saran

Bagi tenaga laboratorium dalam membuat SADT, proses pengeringan apusan disarankan menggunakan suhu 250C dan 300C dan tidak boleh melebihi suhu 350C dan 400C. Keterbatasan penelitian ini adalah belum ada alat ukur ideal untuk ketebalan SADT, sehingga disarankan penelitian lebih lanjut ketebalan ideal untuk SADT.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus R. Aplikasi Metodologi Penelitian Kesehatan. 2011;
- Gandasoebrata.R. Gandasoebrata. 15th ed. Jakarta: Dian Rakyat; 2013. 21–25 p.
- Gary Moroff 1, James P AuBuchon, Constance Pickard, Pamela H Whitley, W Andrew Heaton SH. Evaluation of the properties of components prepared and stored after holding of whole blood units for 8 and 24 hours at ambient temperature. Transfusion. 1st ed. 2011;1:7–14.
- Huppertz TWM -A. PGLURNKGLB. Impact of constant storage temperatures and multiple warming cycles on the quality of stored red blood cells. Int J Transfusion Med [Internet]. 2014;106(1):45–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23909508/#:~:text=Conclusion%3A Red cells can be,assays employed in this study.>
- Kevin P Blaine 1 2, Irene Cortés-Puch 1, Junfeng Sun 1, Dong Wang 1, Steven B Solomon 1 JF. Impact of different standard red blood cell storage temperatures on human and canine RBC hemolysis and chromium survival. J Transfus [Internet]. 2019;59(1):347–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/trf.14997>
- Kiswari R. Hematologi dan Transfusi. 1st ed. Erlangga, editor. Jakarta: Erlangga; 2014.
- Maurer-spurej E, Pfeiler G, Maurer N, Lindner H, Glatter O, Devine D V. Room Temperature Activates Human Blood Platelets. 2001;81(4):581–92.
- Nwogoh B, Transfusion B, State E, Transfusion B, State R. The Peripheral Blood Film. Peripher Blood Film. 1914;12(2):71–9.
- Nugraha G. Panduan Pemeriksaan Hematologi Dasar [Internet]. 2nd ed. Media T, editor. Jogjakarta: Trans Info Media; 2015. Available from: <https://onsearch.id/Record/IOS3448.slims-4518>
- Santosa B. DIFFERENTIAL COUNTING BERDASARKAN ZONA BACA ATAS DAN BAWAH PADA PREPARAT DARAH APUS. In: Prosiding [Internet]. Unimus; 2010. Available from: file:///C:/Users/Dell/Downloads/45-96-1-PB.pdf
- Zolla BBADNRL. Red blood cell storage and cell morphology. J Britis Blood Transfus Society [Internet]. 2012;22(2):90–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3148.2012.01139.x>