VARIASI VOLUME DAN WAKTU PEWARNAAN WRIGHT-GIEMSA TERHADAP KUALITAS MORFOLOGI SEL POLIMORFONUKLEAR

Zaky Wahyudin[1)], Nur Aini Hidayah Khasanah[2*)]
Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratroium Medis STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto
nuraini@stikesbch.ac.id

Abstract : *Peripheral Blood Smear (PBS) examination is a crucial method for evaluating blood cell morphology, including polymorphonuclear (PMN) leukocytes, whose appearance is highly dependent on staining quality. Wright–Giemsa staining is widely used because it provides excellent contrast between the nucleus, cytoplasm, and cytoplasmic granules. This study aimed to determine the effect of staining volume and staining time on the morphological quality of PMN cells. A true experimental study with a post-test-only design was conducted using six EDTA-anticoagulated blood samples that met the inclusion criteria. Three staining volumes (1.5 mL, 2.0 mL, and 2.5 mL) and three staining times (8, 12, and 16 minutes) were evaluated. The Kruskal-Wallis test demonstrated that variations in staining volume and staining time significantly affected PMN morphological quality ($p < 0.05$). Post hoc Mann–Whitney analysis showed that the optimal staining combinations for basophils and eosinophils were 8 minutes–2.0 mL, 12 minutes–1.5 mL, 12 minutes–2.5 mL, 16 minutes–1.5 mL, and 16 minutes–2.0 mL, producing optimal contrast of nuclear, cytoplasmic, and granule staining. For neutrophils, the optimal combinations were 8 minutes–2.0 mL, 12 minutes–1.5 mL, and 16 minutes–1.5 mL. The 8-minute–2.0 mL combination is recommended as the optimal staining condition because it provides high-quality staining while minimizing staining time and reagent consumption. In contrast, the 16-minute–2.5 mL combination resulted in over-staining, making PMN morphology difficult to evaluate. Further studies should investigate staining times shorter than 8 minutes and a wider range of staining volumes to determine the minimum conditions required for optimal staining quality.*
Keywords: *peripheral blood smear, polymorphonuclear cell morphology, staining volume, staining time, Wright-Giemsa.*

Abstrak: Pemeriksaan sediaan apus darah tepi (SADT) merupakan metode penting untuk menilai morfologi sel darah, termasuk sel polimorfonuklear (PMN), yang sangat dipengaruhi oleh kualitas pewarnaan. Pewarnaan Wright-Giemsa banyak digunakan karena mampu memberikan kontras yang baik antara inti, sitoplasma, dan granula sel. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh variasi volume dan waktu pewarnaan terhadap kualitas morfologi sel PMN. Penelitian eksperimental murni dengan desain post-test only menggunakan enam sampel darah EDTA yang memenuhi kriteria inklusi. Variasi volume pewarnaan meliputi 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL, sedangkan waktu pewarnaan 8, 12, dan 16 menit. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa variasi volume dan waktu pewarnaan berpengaruh signifikan terhadap kualitas morfologi sel PMN ($p<0,05$). Uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan beberapa kombinasi memberikan hasil optimal, yaitu 8 menit–2 mL, 12 menit–1,5 mL, 12 menit–2,5 mL, 16 menit–1,5 mL, dan 16 menit–2 mL untuk sel basofil dan eosinofil, sedangkan neutrofil optimal pada kombinasi 8 menit–2 mL, 12 menit–1,5 mL, dan 16 menit–1,5 mL. Kombinasi 8 menit–2 mL direkomendasikan sebagai kondisi terbaik karena lebih efisien dalam waktu dan penggunaan reagen, sementara kombinasi 16 menit–2,5 mL menyebabkan over-staining sehingga morfologi sel sulit diamati. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengevaluasi waktu pewarnaan di bawah 8 menit dan variasi volume yang lebih luas..
Kata kunci: sediaan apus darah tepi, sel polimorfonuklear, volume pewarnaan, waktu pewarnaan, Wright-Giemsa.

A. Pendahuluan

Pemeriksan sediaan apus darah tepi (SADT) merupakan metode penting dalam bidang hematologi untuk menilai morfologi eritrosit, leukosit dan trombosit secara mikroskopis serta mendukung penegakan diagnosis berbagai kondisi fisiologis maupun patologis (Muflihah *et al*., 2024). Selain itu, SADT juga dapat digunakan untuk mendeteksi parasit darah, seperti *Plasmodium* dan mikrofilaria, meskipun fungsi utamanya adalah mengevaluasi morfologi serta menghitung diferensial leukosit yang berperan dalam respon imun tubuh (Nurjanah *et al*., 2025; Khasanah *et al*., 2023). Berdasarkan morfologi inti dan granulasinya, leukosit dibagi menjadi sel mononuklear (MN) dan polimorfonuklear (PMN), dimana perubahan jumlah dan morfologi sel PMN sering dikaitkan dengan infeksi, inflamasi, alergi, serta kelainan hematologi (Fathun *et al.*, 2025).

Ketepatan identifikasi morfologi sel PMN sangat dipengaruhi oleh kualitas sediaan, teknik pewarnaan, serta interpretasi mikroskopis (Khasanah *et al*., 2023). Metode pewarnaan Romanowsky, seperti Wright, Giemsa, dan kombinasi Wright-Giemsa, banyak digunakan karean mampu memberikan kontras yang baik antara inti, sitoplasma, dan granula sel. Kombinasi Wright-Giemsa diketahui dapat meningkatkan kualitas visualisasi morfologi melalui interaksi zat warna basa dan asam, sehingga menghasilkan perbedaan warna yang lebih jelas pada komponen sel darah (Rinny & Sherly Rosalinda, 2018).

