

Optimasi Durasi Fiksasi Alkohol 96% sebagai Upaya Peningkatan Kualitas Pap Smear pada Fasilitas Kesehatan dengan Sumber Daya Terbatas

Nurhilalayah*, Wiwin Marsenda, Ka'bah

Fakultas Teknologi Kesehatan, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Megarezky, Makassar, Indonesia
Jl. Antang Raya No. 43, 90234, Makassar, Indonesia

Email: ^{1,*}nurhilalayah@unimerz.ac.id, ²wiwinmarsenda11@gmail.com, ³kabah.paharu@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: nurhilalayah@unimerz.ac.id

Abstrak—Kanker serviks memerlukan deteksi dini melalui sitologi Pap smear, namun akurasi diagnostiknya di fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas sering terhambat oleh variabilitas kualitas preparat akibat fiksasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi durasi fiksasi alkohol 96% terhadap kualitas preparat Pap smear sebagai dasar pengembangan standar operasional prosedur (SOP). Penelitian menggunakan desain eksperimen repeated measures pada delapan sampel yang dikontrol ketat untuk meminimalisir variabel pengganggu, menghasilkan 24 observasi dengan variasi durasi 5, 15, dan 30 menit. Kualitas preparat dinilai secara objektif menggunakan skoring terstruktur berbasis modifikasi kriteria Bethesda yang meliputi morfologi inti, karakteristik sitoplasma, dan kejernihan latar belakang. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik (uji Friedman, $p = 0,001$). Durasi 30 menit memberikan hasil optimal secara konsisten pada seluruh sampel. Meskipun penelitian ini merupakan studi awal dengan jumlah sampel terbatas, hasil yang konsisten pada desain repeated measures menunjukkan durasi 30 menit sebagai kondisi fiksasi paling ideal untuk mempertahankan integritas sel. Temuan ini memberikan dasar empiris bagi laboratorium dengan keterbatasan sumber daya untuk melakukan standarisasi prosedur fiksasi guna meningkatkan akurasi diagnostik

Kata Kunci: Durasi; Fiksasi; Kanker Serviks; Pap Smear; Sitologi

Abstract—Cervical cancer requires early detection through Pap smear cytology, but its diagnostic accuracy in health facilities with limited resources is often hampered by the variability of preparation quality due to fixation. This study aims to optimize the duration of 96% alcohol fixation on the quality of Pap smear preparations as a basis for developing standard operating procedures (SOPs). The study used a repeated measures experimental design on eight tightly controlled samples to minimize confounding variables, resulting in 24 observations with varying durations of 5, 15, and 30 minutes. Preparation quality was objectively assessed using a structured scoring system based on modified Bethesda criteria that include nuclear morphology, cytoplasmic characteristics, and background clarity. The results showed a statistically significant difference (Friedman test, $p = 0.001$). A duration of 30 minutes consistently provided optimal results across all samples. Although this is a preliminary study with a limited number of samples, consistent results in the repeated measures design indicate a duration of 30 minutes as the most ideal fixation condition to maintain cell integrity. These findings provide an empirical basis for resource-constrained laboratories to standardize fixation procedures to improve diagnostic accuracy.

Keywords: Duration; Fixation; Cervical Cancer; Pap Smear; Cytology

1. PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan jenis tumor ganas yang berkembang pada jaringan epitel leher rahim akibat pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Penyebab utama dari kanker serviks adalah infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV), terutama tipe-tipe yang memiliki risiko tinggi dan ditularkan melalui kontak seksual. Infeksi HPV yang persisten dapat menyebabkan perubahan sel serviks yang berkembang menjadi kanker jika tidak terdeteksi dan ditangani secara dini (Khabibah *et al.*, 2022). Kanker serviks sering tanpa gejala awal sehingga kerap terdeteksi pada stadium lanjut (Prihanto *et al.*, 2022). Sebagai respon, strategi ini mencakup target pencapaian tahun 2030 yaitu 90% anak perempuan mendapatkan vaksinasi HPV, 70% perempuan menjalani skrining setidaknya dua kali seumur hidup, dan 90% perempuan dengan hasil skrining positif mendapatkan pengobatan yang tepat (WHO, 2024). Salah satu metode skrining yang masih banyak digunakan adalah Pap smear yang memungkinkan deteksi dini perubahan seluler pada serviks sebelum berkembang menjadi kanker (Dani & Sari, 2022).

Pap smear merupakan metode skrining sitologis sekaligus deteksi dini untuk memeriksa sel-sel serviks guna mengidentifikasi sel abnormal sebelum berkembang menjadi lesi pra-kanker atau kanker serviks (Rezende *et al.*, 2021; Shanthi *et al.*, 2022). Prosedur ini dilakukan dengan mengambil sel epitel dari serviks, kemudian sel tersebut difiksasi dan diwarnai menggunakan metode Papanicolaou untuk dianalisis di bawah mikroskop. Penilaian kualitas preparat *Pap smear* merupakan tahap krusial dalam pemeriksaan sitologi serviks, karena kualitas preparat secara langsung memengaruhi keakuratan diagnosis (Pangarkar, 2022). Keberhasilan diagnosis sangat ditentukan oleh kualitas preparat sitologi yang dihasilkan. Salah satu faktor krusial dalam menghasilkan preparat yang baik adalah proses fiksasi, yang berfungsi untuk mempertahankan struktur dan morfologi sel, mencegah autolisis, serta memastikan hasil pewarnaan yang optimal (Yuliantini & Wiranatha, 2024). Preparat yang tidak memadai sering kali disebabkan oleh kesalahan teknis, seperti teknik pengambilan yang salah, kontaminasi, atau fiksasi yang terlambat, sehingga dapat mengaburkan hasil evaluasi morfologi seluler (Sarcheshme *et al.*, 2024).

