

PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI TERHADAP GAMBARAN MORFOLOGI SEDIAAN APUSAN DARAH TEPI (SADT) DENGAN PEWARNAAN GIEMSA

Untari Dewi Kurnia Wati^{1*}, Ismarwati², Rosmita Anggraeni³

Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta^{1,2,3}

*Corresponding Author : untariidewi@gmail.com

ABSTRAK

Pemeriksaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dengan pewarnaan Giemsa digunakan untuk mengevaluasi bentuk dan kondisi sel darah dalam mendiagnosis penyakit. Proses fiksasi dengan menggunakan *methanol absolute* sebelum pewarnaan harus dilakukan dengan tepat agar sel darah tidak rusak atau muncul artefak. Penelitian ini bertujuan membandingkan pengaruh fiksasi selama 3 menit dan 4 menit terhadap morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit pada SADT. Penelitian eksperimental dengan desain penelitian *one shot case study*. Populasi penelitian yaitu mahasiswa Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Sampel yang digunakan sebanyak 18 sampel yang dihitung dengan rumus federer dan dipilih secara *simple random sampling*. SADT difiksasi dengan *methanol absolute*, kemudian diwarnai dengan Giemsa. Data diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan dibandingkan dengan uji *Kruskal-Wallis* ($\alpha = 0,05$). Morfologi SADT waktu fiksasi 3 menit didapatkan hasil sel eritrosit sebagian besar baik dengan 15 preparat (83,3%), leukosit sebagian besar baik dengan 12 preparat (66,7%), serta trombosit didapatkan hasil cukup baik dengan 8 preparat (44,4%). Waktu fiksasi 4 menit morfologi sel eritrosit sebagian besar baik dengan 15 preparat (83,3%), leukosit 13 preparat (72,2%) memiliki hasil yang baik, serta trombosit 10 preparat (55,6%) memiliki hasil baik. Data tidak terdistribusi normal karena nilai *sig.* $< 0,05$ dan uji *Kruskal-Wallis* diatas nilai signifikansi yaitu $p > 0,05$. Fiksasi dengan *methanol absolute* selama 3 menit dan 4 menit tidak memberikan pengaruh terhadap hasil morfologi sel eritrosit, leukosit, dan trombosit pada SADT dengan pewarnaan Giemsa. Waktu fiksasi 3 menit sudah cukup optimal untuk melihat morfologi sel darah pada SADT.

Kata kunci : fiksasi, morfologi, variasi, waktu

ABSTRACT

*The examination of Peripheral Blood Smear (PBS) utilizing Giemsa staining is employed to assess the morphology and status of blood cells for illness diagnosis. The fixation process utilizing 100% methanol before staining must be executed precisely to prevent any damage to blood cells or the emergence of artifacts. This study is to investigate the effects of 3-minute and 4-minute fixation on the morphology of erythrocytes, leukocytes, and platelets in the PBS. This is an experimental study employing a one-time case study design. The study population comprised students from Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. A total of 18 samples were utilized, determined using the Federer formula and selected through simple random sampling. The PBS was preserved in 100% methanol and subsequently stained with Giemsa. The Shapiro-Wilk test was employed to assess normality, and the Kruskal-Wallis test was utilized for comparison ($\alpha=0.05$). The findings indicated that the morphology of PBS with a 3-minute fixation period revealed that erythrocytes were mostly good in 15 preparations (83.3%), leukocytes were predominantly good in 12 preparations (66.7%), and platelets were satisfactory in 8 preparations (44.4%). Simultaneously, SADT with a 4-minute fixation duration indicated that erythrocytes were good in 15 preparations (83.3%), leukocytes were good in 13 preparations (72.2%), and platelets were good in 10 preparations (55.6%). The results exhibited a non-normal distribution, as the significance value was <0.05 , while the Kruskal-Wallis test obtained a *p*-value >0.05 , suggesting there was no effect of fixation time on the morphology of the three blood cells. Fixation in 100% methanol for 3 and 4 minutes did not affect the morphology of erythrocytes, leukocytes, and platelets in PBS with Giemsa staining. A fixation duration of 3 minutes is sufficiently ideal to observe the morphology of blood cells in PBS.*