Validitas hasil pemeriksaan SADT dipengaruhi oleh berbagai faktor, terutama volume dan waktu pewarnaan. Vu *et al*., (2021) melaporkan bahwa penggunaan pewarna Wright-Giemsa dengan perbandingan volume 1:1 dan waktu pewarnaan selama 12 menit mampu menghasilkan morfologi sel darah yang utuh, warna yang homogen, serta kontras inti dan sitoplasma yang jelas. Selain itu, kondisi tersebut juga menunjukkan kesetabilan sediaan yang baik, bahkan masih dapat dipertahankan hingga lebih dari delapan bulan penyimpanan tanpa perubahan warna yang signifikan. Namun demikian, penggunaan waktu pewarnaan yang lebih lama berpotensi meningkatkan intensitas warna yang berlebih, sedangkan waktu yang lebih singkat dapat menyebabkan pewarnaan kurang optimal (Wantini & Huda, 2021). Hingga saat ini, belum terdapat standar baku terkait variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa khususnya untuk pengamatan sel PMN, sehingga masih terjadi variasi antar laboratorium.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini penting dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa terhadap kualitas morfologi sel PMN pada SADT. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kondisi pewarnaan yang optimal, sehingga dapat meningkatkan mutu pemeriksaan SADT di laboratorium dalam mendukung ketepatan diagnosis di laboratorium.

B. Metodologi Penelitian

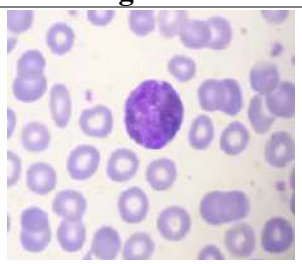
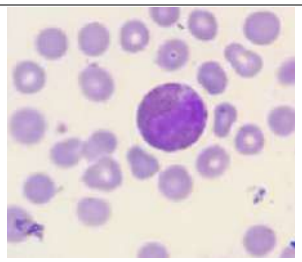
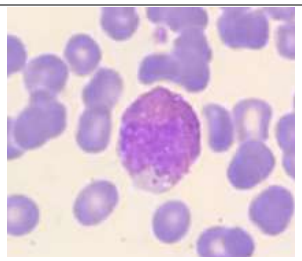
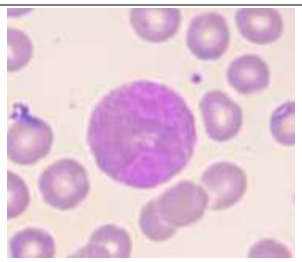
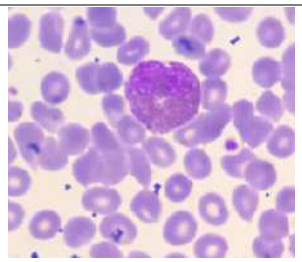
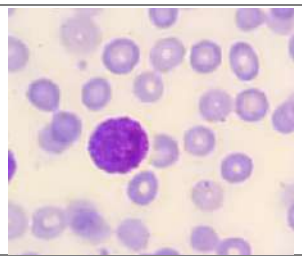
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *post-test only* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor I adalah pewarnaan Wright-Giemsa dengan perbandingan 1:1 yang divariasikan berdasarkan volume, yaitu 1,5 mL (750 µL + 750 µL), 2 mL (1000 µL + 1000 µL), dan 2,5 mL (1250 µL + 1250 µL). Faktor II adalah variasi waktu pewarnaan, yaitu 8, 12, dan 16 menit, sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan (3×3). Pengambilan sampel darah dilakukan di Laboratorium Hematologi dan Kimia Klinik STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto. Pemeriksaan hematologi di Laboratorium Hematologi Rumah Sakit Umum Muhammadiyah Siti Aminah Bumiayu, serta pembuatan dan pembacaan SADT di Laboratorium Analis Kesehatan SMK Semesta Bumiayu. Sampel penelitian berupa darah vena dari subjek sehat, yaitu mahasiswa Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis. Teknik pengambilan sampel menggunakan purposive sampling

