

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

**Standarisasi Durasi Inkubasi Harris Hematoksilin sebagai Upaya
Meminimalkan Variabilitas Hasil Pewarnaan Papanicolaou**



Oleh:

Nur Vita Purwaningsih, S.ST., M.Kes

Tri Ade Saputro, S.Tr.A.K., M.Imun.

Yety Eka Sisпитasari S Tr Kes., MSi

FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS

MUHAMMADIYAH SURABAYA

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>

Tahun 2025

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	2
ABSTRAK	4
BAB I PENDAHULUAN	5
1.1 Latar Belakang.....	5
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Pewarnaan Papanicolaou	8
2.2 Harris Hematoksilin.....	8
2.3 Prinsip Pewarnaan Inti Sel.....	8
2.4 Durasi Inkubasi dan Variabilitas Pewarnaan.....	9
2.5 Standarisasi Waktu Pewarnaan.....	9
2.6 Penilaian Kualitas Sediaan	9
2.7 Kerangka Konseptual	10
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	11
3.1 Tujuan Penelitian.....	11
3.2 Manfaat Penelitian.....	11
BAB IV METODE PENELITIAN.....	12
4.1 Desain Penelitian	12
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
4.3 Populasi dan Sampel.....	12
4.4 Variabel Penelitian	12
4.5 Definisi Operasional.....	13
4.6 Alat dan Bahan	13

4.7 Prosedur Penelitian	13
4.8 Teknik Pengumpulan Data	14
4.9 Teknik Analisis Data	14
4.10 Etika Penelitian.....	14
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	15
5.1 Sumber Data	15
5.2 Hasil Skor Pewarnaan.....	15
5.3 Analisis Statistik.....	16
5.4 Penetapan Durasi Rekomendasi	16
BAB VI RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA.....	19
6.1 Rencana Tahapan Berikutnya.....	19
6.2 Bentuk Tindak Lanjut.....	19
7.1 Kesimpulan.....	20
7.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA.....	21
LAMPIRAN	22

ABSTRAK

Pewarnaan Papanicolaou merupakan salah satu metode pewarnaan sitologi yang banyak digunakan karena mampu memperlihatkan inti sel secara jelas sekaligus memberikan pewarnaan polikromatik pada sitoplasma. Salah satu tahap penting dalam proses tersebut adalah pewarnaan inti menggunakan Harris hematoksilin. Durasi inkubasi yang tidak seragam dapat menghasilkan perbedaan intensitas warna, kejernihan inti, dan kontras antara inti dengan sitoplasma. Penelitian ini bertujuan menetapkan durasi inkubasi Harris hematoksilin yang memberikan hasil pewarnaan paling konsisten dan dapat digunakan sebagai acuan kerja pada pewarnaan Papanicolaou.

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif deskriptif-analitik dengan analisis data sekunder dari penelitian Hafsah et al. (2024). Data terdiri atas 24 sediaan apus mukosa mulut yang dibagi menjadi empat perlakuan, yaitu inkubasi Harris hematoksilin selama 3, 5, 7, dan 10 menit, masing-masing enam pengulangan. Kualitas pewarnaan dinilai menggunakan skala ordinal 1–3 berdasarkan kejelasan bentuk sel, intensitas warna sitoplasma, dan kejelasan inti sel. Data dianalisis secara deskriptif dan dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis.

Rata-rata skor kualitas pewarnaan pada durasi 3, 5, 7, dan 10 menit berturut-turut adalah 2,17; 1,67; 2,83; dan 2,50. Durasi 7 menit memberikan hasil terbaik, dengan lima dari enam sediaan memperoleh skor 3 dan satu sediaan memperoleh skor 2. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan skor kualitas antar kelompok ($H=9,534$; $p=0,023$). Berdasarkan data tersebut, durasi 7 menit dipilih sebagai durasi rekomendasi pada kondisi metode yang sama. Hasil ini perlu diuji kembali menggunakan data primer, jenis spesimen, konsentrasi reagen, dan kondisi laboratorium yang akan digunakan sebelum ditetapkan sebagai SOP diagnostik.

Kata kunci: Papanicolaou, Harris hematoksilin, durasi inkubasi, mukosa mulut, kualitas pewarnaan, standarisasi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan sitologi dilakukan untuk melihat bentuk dan susunan sel secara mikroskopis. Pada pemeriksaan sitologi, mutu sediaan sangat menentukan kemudahan pengamatan karena perubahan warna yang terlalu pucat, terlalu gelap, atau tidak merata dapat mengganggu penilaian morfologi sel. Pewarnaan Papanicolaou merupakan salah satu metode yang banyak digunakan karena dapat memberikan gambaran inti dan sitoplasma dengan kontras yang baik.