Keywords : fixation, morphology, variation, time

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium merupakan sarana yang digunakan untuk mengetahui dan memonitoring kondisi Kesehatan. Pemeriksaan hematologi salah satu pemeriksaan yang sering dilakukan di laboratorium. Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang digunakan sebagai penunjang diagnosis yang berhubungan dengan terapi dan prognosis (Dekayana, A, 2019). Pemeriksaan hematologi dibagi menjadi pemeriksaan hematologi rutin dan pemeriksaan hematologi khusus. Pemeriksaan hematologi rutin yang digunakan yaitu pemeriksaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) (Triyani & Izzati, 2023). Pemeriksaan SADT adalah pemeriksaan mikroskopis dengan mengamati morfologi sel darah serta komponen lain untuk memberikan informasi mengenai keadaan hematologi seseorang (Nugraha, 2015). Pemeriksaan SADT digunakan untuk konfirmasi hasil apabila terjadi ketidaksesuaian hasil alat *Hematology Analyzer* (Kurniasih et al., 2024). Sediaan apusan darah tipis sering digunakan pada laboratorium hematologi untuk melihat morfologi sel darah. Dalam mempermudah pengamatan morfologi sel darah diperlukan pewarnaan SADT, salah satu pewarnaan yang dianjurkan oleh *The International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) yaitu pewarnaan giemsa (Bain, 2015). Pewarnaan Giemsa merupakan pewarnaan yang umum digunakan untuk pemeriksaan SADT karena mempunyai ketahanan hasil pewarnaan yang baik dan jelas (Nugraha, 2015).

Pewarnaan Giemsa merupakan pewarna yang terdiri dari eosin, azur B, dan methylen blue yang digunakan untuk mewarnai sel darah melalui fiksasi dengan metil alkohol. Pewarnaan giemsa dilakukan setelah proses fiksasi dengan menggunakan larutan fiksatif yaitu *methanol absolute* yang memiliki kandungan air kurang dari 3%, fiksasi harus segera dilakukan setelah sediaan apusan kering angin supaya tidak menimbulkan latar belakang bewarna biru (Triyani & Izzati, 2023). Fiksasi berfungsi untuk merekatkan apusan darah tepi agar tidak terkelupas dari kaca objek dan membantu menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Waktu fiksasi yang optimal dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penggunaan agen fiksasi yang digunakan. Methanol yang terlalu lama terpapar udara terbuka dapat menguap, sehingga konsentrasiannya dapat menurun. Hal ini dapat berdampak pada morfologi sel darah (Musyarifah & Agus, 2018). Fiksasi menggunakan *methanol absolute* dilakukan selama 5 menit yang dapat berfungsi untuk membuka dinding methanol (Warsita et al., 2019). Menurut Kiswari, apusan darah tepi dilakukan fiksasi dengan diletakkan pada rak preparat dan digenangi dengan methanol absolute selama 2-3 menit (Kiswari, 2014).

Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit serta pusat Mikrobiologi Amerika Serikat memberikan rekomendasi fiksasi metanol sediaan apusan darah tepi selama 15 menit yang dilakukan sebelum proses pewarnaan Giemsa (Relich et al., 2020). Sedangkan menurut Barbara J setelah apusan darah tepi dikering udarakan, apusan darah tepi digenangi dengan *methanol absolute* selama 10-20 menit (Bain, 2015). Kualitas morfologi sel darah yang buruk pada SADT akibat waktu fiksasi yang tidak tepat dapat menyebabkan kesalahan, sehingga hasil yang dikeluarkan menjadi tidak akurat (Febriyani & Santosa, 2020). Berdasarkan penelitian tersebut melatarbelakangi peneliti untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh variasi waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit terhadap morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit pada sediaan apusan darah tepi dengan pewarnaan giemsa. Penelitian waktu fiksasi tersebut dilakukan untuk menghindari fiksasi yang berkepanjangan yang dapat mempengaruhi pewarnaan SADT.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh variasi waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit terhadap morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit dengan menggunakan pewarnaan giemsa. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat membantu memberikan gambaran hasil mikroskopis morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit terhadap variasi waktu fiksasi pada sediaan apusan darah tepi dengan menggunakan pewarnaan giemsa.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Hematologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Desain penelitian yang digunakan yaitu *one shot case study*. Populasi penelitian yaitu mahasiswa Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta angkatan 2021. Jumlah sampel yang digunakan dihitung dengan rumus *Federer* sehingga didapatkan jumlah sebanyak 18 mahasiswa. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan metode *simple random sampling*. Penelitian ini menggunakan darah EDTA yang diperiksa terlebih dahulu dengan alat *Hematology Analyzer* untuk mengkonfirmasi kondisi darah. Darah dibuat apusan pada kaca obyek. Apusan darah yang dibuat ditunggu hingga kering, setelah apusan kering dilakukan fiksasi dengan menggunakan *methanol absolute*. Fiksasi dilakukan dengan menggunakan 2 perlakuan yaitu dengan waktu 3 menit dan 4 menit. Apusan yang sudah selesai difiksasi diberi pewarna Giemsa dan ditunggu selama 50 menit. Cuci preparat pada air mengalir, kemudian dikeringkan dan preparat siap untuk diperiksa. Pemeriksaan morfologi apusan darah diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X. Hasil pengamatan morfologi sel darah pada penelitian ini telah divalidasi oleh ATLM.