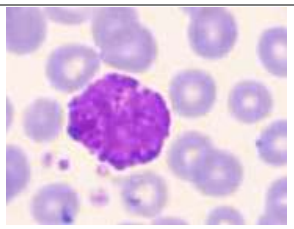
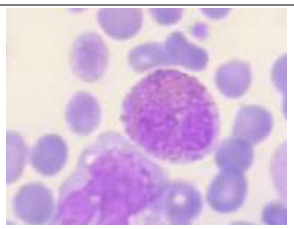
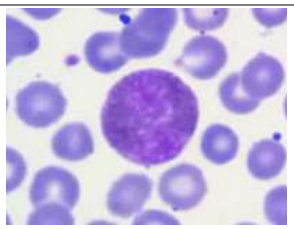
berdasarkan kriteria tertentu (Sugiyono, 2017). Jumlah sampel mengacu pada Anggreani *et al*., (2025), yaitu 36 preparat SADT dari 6 responden yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia berpartisipasi. Alat yang digunakan meliputi mikroskop, *object glass*, pipet tetes, rak pewarnaan, *beaker glass*, gelas ukur, *needle, tourniquet*, mikropipet, pH meter, batang pengaduk, label, serta alat pelindung diri (APD) seperti jas laboratorium, masker, dan sarung tangan. Bahan yang digunakan meliputi darah EDTA, pewarna Wright, pewarna Giemsa, larutan pH *buffer*, *aquadest*, minyak imersi, kapas alkohol *swab*, kapas kering, plester, Pengambilan sampel darah dilakukan secara vena dengan prosedur standar, dimulai dari penentuan vena melalui palpasi, pemasangan tourniquet, hingga proses penusukan menggunakan jarum dengan sudut ±25°. Darah kemudian diaspirasi secara perlahan, dan setelah jarum dilepas, area penusukan ditekan menggunakan kapas kering serta ditutup dengan plester. Sampel darah selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung EDTA. Pembuatan sediaan apus darah tepi (SADT) dilakukan dengan metode dorong menggunakan object glass sebagai kaca penggeser pada sudut 30°-45°, sehingga terbentuk apusan darah tipis sepanjang ±3–4 cm dengan ketebalan yang merata, kemudian dikeringkan di udara. Pewarnaan dilakukan menggunakan metode modifikasi Wright-Giemsa dengan variasi volume 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL. Preparat terlebih dahulu ditetesi pewarna Wright hingga seluruh apusan terendam dan didiamkan selama 2 menit, kemudian ditambahkan pewarna Giemsa hingga menutupi seluruh permukaan apusan dengan variasi waktu 8, 12, dan 16 menit. Setelah proses pewarnaan, preparat dibilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Pembacaan SADT dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x menggunakan minyak imersi oleh panelis yang memenuhi kriteria sebagai Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM), dari instalasi laboratorium yang berbeda untuk meminimalkan subjektivitas dan meningkatkan validitas hasil pengamatan. Penilain Kualitas Morfologi Sel PMN didasarkan pada: 1) Kejelasan segmentasi inti, 2) Kejelasan granula sitoplasma, 3) Kontras inti sitoplasma, dan 4) Keseragaman dan intensitas pewarna Adapun kriteria skor yang digunakan yaitu: 1) over-staining, 2) tidak jelas, 3) cukup jelas, dan 4) jelas. Data penelitian berupa skor kualitas visualisasi sel PMN yang mencakup kejelasan segmentasi inti, ketajaman granula sitoplasma, kontras inti-sitoplasma, serta keseragaman dan intensitas pewarnaan. Analisis data diawali secara deskriptif untuk memberikan gambaran umum hasil pewarnaan pada setiap variasi perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*. Apabila data berdistribusi normal dan homogen ($p>0,05$), maka analisis dilanjutkan menggunakan uji parametrik *Two-Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh variasi volume, waktu pewarnaan, serta interaksi keduanya terhadap kualitas visualisasi sel PMN. Jika terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$), dilakukan uji lanjut (*post hoc*) menggunakan *Tukey HSD* atau *Bonferroni*. Apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas, maka digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* sebagai uji lanjut. Tingkat kemaknaan statistik ditetapkan pada $p<0,05$.

C. Hail dan Pembahasan

Penelitian ini mengevaluasi pengaruh variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa terhadap kualitas morfologi sel PMN pada sediaan apus darah tepi (SADT). Hasil penelitian mengenai variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa terhadap kualitas morfologi sel PMN pada SADT disajikan sebagai berikut:

Tabel 4.1. Hasil Pengamatan Sel Basofil dengan Pewarnaan Wright-Giemsa Waktu 8 Menit, 12 Menit dan 16 Menit pada Volume 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml Perbesaran 100x

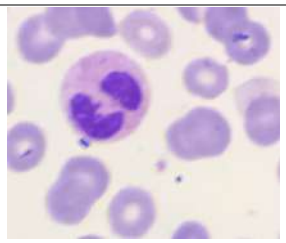
Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Basofil	Rata-rata Skor	Kategori
8 menit	1,5 ml		3	Cukup jelas
	2 ml		4	Jelas
	2,5 ml		3	Cukup jelas
12 menit	1,5 ml		4	Jelas
	2 ml		3	Cukup jelas
	2,5 ml		3	Cukup jelas

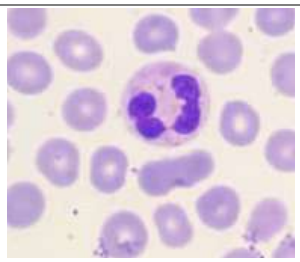
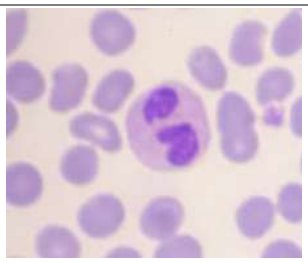
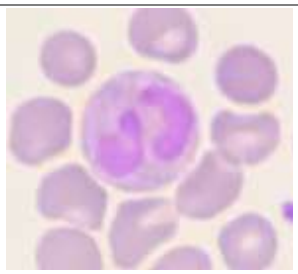
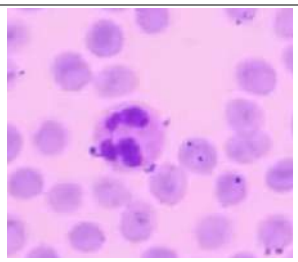
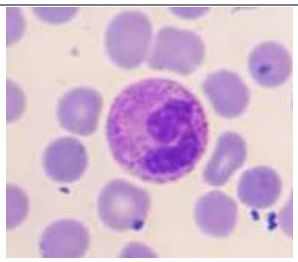
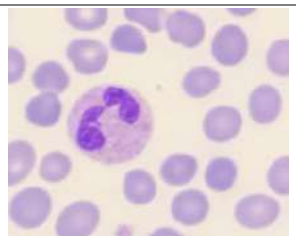
Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Basofil	Rata-rata Skor	Kategori
16 menit	1,5 ml		4	Jelas
	2 ml		4	Jelas
	2,5 ml		1	*Over-staining*