Menurut Sathawane et al. (2022), kekuatan pewarnaan Papanicolaou terletak pada kemampuan menghasilkan kromatin inti yang jelas, pewarnaan sitoplasma yang bersifat polikromatik, serta transparansi sitoplasma. Untuk memperoleh karakter tersebut, fiksasi, pewarnaan inti, pewarnaan sitoplasma, diferensiasi, dan proses bluing harus dilakukan dengan kondisi yang terkendali.

Harris hematoksilin merupakan salah satu hematoksilin tipe alum yang digunakan sebagai pewarna inti. Hematoksilin yang telah mengalami oksidasi menjadi hematin akan berikatan dengan struktur inti melalui bantuan mordant. Setelah proses pewarnaan, tahap bluing mengubah warna inti menjadi biru sampai biru-ungu sehingga kromatin lebih mudah diamati (Sathawane et al., 2022).

Durasi kontak sediaan dengan hematoksilin menjadi salah satu bagian yang perlu dikendalikan. Waktu yang terlalu singkat dapat menghasilkan inti yang pucat dan kurang tegas, sedangkan waktu yang terlalu lama dapat meningkatkan intensitas pewarnaan dan mengurangi kontras antara inti dan sitoplasma. Dengan demikian, penggunaan timer dan durasi yang sama pada setiap batch dapat membantu mengurangi variasi yang berasal dari proses pewarnaan manual.

Publikasi Hafsah et al. (2024) secara khusus menilai pengaruh variasi waktu penggunaan Harris hematoksilin terhadap kualitas pewarnaan Papanicolaou pada sediaan mukosa mulut. Penelitian tersebut menggunakan empat variasi waktu, yaitu 3, 5, 7, dan 10 menit, dengan enam pengulangan pada setiap perlakuan. Hasilnya menunjukkan bahwa durasi 7 menit memberikan hasil paling baik; lima dari enam sediaan memenuhi kriteria baik, sedangkan pada durasi 3 menit terdapat empat sediaan yang tidak baik, durasi 5 menit seluruh sediaan tidak memenuhi kriteria baik, dan durasi 10 menit menghasilkan tiga sediaan baik serta tiga sediaan tidak baik.

Temuan tersebut memberikan dasar yang cukup untuk menjadikan durasi 7 menit sebagai kandidat waktu standar pada kondisi penelitian yang sama. Namun, standarisasi tidak cukup hanya dengan memilih satu waktu yang terlihat paling baik. Durasi yang dipilih perlu dikaitkan dengan kriteria penilaian yang jelas, pengulangan yang cukup, pencatatan hasil, dan pengendalian faktor lain seperti kualitas reagen, teknik pembuatan sediaan, keterampilan analis, proses diferensiasi, serta tahap bluing.

Penelitian ini disusun untuk merangkum dan menganalisis data tersebut secara lebih terarah dengan fokus pada upaya meminimalkan variabilitas hasil pewarnaan. Data publikasi digunakan sebagai data sekunder sehingga angka yang ditampilkan pada hasil penelitian merupakan data yang telah dipublikasikan oleh Hafsah et al. (2024), bukan data primer yang diklaim berasal dari pengujian baru. Pendekatan ini digunakan agar laporan tetap dapat dipertanggungjawabkan dan tidak membuat data laboratorium yang tidak tersedia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kualitas hasil pewarnaan Papanicolaou pada durasi inkubasi Harris hematoxilin 3, 5, 7, dan 10 menit?
2. Apakah terdapat perbedaan kualitas pewarnaan pada variasi durasi inkubasi Harris hematoxilin?
3. Durasi inkubasi berapa yang memberikan skor kualitas pewarnaan paling baik dan paling konsisten berdasarkan data penelitian yang dianalisis?
4. Bagaimana penerapan durasi terpilih sebagai upaya meminimalkan variasi hasil pewarnaan Papanicolaou?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah menentukan durasi inkubasi Harris hematoxilin yang paling sesuai sebagai acuan untuk mengurangi variabilitas hasil pewarnaan Papanicolaou pada sediaan mukosa mulut.

1. Mendeskripsikan skor kualitas pewarnaan pada durasi 3, 5, 7, dan 10 menit.
2. Membandingkan hasil pewarnaan antarvariasi durasi inkubasi.
3. Menentukan durasi dengan rata-rata skor kualitas tertinggi.
4. Menganalisis perbedaan kualitas pewarnaan antar kelompok menggunakan uji statistik yang sesuai.
5. Menyusun rekomendasi durasi inkubasi yang dapat digunakan sebagai acuan kerja pada kondisi penelitian yang sama.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi laboratorium, hasil penelitian dapat menjadi bahan pertimbangan dalam menetapkan waktu inkubasi Harris hematoksilin yang lebih seragam pada pewarnaan manual.
2. Bagi tenaga laboratorium, penelitian dapat membantu mengurangi variasi yang disebabkan oleh perbedaan waktu pewarnaan antarpreparat.
3. Bagi institusi pendidikan, hasil penelitian dapat menjadi bahan pembelajaran mengenai standardisasi proses pewarnaan sitologi dan pengendalian mutu.
4. Bagi peneliti selanjutnya, hasil penelitian dapat menjadi dasar untuk melakukan penelitian primer dengan jumlah sediaan lebih banyak, penilaian oleh beberapa evaluator, dan analisis reliabilitas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pewarnaan Papanicolaou

