

SKRIPSI

**PENGARUH METODE PEWARNAAN WRIGHT, GIEMSA DAN
MAY GRUNWALD TERHADAP HITUNG JENIS LEUKOSIT
HAPUSAN DARAH KELINCI JANTAN
(Orytolagus cuniculus)**



OLEH :

DARMASTUTI

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1992**

PENGARUH METODE PEWARNAAN WRIGHT, GIEMSA DAN
MAY GRUNWALD TERHADAP HITUNG JENIS LEUKOSIT
HAPUSAN DARAH KELINCI JANTAN
(Oryotolagus cuniculus)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Dokter Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

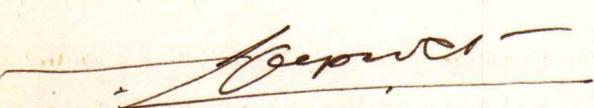
Oleh

DARMASTUTI

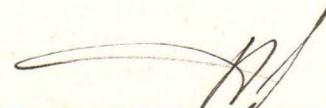
068711335

Menyetujui

Komisi Pembimbing


(Soepartono P, Drh., M.S.)

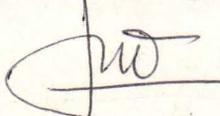
Pembimbing Pertama


(Chusnan Effendi, Drh., M.S.)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh - sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **Dokter Hewan**

Menyetujui
Panitia Penguji



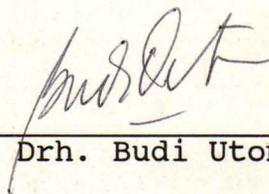
(Didik Handijatno, Drh., M.S.)

Ketua



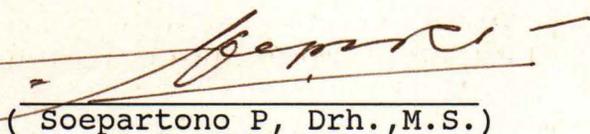
(Retno Sri Wahyuni, Drh., M.S.)

Sekretaris



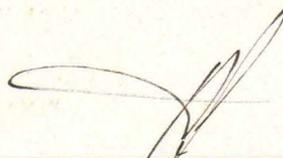
(Drh. Budi Utomo)

Anggota



(Soepartono P, Drh., M.S.)

Anggota



(Chusnan Effendi, Drh., M.S.)

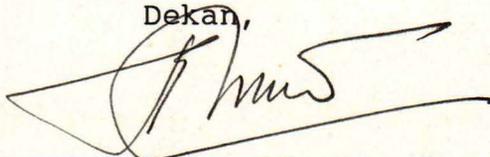
Anggota

Surabaya, 22 Agustus 1992

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



(Dr. Rochiman Sasmita, Drh., M.S.)

NIP. 1303350739

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah ini dengan tiada aral melintang yang berarti. Makalah ini disusun berdasarkan penelitian dengan judul PENGARUH METODE PEWARNAAN WRIGHT, GIEMSA DAN MAY GRUNWALD TERHADAP HITUNG JENIS LEUKOSIT HAPUSAN DARAH KELINCI JANTAN (Oryotolaqus cuniculus). Tujuan penulisan makalah ini untuk memenuhi salah satu syarat dalam menempuh gelar sarjana pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini, tak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga atas bantuan moral dan material serta kesempatan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.
2. Soepartono Partosoewignjo, Drh., M.S. selaku dosen pembimbing I, Chusnan Effendi, Drh., M.S. selaku dosen pembimbing II atas jerih payahnya dalam memberikan bimbingan dan petunjuk selama penelitian.
3. Bapak-Ibu dan kakak adik tercinta yang telah memberi dorongan moral dan material hingga selesainya penulisan ini.

4. Serta semua pihak yang tak dapat penulis sebut satu persatu.

Semoga amal baiknya mendapat balasan yang setimpal dari Tuhan Yang Maha Esa.

Sepenuhnya penulis menyadari bahwa penulisan ini jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan ini. Semoga penulisan ini dapat memberikan informasi ilmiah, bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat.

Surabaya, Juni 1992

Penulis

PENGARUH METODE PEWARNAAN WRIGHT, GIEMSA DAN
MAY GRUNWALD TERHADAP HITUNG JENIS LEUKOSIT
HAPUSAN DARAH KELINCI JANTAN
(Oryotolagus cuniculus)

Darmastuti

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald terhadap hitung jenis leukosit kelinci jantan (Oryotolagus cuniculus).

Duapuluh ekor kelinci jantan berumur 1,5 sampai 2 bulan dengan berat badan 750 sampai 1250 gram yang selama percobaan diberi pakan rumput ad libitum. Pengambilan darah melalui jantung dilakukan dua minggu setelah kelinci diadaptasikan.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap terdiri atas tiga perlakuan, 20 ulangan. Perlakuan pertama dengan pewarnaan Wright, perlakuan kedua dengan Giemsa serta perlakuan ketiga dengan pewarnaan May Grunwald.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hitung jenis leukosit dengan menggunakan metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald tidak terdapat perbedaan. Metode pewarnaan May Grunwald menunjukkan hasil pewarnaan yang paling jelas untuk perbedaan jenis leukosit.

DAFTAR ISI

	HALAMAN
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR GAMBAR	x
PENDAHULUAN	1
Latar belakang masalah	1
Perumusan masalah	4
Tujuan penelitian	5
Manfaat penelitian	5
Hipotesis	5
TINJAUAN PUSTAKA	6
Leukosit	6
Pewarnaan hapusan darah	12
Metode pewarnaan Giemsa	13
Metode pewarnaan Wright	14
Metode pewarnaan May Grunwald	15
MATERI DAN METODE	17
Tempat dan waktu penelitian	17
Materi penelitian	17
Hewan percobaan	17
Alat	18
Bahan	18
Metode penelitian	18
Penghitungan jumlah leukosit	19

Hitung jenis leukosit	20
Pembuatan hapusan darah	20
Pengecatan hapusan darah	21
Pengecatan Wright	21
Pengecatan Giemsa	21
Pengecatan May grunwlad	22
Hitung jenis leukosit	22
Rancangan penelitian	23
HASIL PENELITIAN	24
Jumlah eosinofil	24
Jumlah limfosit	24
Jumlah monosit	25
Jumlah neutrofil	26
Jumlah basofil	26
PEMBAHASAN	28
KESIMPULAN DAN SARAN	32
RINGKASAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
TABEL	27
LAMPIRAN	36
GAMBAR	56

DAFTAR TABEL

Nomor :	Keterangan	Halaman
1.	Hitung jenis leukosit	27

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor :	Keterangan	Halaman
	3	
1.	Jumlah absolut leukosit/mm ³ darah	36
2.	Jumlah total leukosit	37
3.	Jumlah eosinofil	38
4.	Jumlah eosinofil (setelah data ditransformasi dalam log Y + 1)	39
5.	Jumlah limfosit	40
6.	Jumlah monosit	41
7.	Jumlah monosit (setelah data ditransformasi dalam log Y + 1)	42
8.	Jumlah neutrofil	43
9.	Jumlah basofil	44
10.	Jumlah basofil (setelah data ditransformasi dalam log Y + 1)	45
11.	Analisis statistik jumlah eosinofil karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald	46
12.	Analisis statistik jumlah limfosit karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald	48
13.	Analisis statistik jumlah monosit karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald	50

14.	Analisis statistik jumlah neutrofil karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald	52
15.	Analisis statistik jumlah basofil karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald	54

DAFTAR GAMBAR

Nomor	:	Keterangan	Halaman
1.		Rumus bangun Eosin I Bluish	15
2.		Rumus bangun biru metilen	16
3.		Eosinofil (dengan pewarnaan Wright)	56
4.		Eosinofil (dengan pewarnaan Giemsa)	56
5.		Eosinofil (dengan pewarnaan May Grunwald) .	57
6.		Limfosit (dengan pewarnaan Wright)	57
7.		Limfosit (dengan pewarnaan Giemsa)	58
8.		Limfosit (dengan pewarnaan May Grunwald) .	58
9.		Monosit (dengan pewarnaan Wright)	59
10.		Monosit (dengan pewarnaan Giemsa)	59
11.		Monosit (dengan pewarnaan May Grunwald) ..	60
12.		Neutrofil (dengan pewarnaan Wright)	60
13.		Neutrofil (dengan pewarnaan Giemsa)	61
14.		Neutrofil (dengan pewarnaan May Grunwald) .	61
15.		Basofil (dengan pewarnaan Wright)	62
16.		Basofil (dengan pewarnaan Giemsa)	62
17.		Basofil (dengan pewarnaan May Grunwald) ..	63

BAB I

PENDAHULUAN

Latar belakang

Darah merupakan bentuk jaringan khusus, terdiri atas sel-sel darah, trombosit dan substansi interseluler cair yaitu plasma darah (Leeson, Leeson dan Paparo, 1990). Darah merupakan media pengangkut dalam tubuh, yaitu mengangkut zat makanan dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh kemudian membawa hasil akhir metabolisme ke sel alat pembuangan. Darah juga mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru-paru serta mengangkut hormon dari kelenjar endokrin ke organ-organ yang lain. Di samping itu darah juga membantu pengaturan suhu, memelihara keseimbangan air dan elektrolit dalam sel, sebagai larutan penyangga dari ion H supaya pH tubuh tetap konstan dan sebagai pertahanan tubuh terhadap penyakit (Medway et al, 1969; Swenson, 1975).

Susunan darah terdiri dari 60% plasma dan 40% adalah sel-sel darah, yang terdapat dalam plasma adalah 91% air dan 9% terdiri dari karbohidrat, lemak, protein, hormon, vitamin, enzim dan garam-garam mineral. Sel-sel darah terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit (Swenson, 1970; Seiverd, 1973; Brown, 1975).

Leukosit jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan eritrosit. Jumlah ini menggambarkan keseimbangan antara persediaan dan kebutuhan sel darah sesuai dengan fungsinya pada berbagai jaringan. Semua sel darah putih menjalankan fungsinya bukan dalam peredaran darah tetapi dalam jaringan (Swenson, 1970). Dengan cara diapadesis leukosit meninggalkan pembuluh darah kecil, menembus dindingnya melalui celah-celah yang sempit antara sel endotel dan masuk ke dalam jaringan (Dacei dan Lewis, 1984).

Leukosit adalah sel darah yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh. Sebagian besar leukosit dibentuk dalam sumsum tulang (granulosit, monosit dan limfosit) dan sebagian lagi dalam limpa (Guyton, 1982).

Pemeriksaan laboratorium klinik terdiri dari beberapa pemeriksaan salah satu diantaranya adalah pemeriksaan hematologi yang terdiri dari beberapa jenis antara lain: kadar hemoglobin, hitung leukosit, hitung jenis leukosit, laju endap darah, hitung eritrosit, hitung trombosit, hitung retikulosit, pemeriksaan hapusan darah, dan pemeriksaan hemostasis (Anonim., 1980).

Perhitungan total dan hitung jenis leukosit dapat membantu dalam menegakkan atau menolak diagnosis dan dapat dipergunakan dalam menentukan prognosis yang tepat. Hitung total dan hitung jenis leukosit merupakan bagian pe

meriksaan rutin pada hewan yang sakit. Perhitungan total dan hitung jenis leukosit untuk menegakkan diagnosis dan menentukan prognosis seharusnya dilengkapi hasil pemeriksaan sejarah penyakit dan pemeriksaan fisik penderita yang disertai perubahan gambaran leukosit dan mungkin perubahan jumlahnya. Pemeriksaan hapusan darah tepi merupakan salah satu cara informasi laboratorium. Penyakit-penyakit darah seperti leukemia dan keadaan infeksi yang berhubungan dengan anemia ditentukan dengan pemeriksaan hapusan darah (Coles, 1986).

