

EFEKTIVITAS EKSTRAK BUAH SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L.) SEBAGAI PEWARNA APUSAN DARAH TEPI

EFFECTIVENESS OF SENDUDUK FRUIT EXTRACT (*Melastoma malabathricum* L.) AS AN STAINING PERIPHERAL BLOOD SMEARS

Iqlila Romaidha*, Mega Silvia Madani, Larantika Hidayati, Rima Agnes Widya Astuti
Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Borneo Cendekia Medika, Pangkalan Bun,
Kalimantan Tengah, Indonesia. *email: iqlilaromaidha12@gmail.com

(Naskah diterima: 15 Maret 2024. Disetujui: 28 April 2024)

Abstrak. Sediaan apusan darah merupakan salah satu pemeriksaan yang penting dalam mendiagnosis penyakit. Jaminan mutu pemeriksaan apusan darah dapat dinilai dengan kualitas pewarnaan. Teknik pewarnaan yang umum digunakan adalah pewarna giemsa. Pewarnaan giemsa dinilai memiliki nilai jual yang tinggi dan tidak ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak buah senduduk sebagai alternatif pewarnaan pada sediaan apusan darah tepi. Metode penelitian adalah deskriptif kualitatif dengan desain penelitian *true eksperimental*. Buah senduduk dilakukan ekstraksi dan dibuat variasi konsentrasi dari ekstrak pekat dan akuades dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dilakukan pewarnaan pada apusan darah. Hasil penelitian ini menunjukkan pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% morfologi sel darah merah & inti sel leukosit terlihat. Konsentrasi 80% dan 100% morfologi eritrosit, inti sel leukosit terlihat jelas, morfologi trombosit dapat dibedakan dengan sel darah lain. Penelitian ini mampu menjadi salah satu alternatif pewarnaan apusan darah tepi untuk mengamati morfologi eritrosit dan inti sel leukosit dengan konsentrasi 100%.

Kata Kunci : Pewarnaan, Buah Senduduk, Sediaan Apusan Darah, Morfologi Sel Darah

Abstract. Peripheral blood smears is an important examination in diagnosing disease. Quality blood smear be assessed by the quality of staining. Coloring technique commonly used is Giemsa dye. However, Giemsa considered high selling value and not environmentally friendly. This study aims to determine effectiveness senduduk fruit extract as an alternative coloring for peripheral blood smears. The research method descriptive-qualitative with true experimental research design. Senduduk fruit was extracted and varied concentrations of concentrated extract and distilled water were made with concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% and stained the blood smear. The results of this study show concentrations 20%, 40%, and 60%, the morphology of red blood cells and leukocyte nuclei was visible. At concentrations of 80% and 100%, leukocyte cell nuclei are clearly visible, platelet morphology can be distinguished with another blood cells. This research can be an alternative to staining peripheral blood smears to observe the morphology of erythrocytes and leukocyte cell nuclei at a concentration of 100%

Keywords : Staining, Senduduk Fruit, Blood Preparation, Blood Cell Morphology

PENDAHULUAN

Darah berasal dari bahasa Yunani yaitu hemato, hemo dan haima. Darah memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia. Darah berfungsi sebagai alat transportasi zat, melawan serangan kuman, serta berbagai fungsi lain. Darah merupakan jaringan ikat cair yang terdiri dari plasma darah, sel darah merah, sel darah putih dan keping darah (trombosit)¹.

Salah satu pemeriksaan diagnosis penyakit yaitu dengan pembuatan apusan darah. Metode apus merupakan metode mikroteknik yang digunakan untuk pembuatan sediaan. Struktur sel darah dapat diamati dengan pembuatan apusan

darah. Sediaan apus tidak terlepas dari proses diagnostik. Sediaan apus darah dapat dibagi menjadi sediaan apus darah tipis dan sediaan apus darah tebal. Pemeriksaan apus darah tipis memerlukan jumlah darah yang sedikit, perubahan morfologi sel darah lebih jelas².