Pewarnaan Papanicolaou merupakan metode pewarnaan polikromatik yang dikembangkan untuk menghasilkan inti sel yang tajam dan sitoplasma dengan warna yang berbeda. Dalam prosedurnya, sediaan yang telah difiksasi menjalani pewarnaan inti menggunakan hematoksin, kemudian pewarnaan sitoplasma menggunakan Orange G dan EA. Kombinasi tersebut menghasilkan transparansi sitoplasma dan perbedaan warna yang membantu pengamatan morfologi sel (Sathawane et al., 2022).

Pada praktik laboratorium, prosedur Papanicolaou dapat mengalami penyesuaian tergantung jenis spesimen, formulasi reagen, alat yang digunakan, dan kebiasaan laboratorium. Karena itu, waktu pewarnaan yang tercantum dalam satu protokol tidak selalu dapat langsung diterapkan pada semua kondisi. Pengendalian waktu tetap diperlukan agar perubahan prosedur dapat dilakukan secara terukur.

2.2 Harris Hematoksin

Harris hematoksin merupakan hematoksin alum yang digunakan untuk mewarnai inti sel. Hematoksin sendiri perlu mengalami oksidasi menjadi hematin agar memiliki kemampuan pewarnaan. Dalam sistem pewarnaan yang bersifat regresif, sediaan dapat mengalami pewarnaan berlebih kemudian kelebihan warna dikurangi melalui diferensiasi menggunakan acid alcohol, dilanjutkan bluing untuk memperoleh warna inti biru atau biru-ungu (Sathawane et al., 2022).

Kondisi reagen ikut menentukan hasil pewarnaan. Umur reagen, filtrasi, kontaminasi, penguapan, dan perubahan kondisi larutan dapat memengaruhi intensitas warna. Karena itu, durasi inkubasi harus dikendalikan bersama faktor-faktor tersebut dan tidak boleh dipandang sebagai satu-satunya penyebab variasi.

2.3 Prinsip Pewarnaan Inti Sel

Hematoksin menghasilkan pewarnaan yang kuat pada struktur yang kaya asam nukleat. Setelah bluing, inti tampak biru sampai biru-ungu. Dalam pewarnaan Papanicolaou, tujuan utama tahap ini adalah menghasilkan kromatin inti yang tajam tanpa membuat latar

belakang atau sitoplasma terlalu tertutup oleh warna. Hasil akhir merupakan kombinasi antara intensitas hematoksilin, diferensiasi, bluing, dan counterstain.

2.4 Durasi Inkubasi dan Variabilitas Pewarnaan

Durasi inkubasi merupakan lama kontak antara sediaan dengan larutan pewarna. Pada metode manual, perbedaan beberapa menit dapat terjadi apabila analis tidak menggunakan timer atau memproses beberapa rak secara bersamaan. Perbedaan tersebut dapat menghasilkan intensitas inti yang tidak sama antarpreparat.

Hafsah et al. (2024) menunjukkan adanya perbedaan kualitas hasil pewarnaan pada variasi waktu 3, 5, 7, dan 10 menit. Pada penelitian tersebut, durasi 7 menit memberikan proporsi sediaan dengan kriteria baik paling tinggi. Temuan ini memperlihatkan bahwa waktu perlu ditetapkan secara spesifik pada prosedur kerja yang digunakan.

2.5 Standarisasi Waktu Pewarnaan

Standarisasi merupakan penetapan kondisi kerja yang sama untuk memperoleh hasil yang relatif konsisten. Dalam pewarnaan Papanicolaou, standarisasi waktu dapat dilakukan dengan menetapkan durasi inkubasi, menggunakan timer, mencatat waktu mulai dan selesai, serta menerapkan prosedur yang sama pada seluruh sediaan dalam satu batch.

Standarisasi tidak berarti bahwa satu durasi akan selalu menghasilkan hasil identik pada semua laboratorium. Reagen, jenis sediaan, metode fiksasi, ketebalan apusan, suhu, proses diferensiasi, dan kualitas air dapat memengaruhi hasil. Oleh karena itu, waktu yang ditetapkan harus divalidasi kembali ketika kondisi metode berubah.