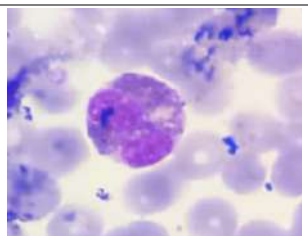
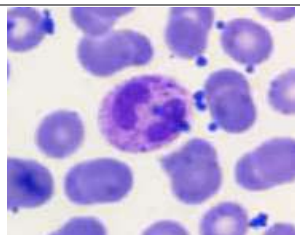
Tabel 4.1 menunjukkan bahwa pada waktu pewarnaan 8 menit, volume 1,5 mL dan 2,5 mL menghasilkan rata-rata skor 3 (cukup jelas), sedangkan volume 2 mL memperoleh skor tertinggi yaitu 4 (jelas), menunjukkan hasil pewarnaan basofil yang paling optimal. Waktu 12 menit, volume 1,5 mL dan 2 mL tetap memberikan kualitas morfologi yang jelas dengan skor 4. Sementara volume 2,5 mL diperoleh skor 3. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan volume memengaruhi kualitas visualisasi. Pada waktu 16 menit, volume 1,5 mL dan 2 mL masih menunjukkan kualitas yang jelas (skor 4), namun volume 2,5 mL mengalami penurunan signifikan menjadi skor 1 (*over-staining*). Secara umum, kombinasi volume 2 mL dengan waktu pewarnaan 8–16 menit memberikan hasil morfologi sel basofil yang paling optimal. Penggunaan volume yang terlalu besar dengan waktu yang lebih lama cenderung menurunkan kualitas pewarnaan.

Berdasarkan variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa, diperoleh hasil pengamatan morfologi sel eosinofil sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil Pengamatan Sel Eosinofil dengan Pewarnaan Wright-Giemsa Waktu 8 Menit, 12 Menit dan 16 Menit pada Volume 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml Perbesaran 100x

Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Eosinofil	Rata-rata Skor	Kategori
8 menit	1,5 ml		3	Cukup jelas

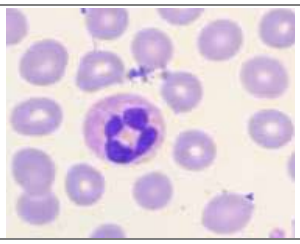
Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Eosinofil	Rata-rata Skor	Kategori
	2 ml		4	Jelas
	2,5 ml		3	Cukup jelas
	1,5 ml		4	Jelas
12 menit	2 ml		3	Cukup jelas
	2,5 ml		4	Jelas
16 menit	1,5 ml		3	Cukup jelas

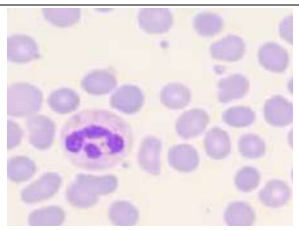
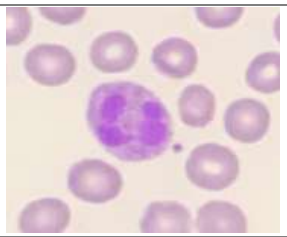
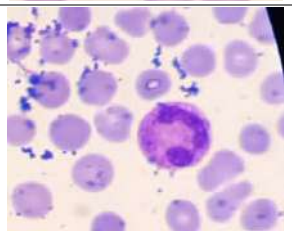
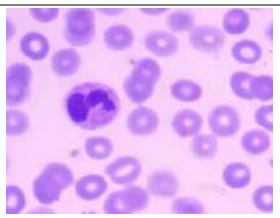
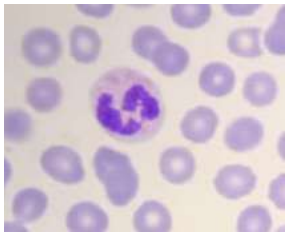
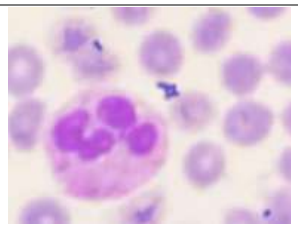
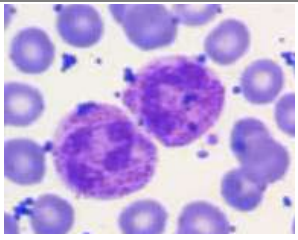
Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Eosinofil	Rata-rata Skor	Kategori
	2 ml		4	Jelas
	2,5 ml		1	*Over-staining*

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa pada waktu pewarnaan 8 menit, volume 1,5 mL dan 2,5 mL menghasilkan rata-rata skor 3 (cukup jelas), volume 2 mL memperoleh skor 4 (jelas). Waktu 12 menit, volume 1,5 mL menunjukkan kualitas terbaik (skor 4), sementara volume 2 mL mendapatkan skor 3, yang mengindikasikan bahwa peningkatan waktu pewarnaan tidak selalu memberikan hasil optimal pada setiap volume. Waktu 16 menit, volume 2 mL kembali menunjukkan kualitas terbaik (skor 4), sedangkan volume 1,5 mL memperoleh skor 3. Volume 2,5 mL mengalami penurunan signifikan menjadi skor 1 (*over-staining*), yang menunjukkan bahwa kombinasi volume besar dan waktu pewarnaan yang lama menyebabkan pewarnaan berlebihan sehingga detail inti dan granula eosinofil kurang jelas. Secara umum, kombinasi volume 2 mL dengan waktu pewarnaan 8 dan 16 menit memberikan hasil morfologi eosinofil yang paling optimal.