Jaminan mutu pemeriksaan dari sediaan apusan darah dapat dinilai dari pewarnaan sediaan apus darah tipis. Pewarna yang digunakan antara lain pewarna Giemsa, pewarna Wright, pewarna Leishman dan pewarna May-Grunwald. Pewarna Giemsa merupakan pewarna yang paling umum digunakan. Giemsa memiliki kandungan zat kimia antara lain, methylene blue, azur dan eosin. Methylen azur serta eosin memberikan warna di



inti sel, methylen blue, zat pewarna sitoplasma. memiliki harga yang cukup tinggi. Oleh karena itu, pengembangan penelitian dilakukan untuk menemukan pewarna alternatif yang dapat digunakan sebagai alternatif tambahan pewarna giemsa³.

Pengembangan pewarna alami dari biodiversitas tanaman di Indonesia sebagai pengganti pewarna apusan darah tipis dari Giemsa mulai dikembangkan, salah satu tanaman yang berpotensi sebagai pewarna alami adalah buah Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Senduduk memiliki senyawa antosianin yang tinggi, dengan warna ungu pekat. Berdasarkan hasil penelitian, senyawa antosianin mampu menjadi pewarna alami pada apusan darah tipis, dengan menggunakan buah naga⁴, ubi ungu⁵ dan jambang⁶.

Ekstrak senduduk dengan warna ungu mengandung senyawa antosianin yang cukup tinggi yaitu 204,9847 mg/L menggunakan pelarut alkohol (etanol) 95%⁷. Senyawa antosianin ini cukup banyak dan baik digunakan untuk pewarnaan alami pada sediaan apus darah tepi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak buah senduduk dengan variasi konsentrasi 20%, konsentrasi 40%, konsentrasi 60%, konsentrasi 80% dan konsentrasi 100% sebagai alternatif pewarnaan giemsa pada sediaan apus darah tepi

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Oktober 2023 di Laboratorium Medis Program Studi Diploma Tiga Analisis Kesehatan, STIKES Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun. Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini merupakan desain true experimental⁸ dan hasil pengamatan dideskripsikan menggunakan tabel dan gambar. Ekstraksi buah senduduk dilakukan dengan metode maserasi. Buah senduduk yang telah ditimbang, dihaluskan serta ditambahkan etanol 96% hingga terendam dan dilakukan inkubasi pada botol gelap selama 1x24 jam. Maserasi dilakukan pemekatan dengan rotary evaporator. Hasil ekstrak pekat, dibuat variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dengan melarutkan ekstrak pekat dan akuades dengan rumus ($M_1.V_1 = M_2.V_2$).

Sampel Darah diambil dengan responden sebanyak 25 orang mahasiswa STIKES Borneo Cendekia Medika, dengan pengisian kuisioner sebagai data tambahan & memastikan kriteria inklusi terpenuhi. Pengambilan darah vena dilakukan menggunakan sistem terbuka (*open system*) menggunakan tabung vakum yang berisikan antikoagulan EDTA. Pengambilan darah pada bagian vena mediana cubiti. Vena ditusuk

Giemsa dinilai tidak ramah di lingkungan dan dengan lubang jarum menghadap keatas dengan sudut kemiringan antara jarum dan kulit adalah 15-30°. Selanjutnya, darah dimasukkan dalam tabung vakum EDTA, dan dihomogenkan¹⁰.