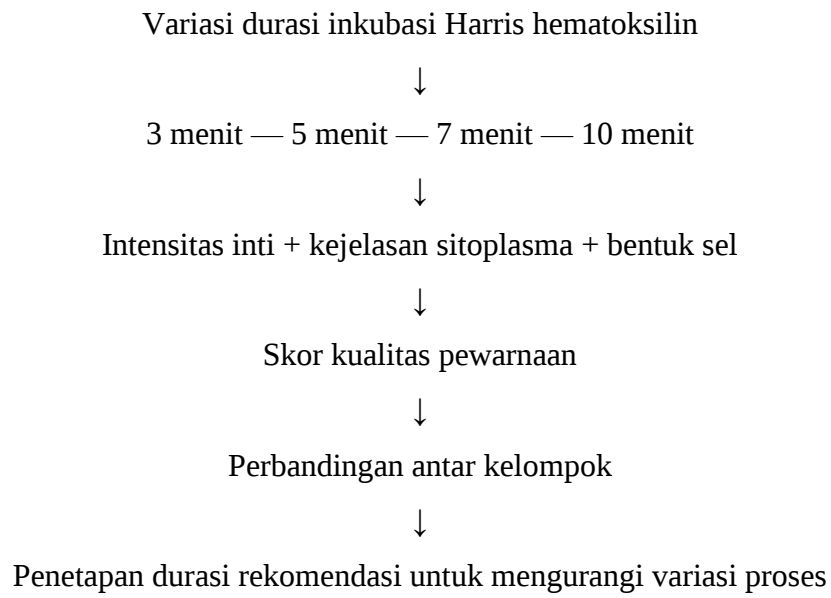
2.6 Penilaian Kualitas Sediaan

Dalam penelitian Hafsah et al. (2024), kualitas pewarnaan dinilai dengan skala ordinal 1–3. Skor 1 menunjukkan bentuk sel dan intensitas warna inti serta sitoplasma tidak jelas; skor 2 menunjukkan hasil yang kurang jelas; sedangkan skor 3 menunjukkan bentuk sel, intensitas sitoplasma, dan intensitas inti terlihat jelas. Kriteria tersebut digunakan dalam analisis penelitian ini karena merupakan kriteria yang tersedia pada sumber data.

Skor	Kriteria	Gambaran hasil
------	----------	----------------

1	Tidak baik	Bentuk sel tidak jelas; intensitas sitoplasma dan inti tidak jelas.
2	Kurang baik	Bentuk sel, sitoplasma, dan inti masih kurang jelas.
3	Baik	Bentuk sel jelas; sitoplasma berwarna jelas; inti terlihat jelas.

2.7 Kerangka Konseptual



BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

No.	Tujuan Khusus	Indikator
1	Mendeskripsikan kualitas pewarnaan pada setiap durasi.	Nilai skor 1–3 setiap sediaan.
2	Membandingkan rata-rata skor antar durasi.	Rata-rata skor tiap kelompok.
3	Menguji perbedaan antar kelompok.	Nilai H dan p-value.
4	Menentukan durasi dengan hasil terbaik.	Rata-rata tertinggi dan proporsi skor 3.
5	Menyusun rekomendasi standardisasi.	Durasi rekomendasi dan langkah pengendalian waktu.

3.2 Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan memberikan dasar yang lebih jelas dalam menentukan waktu inkubasi Harris hematoksilin. Penetapan waktu yang sama pada setiap sediaan diharapkan dapat mengurangi variasi teknis yang muncul akibat perbedaan lama kontak dengan reagen. Hasil penelitian juga dapat digunakan sebagai bahan evaluasi sebelum durasi tersebut dimasukkan ke dalam SOP laboratorium.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian menggunakan desain kuantitatif deskriptif-analitik dengan pendekatan analisis data sekunder. Data yang dianalisis berasal dari penelitian Hafsah et al. (2024) mengenai variasi waktu penggunaan Harris hematoksin pada pewarnaan Papanicolaou sediaan mukosa mulut. Data tersebut dianalisis kembali untuk memperoleh gambaran variasi skor dan menentukan durasi yang paling sesuai sebagai kandidat waktu standar.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengolahan dan analisis data dilakukan di lingkungan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya pada tahun 2026. Karena penelitian menggunakan data yang telah dipublikasikan, tidak dilakukan pengambilan sampel biologis baru dalam penelitian ini.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi sumber adalah seluruh data penilaian kualitas pewarnaan pada penelitian Hafsah et al. (2024). Sampel analisis terdiri atas 24 sediaan apus mukosa mulut yang dibagi menjadi empat kelompok durasi, masing-masing enam sediaan. Kelompok perlakuan terdiri atas 3 menit, 5 menit, 7 menit, dan 10 menit.