Data dikumpulkan dari hasil pengamatan secara mikroskopis pada apusan darah berdasarkan variasi waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik SPSS yaitu uji normalitas *Shapiro-wilk* dan uji *Kruskall Wallis* untuk menentukan adanya pengaruh variasi waktu fiksasi terhadap morfologi sel darah pada Sediaan Apusan Darah Tepi, dengan ketetapan nilai signifikansi $<0,05$.

HASIL

Tabel 1. Tabel Hasil Mikroskopis Sel Darah

Sel darah	Waktu fiksasi	Morfologi		Total	%
		Baik	%		
Eritrosit	3 menit	15	83,3 %	3	16,7 %
	4 menit	15	83,3 %	3	16,7 %
Leukosit	3 menit	12	66,7 %	6	33,3 %
	4 menit	13	72,2 %	5	27,8 %
Trombosit	3 menit	8	44,4 %	10	55,6 %
	4 menit	10	55,6 %	8	44,4 %

Berdasarkan tabel 1, hasil mikroskopis sediaan apusan dengan waktu fiksasi 3 menit didapatkan hasil morfologi sel eritrosit sebagian besar baik dengan 15 preparat (83,3%), leukosit didapatkan hasil sebagian besar baik dengan 12 preparat (66,7%), serta trombosit didapatkan hasil baik dengan 8 preparat (44,4%). Waktu fiksasi 4 menit didapatkan hasil sel eritrosit sebagian besar baik dengan 15 preparat (83,3), leukosit didapatkan 13 preparat (72,2%) memiliki hasil baik, serta trombosit didapatkan 10 preparat (55,6%) memiliki hasil baik .

Tabel 2. Uji Normalitas dengan *Shapiro-Wilk*

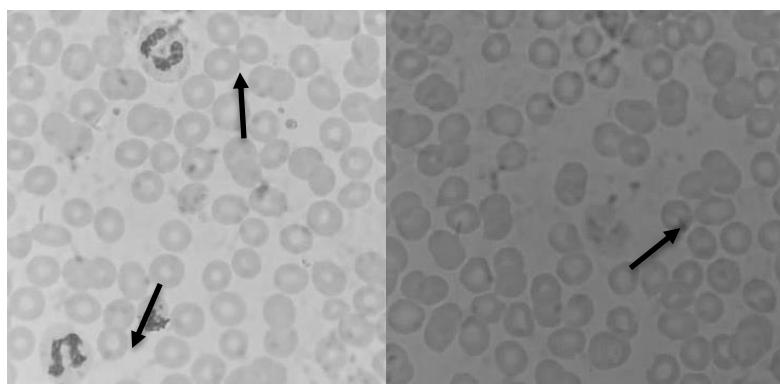
Sel darah	Waktu fiksasi	Statistik	Sig. (p-value)
Eritrosit	3 menit	0,457	0,001
	4 menit	0,457	0,001
Leukosit	3 menit	0,601	0,001
	4 menit	0,566	0,001
Trombosit	3 menit	0,688	0,001
	4 menit	0,638	0,001

Tabel 2, uji normalitas dengan jumlah data <50 menggunakan uji *shapiro-wilk* yang pada penelitian dengan waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit didapatkan nilai signifikansi 0,001 pada semua sel darah. Data tersebut tidak terdistribusi normal karena nilai p-value < 0,05. Sehingga apabila data tidak terdistribusi normal maka akan analisis data dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