Hasil pengamatan morfologi sel neutrofil menggunakan variasi volume dan waktu pewarnaan Wright-Giemsa disajikan sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil Pengamatan Sel Neutrofil dengan Pewarnaan Wright-Giemsa Waktu 8 Menit, 12 Menit dan 16 Menit pada Volume 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml Perbesaran 100x

Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Neutrofil	Rata-rata Skor	Kategori
8 menit	1,5 ml		3	Cukup jelas
	2 ml		4	Jelas

Waktu	Volume	Gambaran morfologi sel Neutrofil	Rata-rata Skor	Kategori
	2,5 ml		3	Cukup jelas
12 menit	1,5 ml		4	Jelas
	2 ml		3	Cukup jelas
	2,5 ml		3	Cukup jelas
16 menit	1,5 ml		4	Jelas
	2 ml		3	Cukup jelas
	2,5 ml		1	Over-staining

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa waktu pewarnaan 8 menit, volume 1,5 mL dan 2,5 mL menghasilkan rata-rata skor 3, volume 2 mL memperoleh skor 4 (jelas). Waktu 12 menit, volume 1,5 mL menunjukkan kualitas terbaik (skor 4), sementara volume 2 mL

memperoleh skor 3. Waktu 16 menit, volume 1,5 mL tetap menunjukkan hasil optimal (skor 4), sedangkan volume 2 mL memperoleh skor 3. Namun, volume 2,5 mL mengalami penurunan kualitas dengan skor 1 (*over-staining*), yang menandakan bahwa kombinasi volume besar dan waktu pewarnaan yang lama menyebabkan pewarnaan berlebihan sehingga detail morfologi neutrofil menjadi kurang jelas. Secara umum, hasil terbaik diperoleh pada kombinasi volume 2 mL dengan waktu 8 menit serta volume 1,5 mL pada waktu 12–16 menit, dimana mampu memberikan kualitas pewarnaan neutrofil paling optimal dengan inti multilobus dan granula sitoplasma tampak jelas dan kontras.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* pada sel PMN menunjukkan bahwa sebagian besar kombinasi waktu dan volume pewarnaan memiliki nilai signifikansi $p>0,05$, sehingga data dinyatakan berdistribusi normal. Namun, pada sel basofil dan eosinofil dengan waktu pewarnaan 8 menit dan volume 1,5 mL diperoleh nilai $p<0,05$, yang menunjukkan data tidak berdistribusi normal. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak seluruh kelompok perlakuan memenuhi asumsi normalitas, meskipun secara umum data cenderung berdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menunjukkan bahwa sel basofil memiliki nilai signifikansi sebesar 0,014 ($p<0,05$), sehingga data dinyatakan tidak homogen. Sementara itu, sel eosinofil dan neutrofil memiliki nilai signifikansi masing-masing sebesar 0,090 dan 0,142 ($p>0,05$), yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Adanya data yang tidak berdistribusi normal serta tidak homogen pada beberapa kelompok perlakuan menyebabkan analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis.*

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada sel basofil, eosinofil, dan neutrofil masing-masing sebesar $p=0,000$; $p=0,004$; dan $p=0,001$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa variasi waktu dan volume pewarnaan secara bersama-sama berpengaruh signifikan terhadap kualitas morfologi sel PMN. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji lanjut (*post hoc*) menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan secara lebih spesifik. Hasilnya disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.4. Hasil Uji Mann-Whitney Variasi Volume dan Waktu Pewarnaan Wright-Giemsa terhadap Sel Basofil

Perlakuan	*Mean rank*	Mean ± SD	Notasi
8 menit 2 ml	6,50	4.00 ± 0,39	a
12 menit 1,5 ml	6,50	4.00 ± 0,42	a
12 menit 2,5 ml	6,25	3,25 ± 0,48	a
16 menit 1,5 ml	6,50	3,75 ± 0,34	a
16 menit 2 ml	6,50	4,00 ± 0,30	a
8 menit 2,5 ml	6,13	3,00 ± 0,68	ab
12 menit 2 ml	5,72	3,00 ± 0,71	b
8 menit 1,5 ml	2,50	3,00 ± 0,27	c
16 menit 2,5 ml	2,50	1,75 ± 0,77	d

Berdasarkan Tabel 4.7, hasil uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan morfologi sel basofil yang ditunjukkan oleh nilai *mean rank*, rerata skor, dan notasi huruf. Kelompok dengan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0,05$), sedangkan notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p<0,05$). Kelompok perlakuan 8 menit 2 mL, 12 menit 1,5 mL, 12 menit 2,5 mL, 16 menit 1,5 mL, dan 16 menit 2 mL memiliki notasi yang sama yaitu "a", yang menunjukkan bahwa kelima kelompok tersebut tidak berbeda signifikan dan memiliki kualitas pewarnaan terbaik dengan *mean rank* tinggi (6,25–6,50).