Salah satu tahapan krusial dalam pemeriksaan sitologi serviks adalah fiksasi preparat. Terdapat dua metode umum, yaitu fiksasi basah (*wet fixation*) dan fiksasi kering (*dry fixation*). Dalam konteks *Pap smear*, fiksasi basah menggunakan alkohol 96% dianggap sebagai standar emas (Sari *et al.*, 2021). Metode ini mampu menjaga integritas inti dan sitoplasma

secara maksimal, sehingga memberikan hasil pewarnaan yang lebih jelas dibandingkan fiksasi kering yang berisiko menimbulkan artefak akibat pengeringan udara (Jha & Rao, 2023). Fiksasi harus segera dilakukan setelah pengambilan spesimen, yaitu dalam waktu kurang dari 10 detik untuk menghindari terjadinya pengeringan udara yang dapat menyebabkan artefak sitologis (Kamal, 2022; Lelek *et al.*, 2022). Proses ini bertujuan untuk mempertahankan morfologi sel, dimana sampel *Pap smear* harus segera dimasukkan ke dalam larutan etanol sebagai fiksatif untuk mencegah kerusakan struktur sel (Mishra *et al.*, 2022).

Durasi fiksasi juga menjadi salah satu faktor teknis yang memengaruhi hasil akhir preparat. Fiksasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan lisis sel atau artefak, sementara fiksasi yang terlalu lama dapat menyebabkan overfiksasi yang merusak detail morfologi inti dan sitoplasma. Beberapa penelitian, seperti oleh (Dani & Sari, 2022), membandingkan durasi fiksasi 15 dan 30 menit menggunakan alkohol 96% dan menemukan bahwa fiksasi selama 30 menit menghasilkan kualitas visual yang lebih baik. Penelitian lain oleh (Yuliantini & Wiranatha, 2024) menunjukkan bahwa fiksasi basah selama minimal 30 menit menghasilkan preparat dengan kualitas morfologi inti dan sitoplasma yang optimal dibandingkan dengan metode penyemprotan.

Meskipun fiksasi 30 menit telah menjadi standar operasional yang direkomendasikan pada fasilitas laboratorium ideal, realitas implementasinya di fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas kerap menghadapi kendala. Keterbatasan tenaga kesehatan, efisiensi *reagen*, serta urgensi volume sampel berpotensi memicu modifikasi durasi fiksasi dari standar aslinya. Variabilitas praktik fiksasi di lapangan dipengaruhi oleh perbedaan pelatihan teknisi laboratorium serta belum adanya SOP yang seragam sehingga dapat menimbulkan hasil pemeriksaan yang bervariasi dan tidak konsisten (Dani & Sari, 2022). Kondisi tersebut berpotensi menyebabkan kesalahan interpretasi, baik berupa hasil positif palsu maupun negatif palsu, yang pada akhirnya berdampak pada keterlambatan diagnosis. Permasalahan tersebut menunjukkan bahwa penerapan durasi fiksasi dalam praktik pemeriksaan masih memerlukan kajian lebih lanjut.

Oleh karena itu, kesenjangan penelitian ini tidak bertumpu pada ketiadaan pedoman nasional, melainkan pada upaya mengoptimalkan batas toleransi waktu fiksasi pada situasi di mana standar baku sulit diimplementasikan secara ideal. Kondisi tersebut menjadi dasar perlunya dilakukan penelitian untuk memperoleh informasi yang dapat mendukung pelaksanaan pemeriksaan dalam kondisi nyata di lapangan. Kebaruan penelitian ini terletak pada analisis pengaruh deviasi durasi fiksasi dalam konteks fasilitas pelayanan kesehatan dengan keterbatasan sumber daya, seperti yang direpresentasikan oleh RSUD Sawerigading. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai penerapan durasi fiksasi yang lebih sesuai dengan kondisi pelaksanaan pemeriksaan di lapangan. Penelitian ini difokuskan pada variasi durasi fiksasi sebagai aspek yang dianalisis terhadap kualitas hasil preparat pemeriksaan sitologi *Pap smear*. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi durasi fiksasi terhadap kualitas hasil preparat pemeriksaan sitologi *Pap smear*. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan bukti empiris mengenai batas durasi fiksasi yang optimal, sekaligus menjadi dasar dalam penyusunan atau penyesuaian SOP internal laboratorium yang lebih aplikatif dan pragmatis bagi fasilitas pelayanan kesehatan tingkat menengah.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan rancangan *repeated measures (within-subject design)* yang bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi durasi fiksasi terhadap kualitas preparat *Pap smear* (Dani *et al.*, 2022). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Sitologi pada bulan Juni–Juli 2025. Seluruh rangkaian penelitian dilaksanakan sesuai dengan jadwal penelitian yang telah ditetapkan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah durasi fiksasi, sedangkan variabel terikat adalah kualitas preparat yang meliputi morfologi inti, sitoplasma, dan kejernihan latar belakang.

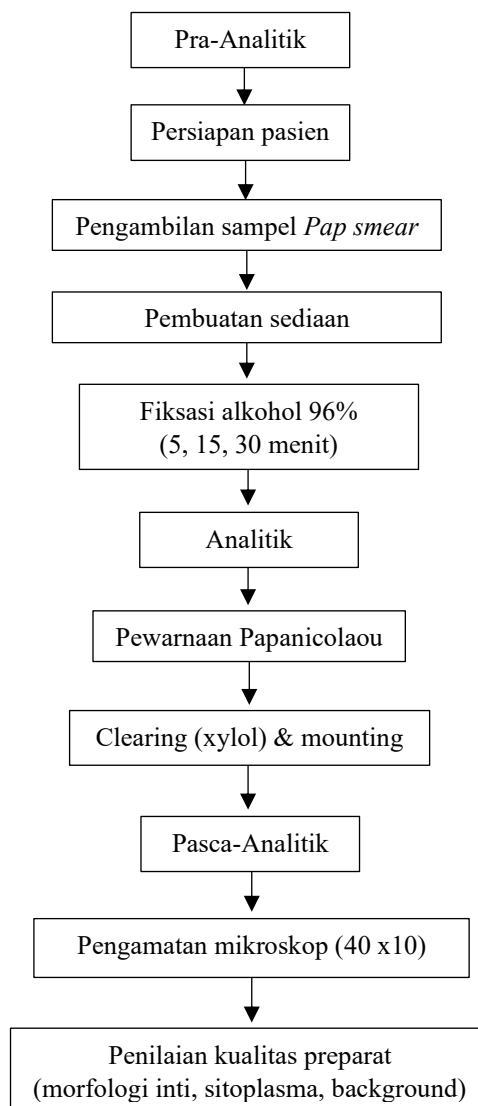
2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi spekulum steril, spatula Ayre, *cytobrush*, mikroskop cahaya, dan alat penunjang lainnya. Bahan yang digunakan terdiri dari alkohol 96%, hematoksilin Harris, alkohol asam (HCl 0,05%), bluing reagent, Orange G-6, Eosin Azure (EA-50), xylol, objek glass, cover glass, dan *mounting media*.