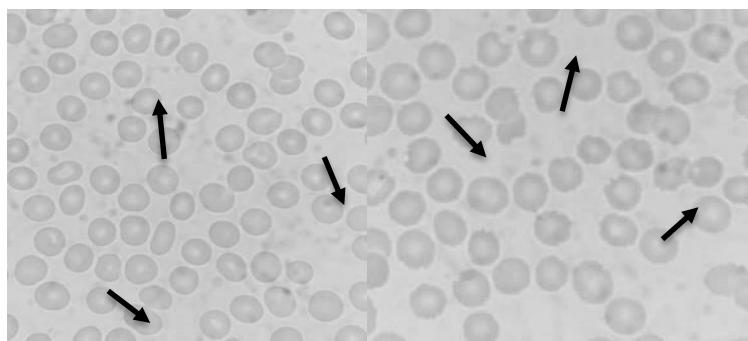
Tabel 3. Uji Kruskall Wallis

Sel Darah	Waktu Fiksasi	Mean Rank	
Eritrosit	3 menit	18,50	
	4 menit	18,50	
Leukosit	3 menit	19,00	
	4 menit	18,00	
Trombosit	3 menit	19,50	
	4 menit	17,50	
Sel darah	Eritrosit	Leukosit	Trombosit
Asymp. Sig	1,000	0,721	0,511

Tabel 3, hasil analisis data dengan uji *Kruskal-Wallis* diperoleh hasil setiap sel darah dengan waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit memiliki nilai mean rank yang berbeda. Eritrosit pada waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit keduanya memiliki nilai yang sama yaitu 18,50, sedangkan pada leukosit dan trombosit nilai *mean rank* lebih tinggi pada waktu fiksasi 3 menit. Nilai signifikansi pada eritrosit yaitu sig. 1,000, leukosit sig. 0,721, dan trombosit sig. 0,511. Dari hasil analisis data tersebut tidak ada pengaruh antara waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit dengan morfologi sel darah seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit karena nilai p-value dari hasil analisis tersebut diatas nilai signifikansi yaitu <0,05. Morfologi sel eritrosit, leukosit, dan trombosit dengan waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit dilihat dibawah mikroskop hasilnya tidak mengalami perbedaan, berikut hasil morfologi sel darah yang terlihat baik dan buruk.



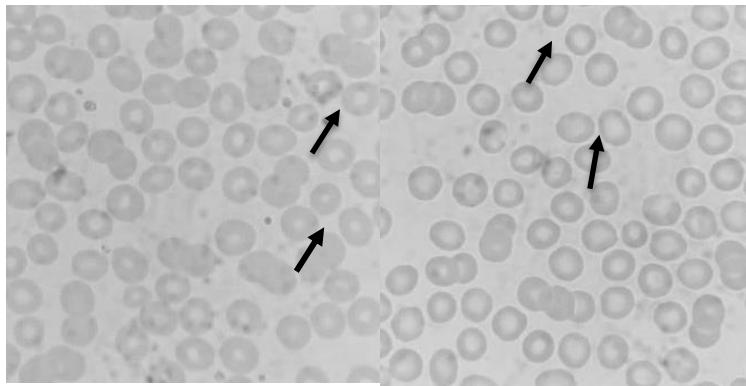
Gambar 1. Morfologi Leukosit Baik (Kiri) dan Leukosit Buruk (Kanan)



Gambar 2. Morfologi Eritrosit Baik (Kiri) dan Eritrosit Buruk (Kanan)

Gambar 1 hasil morfologi leukosit yang baik terlihat inti yang bewarna ungu dan sitoplasma bewarna merah muda, serta morfologi leukosit buruk terlihat inti dan sitoplasmanya tidak terwarnai baik sehingga tidak terlihat jelas.

Gambar 2 morfologi eritrosit yang baik terlihat seperti cakram bikonkaf dengan bagian tengahnya bewarna pucat dan bewarna merah muda, morfologi eritrosit yang buruk terjadi pengkerutan sel (sel krenasi) akibat lingkungan yang hipertonis.



Gambar 3. Morfologi Trombosit Baik (Kiri) dan Trombosit Buruk (Kanan)

Gambar 3 morfologi trombosit yang baik terwarnai ungu yang sedikit pekat, sedangkan morfologi trombosit yang buruk terwarnai ungu yang samar sehingga tidak terlalu terlihat.