Kelompok	Durasi Harris hematoksin	Jumlah sediaan
I	3 menit	6
II	5 menit	6
III	7 menit	6
IV	10 menit	6
Total		24

4.4 Variabel Penelitian

No.	Variabel	Jenis
1	Durasi inkubasi Harris hematoksin	Bebas
2	Skor kualitas pewarnaan	Terikat
3	Kejelasan inti sel	Indikator

4	Kejelasan sitoplasma	Indikator
5	Kejelasan bentuk sel	Indikator

4.5 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil
Durasi inkubasi	Lama sediaan berada dalam larutan Harris hematoksin.	Mengikuti kelompok perlakuan.	3, 5, 7, 10 menit
Skor kualitas	Nilai ordinal berdasarkan kejernihan bentuk sel, sitoplasma, dan inti.	Skoring 1–3.	Skor 1–3
Hasil baik	Bentuk sel, warna sitoplasma, dan inti tampak jelas.	Skor 3.	Baik
Variabilitas	Perbedaan skor hasil antar sediaan pada durasi yang sama.	SD dan distribusi skor.	Nilai SD/distribusi

4.6 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada prosedur sumber meliputi objek glass, rak pewarnaan, mikroskop, timer, dan perlengkapan pembuatan sediaan. Bahan meliputi sediaan apus mukosa mulut yang telah difiksasi, Harris hematoksin, larutan untuk pembilasan dan bluing, Orange G, EA, alkohol bertingkat, xylene atau bahan clearing, serta medium mounting. Dalam penelitian ini, alat dan bahan tersebut dijelaskan untuk memberikan gambaran metode sumber; pengujian primer tidak dilakukan kembali.

4.7 Prosedur Penelitian

1. Menyiapkan data hasil pewarnaan dari penelitian Hafsah et al. (2024).
2. Memisahkan data berdasarkan empat kelompok durasi inkubasi Harris hematoksin, yaitu 3, 5, 7, dan 10 menit.
3. Mencatat skor setiap sediaan sesuai kriteria ordinal 1–3 yang digunakan pada penelitian sumber.

4. Menghitung frekuensi skor 1, 2, dan 3 pada setiap kelompok.
5. Menghitung rata-rata dan simpangan baku skor pada setiap kelompok.
6. Melakukan uji Kruskal-Wallis karena data kualitas berbentuk ordinal dan terdiri atas lebih dari dua kelompok independen.
7. Menentukan durasi kandidat standar berdasarkan skor rata-rata, proporsi sediaan dengan skor 3, dan hasil uji statistik.
8. Menyusun rekomendasi pengendalian waktu dengan penggunaan timer dan pencatatan durasi pada setiap batch.

4.8 Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dari artikel Hafsah et al. (2024), terutama tabel skor enam pengulangan pada masing-masing durasi. Data yang tersedia kemudian ditranskripsikan ke dalam tabel kerja agar dapat dihitung kembali. Tidak ada angka yang ditambahkan untuk menggantikan data yang tidak dilaporkan.

4.9 Teknik Analisis Data

Analisis deskriptif dilakukan dengan menghitung nilai rata-rata, simpangan baku, dan distribusi skor pada setiap kelompok. Karena skor kualitas merupakan data ordinal, perbedaan antar empat kelompok dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan tingkat kemaknaan $\alpha=0,05$. Nilai $p<0,05$ dianggap menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik.

Untuk penetapan durasi rekomendasi, hasil statistik tidak digunakan sendirian. Durasi juga dipertimbangkan dari proporsi sediaan dengan skor 3, rata-rata skor, dan kestabilan distribusi skor. Dengan pendekatan tersebut, durasi 7 menit dipilih sebagai kandidat durasi standar pada kondisi penelitian sumber.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian ini menggunakan data sekunder dari publikasi ilmiah dan tidak melibatkan identitas pasien. Sumber data dicantumkan secara jelas. Penggunaan data tidak dimaksudkan untuk mengubah kesimpulan penelitian sumber, tetapi untuk melakukan analisis kembali dengan fokus pada penetapan durasi inkubasi sebagai upaya standarisasi proses.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Sumber Data

Data yang dianalisis berasal dari publikasi Hafsah et al. (2024) berjudul “An Effect of Variations in Time of Using Harris Hematoxylin on Papanicolaou Staining” pada Proceeding International Conference on Health Polytechnic Ministry of Health Surabaya. Penelitian sumber menggunakan 24 sediaan apus mukosa mulut, empat variasi durasi, dan enam pengulangan pada setiap durasi. Penilaian menggunakan skor ordinal 1–3 berdasarkan kejelasan bentuk sel, sitoplasma, dan inti.