2.2 Prosedur dan Kerangka Penelitian

Prosedur pemeriksaan *Pap smear* dalam penelitian ini dilakukan secara sistematis dan berurutan sesuai dengan tahapan pemeriksaan sitologi serviks. Seluruh proses penelitian dimulai dari tahap persiapan, pengambilan sampel, proses pembuatan preparat, pewarnaan, hingga evaluasi hasil pengamatan terhadap kualitas preparat. Pelaksanaan penelitian dibagi ke dalam tiga tahapan utama, yaitu tahap pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Masing-masing tahapan dilaksanakan sesuai dengan prosedur penelitian yang telah ditetapkan untuk memperoleh preparat *Pap smear* yang dapat dievaluasi berdasarkan parameter penelitian. Adapun uraian setiap tahapan prosedur penelitian disajikan pada Gambar 1.

Tahap pra-analitik meliputi persiapan pasien dengan memberikan instruksi untuk tidak melakukan hubungan seksual, tidak menggunakan produk intravagina seperti obat atau krim, serta menghindari irigasi vagina selama 24 hingga 48 jam sebelum pemeriksaan. Pemeriksaan dijadwalkan di luar masa menstruasi untuk menghindari kontaminasi sampel. Pengambilan sampel dilakukan oleh tenaga medis terlatih menggunakan spekulum steril, kemudian spesimen diambil dari area transformasi serviks menggunakan spatula Ayre atau *cytobrush*. Sampel yang diperoleh dioleskan secara merata pada kaca objek bersih dan segera difiksasi menggunakan alkohol 96% dengan variasi durasi selama 5, 15, dan 30 menit.



Gambar 1. Kerangka prosedur pemeriksaan *Pap smear* berdasarkan variasi durasi fiksasi

Tahap analitik meliputi proses pewarnaan sediaan dan evaluasi mikroskopik terhadap hasil preparat menggunakan metode Papanicolaou. Preparat yang telah difiksasi dicuci dengan air mengalir selama satu menit, kemudian diwarnai menggunakan hematoksilin selama tiga menit. Proses dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan bluing selama satu menit, kemudian dilakukan dekolorisasi menggunakan alkohol 96% selama satu menit. Preparat selanjutnya diwarnai menggunakan larutan Orange G selama dua menit dan dicelupkan kembali ke dalam alkohol 96% selama satu menit. Pewarnaan dilanjutkan menggunakan Eosin Azure selama tiga menit, kemudian dilakukan dekolorisasi lanjutan menggunakan alkohol 96% sebanyak tiga kali masing-masing selama satu menit. Tahap akhir dilakukan proses *clearing* menggunakan xylol, dilanjutkan dengan penambahan *mounting media* dan penutupan menggunakan *cover glass* hingga preparat siap diamati secara mikroskopik.

Tahap pasca-analitik mencakup interpretasi mikroskopik terhadap sediaan yang telah diwarnai serta penilaian kualitas preparat. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40 x 10 untuk menilai morfologi sel secara detail. Penilaian kualitas preparat dilakukan oleh seorang analis sitologi yang berpengalaman di Laboratorium Patologi Sitologi RSUD Sawerigading Palopo. Penilaian difokuskan pada morfologi inti sel yang meliputi bentuk, ukuran, kromatin, dan ketebalan membran inti, karakteristik sitoplasma yang mencakup warna, batas, dan keseragaman, serta kejernihan latar belakang yang berkaitan dengan keberadaan artefak, sisa darah, atau lendir yang dapat mengganggu pembacaan.

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien yang menjalani pemeriksaan *Pap smear*. Sampel berupa 8 preparat *Pap smear* yang diambil secara acak, kemudian masing-masing diberikan tiga perlakuan durasi fiksasi (5, 15, dan 30 menit) sehingga diperoleh total 24 unit observasi. Kriteria inklusi meliputi wanita usia 20–50 tahun dan sampel diambil oleh tenaga medis terlatih, sedangkan kriteria eksklusi meliputi sediaan yang terkontaminasi berat atau tidak difiksasi sesuai prosedur.

2.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Sitologi RSUD Sawerigading Palopo sebagai lokasi penelitian. Penelitian dilakukan pada periode Juni hingga Juli 2025.

2.5 Teknik Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara kuantitatif melalui pendekatan analisis univariat dan bivariat untuk menggambarkan distribusi data serta menguji hubungan antar variabel.

a. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik masing-masing variabel secara tunggal dalam bentuk distribusi frekuensi dan persentase. Variabel yang dianalisis meliputi durasi fiksasi (kategori 5 menit, 15 menit, dan 30 menit) serta kualitas preparat *Pap smear* yang diklasifikasikan menjadi kategori buruk, cukup, baik, dan sangat baik. Analisis ini bertujuan memberikan gambaran umum mengenai persebaran data berdasarkan kategori variabel penelitian.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat diawali dengan uji normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk untuk mengetahui distribusi data. Jika data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji Friedman sebagai uji non-parametrik untuk membandingkan tiga atau lebih perlakuan berulang pada kelompok yang sama (*within-subject*). Penggunaan uji ini sesuai dengan karakteristik data yang berskala ordinal dan melibatkan perlakuan berulang pada setiap sampel dengan variasi durasi fiksasi 5, 15, dan 30 menit. Uji Friedman digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan secara statistik terhadap kualitas morfologi preparat. Nilai signifikansi ditetapkan pada $\alpha = 0,05$ dan pengolahan data dilakukan menggunakan SPSS. Hasil analisis dinyatakan signifikan apabila diperoleh nilai $p < 0,05$.