Penelitian tentang unsur darah penting untuk klinik, karena dapat membantu diagnosis penyakit. Perubahan bentuk, jumlah dan jenis sel darah merupakan petunjuk adanya perubahan patologik dalam tubuh. Dalam darah segar dapat diketahui beberapa sifat unsur darah, namun demikian masih banyak lagi sifat unsur darah yang hanya dapat diamati setelah hapusan darah diwarnai dan difiksasi.

Pewarnaan dengan cara Romanowski, misalnya pewarnaan Giemsa dan Leishman digunakan secara luas dalam laboratorium klinik. Cara pewarnaan ini menggunakan larutan yang merupakan campuran biru metilen dan eosin (Leeson et al., 1990).

Hapusan darah dapat diwarnai dengan berbagai macam metode, termasuk larutan-larutan yang sederhana antara lain zat-

zat basis anilin, Giemsa, May Grunwald, Leishman (Suntoro, 1983). Pewarnaan yang paling sering digunakan dalam hapusan darah adalah pewarnaan Giemsa dan pewarnaan Wright. Kedua zat warna tersebut didapatkan dalam bentuk serbuk dan dapat dibeli dalam bentuk cair dari beberapa toko alat laboratorium (Coles, 1986). Setiap bagian sel mempunyai sifat-sifat yang khusus, sehingga afinitas sel tersebut terhadap zat warna juga berbeda. Zat warna sendiri mempunyai kemampuan khusus dalam mewarnai jaringan sesuai dengan sifatnya. Kadang-kadang dua macam zat warna yang mempunyai sifat sama mempunyai kemampuan yang berbeda dalam mewarnai jaringan (Suntoro, 1983).

Perumusan masalah

Dari berbagai kenyataan di atas timbul permasalahan:

1. Apakah terdapat perbedaan hasil hitung jenis leukosit antara metode pewarnaan Giemsa, metode pewarnaan Wright dan metode pewarnaan May Grunwald ?.
2. Sampai seberapa jauh pengaruh penggunaan metode pewarnaan Giemsa, Wright dan May Grunwald terhadap hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci jantan (Oryotolagus cuniculus) ?.

Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Perbedaan hasil hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci jantan (Orytolagus cuniculus) antara metode pewarnaan Giemsa, Wright dan May Grunwald.
2. Pengaruh metode pewarnaan Giemsa, Wright dan May Grunwald terhadap hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci jantan (Orytolagus cuniculus).

Manfaat penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan masukan untuk menentukan metode pewarnaan mana yang paling jelas digunakan untuk memeriksa hapusan darah sehingga dapat membantu menegakkan diagnosis, juga mungkin bermanfaat untuk penelitian yang berkaitan dengan pemeriksaan hapusan darah.

Hipotesis Penelitian

H0: Tidak terdapat perbedaan hasil hitung jenis leukosit dan metode pewarnaan Giemsa, Wright, May Grunwald hapusan darah kelinci jantan (Orytolagus cuniculus).

H1: Terdapat perbedaan hasil hitung jenis leukosit dan metode pewarnaan Giemsa, Wright, May Grunwald hapusan darah kelinci jantan (Orytolagus cuniculus).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. LEUKOSIT

Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti. Ada dua golongan leukosit yaitu leukosit bergranula dan leukosit yang tidak bergranula. Leukosit yang bergranula terdiri dari neutrofil, basofil dan eosinofil yang dapat dibedakan dari afinitas granulanya terhadap zat warna. Ciri leukosit bergranula adalah intinya berlobus banyak (polimorf) sehingga disebut leukosit polimorfonuklear. Sedangkan ~~limfosit~~^{leukosit} yang tidak bergranula terdiri dari limfosit dan monosit (Jain, 1986; Ganong, 1990 ; Leeson et al., 1990).

Di antara sel-sel tersebut, granulosit (leukosit polimorfonuklear) jumlahnya paling banyak. Granulosit muda mempunyai inti berbentuk seperti sepatu kuda yang menjadi banyak lobus sewaktu sel tumbuh menjadi lebih tua. Sebagian granulosit mengandung granula yang berwarna dengan zat asam (eosinofil) dan sebagian lagi mempunyai granula basofilik. Dua jenis sel lainnya yang normal terdapat dalam aliran darah tepi adalah limfosit, yaitu sel dengan inti besar, bulat dan sedikit sitoplasma yang tidak bergranula dan inti yang berbentuk seperti ginjal (Ganong, 1990). Leukosit menjalankan sebagian besar fungsinya di luar sistem peredaran darah yaitu suatu gerakan aktif dan sebagian mempunyai daya fagositosis dengan suatu

gerakan amuboid pada substrat. Neutrofil adalah jenis leukosit yang paling aktif, diikuti kemudian berturut-turut oleh monosit dan basofil. Limfosit gerakannya sangat lambat, tetapi dalam keadaan tertentu dapat menjadi sangat aktif. Perpindahan leukosit keluar dari pembuluh darah sangat meningkat ke tempat terjadinya luka atau peradangan. Hal ini merupakan suatu reaksi khusus terhadap rangsangan kemotaksis. Sel yang pertama kali peka terhadap rangsangan kemotaksis adalah granulosit kemudian monosit dan limfosit yang berkumpul dalam jaringan tempat terjadinya peradangan (Leeson et al, 1990). Jumlah leukosit pada kelinci (Oryctolagus cuniculus) jantan dalam keadaan normal adalah 3000 sampai 12500 per milimeter kubik (Purvis dan Sewell, 1973).

Limfosit terdiri dari beberapa kelompok sel yang dibedakan berdasarkan fungsi dan bentuknya. Limfosit yang bentuknya sama mungkin mempunyai fungsi yang berbeda, dan sel-sel yang mempunyai fungsi sama mungkin mempunyai bentuk yang berbeda. Menurut bentuknya limfosit dikelompokkan menjadi limfosit kecil, sedang dan besar atau secara sederhana dibagi menjadi limfosit kecil (6 - 9 μm) dan limfosit besar (9 - 15 μm). Limfosit dibentuk dalam sumsum tulang, dan organ-organ limfoid yang meliputi timus, nodus limfatikus dan limpa serta dalam Gut Associated Lymphoid Tissues (GALT) yang meliputi

Peyer's patches, tonsil dan usus buntu. Selama perkembangan foetus prekursor limfosit yang berada dalam timus diubah menjadi limfosit yang bertanggung jawab terhadap imunitas seluler (limfosit - T) dan prekursor limfosit yang berada dalam limpa foetus diubah menjadi limfosit yang bertanggung jawab untuk imunitas humoral (limfosit - B) (Coles, 1980; Jain, 1986).

Tubuh mempunyai dua sistem dasar pertahanan tubuh yaitu imunitas humoral dan imunitas seluler. Keduanya bereaksi dengan antigen yaitu suatu protein asing bagi tubuh, misalnya bakteri. Imunitas humoral adalah imunitas yang disebabkan karena adanya antibodi yang beredar dalam bentuk gama globulin. Imunitas humoral merupakan pertahanan utama terhadap infeksi bakteri. Sedangkan imunitas seluler sebagian diperantarai produk limfosit yaitu limfokin dan bertanggung jawab untuk reaksi alergi, penolakan jaringan asing yang dicangkok dan melisis sel-sel tumor. Imunitas seluler menyusun pertahanan utama terhadap infeksi jamur, beberapa bakteri (Ganong, 1990). Neutrofil berfungsi untuk pertahanan tubuh terhadap bakteri. Neutrofil berpindah dan berkumpul ke tempat terjadinya infeksi atau peradangan dengan proses kemotaksis (Mitruka dan Rawnsley, 1981; Duncan dan Prasse, 1987). Granula neutrofil bersifat lisosomal yang mengandung enzim hidrolitik dan bergabung dengan fagosom untuk membentuk

lisosom sekunder. Disamping lisozim yang merusak glikosid pada dinding sel bakteri, neutrofil juga mengandung laktoferin yaitu suatu protein yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan menghambat produksi neutrofil lebih lanjut. Neutrofil terutama pada infeksi akut dapat mengeluarkan pseudoplatelet (trombosit semu) yang segera dapat dibedakan dengan trombosit sejati karena mengandung mieloperoksidase. Setelah aktifitas tersebut neutrofil kehilangan semua granulanya dan akhirnya mati (Leeson et al, 1990).

Neutrofil dalam darah tepi pada beberapa hewan laboratorium seperti kelinci, mencit dan tikus putih sering disebut sebagai heterofil karena granula-granulanya tidak dapat dilihat pada pewarnaan hapusan darah dengan pewarnaan Romanowski. Granula-granula neutrofil sering tercatat merah muda mirip dengan granula eosinofil sehingga kadang-kadang disebut pseudo eosinofil. Heterofil juga terlihat pada spesies hewan lain yaitu burung dan gajah (Jain, 1986).

Monosit adalah sel fagosit yang berhubungan dengan makrofag jaringan. Dalam pertahanan tubuh monosit berfungsi melawan infeksi, terutama pada terjadinya atau terbentuknya granuloma dan sel-sel raksasa serta menghancurkan sel-sel yang rusak (Coles, 1980; Mitruka dan Rawnsley, 1981; Duncan dan Prasse, 1987).

Monosit berasal dari sumsum tulang berupa monoblas dan promonosit, masuk ke dalam aliran darah sebagai monosit dan akhirnya masuk ke dalam jaringan untuk berkembang menjadi makrofag. Lama hidup monosit dalam peredaran darah adalah 30 sampai 100 jam. Sedangkan lama hidup makrofag dalam jaringan dapat mencapai 75 hari atau lebih (Mitruka dan Rawnsley, 1981). Makrofag lebih banyak mengandung granula dan enzim proteolitik daripada prekursor monosit. Fungsi makrofag adalah mencerna, fagositosis bahan-bahan asing dan sel-sel yang mati dalam jaringan (Leeson *et al.*, 1990).

Basofil mempunyai bentuk yang hampir sama dengan sel mast pada jaringan dan mempunyai fungsi yang hampir sama. Basofil dihasilkan dari sumsum tulang dari pembelahan mitosis basofilik promielosit, mielosit dan melalui pendedewasaan metamielosit dan sel band. Sel mast diproduksi dari sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dalam jaringan konektif terutama yang dekat dengan pembuluh darah. Perbedaan antara sel mast dan basofil yaitu pada pelepasan mediatornya. Sel mast lebih cepat mengeluarkan sel mediator daripada basofil (Jain, 1986).

Basofil pada manusia hanya terdapat 0 - 1,6% dari jumlah leukosit. Demikian juga pada hewan sel ini secara normal jarang ditemukan. Pada domba harga normal basofil adalah 0 - 3% dengan rata-rata 0,5% dari jumlah leukosit.

Sedangkan pada kelinci, marmut, tikus, kucing dan anjing hampir selalu tidak didapatkan (Wilkins, 1974).

Basofil mempunyai beberapa fungsi yaitu dalam reaksi alergi, dalam proses peradangan, metabolisme trigliserida dan pembekuan darah. Fungsi utama dari sel mast dan basofil adalah mengadakan reaksi hipersensitifitas segera melalui sekresi persediaan mediator vasoaktif dan penyebaran beberapa mediator selama reaksi. Hal ini terjadi karena granula basofil mengandung histamin, heparin, faktor kemotaksis untuk eosinofil dan faktor pengaktif trombosit (Coles, 1986; Jain, 1986).

Sebagian besar eosinofil dibentuk di dalam sumsum tulang dan sebagian kecil dibentuk dalam limpa, timus dan nodus limfatikus pada daerah cervik (Jain, 1986). Fungsi eosinofil adalah untuk fagositosis dan membunuh bakteri, parasit serta berperan dalam reaksi alergi dan peradangan (Jain, 1986; Burkitt et al, 1987).

Eosinofil seperti halnya neutrofil mempunyai granula yang bersifat lisosomal dan memfagosit kompleks antigen-antibodi. Granula tersebut juga berfungsi mengurangi peradangan dengan tidak mengaktifkan histamin. Jumlah eosinofil meningkat dalam keadaan alergi dan pada infeksi parasit. Jumlah eosinofil yang meningkat ditarik ke tempat reaksi oleh faktor kemotaksis yang dihasilkan oleh basofil dan limfosit (Burkitt et al, 1987 ; Leeson et al, 1990).