Kelompok 8 menit 2,5 mL memiliki notasi "ab", yang menunjukkan bahwa kualitas pewarnaannya tidak berbeda signifikan baik dengan kelompok "a" maupun "b", sehingga masih tergolong cukup baik. Sementara itu, kelompok 8 menit 1,5 mL memiliki notasi "c" dengan *mean rank* lebih rendah (2,50), yang menunjukkan kualitas pewarnaan lebih rendah dibandingkan sebagian besar kelompok lainnya. Kelompok 16 menit 2,5 mL memiliki notasi "d" dengan skor terendah, yang menunjukkan kualitas pewarnaan paling rendah akibat *over-staining*, sehingga detail morfologi sel basofil menjadi kurang jelas.

Tabel 4.5. Hasil Uji Mann-Whitney Variasi Volume dan Waktu Pewarnaan Wright-Giemsa terhadap Sel Eosinofil

Perlakuan	*Mean rank*	Mean ± SD	Notasi
8 menit 2 ml	6,50	4.00 ± 0,37	a
12 menit 1,5 ml	6,50	4.00 ± 0,35	a
12 menit 2,5 ml	6,38	3,25 ± 0,41	a
16 menit 1,5 ml	6,38	3,75 ± 0,52	a
16 menit 2 ml	6,25	4,00 ± 0,38	a
8 menit 2,5 ml	6,25	3,00 ± 0,58	ab
12 menit 2 ml	5,50	3,00 ± 0,60	b
8 menit 1,5 ml	2,50	3,00 ± 0,27	c
16 menit 2,5 ml	2,50	1,75 ± 0,85	d

Hasil uji lanjut Mann-Whitney pada Tabel 4.8 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 8 menit 2 mL, 12 menit 1,5 mL, 12 menit 2,5 mL, 16 menit 1,5 mL, dan 16 menit 2 mL memiliki notasi yang sama yaitu "a", yang menandakan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok tersebut. Kelompok ini menunjukkan kualitas pewarnaan eosinofil terbaik dengan nilai *mean rank* tinggi (6,25–6,50), sehingga dapat dikategorikan optimal. Kelompok 8 menit 2,5 mL memiliki notasi "ab", yang menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan baik dengan kelompok "a" maupun "b", sehingga kualitas pewarnaannya masih tergolong baik, namun belum optimal. Sementara itu, kelompok 8 menit 1,5 mL memiliki notasi "c" dengan *mean rank* lebih rendah (2,50), yang menunjukkan kualitas pewarnaan lebih rendah dibandingkan sebagian besar kelompok lainnya. Kelompok 16 menit 2,5 mL memiliki notasi "d" dengan nilai rata-rata terendah, yang menunjukkan kualitas pewarnaan paling rendah. Hal ini diduga akibat terjadinya *over-staining* akibat kombinasi waktu pewarnaan yang terlalu lama dan volume pewarna yang berlebih, sehingga detail morfologi sel eosinofil menjadi kurang jelas dan sulit diamati.

Tabel 4.6. Hasil Uji Mann-Whitney Variasi Volume dan Waktu Pewarnaan Wrigth-Giemsa terhadap Sel Neutrofil

Perlakuan	*Mean rank*	Mean ± SD	Notasi
8 menit 2 ml	6,50	4.00 ± 0,41	a
12 menit 1,5 ml	6,50	4.00 ± 0,28	a
16 menit 1,5 ml	6,38	3,25 ± 0,53	a
16 menit 2 ml	6,13	3,75 ± 0,53	ab
12 menit 2 ml	5,88	4,00 ± 0,75	ab
12 menit 2,5 ml	5,50	3,00 ± 0,68	b
8 menit 1,5 ml	5,88	3,00 ± 0,43	b
8 menit 2,5 ml	5,88	3,00 ± 0,74	b
16 menit 2,5 ml	2,50	1,75 ± 0,76	c

Hasil uji lanjut Mann-Whitney pada Tabel 4.9 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 8 menit 2 mL, 12 menit 1,5 mL, dan 16 menit 1,5 mL memiliki notasi yang sama yaitu "a", yang menandakan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok tersebut. Kelompok ini menunjukkan kualitas pewarnaan neutrofil terbaik dengan nilai *mean rank* tertinggi (6,38–6,50). Kelompok dengan kualitas menengah ditunjukkan oleh notasi "ab" (16 menit 2 mL dan 12 menit 2 mL) serta notasi "b" (12 menit 2,5 mL; 8 menit 1,5 mL; dan 8 menit 2,5 mL). Kelompok ini tidak berbeda signifikan dengan sebagian kelompok lainnya, sehingga berada pada kategori transisi dengan kualitas pewarnaan yang cukup baik, namun belum optimal. Sementara itu, kelompok 16 menit 2,5 mL memiliki notasi "c" dengan nilai *mean rank* terendah (2,50), yang menunjukkan kualitas pewarnaan paling rendah. Hal ini disebabkan oleh kombinasi waktu pewarnaan yang terlalu lama dan volume pewarna yang berlebih sehingga terjadi *over-staining*, yang mengakibatkan detail morfologi sel neutrofil menjadi kurang jelas saat diamati.

Pewarnaan Wright-Giemsa merupakan modifikasi metode Romanowsky yang menggabungkan keunggulan pewarna Giemsa dan Wright sehingga mampu memperjelas komponen basofilik dan eosinofilik sel (Rinny & Sherly Rosalinda, 2018). Dalam penelitian ini, variasi volume dan waktu pewarnaan terbukti mempengaruhi kualitas morfologi sel PMN (basofil, eosinofil, dan neutrofil), mulai dari hasil optimal hingga under-staining dan over-staining.