5.2 Hasil Skor Pewarnaan

No.	Replikasi	Durasi	Skor
1	I	3 menit	2
2	II	3 menit	1
3	III	3 menit	2
4	IV	3 menit	3
5	V	3 menit	2
6	VI	3 menit	3
7	I	5 menit	2
8	II	5 menit	1
9	III	5 menit	2
10	IV	5 menit	1
11	V	5 menit	2
12	VI	5 menit	2
13	I	7 menit	3
14	II	7 menit	2
15	III	7 menit	3
16	IV	7 menit	3
17	V	7 menit	3
18	VI	7 menit	3
19	I	10 menit	3
20	II	10 menit	3
21	III	10 menit	2
22	IV	10 menit	2
23	V	10 menit	3
24	VI	10 menit	2

Sumber data: Hafsah et al. (2024).

Durasi	n	Skor 3	Skor 2	Skor 1	Rata-rata	SD
3 menit	6	2	3	1	2,17	0,75
5 menit	6	0	4	2	1,67	0,52
7 menit	6	5	1	0	2,83	0,41
10 menit	6	3	3	0	2,50	0,55

Berdasarkan tabel tersebut, kelompok 7 menit mempunyai rata-rata skor tertinggi, yaitu 2,83, dan lima dari enam sediaan memperoleh skor 3. Kelompok 10 menit berada pada urutan kedua dengan rata-rata 2,50. Kelompok 3 menit mempunyai rata-rata 2,17, sedangkan kelompok 5 menit mempunyai rata-rata terendah, yaitu 1,67.

5.3 Analisis Statistik

Data skor merupakan data ordinal sehingga analisis perbedaan antar empat kelompok dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis. Hasil perhitungan kembali terhadap data yang dilaporkan Hafsah et al. (2024) menghasilkan nilai H sebesar 9,534 dengan $p=0,023$. Karena $p<0,05$, terdapat perbedaan kualitas pewarnaan yang bermakna secara statistik antar durasi inkubasi yang dibandingkan.

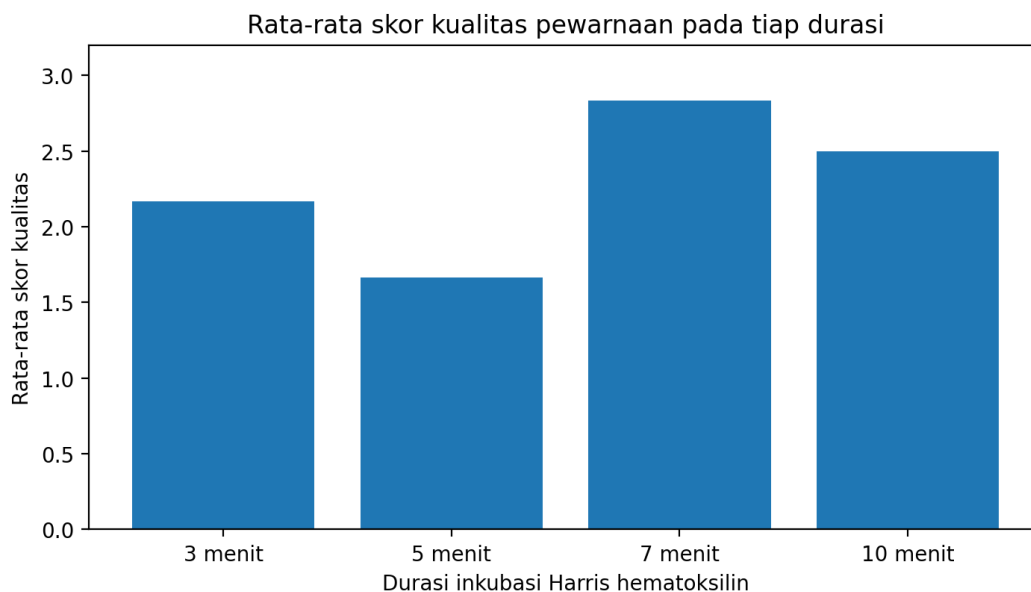
Analisis	Nilai
Uji	Kruskal-Wallis
H	9,534
p-value	0,023
α	0,05
Kesimpulan	Terdapat perbedaan antar kelompok

5.4 Penetapan Durasi Rekomendasi

Durasi 7 menit dipilih sebagai durasi rekomendasi karena mempunyai rata-rata skor tertinggi (2,83), lima dari enam sediaan mendapatkan skor 3, dan simpangan baku relatif kecil (0,41). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kondisi penelitian sumber, durasi 7 menit menghasilkan kombinasi kejelasan inti dan sitoplasma yang paling baik dibandingkan tiga durasi lainnya.