Jumlah eosinofil pada kelinci adalah 0,5% - 5,0% dari jumlah leukosit (Smith dan Mangkuwidjojo, 1988).

Populasi leukosit dan jenis-jenisnya dalam tubuh berbeda antar spesies demikian juga antar individu dalam satu spesies. Hal ini dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, aktivitas biologis dan tingkat hormon dalam darah (Jain, 1986).

Pewarnaan hapusan darah

Zat warna adalah suatu senyawa organik yang kompleks dan mempunyai sifat khusus yaitu warna dapat dipertahankan dalam jaringan. Senyawa kimia yang memberikan warna disebut chromophore, tetapi chromophore bukanlah zat warna karena jaringan yang terkena senyawa ini memang akan terwarnai tetapi tidak permanen. Jika jaringan yang telah diwarnai chromophore dicelupkan kembali kedalam pelarut chromophore maka jaringan kembali menjadi tidak berwarna. chromophore akan tetap terikat dalam jaringan bila ada radikal yang mengikatnya, yaitu suatu zat yang disebut auxochrome.

Zat warna dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu : menurut sifatnya terdiri dari zat warna asam dan zat warna basa. Menurut asalnya zat warna terdiri dari zat warna alam dan zat warna sintetis, sedangkan menurut kemampuannya mewarnai jaringan terdiri dari zat warna substantif dan zat warna ajektif. Berdasarkan struktur

kimianya, maka zat warna terdiri dari golongan triphenil methan, golongan xanthen, golongan thiazin, golongan azin, golongan azo, golongan nitro (Suntoro, 1983).

Pada pewarnaan hapusan darah terdapat beberapa zat pewarna dan tehnik pewarnaan yang digunakan seperti: pewarnaan Wright, pewarnaan Giemsa, pewarnaan alkalin phosphatase yang digunakan untuk mewarnai granula dalam sel darah, pewarnaan acid phosphatase digunakan untuk menunjukkan adanya enzim asam phosphatase, pewarnaan peroksidase, pewarnaan Periodic Acid-Schiff (PAS) untuk menunjukkan adanya peningkatan granulosit dalam bentuk mielosit (Mitruka dan Rawnsley, 1981).

2.1. Metode pewarnaan Giemsa

Pewarnaan ini sering juga disebut pewarnaan Romanowski. Metode pewarnaan ini banyak dipakai untuk mempelajari bentuk sel-sel darah, sel limpa, sel sumsum dan juga untuk identifikasi parasit-parasit darah misalnya dari jenis protozoa *Tripanosoma*, *Leismaniae*, *Plasmodia*, *Bartomellae* (Suntoro, 1983).

Zat pewarna Giemsa terdiri dari Azure II -Eosin dan Azure II dengan perbandingan 15 : 4 (Azure adalah nama dagang). Disebutkan bahwa Azure II lebih menonjol dalam Azure I. Azure II adalah campuran dari Azure I dan biru metilen dengan perbandingan yang sama. Azure adalah

zat pewarna dasar. Zat pewarna tersebut ditarik ke inti yang asam (acidic nuclei), sedangkan eosin dalam zat pewarna asam ditarik ke sitoplasma yang bersifat basa. Kombinasi zat pewarna asam dan zat pewarna basa dalam bentuk klorida digunakan untuk zat pewarna basa dan garam-garam potassium atau sodium digunakan untuk zat pewarna asam (Jain, 1986).

2.2. Metode pewarnaan Wright

Zat pewarna Wright adalah campuran dari biru metilen polikromatik (karena dapat berubah menjadi zat warna lain secara spontan), sodium bikarbonat dan eosin. Zat warna dalam biru metilen polikromatik sangat baik untuk mewarnai jaringan darah (Suntoro, 1983).

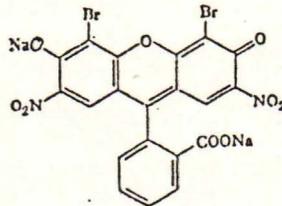
Jika hasil pewarnaan terlalu biru, hal ini mungkin terjadi karena pencucian hapusan darah kurang bersih, hapusan darah kurang tebal, terlalu banyak zat pewarna, atau larutan Buffer dan zat pewarna terlalu basa. Jika hasil pewarnaan terlalu merah maka pH air, larutan buffer dan zat pewarna terlalu asam (Mitruka dan Rawnsley, 1981). Pada sediaan darah yang telah diwarnai akan terlihat: eritrosit berwarna merah muda, Nukleus leukosit berwarna ungu kebiru-biruan, sitoplasma leukosit berwarna sangat ungu muda, granula eosinofil berwarna ungu tua, granula basofil dan basofil berwarna ungu muda.

Sediaan hapusan darah yang diwarnai dengan zat pewarna Wright dapat tahan dua sampai lima tahun (Suntoro, 1983).

2.3. Metode pewarnaan May Grunwald

Larutan May Grunwald adalah larutan eosin-biru metilen dalam metil alkohol. Metil alkohol yang terdapat dalam larutan ini mempunyai dua fungsi yaitu sebagai pelarut serbuk May Grunwald dan sebagai fiksatif jaringan oles (Suntoro, 1983).

Zat pewarna eosin yang terdapat dalam ketiga zat warna tersebut adalah serbuk berwarna merah, larut dalam air dengan fluoresensi berwarna hijau dan larut dalam alkohol (Windolz, 1983).

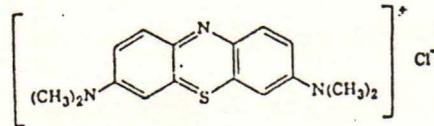


Dibromodinitrofluorescein sodium
Hidroksidibromodinitro-o-carboxy-phenylfliorone sodium

Gambar 1. Rumus bangun Eosin I Bluish (Windolz, 1983).

Eosin banyak digunakan sebagai latar belakang pewarnaan atau disebut juga sebagai counterstain yaitu zat yang berfungsi untuk memberikan warna yang kontras dengan zat warna yang lainnya (Suntoro, 1983).

Sedangkan biru metilen adalah zat pewarna yang larut dalam air, alkohol, kloroform, tidak larut dalam eter (Windolz, 1983).



Methilthionine chloride; tetramethylthionine chloride

Gambar 2. Rumus bangun biru metilen (Windolz, 1983)

Biru metilen adalah zat warna golongan thiazine yang bersifat basa, dan ini banyak digunakan untuk pewarnaan darah. Untuk keperluan pewarnaan darah biasanya dikombinasikan dengan eosin menjadi eosin biru metilen (May Grunwald). Kombinasi zat warna yang berisi dua radikal cromophore di mana yang satu bersifat basa dan yang satunya lagi bersifat asam akan menjadi bersifat netral (Suntoro, 1983).

BAB III

MATERI DAN METODE

1. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini berlangsung selama 3 minggu mulai tanggal 21 Oktober 1991 sampai 11 November 1991.

2. Materi penelitian

2.1. Hewan percobaan

Dalam penelitian ini hewan yang digunakan adalah kelinci (Oryctolagus cuniculus) jantan yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya sebanyak 20 ekor. Kelinci tersebut berumur satu setengah sampai dua bulan dengan berat badan 750 sampai 1250 gram diadaptasikan selama satu minggu. Selama adaptasi sampai berakhirnya penelitian ini kelinci diberi pakan kangkung, rumput dan air PDAM sebagai minumannya, pakan dan minum diberikan secara ad libitum.

2.2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- kandang yang terbuat dari bambu
- timbangan untuk menimbang hewan sebelum ditetapkan

sebagai hewan percobaan

- spuit dan jarumnya
- botol kecil beserta tutupnya
- pipet thoma khusus leukosit dan kamar penghitung Improved Neubauer dan gelas penutupnya
- gelas obyek dan gelas penghapus untuk hapusan darah
- pipet untuk mengambil sampel darah
- kotak penyimpanan hapusan darah
- mikroskop

2.3. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- zat pewarna Giemsa
- zat pewarna Wright
- zat pewarna May Grunwald produksi Merck
- alkohol 70%
- antikoagulasi EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid)
- larutan Turk untuk penghitungan leukosit
- minyak emersi untuk hitung jenis leukosit

3. Metode penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, semua hewan percobaan diadaptasikan selama satu minggu dengan ransum ad

libitum. Kemudian dilakukan pengambilan darah dari jantung dengan spuit, darah ditampung dalam botol-botol kecil yang berisi antikoagulansia EDTA. Dibuat hapusan darah, dari masing-masing kelinci dibuat tiga buah hapusan darah. Ketiga hapusan darah tersebut dipilih secara acak untuk kemudian mendapat perlakuan:

- metode pewarnaan Wright (P1)
- metode pewarnaan Giemsa (P2)
- metode pewarnaan May Grunwald (P3)

Dilakukan hitung hitung total leukosit yang nantinya digunakan sebagai perbandingan.

Perhitungan jumlah leukosit:

Mempersiapkan larutan Turk yang terdiri dari:

asam asetat glasial	3	ml
gentian violet 1 %	1	ml
aquadest ad	100	ml

Mempersiapkan kamar penghitung leukosit Improved Neubauer kemudian gelas penutup dilatakkan diatas kamar penghitung sehingga menutupi kedua daerah penghitung. Sampel darah yang tersedia dihisap ke dalam pipet leukosit dari Thoma sampai tanda 0,5 kemudian bagian luar pipet dibersihkan dengan kapas. Larutan Turk dihisap sampai tanda 11 kemudian kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah, lalu dikocok dengan gerakan tegak

pada sumbu panjangnya selama kurang lebih 2 menit. Larutan dibuang 3 tetes, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam kamar penghitung leukosit dengan ujung pipet diletakkan pada gelas penutup. Kamar penghitung leukosit yang sudah terisi diletakkan di bawah mikroskop dan penghitungan dilakukan dengan menggunakan lensa obyektif 10 kali. Penghitungan dilakukan atas leukosit yang terdapat dalam kotak-kotak dengan gerakan seperti huruf W. Penghitungan jumlah leukosit yang teradapat dalam keempat kotak misalnya. Volume keempat kotak tadi adalah $0,1 \times 4 = 0,4$ cm. Dengan pengenceran 20 kali, maka jumlah leukosit per cmm adalah $1/0,4 \times 20 \times N = 50N$. Jadi jumlah leukosit yang ada adalah 50 kali jumlah hasil perhitungan dalam kamar penghitung Improved Neubauer (Anonim., 1990).

Hitung jenis leukosit

Pembuatan hapusan darah

Setetes darah yang telah diberi antikoagulansia diletakkan dekat salah satu ujung gelas obyek gelas penghapus diletakkan sedemikian rupa sehingga membuat sudut 30 derajat dengan gelas obyek dan tetesan darah terletak pada sudut tersebut. Gelas penghapus ini digeserkan pada tetesan darah ke arah ujung gelas obyek yang lainnya dengan kecepatan tertentu sehingga didapatkan hapusan darah yang tipis. Dari tiap kelinci dibuat masing-masing

tiga buah hapusan darah dan masing-masing diberi nomor sesuai dengan nomor kelinci. Hapusan darah ini segera dikeringkan di udara agar sel-sel darah tidak mengalami krenasi, setelah kering dilakukan pengecatan dengan cara pewarnaan Giemsa, Wright dan May Grunwald.

Pengecatan hapusan darah

A. Pengecatan Wright

Hapusan darah yang sudah kering ditetesi dengan zat pewarna Wright hingga tertutup seluruhnya, selama dua menit. pengecatan dilanjutkan dengan menambahkan larutan bufer fosfat sebanyak 1 sampai 1,5 kali banyaknya zat pewarna Wright tadi. Pencampuran ini dibantu dengan menggoyang-goyangkan gelas obyek secara perlahan-lahan. Ditunggu sampai 20 menit supaya sel-sel darah tercat dengan baik. Hapusan darah dicuci dengan air PDAM yang mengalir sehingga semua zat pewarna yang tersisa hanyut. Hapusan darah kemudian dikeringkan di udara (Anonim, 1990).