Penilaian kualitas preparat *Pap smear* dilakukan menggunakan sistem skoring ordinal terhadap tiga parameter, yaitu morfologi inti, karakteristik sitoplasma, dan kejernihan latar preparat. Morfologi inti dinilai berdasarkan kejelasan bentuk inti, distribusi kromatin, dan batas membran inti. Karakteristik sitoplasma dinilai berdasarkan kejelasan batas sel, keseragaman pewarnaan, dan integritas sitoplasma. Kejernihan latar belakang dinilai berdasarkan keberadaan artefak, lendir, atau sisa darah yang dapat mengganggu pengamatan mikroskopik. Masing-masing parameter diberi skor 0–3, dengan skor 0 menunjukkan kualitas sangat buruk, skor 1 menunjukkan kualitas kurang baik, skor 2 menunjukkan kualitas baik, dan skor 3 menunjukkan kualitas sangat baik. Total skor diperoleh dari penjumlahan ketiga parameter dengan rentang nilai 0–9. Selanjutnya, total skor dikategorikan menjadi buruk (0–2), cukup (3–4), baik (6–8), dan sangat baik (9). Penilaian dilakukan berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis terhadap setiap preparat *Pap smear* yang telah melalui proses fiksasi dan pewarnaan Papanicolaou.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

Pada penelitian ini menggunakan sampel *Pap smear* pada pasien di Laboratorium Patologi Sitologi RSUD Sawerigading Palopo sebanyak 8 sampel yang kemudian dibuat sedian dalam tiap sampel masing-masing dilakukan 3 perlakuan waktu fiksasi yaitu 5 menit, 15 menit dan 30 menit. Karakteristik responden dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Responden berdasarkan umur

Karakteristik	Kategori	Jumlah	Persentase
Umur	20-30	3	37.5 %
	31-40	4	50.0%
	41-50	1	12.5 %
Total		8	100%

Berdasarkan Tabel 1, karakteristik responden berdasarkan umur menunjukkan mayoritas berada pada rentang usia 31–40 tahun sebanyak 4 responden orang atau 50%, diikuti oleh kelompok usia 20–30 tahun sebanyak 3 responden orang atau 37.5%, dan paling sedikit pada kelompok usia 41–50 tahun sebanyak 1 orang responden atau 12.5 %. Selanjutnya, hasil interpretasi pemeriksaan sitologi *Pap smear* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Interpretasi Hasil Pemeriksaan Sitologi *Pap smear*

Kode Sampel	Durasi Fiksasi	Morfologi Inti (0–3)	Sitoplasma (0–3)	Latar Preparat (0–3)	Total Skor	Keterangan
R1	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	0	0	2	2	Buruk
	5 menit	0	0	2	2	Buruk
R2	30 menit	3	3	3	9	Sangat baik
	15 menit	1	0	2	3	Cukup

Kode Sampel	Durasi Fiksasi	Morfologi Inti (0-3)	Sitoplasma (0-3)	Latar Preparat (0-3)	Total Skor	Keterangan
R3	5 menit	1	0	2	3	Cukup
	30 menit	3	3	3	9	Sangat baik
	15 menit	3	2	2	7	Baik
R4	5 menit	0	0	2	2	Buruk
	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	0	1	2	3	Cukup
R5	5 menit	0	1	2	3	Cukup
	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	0	1	2	3	Cukup
R6	5 menit	0	0	2	2	Buruk
	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	0	1	1	2	Buruk
R7	5 menit	0	1	1	2	Buruk
	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	1	0	2	3	Cukup
R8	5 menit	1	0	2	3	Cukup
	30 menit	3	3	3	9	Sangat Baik
	15 menit	0	2	2	4	Cukup
	5 menit	0	2	2	4	Cukup

Keterangan :

R1-R8 : Kode sampel 1-8

0-2 : Buruk – Struktur inti/sitoplasma tidak terlihat jelas, banyak artefak

3-4 : Cukup – Struktur terlihat tetapi tidak optimal, warna kurang tajam, ada gangguan latar belakang

6-8 : Baik – Morfologi inti dan sitoplasma cukup jelas, latar relatif bersih.

9 : Sangat Baik – Detil sel sangat jelas, pewarnaan optimal, tanpa gangguan latar.

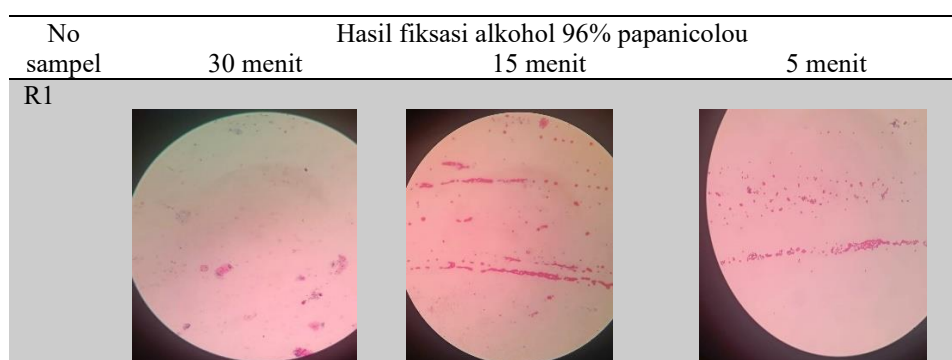
Berdasarkan Tabel 2, diperoleh bahwa pada durasi fiksasi 30 menit, seluruh sampel (R1–R8) memperoleh skor total tertinggi, yaitu 9 kategori sangat baik. Hal ini menunjukkan bahwa morfologi inti dan sitoplasma sangat jelas dengan latar preparat yang optimal. Hal ini menandakan kualitas preparat terbaik diperoleh pada waktu fiksasi ini.