Penetapan 7 menit tidak dimaksudkan sebagai standar universal untuk seluruh laboratorium. Durasi tersebut merupakan kandidat waktu standar yang paling sesuai berdasarkan data yang dianalisis. Sebelum digunakan sebagai SOP diagnostik, durasi perlu

dikonfirmasi dengan reagen, spesimen, teknik fiksasi, proses diferensiasi, bluing, dan sistem kerja laboratorium yang sebenarnya.



Gambar 5.1 Rata-rata skor kualitas pewarnaan berdasarkan durasi inkubasi

5.5 Pembahasan

Hasil analisis memperlihatkan bahwa perubahan durasi inkubasi Harris hematoksilin diikuti perubahan skor kualitas pewarnaan. Durasi 5 menit justru menghasilkan skor terendah, sedangkan durasi 7 menit memberikan skor paling tinggi. Temuan ini sesuai dengan laporan Hafsah et al. (2024) yang menetapkan 7 menit sebagai waktu yang paling sesuai pada penelitian mereka.

Pada durasi 3 menit, terdapat empat sediaan yang dinilai tidak baik. Kondisi tersebut dapat dikaitkan dengan pewarnaan inti yang belum mencapai intensitas yang cukup sehingga bentuk sel dan detail warna menjadi kurang jelas. Hafsah et al. (2024) juga melaporkan bahwa pada durasi 3 menit sebagian sediaan tampak pucat dan sitoplasma kurang jelas.

Pada durasi 5 menit, tidak ada sediaan yang mencapai skor 3. Hal ini menunjukkan bahwa pada data sumber, waktu tersebut belum menghasilkan kontras yang optimal. Namun, hasil ini tidak berarti bahwa 5 menit selalu menghasilkan pewarnaan buruk karena karakter reagen dan prosedur lain dapat berbeda di laboratorium lain.

Durasi 7 menit memberikan hasil yang paling konsisten. Lima dari enam sediaan memperoleh skor 3, dengan satu sediaan memperoleh skor 2. Kondisi tersebut sejalan dengan uraian Hafsah et al. (2024) bahwa pada 7 menit inti tampak ungu atau biru gelap dan sitoplasma berwarna merah muda sehingga perbedaan struktur sel lebih mudah diamati.

Pada durasi 10 menit, tiga sediaan mendapatkan skor 3 dan tiga lainnya skor 2. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan waktu setelah 7 menit tidak memberikan peningkatan yang konsisten. Dengan kata lain, memperlama waktu inkubasi tidak otomatis menghasilkan kualitas yang lebih baik.

Sathawane et al. (2022) menjelaskan bahwa kualitas pewarnaan Papanicolaou ditentukan oleh kombinasi berbagai tahap, termasuk fiksasi, hematoksin, diferensiasi, bluing, dan counterstain. Karena itu, standarisasi durasi Harris hematoksin sebaiknya dilakukan sebagai bagian dari pengendalian proses secara keseluruhan.

Variabilitas hasil juga dapat berasal dari faktor lain seperti teknik pembuatan apusan, ketebalan sediaan, keterampilan analis, kondisi reagen, kontaminasi larutan, dan urutan pencelupan. Hafsah et al. (2024) menyebutkan faktor sumber daya manusia, teknik pembuatan sediaan, proses pewarnaan, dan kualitas reagen sebagai faktor yang dapat memengaruhi kualitas hasil.

Standarisasi durasi 7 menit dapat diterapkan secara praktis dengan menggunakan timer yang sama, menetapkan waktu mulai dan selesai secara tertulis, serta menghindari perbedaan lama inkubasi antar rak. Jika dilakukan dalam batch, setiap perpindahan rak perlu dicatat sehingga sediaan tidak mengalami waktu kontak yang berbeda.

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena data yang digunakan merupakan data sekunder dengan jumlah sediaan 24. Penilaian kualitas juga menggunakan skala ordinal dan berasal dari penelitian sumber. Oleh karena itu, hasil ini lebih tepat digunakan sebagai dasar rekomendasi awal, bukan sebagai bukti validasi metode diagnostik. Penelitian primer dengan jumlah sediaan lebih besar, lebih dari satu penilai, dan uji reliabilitas akan memberikan dasar yang lebih kuat.

BAB VI

RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Rencana Tahapan Berikutnya

1. Melakukan penelitian primer menggunakan sediaan mukosa mulut dengan jumlah pengulangan yang lebih besar.
2. Menggunakan satu batch Harris hematoksilin yang kondisinya dikontrol dan mencatat tanggal pembuatan serta penggunaan reagen.
3. Menggunakan timer untuk mengontrol durasi 7 menit secara konsisten.
4. Melibatkan minimal dua penilai yang tidak mengetahui kelompok waktu untuk mengurangi bias penilaian.
5. Menilai reliabilitas antarpemilai menggunakan statistik yang sesuai untuk data ordinal.
6. Membandingkan durasi 7 menit dengan durasi standar yang saat ini digunakan di laboratorium.
7. Melakukan evaluasi apabila terjadi perubahan merek atau formulasi hematoksilin, karena waktu optimum dapat berubah.