PEMBAHASAN

Fiksasi merupakan proses melekatkan sel pada kaca objek, berfungsi untuk mencegah adanya denaturasi protein, mencegah adanya autolisis, dan menghentikan proses metabolisme dengan tidak mengubah bentuk sel, serta membantu penyerapan warna dengan sempurna dalam melisikan sel (Nayak, 2018). Proses fiksasi yang kurang tepat akan menyebabkan perubahan morfologi dan warna pada sel darah. Menurut Ghofur *et al.*, (2022) dalam penelitiannya proses fiksasi tidak dapat dilakukan terlalu lama karena dapat mempengaruhi pewarnaan serta menyebabkan terjadinya penghambatan pada enzim intraseluler. Pengamatan secara makroskopis sediaan apusan dengan fiksasi 3 menit dan 4 menit memberikan hasil yang kurang baik, karena banyak sediaan apusan yang setelah dilakukan pengecatan kemudian dicuci dengan air mengalir terkelupas dari *obyek glass*. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Yusrizal, (2023) yang mendapatkan hasil tidak ada sediaan SADT yang terkelupas dengan menggunakan waktu fiksasi 1 menit, 5 menit, 10 menit, dan 20 menit. Sediaan apusan terkelupas dapat terjadi karena larutan fiksasi yang digunakan yaitu methanol yang tidak absolute. Methanol yang tidak absolute disebabkan oleh proses penguapan yang dapat mengubah konsentrasi methanol sehingga membuat proses fiksasi tidak sempurna (Resty Basuki *et al.*, 2023).

Hasil pengamatan sel eritrosit secara mikroskopis pada waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit menunjukkan hasil eritrosit yang baik dengan 15 preparat (83,3 %) dan 3 preparat (16,7 %) dengan hasil buruk pada masing-masing waktu fiksasi. Secara morfologi eritrosit yang baik terlihat seperti cakram bikonkaf dengan bagian tengahnya bewarna pucat, namun pada eritrosit yang buruk terdapat sel yang terlihat mengkerut dan tidak terwarnai dengan baik. Eritrosit normal apabila dilihat dibawah mikroskop tampak bewarna merah dengan bagian tengahnya bewarna pucat (Kiswari, 2014). Morfologi eritrosit yang mengalami pengerutan terjadi pada salah satu preparat pada waktu fiksasi 4 menit. Pengerutan sel eritrosit ini terjadi akibat cairan didalam sel keluar karena adanya tekanan osmosis dari lingkungan eritrosit yang hipertonis. Faktor lain yang mengakibatkan pengerutan yaitu perubahan suhu yang tidak stabil saat

pengeringan preparat apusan sebelum maupun sesudah fiksasi (Warsita et al., 2019). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ghofur et al., (2022) yaitu pada waktu fiksasi 3 menit menghasilkan morfologi eritrosit yang baik tanpa adanya pengerutan oleh sel eritrosit, sedangkan pada waktu fiksasi 5 menit menghasilkan morfologi eritrosit dengan kualitas sedang karena ditemukan pengerutan eritrosit (sel krenasi). Penelitian lain yang dilakukan oleh Triyani & Izzati, (2023) juga menyebutkan bahwa pada waktu fiksasi 3 menit menghasilkan morfologi eritrosit yang baik tanpa pengerutan dan pada waktu fiksasi 5 menit menghasilkan pengerutan pada sel eritrosit.

Hasil pengamatan sel leukosit secara mikroskopis pada waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit menghasilkan morfologi leukosit yang cukup baik dengan 12 preparat (66,7 %) pada fiksasi 3 menit dan 13 preparat (72,2 %) pada fiksasi 4 menit. Leukosit yang baik secara morfologi inti sel dan sitoplasmanya terlihat jelas, sedangkan pada leukosit yang buruk inti sel tidak terlihat jelas dan sitoplasmanya tidak terlihat. Leukosit normal apabila dilihat di mikroskop sitoplasmanya bewarna merah muda dan inti nya bewarna biru lembayung hingga ungu (Aini et al., 2023). Penelitian ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Museyaroh et al. (2025) yaitu pada waktu fiksasi 3 menit dan 5 menit ditemukan sel leukosit yang berinti dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa waktu fiksasi ini sudah cukup efektif untuk mempertahankan struktur inti leukosit. Inti sel dapat bewarna ungu dihasilkan oleh interaksi antara pewarnaan Giemsa dengan DNA pada inti sel.