B. Pengecatan Giemsa

Sediaan darah yang sudah kering difiksasi dengan metil alkohol 90% selama kurang lebih lima menit. Hapusan darah dikeringkan di udara. Dengan menggunakan pipet, tetesi seluruh permukaan hapusan darah dengan larutan Giemsa yang telah diencerkan menjadi tiga persen

selama 30 sampai 40 menit. Kemudian hapusan darah yang telah diwarnai dicuci dengan air PDAM sampai larutan bersih. Dikeringkan di udara (Anonim., 1990)

C. Pengecatan May Grunwald (Merck Catalog no 1424)

Hapusan darah yang sudah kering ditetesi larutan May Grunwald sebanyak 1 ml. Setelah tiga menit ditambahkan aquades sebanyak 1 ml dan dicampur dengan hati-hati dengan cara menggoyang-goyangkan sediaan atau dengan cara sedot-semprot dengan pipet. Pengecatan ditunggu 5 -10 menit kemudian dicuci dengan air PDAM sampai sediaan hapusan darah berwarna merah jingga pucat. Kemudian sediaan hapusan darah dikeringkan di udara.

Hitung jenis leukosit

Dihitung paling sedikit 100 sel, dilakukan pada daerah penghitungan (area counting) dimulai dari satu sisi bergerak menuju sisi yang lain. Kemudian pindah sejauh dua sampai tiga lapangan pandang kekiri atau kekanan.

Pada setiap lapangan pandang dihitung jumlah jenis leukosit dengan alat blood cell counter, sehingga di dapatkan jumlah 100 sel darah putih.

Hasil yang didapatkan ditulis sebagai berikut:

Eo	/	Ba	/	Stab	/	Seg	/	Lim	/	Mo
7		0		1		49		41		2

Perubah yang diamati adalah hitung jenis lekosit yang meliputi eosinofil, neutrofil, basofil, monosit dan limfosit (Anonim., 1990).

Hasil hitung jenis leukosit dimasukkan kedalam tabel sebagai berikut:

W (P1)	G (P1)	MG (P2)
Jumlah		

Hasil hitung jenis leukosit yang didapatkan dalam bentuk persentase dikalikan dengan jumlah leukosit masing-masing kelinci untuk mendapatkan jumlah absolut hitung jenis leukosit.

Rancangan penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh dianalisis dengan daftar sidik ragam (analisis of varian) dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji - BNT (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Dari hasil penghitungan leukosit maka didapatkan jumlah rata-rata leukosit adalah $8635 \pm 2052,11212$.

1. Jumlah eosinofil

Hasil penghitungan jumlah eosinofil pada tiga kelompok pewarnaan adalah: dengan pewarnaan Wright 3028 dengan rata-rata $151,4 \pm 103,3580$; dengan pewarnaan Giemsa 2731 dengan rata-rata $136,55 \pm 70,4299$ sedangkan dengan metode pewarnaan May Grunwald 3110 dengan rata-rata $155,5 \pm 124,6029$.

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa F_{hitung} ketiga perlakuan adalah lebih kecil dari F_{tabel} ($F_{\text{hitung}} < F_{0,05}$; $F_{\text{hitung}} < F_{0,01}$).

Ternyata H_0 diterima, hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan terhadap hitung eosinofil hapusan darah kelinci jantan (Oryzotolagus cuniculus).

2. Jumlah limfosit

Hasil penghitungan jumlah limfosit pada tiga kelompok pewarnaan adalah: dengan pewarnaan Wright 84220 dengan rata-rata $4211 \pm 1534,9906$; dengan pewarnaan Giemsa

85294 dengan rata-rata $4264,7 \pm 1242,7679$ sedangkan dengan metode pewarnaan May Grunwald 75789 dengan rata-rata $3839,45 \pm 1038,6609$.

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa F hitung ketiga perlakuan adalah lebih kecil dari F tabel ($F_{hit} < F_{0,05}$; $F_{hit} < F_{0,01}$).

Ternyata H_0 diterima, hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan terhadap hitung limfosit hapusan darah kelinci jantan (Oryotolaqus cuniculus).

3. Jumlah monosit

Hasil penghitungan jumlah monosit pada tiga kelompok pewarnaan adalah: dengan pewarnaan Wright 4587 dengan rata-rata $229,35 \pm 133,3627$; dengan pewarnaan Giemsa 3374 dengan rata-rata $168,7 \pm 84,8628$ sedangkan dengan metode pewarnaan May Grunwald 3572 dengan rata-rata $178,6 \pm 132,4158$.

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa F hitung ketiga perlakuan adalah lebih kecil dari F tabel ($F_{hit} < F_{0,05}$; $F_{hit} < F_{0,01}$).

Ternyata H_0 diterima, hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan terhadap hitung limfosit hapusan darah kelinci jantan (Oryotolaqus cuniculus).

4. Jumlah neutrofil

Hasil penghitungan jumlah neutrofil pada tiga kelompok pewarnaan adalah: dengan pewarnaan Wright 80267 dengan rata-rata $4013,35 \pm 1296,7810$; dengan pewarnaan Giemsa 81120 dengan rata-rata $40567 \pm 1281,9334$ sedangkan dengan metode pewarnaan May Grunwald 88998 dengan rata-rata $4449,9 \pm 1456,5797$.

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa F hitung ketiga perlakuan adalah lebih kecil dari F tabel ($F_{hit} < F_{0,05}$; $F_{hit} < F_{0,01}$).

Ternyata H_0 diterima, hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan terhadap hitung neutrofil hapusan darah kelinci jantan (Oryotolaqus cuniculus).

5. Jumlah basofil

Hasil penghitungan jumlah basofil pada tiga kelompok pewarnaan adalah: dengan pewarnaan Wright 608 dengan rata-rata $30,4 \pm 62,1140$; dengan pewarnaan Giemsa 189 dengan rata-rata $9,45 \pm 29,3248$ sedangkan dengan metode pewarnaan May Grunwald 236 dengan rata-rata $11,8 \pm 36,3211$.

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa F hitung ketiga perlakuan adalah lebih kecil dari F tabel ($F_{hit} < F_{0,05}$; $F_{hit} < F_{0,01}$).

Ternyata H 0 diterima, hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan terhadap hitung basofil hapusan darah kelinci jantan (Oryzotolagus cuniculus).

Tabel 1. Hitung jenis leukosit

Leukosit	Wright X ± SD	Giemsa X ± SD	May Grunwald X ± SD
Eosinofil	151,4±103,3580 ^a	136,55±70,423 ^a	155,5±124,621 ^a
Limfosit	4211±1534,991 ^b	4264±13242,768 ^b	3839,45±1038,661 ^b
Monosit	229,35±133,363 ^c	168,7±84,863 ^c	178,6±132,416 ^c
Neutrofil	4013,35±1296,78 ^d	40567±1281,933 ^d	4449,9±1456,578 ^d
Basofil	30,4±62,114 ^e	9,45±29,325 ^e	11,8±36,321 ^e

Keterangan: aaa, bbb, ccc, ddd, eee tidak terdapat perbedaan.

BAB V

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian diketahui bahwa jumlah rata-rata leukosit pada kelinci jenis lokal adalah $8635 \pm 2052,1121$, sedangkan pada kelinci New Zealand adalah 8.430 ± 1.819 . Menurut Smith dan Mangkuwidjojo (1990) jumlah leukosit berkisar antara 3000 - 12500/mm³. Sehingga jumlah leukosit pada kelinci yang diteliti masih dalam batas-batas normal.

Jumlah rata-rata eosinofil dari masing-masing pewarnaan adalah: Wright $151,4 \pm 103,3580$ (1,75%), Giemsa $136,55 \pm 124$ (1,58%), May Grunwald $155,5 \pm 124$ (1,81%). Jumlah ini jauh lebih tinggi daripada jumlah eosinofil pada kelinci New Zealand 84 ± 86 (0 - 375) tetapi masih dalam batas-batas yang normal. Hal ini juga sesuai dengan persentase jumlah eosinofil yang berkisar antara 0% - 0,5% (Smith dan Mangkuwidjojo, 1990).

Jumlah rata-rata limfosit dari masing-masing pewarnaan adalah: Wright $4211 \pm 1534,9906$ (48,77%), Giemsa $4264,7 \pm 1424,7679$ (49,39%), May Grunwald $3839,45 \pm 1038,6609$ (44,14%). Jumlah ini lebih rendah daripada jumlah limfosit pada kelinci New Zealand 5.230 ± 1.317 (2,860 - 8,001) tetapi masih dalam batas-batas yang normal. Hal ini juga sesuai dengan persentase jumlah

limfosit yang berkisar antara 28% - 85% (Smith dan Mangkuwidjojo, 1990).

Jumlah rata-rata monosit dari masing-masing pewarnaan adalah: Wright $229,35 \pm 133,363$ (2,67), Giemsa $168,7 \pm 84,863$ (1,95%), May Grunwald $178,6 \pm 132,4158$ (2,08%). Jumlah ini jauh lebih rendah daripada jumlah monosit pada kelinci New Zealand 408 ± 233 (34 - 893) tetapi masih dalam batas-batas yang normal. Hal ini juga sesuai dengan persentase jumlah monosit yang berkisar antara 2% - 16% (Smith dan Mangkuwidjojo, 1990).

Jumlah rata-rata neutrofil dari masing-masing pewarnaan adalah: Wright $4013,35 \pm 1296,7810$ (46,48%), Giemsa $4056 \pm 1281,9334$ (46,97%), May Grunwald $4449,9 \pm 1456,5797$ (51,83%). Jumlah ini lebih tinggi daripada jumlah neutrofil pada kelinci New Zealand $2,727 \pm 906$ (804 - 4,323) tetapi masih dalam batas-batas yang normal. Hal ini juga sesuai dengan persentase jumlah neutrofil yang berkisar antara 30% - 65% (Smith dan Mangkuwidjojo, 1990).

Jumlah rata-rata basofil dari masing-masing pewarnaan adalah: Wright $30,4 \pm 62,140$ (0,35), Giemsa $9,45 \pm 29,3248$ (0,11%), May Grunwald $11,8 \pm 36,3211$ (0,14%). Jumlah ini jauh lebih rendah dari jumlah basofil pada kelinci New Zealand 399 ± 205 (62 - 1,138). Jumlah basofil yang sangat rendah ini terjadi karena secara normal basofil jarang ditemukan. Sedangkan pada kelinci, marmut, tikus, kucing

dan anjing hampir selalu tidak didapatkan (Wilkins, 1974). Hal tersebut diatas dapat terjadi karena jumlah leukosit dan hitung jenisnya dalam tubuh berbeda antar spesies dan dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, aktifitas biologis dan tingkat hormon dalam darah (Jain, 1986).

Jika dibandingkan secara kualitatif (walaupun belum ada parameteranya) metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald pada hapusan darah kelinci maka metode pewarnaan May Grunwald memberikan hasil yang paling jelas (gambar 1 - 15). Tetapi karena zat pewarna May Grunwald susah untuk didapatkan dan harganya relatif lebih mahal dari zat pewarna Wright dan Giemsa, maka zat pewarna May Grunwald ini jarang digunakan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa kesimpulan antara lain:

1. Tidak terdapat perbedaan yang nyata pada hitung jenis leukosit yang diwarnai dengan metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald.
2. Secara kualitatif dari ke tiga metode pewarnaan yang memberikan hasil paling jelas pada hitung jenis adalah metode pewarnaan May Grunwald.

Saran

Pada penelitian selanjutnya hendaklah diteliti lebih lanjut tentang metode pewarnaan terhadap bentuk dan ukuran sel-sel darah.