Secara umum, kombinasi **8 menit–2 mL** serta **12–16 menit dengan 1,5–2 mL** menghasilkan kualitas morfologi terbaik, ditandai dengan segmentasi inti jelas, granula sitoplasma tampak tegas, serta kontras inti-sitoplasma yang baik. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($p<0,05$), menegaskan bahwa waktu dan volume pewarnaan berpengaruh nyata terhadap kualitas preparat.

Kualitas pewarnaan sel basofil yang optimal diperoleh pada variasi waktu 8–16 menit dengan volume larutan Wright-Giemsa 1,5–2,0 mL. Kondisi tersebut memungkinkan granula basofil yang bersifat basofilik memiliki afinitas tinggi terhadap komponen zat warna basa, sehingga granula dan inti sel dapat terwarnai dengan jelas (Nurjanah *et al*., 2025). Pada kondisi optimal, sel basofil menunjukkan granula sitoplasma berwarna ungu gelap hingga hitam yang tersebar merata dan masih memungkinkan pengamatan morfologi inti maupun granula secara jelas (Victoria *et al*., 2019). Namun demikian, penggunaan waktu dan volume berlebih (16 menit, 2,5 mL) menyebabkan *over-staining* sehingga menutupi detail sel, terutama batas inti dan granula (Kaza *et al*., 2022;Riyadi *et a*l., 2021). Sebaliknya, penggunaan volume pewarna yang terlalu rendah menyebabkan *under-staining*, sehingga granula dan karakteristik morfologi sel basofil menjadi kurang jelas (Yati *et al*., 2023).

Kualitas pewarnaan **sel eosinofil** yang optimal diperoleh pada kombinasi waktu 8 menit–2 mL, 12 menit (1,5–2,5 mL), dan 16 menit–2 mL. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa keseimbangan antara waktu kontak dan volume larutan Wright-Giemsa berperan penting dalam menghasilkan pewarnaan morfologi eosinofil yang optimal. Granula eosinofilik memiliki afinitas tinggi terhadap komponen zat warna asam, terutama eosin Y, sehingga pada kondisi pewarnaan yang optimal granula tampak berwarna merah-oranye khas, sedangkan inti sel berwarna ungu kebiruan dengan batas yang jelas (Rinny & Sherly Rosalinda, 2018). Ketidakseimbangan waktu dan volume menyebabkan pewarnaan kurang optimal (Horobin, 2010), sedangkan paparan berlebih menimbulkan over-staining (Wantini & Huda, 2021). Hasil ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya terkait pentingnya keseimbangan waktu dan jumlah larutan pewarna dalam mewarnai sel eosinofil (Indrawan *et al*., 2025).

Kualitas pewarnaan **sel neutrofil** terbaik diperoleh pada kombinasi waktu pewarnaan 8 menit–2 mL, 12 menit–1,5 mL, dan 16 menit–1,5 mL. Neutrofil memiliki

karakteristik granula dengan afinitas terhadap komponen zat asam maupun basa, sehingga memerlukan kondisi pewarnaan yang seimbang agar inti, sitoplasma dan granula dapat teridentifikasi dengan baik (Bodzas *et al*., 2023). Pada kondisi pewarnaan yang optimal, inti neutrofil akan berwarna ungu kebiruan dengan struktur lobus yang jelas, sedangkan sitoplasma berwarna merah muda dengan granula halus. Waktu pewarnaan yang terlalu lama atau penggunaan volume pewarna berlebih menyebabkan latar belakang gelap dan penurunan kejelasan morfologi neutrofil (Potutu, 2022; Muflihah *et al.*, 2024). Variasi teknik pewarnaan juga mempengaruhi sensitivitas granulosit terhadap intensitas warna (Fathun *et al*., 2025).

Secara keseluruhan, kualitas morfologi sel PMN dipengaruhi oleh keseimbangan antara waktu dan volume pewarnaan. Volume terlalu sedikit menyebabkan distribusi warna tidak merata, sedangkan volume berlebih menimbulkan endapan dan mengganggu visualisasi (Nur *et al.,* 2023). Waktu pewarnaan yang terlalu singkat maupun terlalu lama juga dapat menurunkan kualitas preparat (Ridwani, 2024). Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi **8 menit dengan 2 mL** direkomendasikan sebagai kondisi optimal karena efisien dan konsisten menghasilkan morfologi terbaik.

Hasil ini berbeda dengan Vu *et al.,* (2021), yang melaporkan bahwa pewarnaan Wright-Giemsa dengan perbandingan 1:1 menghasilkan kualitas morfologi leukosit terbaik pada waktu 12 menit karena memberikan keseimbangan intensitas warna dan kejernihan latar belakang. Dalam penelitian ini, kualitas optimal dicapai pada waktu yang lebih singkat, yaitu 8 menit. Perbedaan ini kemungkinan dipengaruhi oleh variasi kondisi pewarnaan, seperti karakteristik reagen, konsentrasi larutan, dan teknik preparasi, yang dapat mempengaruhi hasil akhir pewarnaan (Oktiyani *et al*., 2023).

Secara mekanisme, pewarnaan Wright-Giemsa terjadi melalui interaksi elektrostatik antara zat warna basa (azure B) dengan DNA/RNA serta zat warna asam (eosin) dengan protein sitoplasma, menghasilkan warna khas (Kiernan, 2010). Pembentukan kompleks azure B–eosin (efek Romanowsky) meningkatkan kontras inti dan granula sel melalui mekanisme *template effect*. Meskipun demikian, penelitian ini memiliki keterbatasan berupa penilaian subjektif berbasis skoring visual dan tidak adanya evaluasi stabilitas reagen, sehingga masih diperlukan penelitian lanjutan dengan kontrol variabel yang lebih ketat.