Hasil pengamatan sel trombosit pada waktu fiksasi 3 menit menunjukkan hasil 8 preparat (44,4 %) baik dan 10 preparat (55,6 %) buruk serta waktu fiksasi 4 menit menunjukkan hasil 10 preparat (55,6 %) baik dan 8 preparat (44,4 %) buruk. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa waktu fiksasi 4 menit memiliki morfologi trombosit yang lebih baik dibandingkan dengan waktu fiksasi 3 menit. Morfologi trombosit yang baik ditunjukkan dengan warna trombosit yang bewarna ungu, sedangkan trombosit dengan morfologi buruk ditunjukkan dengan warna ungu yang samar bahkan tidak terlihat. Gambaran mikroskopis trombosit yang baik apabila dilihat di mikroskop tampak tidak memiliki inti, bulat, memiliki sitoplasma yang bewarna biru dengan granula bewarna ungu kemerahan (Riswanto, 2013). Sel darah seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit dapat terwarnai dengan baik karena Giemsa mengandung campuran eosin, *methylene blue*, dan *methylene azzure*, yang dimana eosin memiliki sifat asam dan *methylene blue* bersifat basa (Iswara et al., 2019).

Penyerapan pewarnaan giemsa terjadi karena reaksi asam basa dimana eosin yang bersifat asam akan menghasilkan warna merah hingga merah muda pada eritrosit yang bersifat basa, *methylene blue* yang memiliki sifat basa menghasilkan warna pada inti dan granula leukosit yang bersifat asam, serta *methylene azzure* yang memiliki sifat basa menghasilkan warna pada sitoplasma leukosit yang bersifat asam (Puasa, 2017). Trombosit yang bersifat asam akan terwarnai oleh *methylene azzure* yang bersifat basa (McKenzie, 2014). Hasil penelitian dengan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil data tidak terdistribusi normal. Data tidak terdistribusi normal karena semua sel darah pada waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit memiliki nilai signifikansi 0,001 dengan *p*-value < 0,05. Data yang tidak terdistribusi normal kemudian dianalisis dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* yang didapatkan nilai mean rank pada eritrosit dengan waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit yaitu 18,50, sedangkan pada leukosit dan trombosit nilai mean rank waktu fiksasi 3 menit lebih tinggi daripada waktu fiksasi 4 menit yaitu leukosit 19,00 dan trombosit 19,50.

Tingginya nilai mean rank dapat menunjukkan bahwa semakin baik hasil morfologi yang dihasilkan oleh waktu fiksasi tersebut. Hasil uji dengan *Kruskal-Wallis* didapatkan diatas nilai signifikansi yaitu <0,05, yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit terhadap morfologi sel darah pada SADT. Hal ini menunjukkan bahwa waktu fiksasi untuk SADT pada pewarnaan giemsa dapat menggunakan kedua waktu fiksasi tersebut. Waktu fiksasi 3 menit sudah cukup optimal untuk melihat morfologi sel darah pada SADT sesuai

dengan pendapat Kiswari dan penelitian terdahulu, namun waktu fiksasi 4 menit dapat juga digunakan apabila terjadi penumpukan sediaan saat pemeriksaan yang menyebabkan terjadinya penambahan waktu fiksasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) memberikan hasil kurang baik karena sebagian apusan banyak yang terkelupas dari *obyek glass* dan secara mikroskopis dengan uji statistik dengan SPSS, pada uji normalitas didapatkan data tidak terdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil diatas nilai signifikansi yaitu $<0,05$ yang dapat disimpulkan bahwa penggunaan waktu fiksasi 3 menit dan 4 menit tidak memberikan pengaruh terhadap morfologi sel darah pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada kepala dan staff laboratorium hematologi Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta karena telah memfasilitasi selama proses penelitian ini berlangsung. Ucapan terimakasih juga kepada orang tua atas doa dan dukungan yang tidak pernah terputus, serta teman-teman yang selalu memberikan semangat dan bantuan dalam penelitian dan penyusunan naskah ini. Penelitian ini tidak akan berhasil tanpa adanya kerja sama dan bantuan dari semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

Aini, N., Khasanah, H., Husen, F., & Yuniati, N. I. (2023). Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitorea ternatea*). *Jurnal Bina Cipta Husada*, XIX(1), 1858–4616.