RINGKASAN

DARMASTUTI. Pengaruh metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald terhadap hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci (Oryotolaqus cuniculus) jantan (di bawah bimbingan SOEPARTONO PARTOSOEWIGNJO sebagai pembimbing pertama dan CHUSNAN EFFENDI sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya perbedaan hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci (Oryotolaqus cuniculus) jantan, membandingkan hasil hitung jenis leukosit hapusan darah kelinci yang diwarnai dengan metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald.

Pemeriksaan hapusan darah dengan metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald ini dilakukan terhadap 60 buah hapusan darah yang berasal 20 ekor kelinci jantan. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 21 Oktober sampai 11 November 1991 yang meliputi pengambilan darah, pembuatan hapusan darah dan hitung jenis leukosit. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Dari analisis statistik dengan analisis varian membuktikan tidak ada perbedaan (F hitung $<$ F tabel) antar ketiga metode pewarnaan tersebut.

Secara kualitatif metode pewarnaan May Grunwald memberikan hasil yang paling jelas untuk hitung jenis leukosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1990. Penuntun Praktika Laboratorium Klinik Veteriner. Edisi ke 6. Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. 14 - 20 ; 32 -33.
- Brown, B.A. 1975. Hematology Principles and Procedures. 2nd. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 1 - 139.
- Burkitt, H. G. ; V. G. Daniels, and P. R. Wheeler. Functional Histology (A Text and Color Atlas). 2nd. Ed. Churchill Livingstone Medical Division of Longman Group. U. K. Limited. 38 - 44.
- Coles, E. H. 1986. Veterinary Clinical Pathology. 4 th. Ed. W. B. Saunders Company. 48 - 63.
- Dacei, J. V. and S. M. Lewis, 1980. Practical Haematology. 5th. Ed. The English Language Book Society. Churchill Livingstone. 1 - 63.
- Duncan, J. R. and K. W. Prasse, 1987. Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 31 - 57.
- Ganong, W. F. 1990. Buku Teks Fisiologi Bagian Kedokteran. Terjemahan Adji Dharma. Edisi 10. E. G. C. Jakarta. 443 - 448.
- Guyton, A. C. 1982. Buku Teks Fisiologi Kedokteran Bagian II. Terjemahan Adji Dharma dan P. Lukmanto. Edisi 5. E. G. C. Jakarta. 70 - 97.
- Jain, N. C. 1986. Veterinary Hematology. 4th. Ed. Lea and Febiger Philadelphia. 31 - 36, 676 - 814.
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. 20 - 25, 50 - 56.
- Leeson, C. R., T. S. Leeson and A. A. Paparo. 1990. Buku Ajar Histologi. Terjemahan Staf Ahli Histologi Universitas Indonesia. Edisi 5. E. G. C. Jakarta. 159 - 166.
- Medway, W., J. E. Prier and J. S. Wilkinson. 1969. A Textbook of Veterinary Clinical Pathology. The Williams and Wilkins. Co. Baltimore. 128 - 140.

- Merck, E. 1983. Hematological Laboratory Methods. G. I. T. Verlag-Earnst Gielbre Darmstadt. 21 - 22.
- Mitruka, B. M. and H. M. Rawnsley, 1981. Clinical, Biochemical and Hematological Reference in Normal Experimental Animals and Normal Humans. 2nd. Ed. Mason Publishing Usa.
- Purvis, G. M. and M. M. H. Sewell. 1973 Leucocyte Counts In Normal Young Rabbits. J. Brit. Vet. 129, 47 - 50.
- Seiverd, C. E. 1973. Hematology For Medical Technologists. 4th. Ed. Lea and Febiger, Philadelphia. 80 - 96.
- Smith, W. J. dan S. Mangkuwidjojo, Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis. Universitas Indonesia Press. 84 - 96, 225 - 262.
- Suntoro, S. H. 1983. Metode Pewarnaan Histologi dan Histokimia. Bhratara Karya Aksara. Jakarta. 78 - 88, 347 - 365.
- Wilkins, R. J. 1974. Morphologic Feature of Feline Pheripheral Blood. J. Am. An. Hosp. 10. 367 - 372.
- Windols, M., S. Budavari, R. F. Blumetti, and E. S. Otterbein. 1983. The Merck Index. An Encyclopedia of Chemical Drugs, Drugs and Biologicals. 10th. Ed. Merck and Co; Inc. Ranway. N. J. USA. 403, 676.

lampiran 1 Jumlah Absolut Leukosit / mm³ Darah

Sel	Jumlah	Rentangan
Total leukosit	8,430 ± 1,819	4,800 - 12,700
Eosinofil	84 ± 86	0 - 375
Limfosit	5,230 ± 1,317	2,860 - 8,001
Monosit	408 ± 233	34 - 893
Netrofil	2,727 ± 906	804 - 4,323
Basofil	399 ± 205	62 - 1,138

Sumber Purvis dan Sewell (1973).

Lampiran 2 Jumlah Total Leukosit

No Kelinci	Jumlah Leukosit
1	7200
2	5350
3	7750
4	10600
5	9950
6	11650
7	7950
8	5600
9	10700
10	9700
11	8900
12	11850
13	8300
14	9550
15	6150
16	10050
17	9850
18	9400
19	6300
20	5900
Jumlah	172700
Rata-rata	8635 ± 2025,1121

Lampiran 3 Jumlah Eosinofil

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
72	72	72
107	107	54
78	155	155
106	106	212
299	199	0
117	117	233
159	239	239
0	0	0
321	107	321
194	97	194
89	178	89
119	119	119
166	249	166
287	191	0
123	123	123
0	101	503
394	296	296
94	94	94
126	63	63
177	118	177
3028 151,4 ± 103,3580	2731 136,55 ± 70,4299	3110 155,5 ± 124,6209

Lampiran 4 Jumlah Eosinofil (setelah data ditransformasikan log Y + 1)

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
1,86	1,86	1,86
2,03	2,03	1,73
1,89	2,19	2,19
2,03	2,03	2,33
2,48	2,30	0
2,07	2,07	2,37
2,20	2,38	2,38
0	0	0
2,51	2,03	2,51
2,29	1,99	2,29
1,95	2,25	1,95
2,08	2,08	2,08
2,22	2,40	2,22
2,46	2,28	0
2,09	2,09	2,09
0	2,00	2,70
2,60	2,47	2,47
1,97	1,97	1,97
2,10	1,80	1,80
2,07	2,07	2,25
39,08 1,954 ± 0,7004	40,29 2,0145 ± 0,5066	37,19 1,8595 ± 0,8382

Lampiran 5 Jumlah Limfosit

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
2664	3024	2880
2622	2729	2514
3643	2558	2790
6678	6466	5406
3085	3383	3980
5825	5592	3844
4929	4532	4373
3192	3304	3248
4280	4922	3210
3783	3977	4171
4272	4539	4984
7229	6518	6636
3071	3237	3375
4966	4966	3725
2214	2952	2522
7136	6332	3115
3251	4039	3842
5170	4794	4982
3024	3654	2528
3186	3776	3304
84220 4211±1534,9906	85294 4264,7±1242,7679	75789 3839,45±1038,6609

Lampiran 6 Jumlah Monosit

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
216	216	144
54	54	160
233	78	78
211	212	212
199	199	398
350	232	116
239	159	159
112	224	56
321	321	321
97	97	388
356	178	89
237	237	237
166	249	83
573	96	0
62	0	62
301	201	503
0	99	197
376	282	188
189	63	63
295	177	118
4587 229,35±133,3627	3374 168,7±84,8628	3572 178,6±132,4158

Lampiran 7 Jumlah Monosit (setelah data ditransformasikan log Y + 1)

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
2,33	2,33	2,16
1,73	1,73	2,20
2,37	1,89	1,89
2,32	2,33	2,33
2,30	2,30	2,60
2,54	2,37	2,06
2,38	2,20	2,20
2,05	2,35	1,75
2,51	2,51	2,51
1,99	1,99	2,59
2,55	2,25	1,95
2,37	2,37	2,37
2,22	2,40	1,92
2,76	1,98	0
1,79	0	1,79
2,48	2,30	2,70
0	2,00	2,29
2,58	2,45	2,27
2,28	1,80	0,45
2,47	2,25	2,07
44,02 2,201 ± 0,5402	41,8 2,09 ± 0,5402	40,01 2,005 ± 0,6990

Lampiran 8 Jumlah Neutrofil

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
4248	3888	4104
2568	2461	2622
3797	4960	4727
3604	3710	4770
6269	6169	5572
5359	5709	7340
2624	3021	3180
2296	2072	2296
5671	5350	6848
5626	5529	4947
4183	4005	3738
4029	4977	4740
4897	4482	4316
3725	4298	5826
3752	3075	3444
2513	3417	5929
6206	5418	5516
3760	4230	4136
2898	2520	2646
2242	1829	2301
80267 4013,35±1296,7810	81120 4056,7±1281,9334	88998 4449,9±1456,5797

Lampiran 9 Jumlah Basofil

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	106	0
100	0	0
0	0	117
0	0	0
0	0	0
107	0	0
0	0	0
0	0	0
237	0	119
0	83	0
0	0	0
0	0	0
101	0	0
0	0	0
0	0	0
63	0	0
0	0	0
608 30,4±62,1140	189 9,45±29,3248	236 11,8±36,3211

Lampiran 10 Jumlah Basofil (setelah data ditransformasikan dalam log Y + 1)

WRIGHT (P1)	GIEMSA (P2)	MAY GRUNWALD (P3)
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	2,03	0
2	0	0
0	0	2,07
0	0	0
0	0	0
2,03	0	0
0	0	0
0	0	0
2,37	0	2,08
0	1,92	0
0	0	0
0	0	0
2,00	0	0
0	0	0
0	0	0
1,80	0	0
0	0	0
82 0,41±0,8465	3,96 0,1975±0,6082	4,15 0,2075±0,6387

Lampiran 11 Analisis statistik jumlah eosinofil karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May grunwald.

$$\begin{aligned}
 JKT &= 72^2 + 107^2 + 78^2 + \dots + 177^2 - \frac{(8869)^2}{60} \\
 &= 1907261 - \frac{78659161}{60} \\
 &= 1907261 - 1310986,017 \\
 &= 596274,983 \\
 JKP &= \frac{3028^2 + 2731^2 + 3110^2}{20} - \frac{(8869)^2}{60} \\
 &= \frac{26299245}{20} - 131096,017 \\
 &= 1314962,25 - 1310986,017 \\
 &= 3976,233 \\
 JKS &= 569274,983 - 3976,233 \\
 &= 592298,75 \\
 KTP &= \frac{3976,233}{2} & KTS &= \frac{592298,75}{3(20-1)} \\
 &= 1988,1165 & &= 10391,2061 \\
 F_{hit} &= \frac{1988,1165}{10391,2061} \\
 &= 0,1913
 \end{aligned}$$

SIDIK RAGAM

SK	db	jk	kt	F hit	F tab	
					0,05	0,01
P	2	3976,233	1988,1165	0,19	2,55	3,7
S	57	592298,75	10391,2061			
T	59	596274,983				

F hitung < F tabel tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan.

Lampiran 12. Analisis statistik jumlah limfosit karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald.

$$JKP = \frac{2664^2 + 2622^2 + 3643^2 + \dots + 3304^2}{60} - \frac{(246303)^2}{60}$$

$$= 1107841475 - 1011086130$$

$$= 96755$$

$$JKP = \frac{84220^2 + 85294^2 + 76789^2}{20} - \frac{(246303)^2}{60}$$

$$= 1013231268 - 1011086130$$

$$= 2145138$$

$$JKS = 96755345 - 2145138$$

$$= 94610207$$

$$KTP = \frac{2145138}{3-1}$$

$$= 1072569$$

$$KTS = \frac{94610207}{3(20-1)}$$

$$= 1659828,193$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{1072569}{1659828,193}$$

$$= 0,6462$$

SIDIK RAGAM

SK	db	jk	jkt	F hit	F tab
					0,05 0 01
P	2	2145138	1072569	0,6462	2,55 3,7
S	57	94610207	1659828,193		
T	59	96755345			

F hitung < F tabel tidak ada perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan.