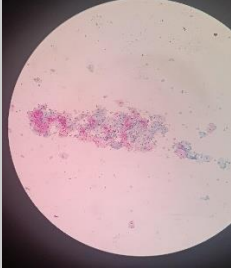
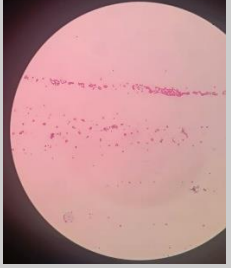
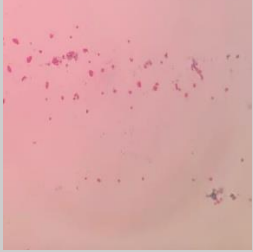
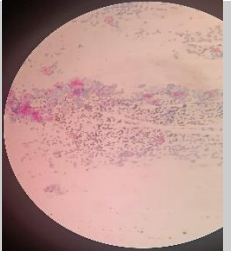

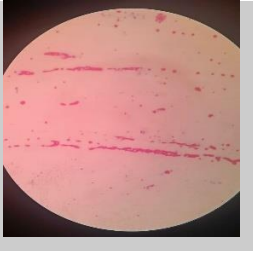
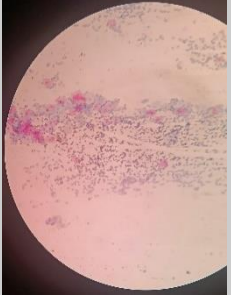
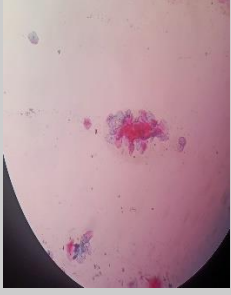

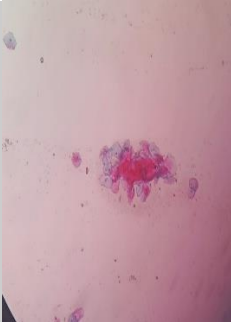
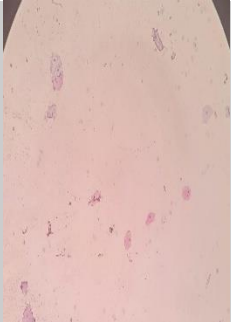

Pada durasi fiksasi 15 menit, kualitas preparat cenderung menurun. Sebagian besar sampel menunjukkan skor total (3-4) kategori cukup, dengan penurunan kejelasan inti maupun sitoplasma. Hanya sampel R3 yang memperoleh skor relatif tinggi (total 7), menunjukkan morfologi inti dan sitoplasma masih cukup jelas. Sebaliknya, keterangan pada sampel lain banyak mencatat skor total 2 kategori buruk yang ditandai dengan warna yang kurang tajam, detil sel yang kurang optimal, serta sedikit gangguan latar belakang.

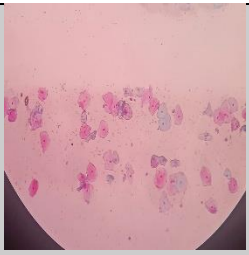
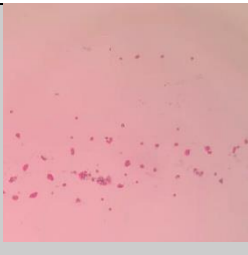
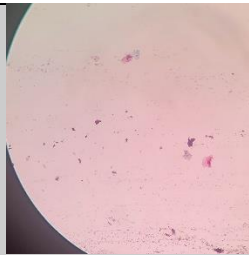
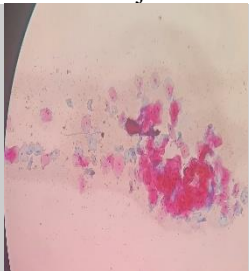
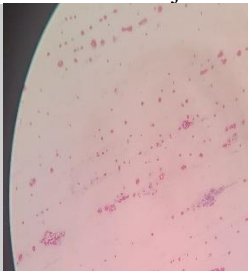
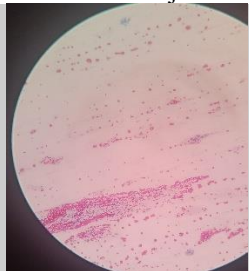
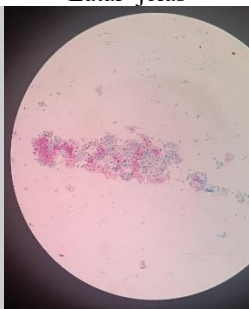
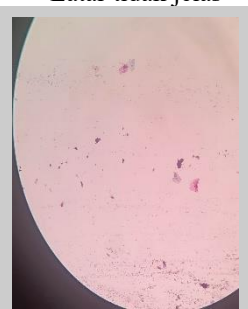
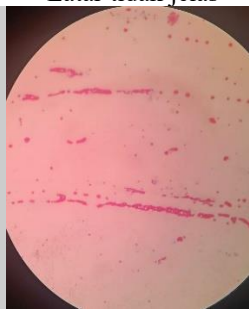
Durasi fiksasi 5 menit secara umum menghasilkan skor terendah pada hampir semua sampel, berkisar kategori buruk (skor 2) dan sisanya kategori cukup (skor 3-4), dengan penurunan tajam pada kejelasan morfologi inti dan sitoplasma. Beberapa keterangan menunjukkan “tidak ada inti”, “tidak jelas”, atau “sitoplasma kurang jelas”, menandakan adanya degradasi struktur sel yang memengaruhi kualitas interpretasi.