6.2 Bentuk Tindak Lanjut

Hasil penelitian dapat ditindaklanjuti dengan penyusunan lembar kontrol pewarnaan. Lembar tersebut dapat memuat tanggal, kode batch reagen, durasi inkubasi, nama analis, hasil kontrol, dan catatan apabila terjadi penyimpangan. Dengan pencatatan tersebut, laboratorium dapat menelusuri penyebab apabila terjadi hasil pewarnaan yang tidak konsisten.

Durasi 7 menit dapat dimasukkan sebagai waktu kandidat dalam SOP setelah dilakukan konfirmasi menggunakan bahan dan kondisi laboratorium yang sebenarnya. Apabila hasil konfirmasi menunjukkan kualitas yang konsisten, waktu tersebut dapat ditetapkan sebagai waktu kerja rutin dengan toleransi yang ditentukan laboratorium.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisis data penelitian Hafsah et al. (2024), terdapat perbedaan kualitas hasil pewarnaan Papanicolaou pada variasi durasi inkubasi Harris hematoksilin 3, 5, 7, dan 10 menit. Rata-rata skor kualitas masing-masing kelompok adalah 2,17; 1,67; 2,83; dan 2,50. Uji Kruskal-Wallis menghasilkan $H=9,534$ dengan $p=0,023$, sehingga terdapat perbedaan kualitas pewarnaan antar kelompok pada taraf kemaknaan 5%.

Durasi 7 menit memberikan hasil paling baik dan paling konsisten pada data yang dianalisis, dengan lima dari enam sediaan memperoleh skor 3 dan satu sediaan memperoleh skor 2. Oleh karena itu, 7 menit dapat digunakan sebagai kandidat durasi standar untuk kondisi metode yang sama sebagai upaya mengurangi variasi akibat perbedaan waktu inkubasi. Hasil tersebut belum dapat dianggap sebagai standar universal atau validasi diagnostik dan tetap perlu dikonfirmasi menggunakan data primer di laboratorium yang akan menerapkannya.

7.2 Saran

1. Laboratorium sebaiknya menggunakan timer pada tahap inkubasi Harris hematoksilin agar waktu antarpreat lebih seragam.
2. Durasi 7 menit dapat diuji sebagai waktu standar pada kondisi laboratorium yang sama sebelum dimasukkan ke dalam SOP.
3. Kontrol kualitas reagen, proses fiksasi, diferensiasi, bluing, dan counterstain tetap perlu dilakukan karena waktu inkubasi bukan satu-satunya faktor yang menentukan hasil.
4. Penelitian lanjutan sebaiknya menggunakan data primer, jumlah sediaan yang lebih banyak, minimal dua penilai, dan uji reliabilitas penilaian.
5. Apabila formulasi atau merek Harris hematoksilin berubah, waktu optimum perlu dievaluasi kembali.

DAFTAR PUSTAKA

- Hafsah, A. A., Purwaningsih, N. V., Saputro, T. A., & Sari, Y. E. S. (2024). An Effect of Variations in Time of Using Harris Hematoxylin on Papanicolaou Staining. *Proceeding International Conference on Health Polytechnic Ministry of Health Surabaya*, 335–340. e-ISSN 3030-878X.
- Sathawane, P., Kamal, M. M., Deotale, P. R., & Mankar, H. (2022). Nuances of the Papanicolaou stain. *CytoJournal*, 19, 43. doi:10.25259/CMAS_03_18_2021.
- Dighe, S. B., Ajit, D., Pathuthara, S., & Chinoy, R. (2006). Papanicolaou stain: Is it economical to switch to rapid, economical, acetic acid, Papanicolaou stain? *Journal of Cytology*, 23(3), 149–153.
- Iqbal, M. (2019). Effect of Harris Hematoxylin Immersion Time on the Quality of Heart Histopathology Preparations of Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Induced Ischemia-Reperfusion. *Journal Veterinary Medicine*, 13(2), 127–132.
- Naqsyabandi, S. (2022). Overview of Time Variation of Papanicolaou Staining on Cytology Preparations of Smokers' Oral Mucosa. *Journal Medika Husada*, 2(1), 19–24. doi:10.59744/jumeha.v2i1.10.
- Astuti, D. (2017). Overview of Microscopic Quality in Diff Quick and Papanicolaou Painting FNAB Samples. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Papanicolaou, G. N. (1942). A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 95(2469), 438–439. doi:10.1126/science.95.2469.438.
- International Organization for Standardization. (2015). ISO 15189:2012 Medical laboratories — Requirements for quality and competence.

LAMPIRAN