Lampiran 13 . Analisis statistik jumlah monosit karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grundwald

$$JKT = \frac{216^2 + 54^2 + 233^2 + \dots + 118^2 - (11533)^2}{60}$$

$$= \frac{3067085 - 13301089}{60}$$

$$= 3067085 - 2216836,817$$

$$= 850250$$

$$JKS = \frac{4587^2 + 3374^2 + 3572^2 - (11533)^2}{60} - \frac{2}{20}$$

$$= \frac{45183629 - 13301089}{60} - \frac{2}{20}$$

$$= 2259181,45 - 2216836,817$$

$$= 42344,633$$

$$JKS = 850250,1834 - 42344,633$$

$$= 807905,5504$$

$$JKP = \frac{42344,633}{3 - 1}$$

$$= \frac{42344,633}{2}$$

$$= 21172,3165$$

$$JKS = \frac{807905,5504}{3(20 - 1)}$$

$$= \frac{807805,5504}{57}$$

$$= 14173,3165$$

$$F_{hit} = \frac{21172,3165}{14173,7816}$$

$$= 1,4937$$

SIDIK RAGAM

SK	db	jk	jkt	F hit	F tab	
					0,05	0,01
P		42344,633	21172,3165	1,5	2,55	3,7
S	57	807905,5504	14173,7816			
T	59	850250,1834				

F hitung < F tabel tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan.

Lampiran 14. Analisis statistik jumlah neutrofil karena pengaruh metode pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald.

$$\begin{aligned}
 \text{JKT} &= \frac{4248^2 + 2568^2 + 3797^2 + \dots - \frac{(250385)^2}{60}}{60} \\
 &= 1150680243 - 1044877470 \\
 &= 105802773
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKP} &= \frac{80267^2 + 81120^2 + 88998^2 - \frac{(250385)^2}{60}}{20} \\
 &= 1047194485 - 1044877470 \\
 &= 2317015
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKS} &= 105803773 - 2317015 \\
 &= 103485758
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KTP} &= \frac{2317015}{2} \\
 &= 1158507,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KTS} &= \frac{103485758}{3(20-1)} \\
 &= 1659828,193
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{\text{hit}} &= \frac{115807,5}{1815539,614} \\
 &= 0,6381
 \end{aligned}$$

SIDIK RAGAM

SK	db	jk	jkt	F hit	F tab	
					0,05	0,01
P	2	2317015	1158507,5	0,6381	2,5	3,7
S	57	103485758	1815539,614			
T	59	105802773				

F hitung < F tabel tidak ada perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan.

Lampiran 15. Analisis statistik jumlah basofil karena pengaruh pewarnaan Wright, Giemsa dan May Grunwald

$$\begin{aligned}
 \text{JKT} &= 100^2 + 107^2 + 237^2 \dots \dots \dots + 119^2 - \frac{(103)^2}{60} \\
 &= 137663 - 17784,8167 \\
 &= 119878,1833
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKP} &= \frac{608^2 + 189^2 + 236^2}{20} - \frac{(1033)^2}{60} \\
 &= \frac{461081}{20} - 17784,167 \\
 &= 23054,5 - 17784,167 \\
 &= 5269,333
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKS} &= 119878,833 - 5269,333 \\
 &= 114608,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KTP} &= \frac{5269,2333}{2} \\
 &= 2634,6167
 \end{aligned}$$

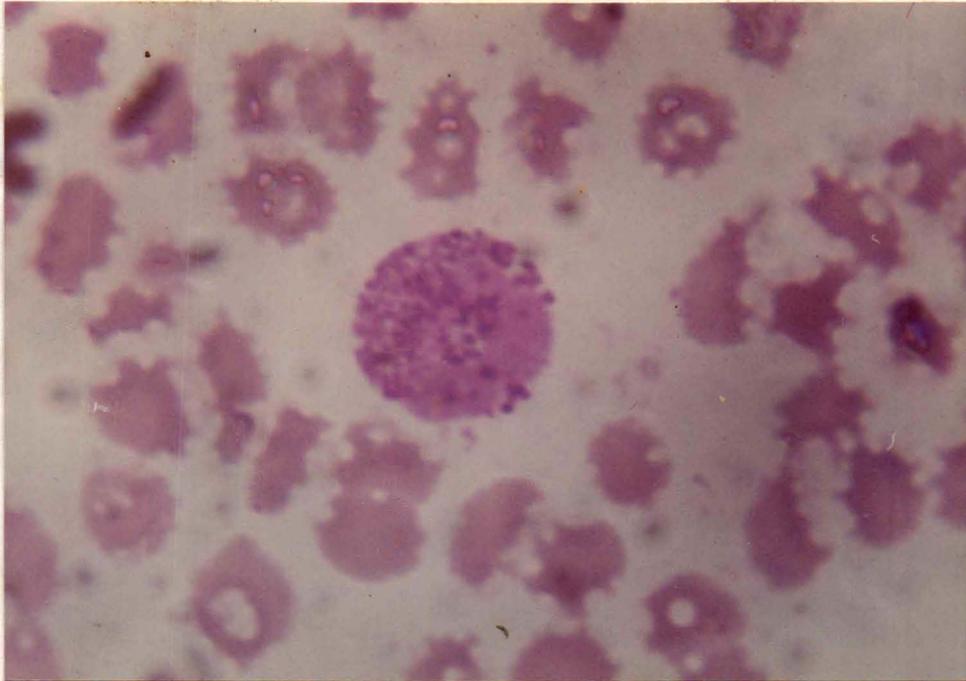
$$\begin{aligned}
 \text{KTS} &= \frac{114608,1833}{3 (20-1)} \\
 &= 2010,6833
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{\text{hit}} &= \frac{2634,6167}{2010,6833} \\
 &= 1,3103
 \end{aligned}$$

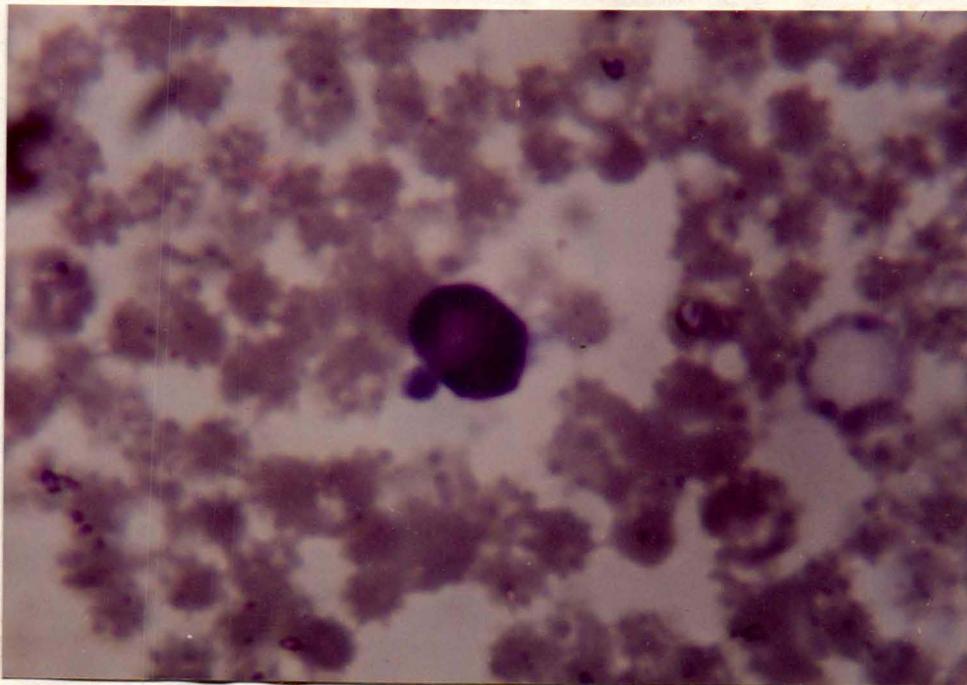
SIDIK RAGAM

SK	db	jk	KT	F hit	F tab	
					0,05	0,01
P	2	5269,2333	2634,6167	1,3	2,55	3,7
S	57	114608,95	2010,6833			
T	59	119878,1833				

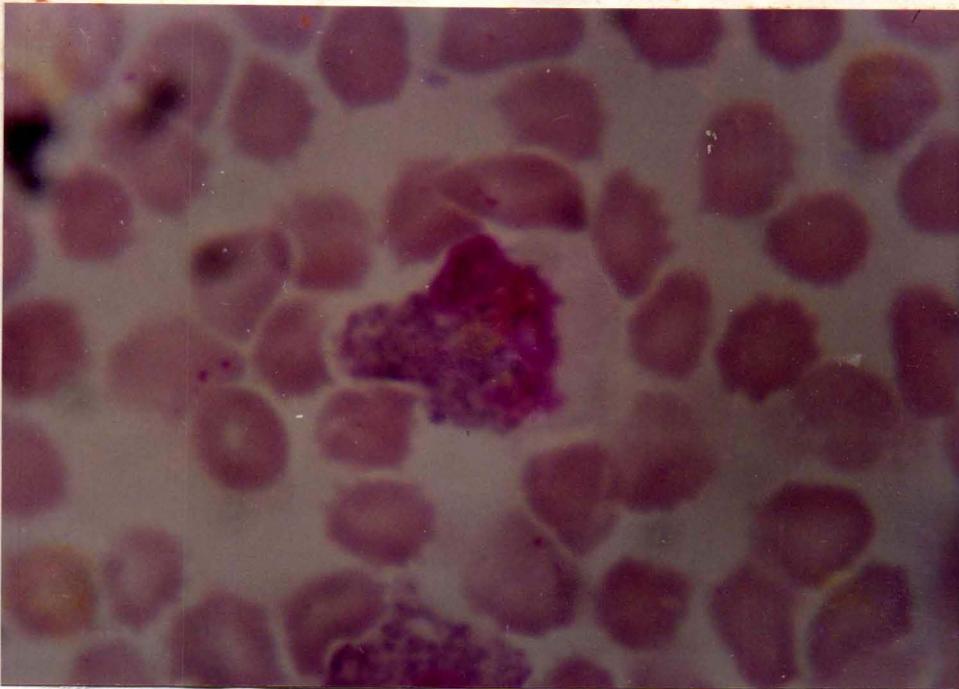
F hitung < F tabel tidak terdapat perbedaan antara ketiga perlakuan pewarnaan.



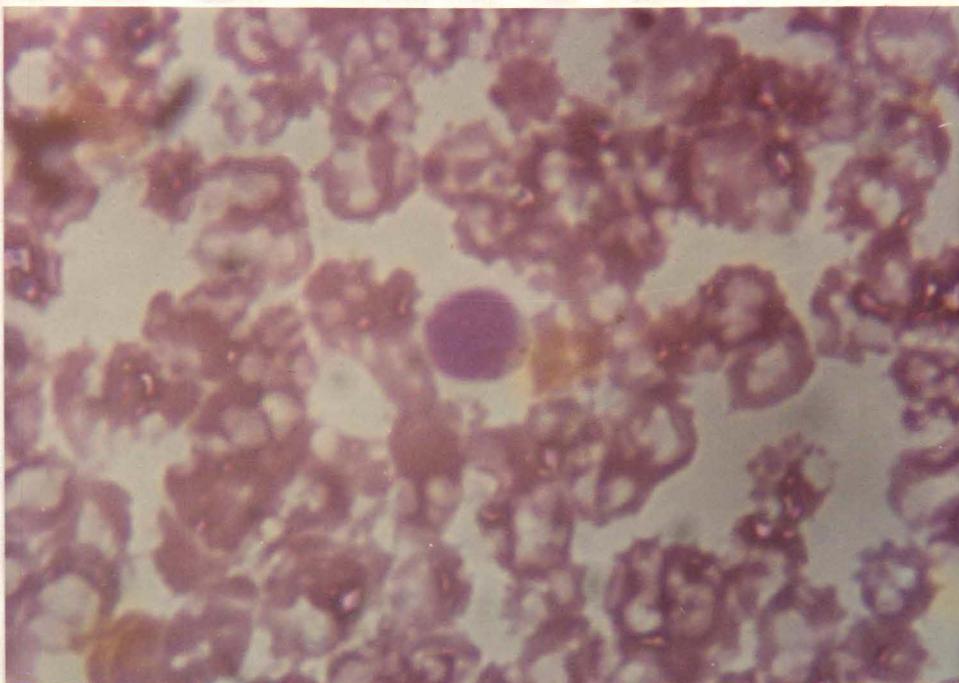
Gambar 3 : Eosinofil (dengan pewarnaan Wright).
Pembesaran 10 x 100.