Bain, Barbara J. (2015). *Blood Cells: A Practical Guide*. Hoboken.NJ: John Wiley & Sons.

Dekayana A. (2019). Hitung Laju Endap Darah (LED)(pp 1). Ponorogo: Uwais Inspirasi Indonesia.

Febriyani, R., & Santosa, B. (2020). Kualitas Makroskopis dan Mikroskopis Morfologi Lekosit pada Sadt Berdasarkan Variasi Suhu Pengeringan. *Medika Respati : Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(4), 245–252.

Ghofur, A., Suparyati, T., & Fatimah, S. (2022). Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) pada Pengecatan Giemsa terhadap Morfologi Sel Darah Merah. *Jurnal Kebidanan Harapan Ibu Pekalongan*, 9(1), 27–33.

Iswara, A., Fakultas, A. K., Keperawatan, I., Kesehatan, D., Yuni, F., Wulandari, S., Widiyani, S. D., Semarang, M., Sitohistoteknologi, L., & Universitas, K. (2019). Caesar (*Caesalpinia extract*) : Pewarna Alami Tanaman Indonesia Pengganti Giemsa. *Jurnal Labora Medika*, 3, 45–49.

Kiswari Rukman. (2014). *Hematologi & Transfusi*. Jakarta : Erlangga.

Kurniasih, E., & Dyah Astuti, T. (2024). Perbandingan Hasil Hitung Jumlah Sel Darah Spesimen Darah Vena EDTA Menggunakan Metode Manual Dan Otomatis *Comparison Of Result Counting Blood Cell Number Of EDTA Vena Blood Specimen Using Manual And Automatic Methods*. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology (BJMLT)*, 6(2), 495–501. <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>

McKenzie, S.B. 2014. *Clinical Laboratory Hematology*. Pearson Education Inc. New Jersey.

Museyaroh, Nabilah, M. H., & Endarini, L. H. (2025). *Analysis of the Leukocyte Profile for Peripheral Blood Smear Stained with Diff-Count Based on Fixation Time Variation*. *Health Dynamics*, 2(2), 47–55. <https://doi.org/10.33846/hd20202>

Musyafirah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443. <https://doi.org/10.25077/jka.v7.i3.p443-453.2018>

Nayak, R. (2018). *Histopathology Techniques and its Management*. New Delhi. India: *Jaypee Brothers medical Publishers*.

Nugraha, Gilang., (2015). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Cetakan 1. Jakarta : CV. Media Trans Info

Puasa, R. (2017). Studi Perbandingan Jumlah Parasit Malaria Menggunakan Variasi Waktu Pewarnaan Pada Konsentrasi Giemsa 3 % di Laboratorium RSUD Dr. H. Chasan Boesoirie Ternate. *Jurnal Riset Kesehatan*, 6(2), 23–27. <http://ejournal.poltekkes-smg.ac.id/ojs/index.php/jrk>

Relich, R. F., Feldmann, H., & Haddock, E. (2020). *Methanol Fixation, but not Giemsa Staining, Inactivates Ebola and Lassa Viruses in Peripheral Blood Smears Made on Plastic Microscope Slides*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(5), 2085–2090. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0840>

Resty Basuki, D., Prihardini, & Juwita Hesturini, R. (2023). Aktivitas Antianemia Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus Tricolor L.*) Pada Mencit Yang Diinduksi NaNO₂ *Antianemia Activity Test Of Red Spinning (Amaranthus Tricolor L.) Leaves Ethanol Extract On Mice (Mus Musculus) Induced By NaNO₂*. *In J. Sintesis Submitted : 29 Mei* (Vol. 4, Issue 1).

Triyani, P., & Izzati, A. (2023). Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Sediaan Apusan Darah Tepi pada Pewarnaan Giemsa terhadap Morfologi Sel Darah Merah. *Health Information*, 15(3), 1–7.

Warsita, N., Fikri, Z., Ariami, P., Jurusan, A., Kesehatan, K., & Mataram, I. (2019). Pengaruh Lama Penundaan Pengecatan Setelah Fiksasi Apusan Darah Tepi Terhadap Morfologi Eritrosit. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 6(2), 125–129.

Yusrizal. (2023). Pengaruh Lama Fiksasi Methanol Terhadap Kualitas Pewarnaan Giemsa Sediaan Apusan Darah Tepi [Skripsi]. Universitas Perintis Indonesia.