

SKRIPSI

**PENGARUH DURASI PEMAKAIAN REAGEN METHYLENE
BLUE PADA PEWARNAAN DIFF QUICK TERHADAP
KUALITAS SEDIAAN SITOLOGI CAIRAN PLEURA**



**DEBI ASMAWATI
PO7134225120**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN PALEMBANG
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN 2026**

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan sitologi cairan pleura merupakan salah satu metode diagnostik yang penting dalam bidang patologi anatomi untuk mengevaluasi berbagai kondisi klinis, seperti efusi pleura akibat infeksi, proses inflamasi, maupun keganasan. Pemeriksaan ini berperan dalam membantu penegakan diagnosis melalui identifikasi perubahan morfologi sel yang terdapat dalam cairan pleura (Orell dan Sterrett, 2020). Oleh karena itu, kualitas sediaan sitologi yang baik sangat diperlukan agar struktur sel dapat diamati dengan jelas dan akurat di bawah mikroskop.

Kualitas sediaan sitologi sangat dipengaruhi oleh beberapa tahapan, antara lain proses pengambilan sampel, pembuatan apusan, fiksasi, dan pewarnaan. Tahap pewarnaan merupakan salah satu faktor krusial karena berfungsi untuk meningkatkan kontras antara inti sel dan sitoplasma sehingga mempermudah identifikasi morfologi sel. Salah satu pewarna yang umum digunakan adalah *methylene blue*, yang termasuk dalam pewarna basa dan memiliki afinitas tinggi terhadap komponen asam, khususnya inti sel yang mengandung asam nukleat (Bancroft dan Gamble, 2019).

Secara kimiawi, *methylene blue* akan berikatan dengan struktur sel yang bersifat asam melalui interaksi elektrostatik, sehingga menghasilkan pewarnaan

yang menonjol pada inti sel. Namun, efektivitas pewarnaan ini sangat dipengaruhi oleh kondisi reagen, termasuk konsentrasi, stabilitas, serta frekuensi pemakaian. Penggunaan reagen secara berulang dalam praktik laboratorium dapat menyebabkan penurunan kualitas akibat kontaminasi, pengenceran, maupun degradasi zat aktif, sehingga berdampak pada menurunnya intensitas dan kejernihan warna (Carson dan Hladik, 2021).

Selain faktor kondisi reagen, waktu pewarnaan juga merupakan variabel penting yang mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan. Waktu pewarnaan yang terlalu singkat dapat menyebabkan *under-staining*, di mana struktur sel tampak kurang jelas dan kontras rendah. Sebaliknya, waktu pewarnaan yang terlalu lama dapat menyebabkan *over-staining*, yang ditandai dengan warna yang terlalu gelap sehingga menutupi detail morfologi sel (Kiernan, 2020). Oleh karena itu, diperlukan waktu pewarnaan yang optimal untuk menghasilkan keseimbangan antara intensitas warna dan kejernihan struktur sel.

Dalam praktik sehari-hari di laboratorium, penggunaan reagen methylene blue sering dilakukan secara berulang untuk beberapa sediaan tanpa adanya standar baku mengenai batas pemakaian optimal. Penentuan kapan reagen harus diganti umumnya hanya berdasarkan pengamatan subjektif atau pengalaman tenaga laboratorium, seperti ketika warna mulai tampak pucat atau tidak konsisten. Kondisi ini menunjukkan adanya kesenjangan antara praktik di lapangan dengan kebutuhan akan data ilmiah yang terukur dan terstandar (World Health Organization, 2022).

Selain itu, belum banyak penelitian yang secara spesifik mengkaji hubungan antara variasi waktu pewarnaan dengan ketahanan pemakaian reagen dalam konteks pemeriksaan sitologi cairan pleura. Padahal, kedua faktor tersebut diduga saling berinteraksi dalam menentukan kualitas akhir sediaan. Variasi waktu pewarnaan dapat mempengaruhi seberapa lama reagen masih mampu memberikan hasil pewarnaan yang optimal selama digunakan secara berulang.

Berdasarkan permasalahan tersebut, diperlukan suatu penelitian yang tidak hanya mengevaluasi kualitas pewarnaan pada satu waktu tertentu, tetapi juga menganalisis perubahan kualitas seiring dengan frekuensi pemakaian reagen. Dengan pendekatan ini, dapat diperoleh gambaran mengenai tren penurunan kualitas pewarnaan serta batas optimal penggunaan reagen pada masing-masing variasi waktu pewarnaan.