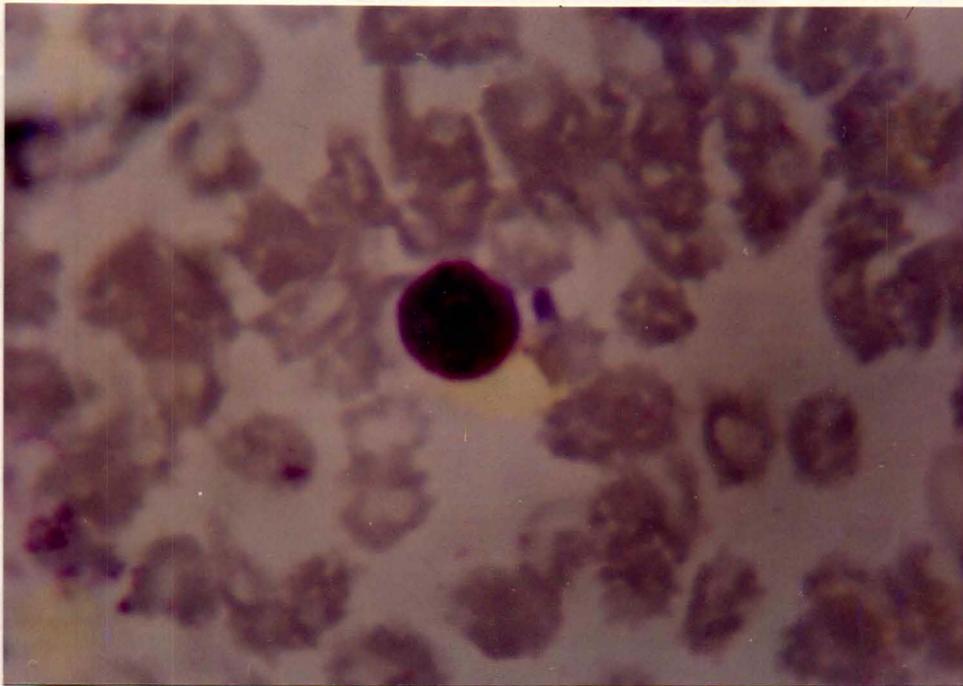
Gambar 4 : Eosinofil (dengan pewarnaan Giemsa).
Pembesaran 10 x 100.



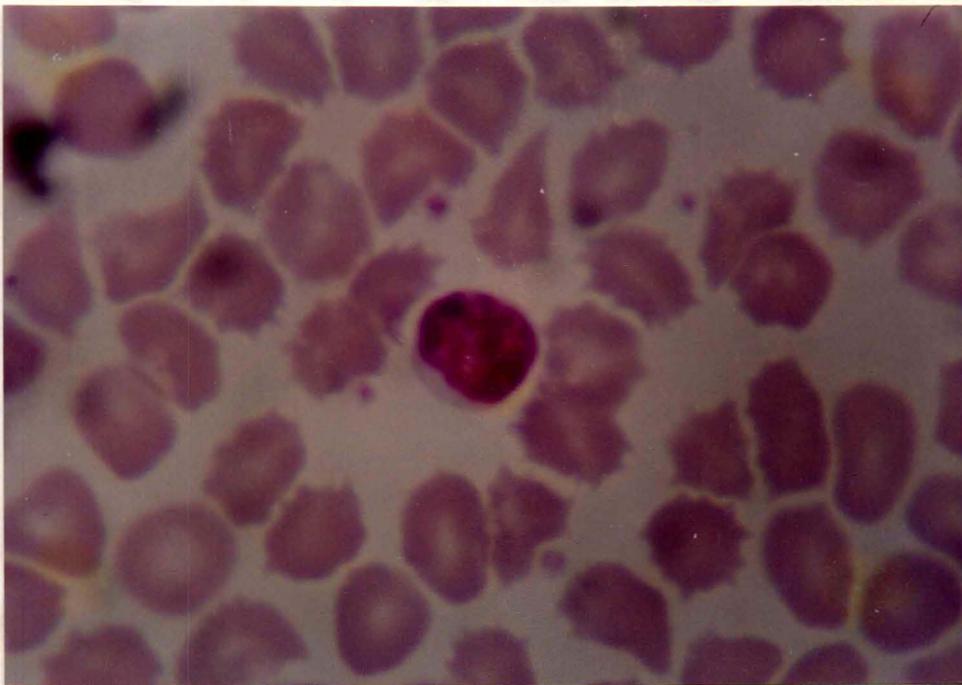
Gambar 5 : Eosinofil (dengan pewarnaan May Grunwald).
Pembesaran 10 x 100.



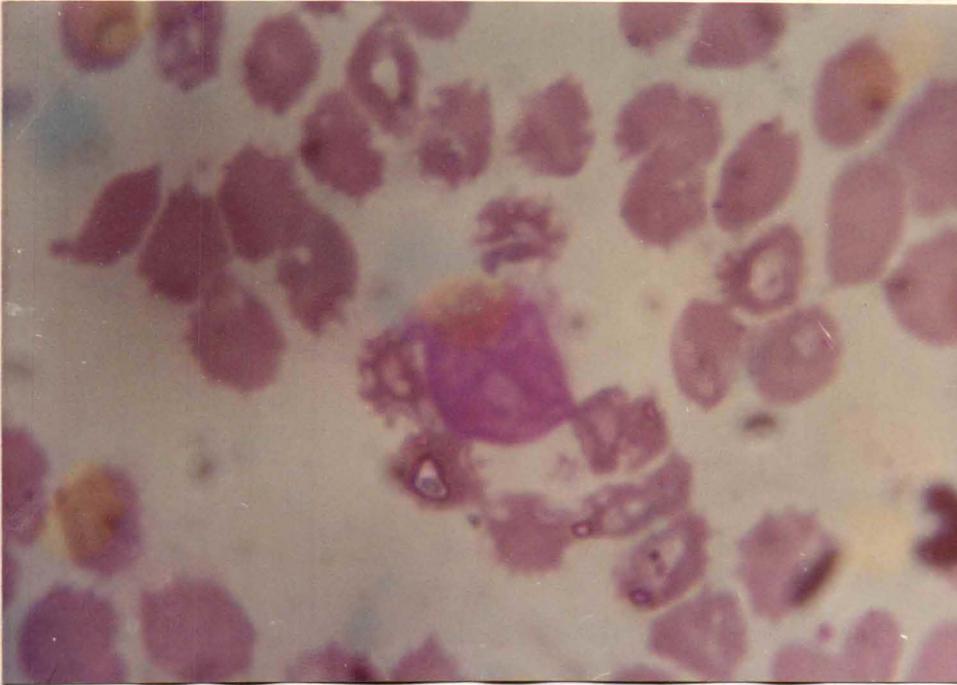
Gambar 6 : Limfosit (dengan pewarnaan Wright).
Pembesaran 10 x 100.



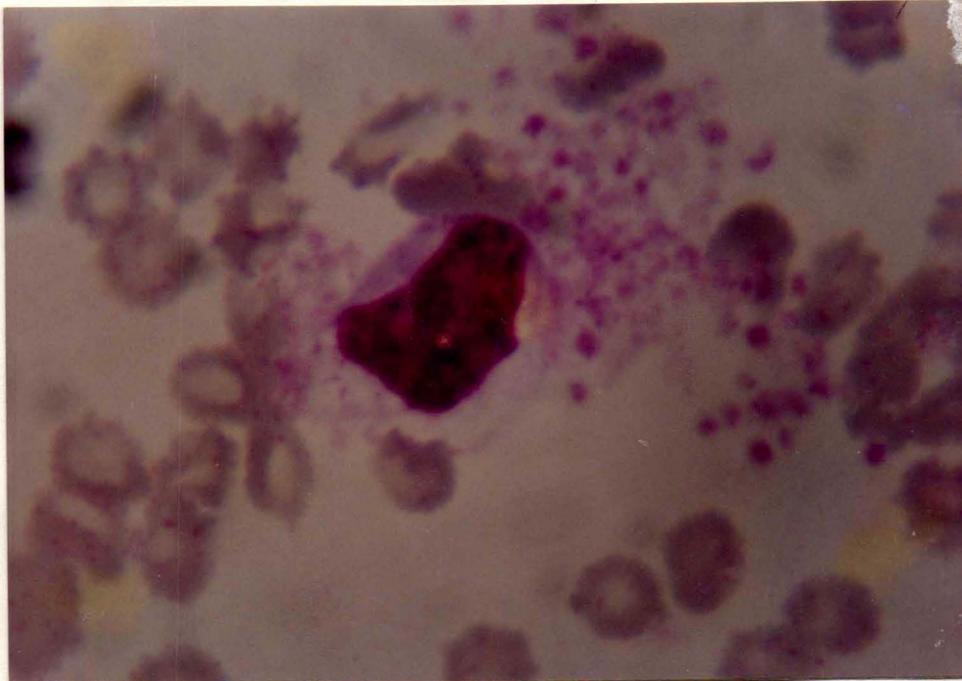
Gambar 7 : Limfosit (dengan pewarnaan Giemsa).
Pembesaran 10 x 100.



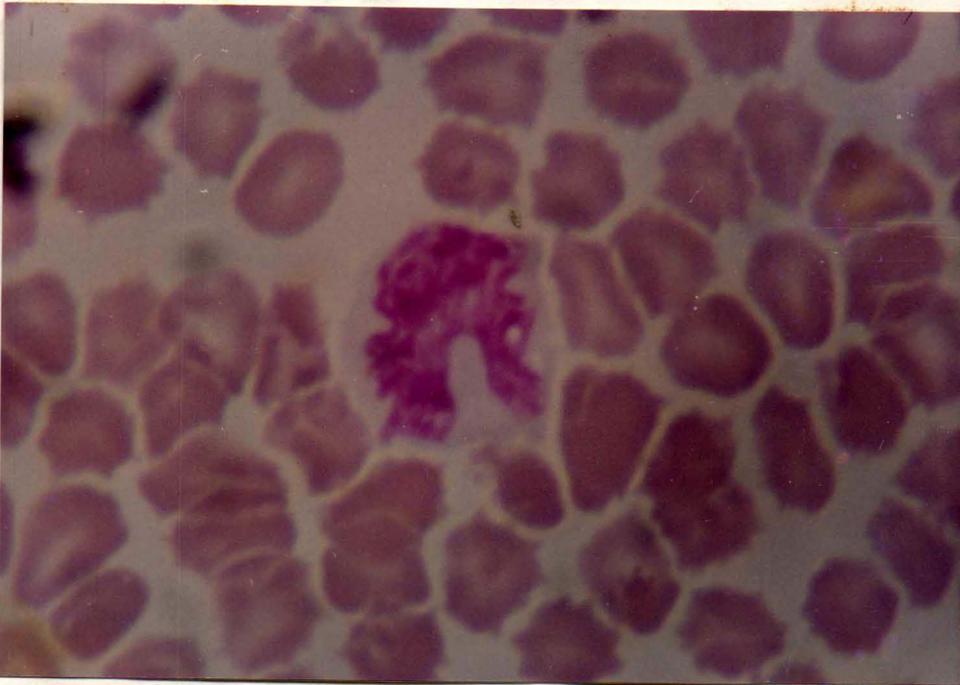
Gambar 8 : Limfosit (dengan pewarnaan May Grunwald).
Pembesaran 10 x 100.