D. Penutup

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa variasi waktu dan volume pewarnaan Wright-Giemsa berpengaruh signifikan terhadap kualitas morfologi sel PMN yang meliputi basofil, eosinofil, dan neutrofil pada SADT. Beberapa kombinasi perlakuan, yaitu 8 menit 2 mL serta 12–16 menit dengan volume 1,5–2,5 mL, terbukti mampu menghasilkan kontras warna granula, inti, dan sitoplasma yang optimal, khususnya pada sel basofil dan eosinofil. Sementara itu, pada sel neutrofil, kombinasi optimal diperoleh pada 8 menit 2 mL, 12 menit 1,5 mL, dan 16 menit 1,5 mL. Secara keseluruhan, kombinasi 8 menit dengan volume 2 mL direkomendasikan sebagai kondisi paling optimal karena lebih efisien dari segi waktu dan penggunaan reagen, serta tetap menghasilkan distribusi zat warna yang merata dengan kualitas morfologi yang jelas dan kontras pada seluruh jenis sel PMN.

Daftar Pustaka

Anggreani, L., Aprianie, W., Hidayati, L., & Romaidha, I. (2025). Morfologi Sel Darah pada Sadt Tipis Menggunakan Ekstrak Bunga Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Kesehatan Tambusai*, *6*, 4999–5007.

Bodzas, A., Kodytek, P., & Zidek, J. (2023). A High-Resolution Large-Scale Dataset of

Pathological and Normal White Blood Cells. *Scientific Data*, 1–5.

Fathun, D., Anggraeni, R., & Suryanto. (2025). Gambaran Morfologi Sel Granulosit dengan Pewarnaan Wright, Giemsa, dan May Grunwald-Giemsa. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Mahasiswa Malikussaleh*, *4*(4), 106–115.

Horobin, R. W. (2010). How Romanowsky Stains Work and Why They Remain Valuable — Including a Proposed Universal Romanowsky Staining Mechanism and a Rational. *Biotechnic & Histochemistry*, *86*(1), 36–51.

Indrawan, D. W., Nailufar, Y., Rahmawati, Y., & Yogyakarta, U. A. (2025). Literature Review : Efektivitas Variasi Konsentrasi dan Waktu Inkubasi Giemsa pada Kualitas Pewarnaan Apusan Darah Tepi. *Jurnal Medika Indonesia*, *6*, 7–16.

Kaza, N., Ojaghi, A., & Robles, F. E. (2022). Virtual Staining, Segmentation, and Classification of Blood Smears for Label-Free Hematology Analysis. *BME Frontires*, *2022*, 14.

Khasanah, N. A. 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), 67–76.

Kiernan, J. A. (2010). Ask the Expert on Chemical Reactions and Staining Mechanisms What is the Difference Argyrophilic Reactions. *Departement of Anatomy and Cell Biology*, 127–136.

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. *Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, *10*(1), 126–135.

Nur, I., Uslafiah Anwar, A., Hartini, S., Dwi, D., & Prihandono, S. (2023). Gambaran Pewarnaan Giemsa, Wright dan Wright-Giemsa pada Slide Apusan Darah Tepi. *MMLTJ(Mahakam Medical Laboratory Technology Journal)*, *3*(1), 50–59.

Nurjanah, M. H., Azizah, M. I. F., Amirah, Djami, S. W., Novilla, A., Manik, S. E., Sulasmi, Rakhmawati, A., Maulidiyanti, E. T. S., Dekayana, A., Widaystuti, R., Ayanti, B. P., Agamonanza, F., Noviar, G., Arsyad, M., Ersanto, N., Bariyah, K., Marsudi, T. L. O., & Aliviameita, A. (2025). *Hematologi Teknologi Laboratorium Medis*.

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. *Jurnal Tropical Health and Medical Research*, *5*(1), 34–45.

Potutu, N. W. R. (2022). Optimalisasi Waktu Pewarnaan Giemsa 10% pada Pemeriksaan Mikroskop Malaria. *Literature Review*, 6–10.

Ridwani, S. (2024). Kualitas Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) Menggunakan Pewarna Giemsa Tanpa Pengenceran. *Jurnal STIKes Karsa Husada*, *22*.

Rinny, A., & Sherly Rosalinda. (2018). Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, Dan Kombinasi Wright-Giemsa. *Jurnal Surya Medika*, *3*(2), 5–12.

Sugiyono. (2017). Metode Penelitian Pendidikan:(Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif dan R & D). In *Alfabeta* (pp. 21–45).

Victoria, Y., Slamet, & Supriyanto. (2019). Analisa Sel Basofil Pada Sediaan Apus Darah Tepi dengan Metode Pewarnaan Giemssa, Wright dan Modifikasi Wright Giemsa. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, *2*(1), 8–11.

Vu, Q. H., Van, H. T., Tran, V. T., Huynh, T. D. P., Nguyen, V. C., & Le, D. T. (2021) Development of a Robust Blood Smear Preparation Procedure for External Quality Assessment. *Practical Laboratory Medicine*, *27*(June), e00253.

Wantini, S., & Huda, M. (2021). Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pengecatan Giemsa

pada Pemeriksaan Mikroskopik Malaria. *Jurnal Analis Kesehatan*, *10*(1).

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*.