Penelitian ini dirancang untuk menganalisis pengaruh variasi waktu pewarnaan dan frekuensi pemakaian reagen methylene blue terhadap kualitas sediaan sitologi cairan pleura. Analisis dilakukan menggunakan pendekatan statistik untuk melihat pengaruh masing-masing faktor serta interaksi di antara keduanya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai waktu pewarnaan yang paling optimal sekaligus menentukan batas penggunaan reagen yang masih layak, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam penyusunan standar operasional prosedur (SOP) di laboratorium. Dengan adanya standar yang jelas, diharapkan kualitas hasil pemeriksaan sitologi dapat lebih terjamin, efisiensi penggunaan reagen dapat ditingkatkan, serta risiko

kesalahan interpretasi akibat kualitas sediaan yang kurang baik dapat diminimalkan.

Pemilihan judul penelitian ini didasarkan pada kondisi nyata di laboratorium, di mana penggunaan reagen methylene blue masih dilakukan secara berulang tanpa adanya acuan baku mengenai batas pemakaian optimal dan waktu pewarnaan yang paling efektif. Selain itu, penelitian terkait hubungan antara variasi waktu pewarnaan dan ketahanan pemakaian reagen pada sediaan sitologi cairan pleura masih terbatas. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengkaji lebih lanjut mengenai **“Pengaruh Durasi Pemakaian Reagen *Methylene Blue* Pada Pewarnaan Diff quick Terhadap Kualitas Sediaan Sitologi Cairan Pleura”**, sehingga dapat memberikan data ilmiah yang dapat digunakan sebagai dasar pengambilan keputusan dalam praktik laboratorium.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah diketahuinya pengaruh variasi waktu pewarnaan dan frekuensi pemakaian reagen methylene blue terhadap kualitas sediaan sitologi cairan pleura di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang?

1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimana distribusi statistik kualitas sediaan sitologi cairan pleura berdasarkan variasi waktu pewarnaan *methylene blue* 50 detik (running ke-1), 60 detik (running ke-5), dan 70 detik (running ke-10)?
2. Apakah terdapat perbedaan kualitas sediaan sitologi cairan pleura berdasarkan variasi waktu dan frekuensi pemakaian *methylene blue*?

1.4 Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Diketahui pengaruh variasi waktu pewarnaan dan frekuensi pemakaian reagen *methylene blue* terhadap kualitas sediaan sitologi cairan pleura di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang.

b. Tujuan Khusus

1. Diketahui distribusi statistik kualitas sediaan sitologi cairan pleura berdasarkan variasi waktu pewarnaan *methylene blue* pada 50 detik (running ke-1), 60 detik (running ke-5), dan 70 detik (running ke-10).
2. Diketahui perbedaan kualitas sediaan sitologi cairan pleura berdasarkan variasi waktu dan frekuensi pemakaian reagen *methylene blue*.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan dalam bidang patologi anatomi, khususnya terkait pengaruh variasi waktu pewarnaan dan frekuensi pemakaian reagen methylene blue terhadap kualitas sediaan sitologi. Selain itu, penelitian ini juga dapat menjadi referensi ilmiah bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan optimalisasi teknik pewarnaan dalam pemeriksaan sitologi.

2. Manfaat Praktis

a) Bagi Laboratorium Patologi Anatomi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai waktu pewarnaan yang optimal serta batas pemakaian reagen methylene blue yang masih menghasilkan kualitas sediaan yang baik, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam penyusunan standar operasional prosedur (SOP) di laboratorium. Bagi Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan referensi dan pembelajaran bagi mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis dalam memahami pentingnya standardisasi prosedur teknis pewarnaan dalam pemeriksaan sitologi.

b) Bagi Institusi Pendidikan

Sebagai bahan pembelajaran dan referensi bagi mahasiswa dalam memahami pentingnya optimalisasi teknik pewarnaan serta penerapan analisis statistik dalam penelitian laboratorium.