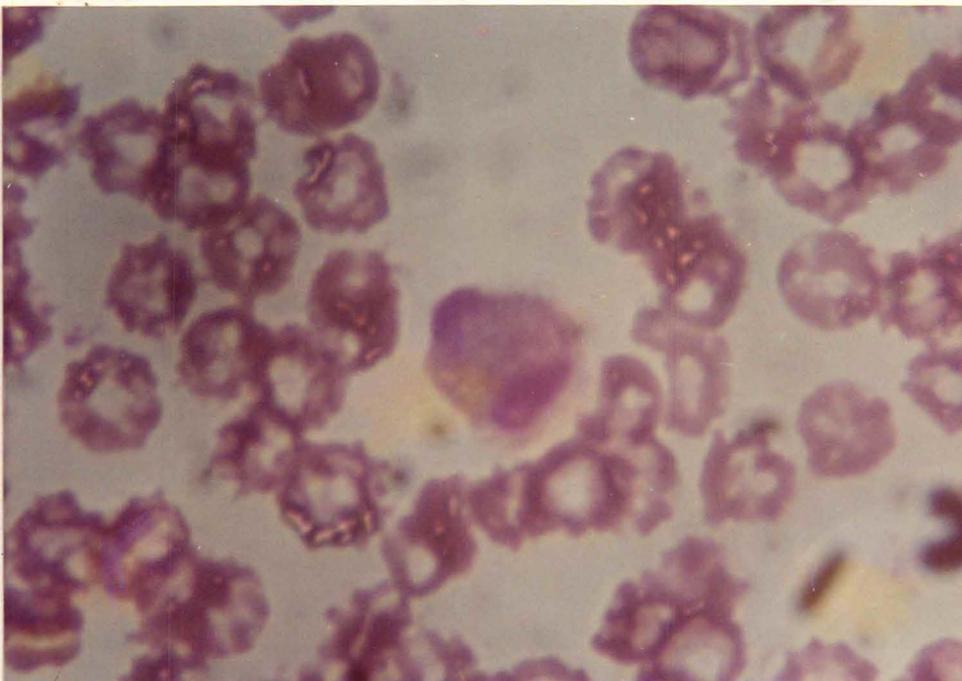
Gambar 9 : Monosit (dengan pewarnaan Wright)
Pembesaran 10 x 100.



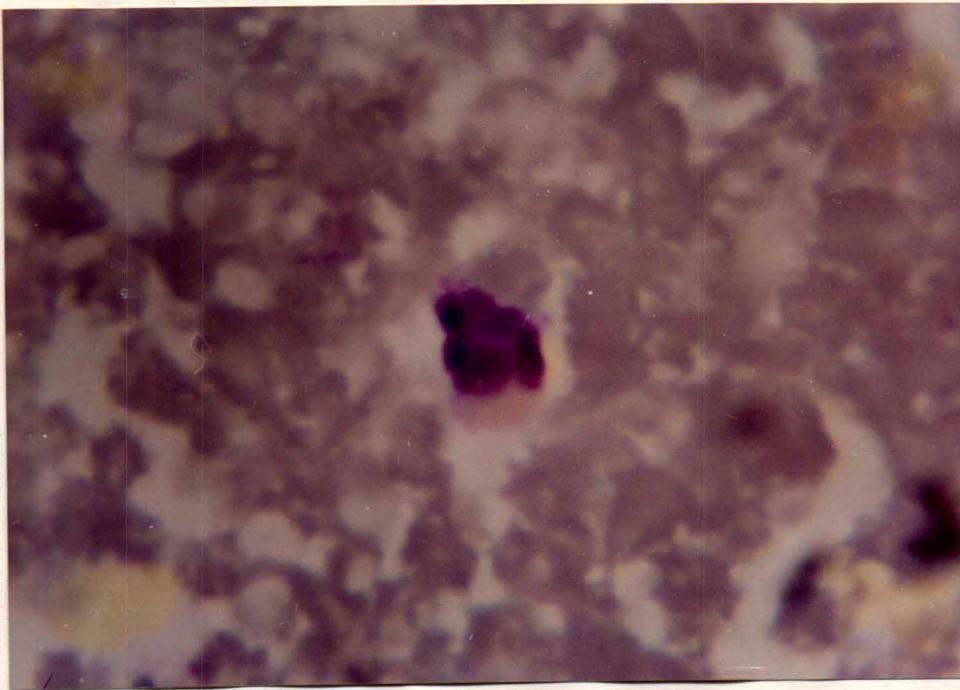
Gambar 10 : Monosit (dengan pewarnaan Giemsa)
Pembesaran 10 x 100.



Gambar 11 : Monosit (dengan pewarnaan May Grunwald)
Pembesaran 10 x 100.



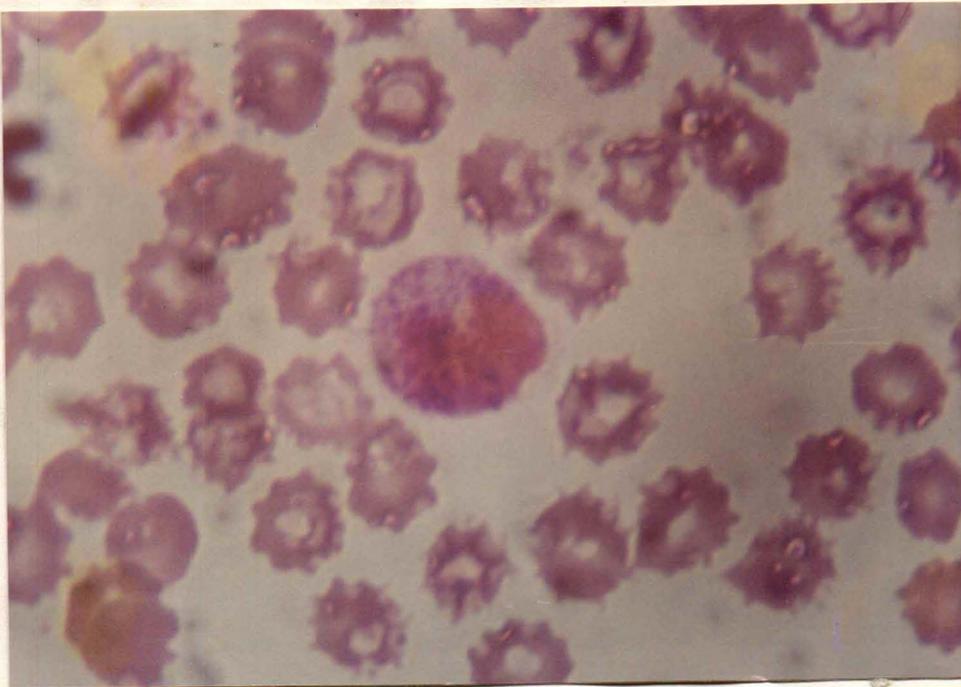
Gambar 12 : Neutrofil (dengan pewarnaan Wright).
Pembesaran 10 x 100.



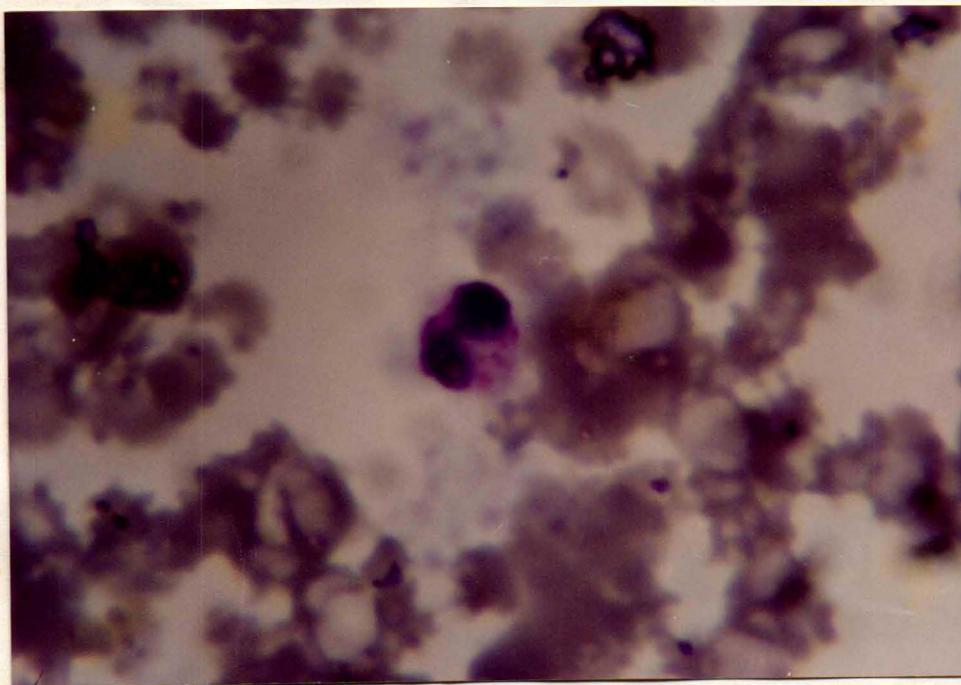
Gambar 13 : Neutrofil (dengan pewarnaan Giemsa).
Pembesaran 10 x 100.



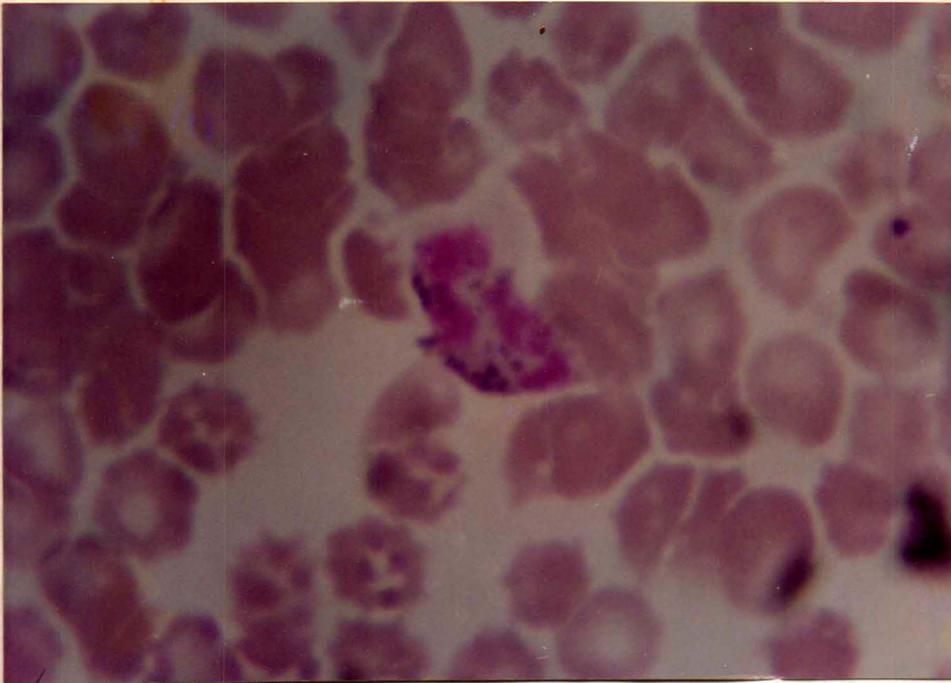
Gambar 14 : Neutrofil (dengan pewarnaan May Grunwald).
Pembesaran 10 x 100.



Gambar 15 : Basofil (dengan pewarnaan Wright).
Pembesaran 10 x 100.



Gambar 16 : Basofil (dengan pewarnaan Giemsa).
Pembesaran 10 x 100.



Gambar 17 : Basofil (dengan pewarnaan May Grunwald).
Pembesaran 10 x 100.