Secara umum, hasil menunjukkan adanya perbedaan kualitas preparat *Pap smear* pada setiap variasi durasi fiksasi. Perbandingan morfologi inti, sitoplasma, dan kejernihan latar preparat pada masing-masing durasi fiksasi disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan kualitas preparat *Pap smear* pada setiap variasi durasi fiksasi



No sampel	Hasil fiksasi alkohol 96% papanicolou		
	30 menit	15 menit	5 menit
	Inti jelas sitoplasma jelas latar jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas
R2			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak jelas Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas	Inti tidak jelas Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas
R3			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti jelas Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas
R4			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas
R5			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas

No sampel	Hasil fiksasi alkohol 96% papanicolou		
	30 menit	15 menit	5 menit
R6			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas
R7			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak jelas Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas	Inti tidak jelas Sitoplasma tidak ada Latar tidak jelas
R8			
	Inti jelas Sitoplasma jelas Latar jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas	Inti tidak ada Sitoplasma tidak jelas Latar tidak jelas

Berdasarkan Tabel 3, terlihat adanya perbedaan kualitas preparat Pap smear pada setiap variasi durasi fiksasi yang diterapkan dalam penelitian ini. Preparat dengan durasi fiksasi 30 menit menunjukkan morfologi inti dan sitoplasma yang lebih jelas serta latar belakang yang lebih bersih dibandingkan dengan variasi durasi fiksasi lainnya. Sebaliknya, pada durasi fiksasi 15 menit dan 5 menit, kualitas preparat cenderung menurun yang ditunjukkan oleh hasil pengamatan terhadap preparat yang diperoleh.

Untuk mendukung hasil pengamatan tersebut secara statistik, dilakukan uji normalitas untuk mengetahui distribusi data yang diperoleh dalam penelitian. Hasil uji normalitas disajikan pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Uji Normalitas

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Durasi	0.218	24	0.005	0.797	24	0.000
Hasil	0.285	24	0.000	0.743	24	0.000

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa variabel *Durasi* memiliki nilai signifikansi sebesar 0,000 dan variabel *Hasil* juga memiliki nilai signifikansi sebesar 0,000. Kedua nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada kedua variabel tersebut tidak berdistribusi normal. Karena data yang diperoleh tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Friedman. Uji tersebut digunakan untuk menganalisis perbedaan hasil pada setiap variasi durasi fiksasi yang diuji dalam penelitian ini. Hasil uji Friedman disajikan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Uji Friedman

Test Statistics ^a	
N	8
Chi-Square	15.077
Df	2
Asymp. Sig.	.001

a. Friedman Test

Berdasarkan Tabel 5, diperoleh nilai Chi-Square sebesar 15,077 dengan derajat kebebasan (df) 2 dan nilai signifikansi (Asymp. Sig.) sebesar 0,001. Nilai signifikansi ini lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara ketiga kelompok durasi fiksasi terhadap kualitas morfologi sediaan. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi lama waktu fiksasi berpengaruh nyata terhadap kualitas morfologi yang dihasilkan.

3.1 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kualitas preparat *Pap smear* berdasarkan variasi durasi fiksasi alkohol 96% yang digunakan. Durasi fiksasi 30 menit memberikan kualitas preparat terbaik dibandingkan dengan durasi 15 menit dan 5 menit, baik dari segi morfologi inti, sitoplasma, maupun kejernihan latar belakang. Perbedaan ini menunjukkan bahwa lamanya waktu fiksasi berperan penting dalam menentukan kualitas akhir preparat yang dihasilkan serta memengaruhi kemudahan dalam proses evaluasi sitologi. Hal ini sejalan dengan Silva *et al.* (2026) yang menyatakan bahwa pemeriksaan sitologi tidak hanya dipengaruhi oleh keterampilan pemeriksa, tetapi juga oleh faktor teknis seperti pengambilan sampel, fiksasi, dan preparasi slide yang dapat memengaruhi kualitas hasil pengamatan sel.

Interpretasi hasil pemeriksaan sitologi menunjukkan bahwa seluruh sampel pada durasi fiksasi 30 menit berada pada kategori sangat baik dengan morfologi inti dan sitoplasma yang jelas serta latar preparat yang bersih. Kondisi ini menunjukkan bahwa durasi fiksasi tersebut mampu mempertahankan struktur sel secara optimal sehingga memudahkan proses identifikasi. Kejelasan morfologi inti sangat penting karena inti merupakan indikator utama dalam penilaian adanya perubahan sel abnormal. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Dani & Sari, 2022) yang menyatakan bahwa fiksasi alkohol 96% selama 30 menit memberikan kualitas visual preparat yang lebih baik. Fiksasi berfungsi menghentikan aktivitas biologis sel secara cepat untuk mencegah autolisis serta mempertahankan struktur morfologi, sehingga integritas inti dan sitoplasma dapat diamati dengan jelas (Koehler *et al.*, 2024; Priyadarshi *et al.*, 2022). Kualitas fiksasi yang baik juga berpengaruh terhadap kejelasan struktur inti dan sitoplasma pada preparat sehingga memudahkan proses evaluasi mikroskopis (Septiana *et al.*, 2023). Kondisi preparat yang baik juga akan meningkatkan kepercayaan pemeriksa dalam melakukan interpretasi hasil (Casatta *et al.*, 2023).

Durasi fiksasi 15 menit menunjukkan penurunan kualitas preparat yang ditandai dengan sebagian besar sampel berada pada kategori cukup dan beberapa pada kategori buruk. Penurunan ini terlihat dari berkurangnya kejelasan inti dan sitoplasma serta adanya gangguan pada latar preparat. Latar yang kurang bersih dapat mengganggu fokus pengamatan sehingga meningkatkan risiko kesalahan interpretasi. Temuan ini sejalan dengan penelitian (Alone *et al.*, 2023) yang menyatakan bahwa ketidaktepatan durasi fiksasi dapat memengaruhi kualitas pewarnaan dan interpretasi morfologi sel. Waktu fiksasi yang lebih singkat dapat menyebabkan perubahan osmotik pada sel sehingga terjadi penyusutan dan penurunan intensitas pewarnaan inti. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa durasi ini belum cukup optimal untuk mempertahankan struktur sel secara maksimal.

Durasi fiksasi 5 menit menghasilkan kualitas preparat terendah dengan sebagian besar sampel berada pada kategori buruk. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa inti tidak terlihat jelas, sitoplasma kabur, serta latar preparat kurang bersih. Kondisi ini menunjukkan bahwa fiksasi yang terlalu singkat tidak memungkinkan penetrasi fiksatif secara optimal sehingga struktur sel tidak terlindungi dengan baik. Akibatnya terjadi degradasi atau lisis sel serta pewarnaan yang tidak merata, yang berdampak pada kesulitan interpretasi sitologi (Kamal, 2022). Preparat dengan kualitas rendah berpotensi menyebabkan hasil pemeriksaan menjadi tidak akurat, baik berupa kesalahan identifikasi maupun ketidakmampuan mendeteksi perubahan seluler secara dini (Pathuthara *et al.*, 2023).