c) Bagi Peneliti Selanjutnya

Sebagai dasar dan acuan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut yang berkaitan dengan penggunaan reagen pewarna, teknik sitologi, maupun metode analisis kualitas sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aulia, N. (2024). *Perbandingan kualitas sediaan apusan sitologi pleura dengan variasi waktu pewarnaan methylen blue pada metode Diff-Quick* [Karya tulis ilmiah, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang]. Repository Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Repository Poltekkes Tanjungkarang
- Annam, V., Kulkarni, M. H., & Puranik, R. B. (2009). Comparison of rapid staining methods in cytology. *Journal of Cytology*, 26(2), 55–58.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2019). *Theory and practice of histological techniques* (8th ed.). Elsevier.
- Bibbo, M., & Wilbur, D. C. (2019). *Comprehensive cytopathology* (4th ed.).
- Carson, F. L., & Hladik, C. (2015). *Carson and Hladik's histotechnology: A self-instructional text* (4th ed.). American Society for Clinical Pathology Press.
- Chaulin, A. M. (2021). Cardiac troponins metabolism: From biochemical mechanisms to clinical practice. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 10928. <https://doi.org/10.3390/ijms222010928>
- Charisma, A. M., Permatasari, M. I., & Kapri Negara, Y. A. (2024). Effectiveness of using methylene blue dyes in Papanicolaou staining in cytology of ascites fluid. *Journal of Innovative Technology & Engineering*.
- Cibas, E. S., & Ducatman, B. S. (2019). *Cytology: Diagnostic principles and clinical correlates* (5th ed.). Elsevier.
- Gray, W., & McKee, G. T. (2018). *Diagnostic cytopathology* (3rd ed.). Elsevier.
- Horobin, R. W., & Kiernan, J. A. (2019). Understanding staining mechanisms in histology. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(4), 241–247.
- Jameson, J. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2018). *Harrison's principles of internal medicine* (20th ed.). McGraw-Hill Education.
- International Academy of Cytology. (2020). Standardized reporting systems in cytopathology: Current perspectives. *Acta Cytologica*, 64(1–2), 1–10.

Jameson, J. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2018). *Harrison's principles of internal medicine* (20th ed.). McGraw-Hill Education.

Johnston, W. W. (2015). *Diagnostic cytology of serous fluids*. Oxford University Press.

Kiernan, J. A. (2015). *Histological and histochemical methods: Theory and practice* (5th ed.). Scion Publishing.

Koss, L. G., & Melamed, M. R. (2006). *Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases* (5th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Koss, L. G., & Melamed, M. R. (2016). *Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases* (5th ed.). Wolters Kluwer.

Kühnel, W. (2003). *Color atlas of cytology, histology, and microscopic anatomy* (4th ed.). Thieme.

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2020). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease* (10th ed.).

Mendoza, A. S., et al. (2025). Evaluation of optimized toluidine blue stain as an alternative stain for rapid on-site evaluation (ROSE). *Diagnostics*, 15(10), 1223.

Orell, S. R., & Sterrett, G. F. (2012). *Orell and Sterrett's fine needle aspiration cytology* (5th ed.). Churchill Livingstone Elsevier.

Rossi, E. D., & Fadda, G. (2020). The role of cytology in the diagnosis of pleural diseases. *Diagnostic Cytopathology*, 48(6), 489–497. <https://doi.org/10.1002/dc.24400>

Runyon, B. A. (2013). Introduction to the revised AASLD practice guideline management of adult patients with ascites due to cirrhosis. *Hepatology*, 57(4), 1651–1653.

Sari, M., & Oktavia, R. (2023). Perbandingan pewarnaan Giemsa, Diff-Quick dan Papanicolaou preparat efusi pleura. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(3), 2150–2157. Jurnal Kesehatan Tambusai

Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2019). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8th ed.).

- Shidham, V. B., Atkinson, B. F., & Cibas, E. S. (2020). Rapid staining techniques in cytopathology. In V. B. Shidham & B. F. Atkinson (Eds.), *Cytopathologic diagnosis and differential diagnosis of infectious diseases*.
- Shidham, V. B. (2022). *Collection and processing of effusion fluids for cytopathologic evaluation*. CytoJournal, 19(5). https://doi.org/10.25259/CMAS_02_14_2021
- Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2019). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8th ed.).
- Titford, M. (2009). Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. *Journal of Histotechnology*, 32(1), 9–19. <https://doi.org/10.1179/his.2009.32.1.9>
- Porcel, J. M. (2016). Pearls and myths in pleural fluid analysis. *Respirology*, 21(6), 1129–1137. <https://doi.org/10.1111/resp.12776>
- Putri, D. A. (2023). *Perbandingan hasil pewarnaan metode Papanicolaou dan Diff-Quick pada preparat sitologi cairan acites* [Karya tulis ilmiah, Universitas Perintis Indonesia]. Repository Universitas Perintis Indonesia. Repository Universitas Perintis Indonesia
- World Health Organization. (2021). *WHO classification of thoracic tumors* (5th ed.). IARC.