Perbedaan kualitas preparat pada setiap variasi durasi fiksasi dapat dijelaskan berdasarkan prinsip kerja fiksasi yang memengaruhi proses penetrasi dan koagulasi protein sel (Nalezinková *et al.*, 2024). Durasi yang terlalu singkat menyebabkan fiksatif belum meresap secara optimal sehingga struktur sel tidak stabil, sedangkan durasi yang terlalu lama berpotensi menyebabkan overfiksasi yang dapat memengaruhi struktur sel dan distribusi kromatin (Khan & Farhana, 2020). Keseimbangan waktu fiksasi menjadi faktor penting agar struktur sel tetap utuh tanpa mengalami kerusakan. Hal ini menunjukkan bahwa penentuan durasi fiksasi tidak dapat dilakukan secara sembarangan, melainkan harus mempertimbangkan efektivitas penetrasi fiksatif terhadap jaringan seluler (Dağdeviren *et al.*, 2024; Septiana *et al.*, 2023).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal sehingga digunakan uji Friedman sebagai uji lanjutan. Penggunaan uji non-parametrik ini sesuai dengan rekomendasi (Kurniawan & Puspitaningtyas, 2016) ketika asumsi normalitas tidak terpenuhi. Hasil uji Friedman menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,001 (< 0,05), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara variasi durasi fiksasi terhadap kualitas preparat *Pap smear*. Temuan ini memperkuat hasil observasi bahwa durasi fiksasi memberikan pengaruh nyata terhadap kualitas morfologi sel.

Hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian (Yuliantini & Wiranatha, 2024) yang melaporkan bahwa durasi fiksasi optimal pada pewarnaan Papanicolaou menggunakan alkohol 96% adalah sekitar 30 menit. Penelitian (Kamal, 2022) juga menegaskan bahwa standarisasi durasi fiksasi sangat penting untuk menghasilkan preparat yang konsisten dan akurat. Proses fiksasi yang optimal memungkinkan penetrasi dan koagulasi protein berlangsung dengan baik sehingga struktur seluler tetap terjaga (Jha & Rao, 2023).

Karakteristik responden menunjukkan bahwa mayoritas berada pada rentang usia 31–40 tahun sebesar 50%, diikuti usia 20–30 tahun sebesar 37,5%, dan usia 41–50 tahun sebesar 12,5%. Kondisi ini menunjukkan bahwa partisipasi perempuan dalam pemeriksaan *Pap smear* masih terbatas, sehingga jumlah responden yang diperoleh relatif sedikit (Novalia, 2023). Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi durasi fiksasi berpengaruh signifikan terhadap kualitas preparat *Pap smear*. Durasi fiksasi 30 menit memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan 15 menit dan 5 menit, sehingga dapat direkomendasikan sebagai durasi optimal dalam pemeriksaan sitologi. Hal ini menunjukkan bahwa keberhasilan interpretasi sitologi tidak hanya dipengaruhi oleh satu faktor, tetapi merupakan hasil dari rangkaian tahapan preanalitik yang saling berkaitan. Akurasi diagnosis sitologi dipengaruhi oleh beberapa tahapan penting, termasuk pengambilan sampel yang baik serta fiksasi yang tepat dalam mempertahankan integritas sel (Priyanka *et al.*, 2024).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, variasi durasi fiksasi alkohol 96% berpengaruh signifikan terhadap kualitas preparat *Pap smear*. Durasi fiksasi 30 menit menghasilkan kualitas preparat tertinggi dibandingkan durasi 15 menit dan 5 menit, ditunjukkan oleh morfologi inti dan sitoplasma yang lebih jelas serta latar belakang preparat yang lebih bersih. Hasil uji Friedman menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antar variasi durasi fiksasi ($p = 0,001$). Perbedaan kualitas preparat antar kelompok durasi fiksasi diduga berkaitan dengan efektivitas penetrasi dan koagulasi protein oleh alkohol 96%. Durasi fiksasi yang lebih singkat kemungkinan belum memberikan waktu yang cukup untuk mempertahankan struktur sel secara optimal selama proses pewarnaan, sehingga kualitas morfologi preparat cenderung lebih rendah dibandingkan durasi 30 menit. Meskipun demikian, hasil penelitian ini perlu diinterpretasikan secara hati-hati mengingat jumlah sampel yang relatif terbatas dan penilaian preparat yang dilakukan dalam satu laboratorium. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar serta melibatkan evaluasi yang lebih luas masih diperlukan untuk mengonfirmasi temuan ini dan mendukung pengembangan rekomendasi prosedur fiksasi pada pemeriksaan *Pap smear*.

REFERENCES

- Alone, P., Vodithala, S., & Vagha, S. (2023). Rapid, Economic, Acetic acid, Papanicolaou (REAP) Staining Technique Analogous to the Routine Papanicolaou Staining (PAP) Technique. *F1000Research*, *12*(931), 1–11. <https://doi.org/10.12688/f1000research.135708.1>.
- Casatta, N., Poli, A., Bassani, S., Veronesi, G., Rossi, G., Ferrari, C., & Lupo, C. (2023). Evaluation of a Novel Fixative Solution for Liquid-Based Cytology in Diagnostic Cytopathology. *Diagnostics*, *13*(24), 1–13. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13243601>.
- Dağdeviren, T., Yolcu, H. K., & Ünver, B. (2024). Histological Fixation Process and Fixatives. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *12*(8), 1482–1486. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v12i8.1482-1486.6808>.
- Dani, A. S. R., & Sari, I. (2022). Perbedaan Hasil Fiksasi Alkohol 96% Selama 15 Menit dan 30 Menit pada Pewarnaan Papanicolaou. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*, *1*(1), 66–75. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i2.84>.
- Jha, K. K., & Rao, L. (2023). Cytomorphological Comparison between Well-fixed Smear and Air-dried Smear. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, *5*(3), 68–73. <https://doi.org/https://doi.org/10.3126/mjmms.v3i5.60168>.
- Kamal, M. M. (2022). The *Pap Smear* in Inflammation and Repair. *CytoJournal*, *19*(29), 1–22. https://doi.org/10.25259/CMAS_03_08_2021.
- Khabibah, U., Adyani, K., & Rahmawati, A. (2022). Faktor Risiko Kanker Serviks: Literature Review. *Faletehan Health Journal*, *9*(3), 270–277. <https://doi.org/10.33746/fhj.v10i03.354>.
- Khan, Y. S., & Farhana, A. (2020). Histology, Cell. *StatPearls Publishing*.
- Koehler, J. W., Miller, A. D., & Rissi, D. R. (2024). Effects of Autolysis and Prolonged Formalin Fixation on Histomorphology and Immunohistochemistry of Normal Canine Brain Tissue: an Experimental Study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *36*(2), 169–176. <https://doi.org/10.1177/10406387231220649>.
- Kurniawan, A. W., & Puspitaningtyas, Z. (2016). *Metode Penelitian Kuantitatif*. Pandiva Buku.
- Lelek, M., Gyparaki, M. T., Beliu, G., Schueder, F., Griffie, J., Manley, S., Jungmann, R., Sauer, M., Lakadamyali, M., & Zimmer, C. (2022). Single-Molecule Localization Microscopy. *Photonics Imaging for Biology*, *2*, 1–60. <https://doi.org/10.1002/9781394417896.ch9>.
- Mishra, R., Bisht, D., & Gupta, M. (2022). Primary Screening of Cervical Cancer by *Pap Smear* in Women of Reproductive Age Group. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, *11*(9), 5327–5331. <https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc>.
- Nalezinková, M., Loskot, J., & Fučíková, A. M. (2024). The Use of Scanning Electron Microscopy and Fixation Methods to Evaluate the Interaction of Blood with the Surfaces of Medical Devices. *Scientific Reports*, *14*(4622), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55136-z>.
- Novalia, V. (2023). Kanker Serviks. *GALENICAL: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Mahasiswa Malikussaleh*, *2*(1), 45–56. <https://doi.org/10.29103/jkkmm.v2i1.10134>.
- Pangarkar, M. A. (2022). The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. *CytoJournal Monograph Related Review Series*, *19*(28), 1–6. https://doi.org/10.25259/CMAS_03_07_2021.

- Pathuthara, S., Dighe, S., Uke, M., Prabhudesai, N., Deodhar, K., & Desai, S. B. (2023). Conventional versus Liquid-based Cytology: "Man versus Machine". *Journal of Cytology*, 40(4), 169–176. https://doi.org/10.4103/joc.joc_54_23.
- Prihanto, E. S. D., Munawarah, S., Febriani, Y., & Adenikheir, A. (2022). Patologi untuk Fisioterapi Jakarta. In *Buku Kedokteran EGC* (1st ed., Issue May). PT Global Eksekutif Teknologi.
- Priyadarshi, A., Kaur, R., & Issacs, R. (2022). Honey as a Cytological Fixative: a Comparative Study With 95% Alcohol. *Cureus*, 14(8), 1–11. <https://doi.org/10.7759/cureus.28149>.
- Priyanka, D. V. S., Das, S., Raju, K., Soman, P., & Chaudhary, N. (2024). Comparative Evaluation of Honey Versus Alcohol as a Fixative in Cytological Samples: An Institutional Study. *Journal of Cytology*, 41(3), 150–156. https://doi.org/10.4103/joc.joc_182_23.
- Rezende, M. T., Bianchi, A. G. C., & Carneiro, C. M. (2021). Cervical Cancer: Automation of Pap TST Screening. *Diagnostic Cytopathology*, 49(4), 559–574. <https://doi.org/https://doi/10.1002/dc.24708>.
- Sarcheshme, M. S., Mahdizadeh, M., Tehrani, H., & Vahedian-Shahroodi, M. (2024). Exploring the Barriers to Pap Smear Test Compliance: A Qualitative Study for Improving Cervical Cancer Screening in the Primary Health Care. *Health Promotion Perspectives*, 14(1), 80–88. <https://doi.org/10.34172/hpp.42485>.
- Sari, I., Bastian, B., & Realita, T. E. (2021). Analisa Metode Fiksasi Kering menggunakan Giemsa dan Fisasi Basah Menggunakan Papanicolaou pada Pemeriksaan Pap Smear. *Jurnal Masker Medika*, 9(1), 446–455. <https://doi.org/10.52523/maskermedika.v9i1.456>.
- Septiana, A. D., Mulyanto, A., Sudarsono, T. A., & Ningrom, I. C. (2023). Perbandingan Gambaran Histopatologi Jaringan Prostat dengan Perbedaan Waktu Fiksasi. *Journal of Medical Laboratory Research*, 2(1), 30–34. <https://doi.org/10.36743/jomlr.v2i1.607>.
- Shanthi, P. B., Hareesha, K. S., & Kudva, R. (2022). Automated Detection and Classification of Cervical Cancer Using Pap Smear Microscopic Images: A Comprehensive Review and Future Perspectives. *Engineered Science*, 19, 20–41. <https://doi.org/10.30919/es8d633>.
- Silva, A. L. da, Nicolli, A. C., Lucio, M., Araujo, C., & Costa, L. C. (2026). Artificial Intelligence use in the Routine of Cervical-Vaginal Cytology : a Systematic Review. *Surgical and Experimental Pathology*, 9(9), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s42047-026-00222-x>.
- WHO. (2024). WHO Guideline for Screening and Treatment of Cervical Pre-cancer Lesions for Cervical Cancer Prevention. In *WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention*. <https://doi.org/10.2471/b09020>.
- Yuliantini, S. A. P., & Wiranatha, G. (2024). Perbandingan Fiksasi Metode Perendaman dan Penyemprotan Alkohol 96% terhadap Morfologi Sel Preparat Pap Smear yang Diwarnai Papanicolaou. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi (Senastek)*, 9(1), 139–145.