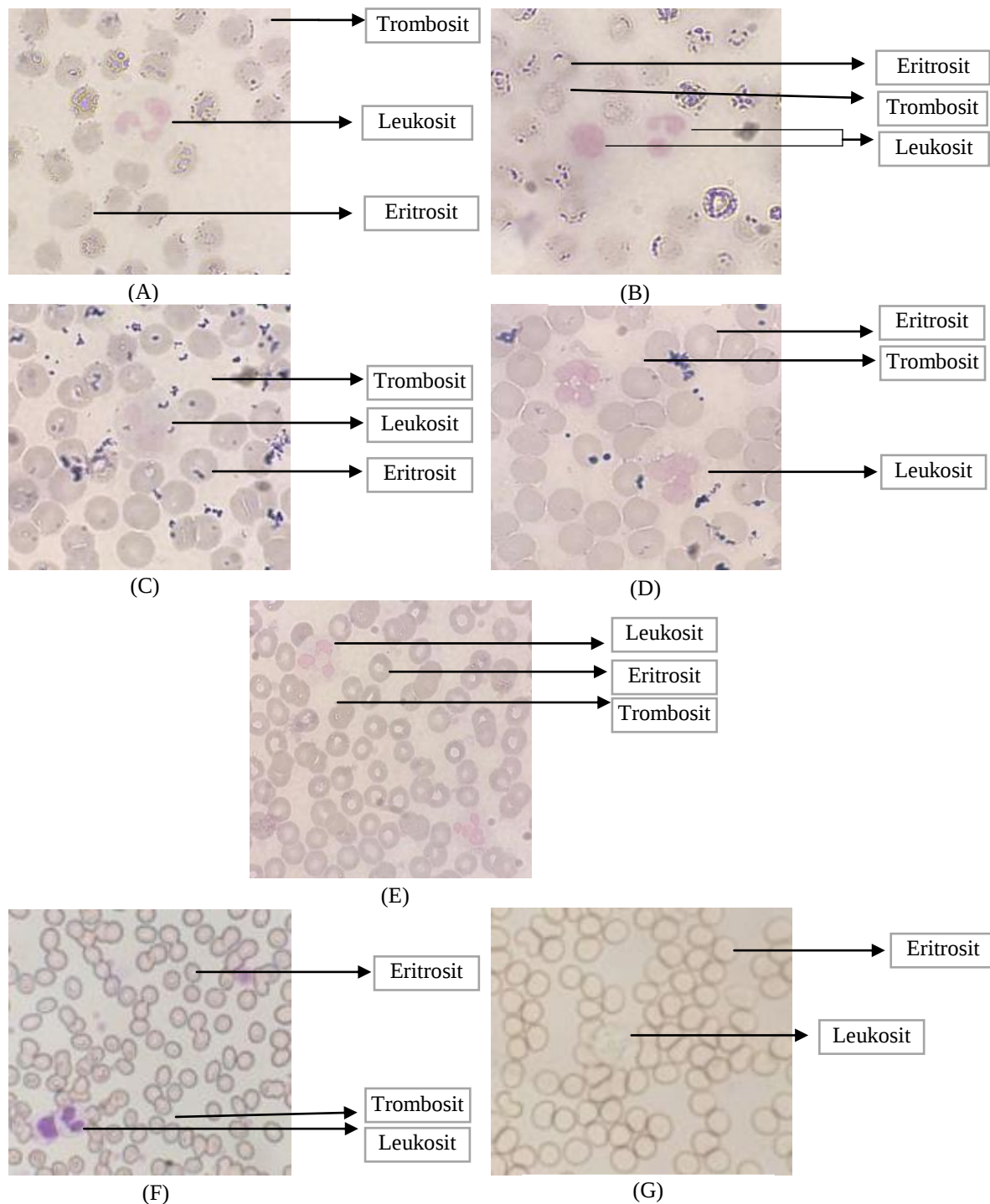
Darah diambil menggunakan pipet tetes dan diteteskan pada preparat (*object glass*). Kaca pendorong (*object glass*) diletakkan pada sudut 30° - 45° di depan tetesan darah, ditarik garis lurus hingga ujung preparat membentuk apusan darah tepi yang tipis dan selanjutnya ditunggu hingga mengering¹¹.

Kontrol positif pewarnaan preparat sediaan apusan darah tepi menggunakan pewarnaan giemsa. Pewarnaan giemsa dimulai dengan proses fiksasi yang dilakukan dengan meneteskan methanol pada preparat selama 2-3 menit. Selanjutnya tahap pewarnaan dilakukan dengan meneteskan larutan giemsa hingga semua apusan tergenangi dan dibiarkan selama 20 – 30 menit. Preparat dilakukan pembilasan dengan air, kemudian dikeringkan pada suhu ruang dan dijauhkan dari cahaya matahari langsung. Preparat lalu diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x objektif².

Preparat sediaan apusan darah tepi menggunakan pewarnaan ekstrak buah senduduk, dimulai dengan meneteskan metanol ke atas preparat selama 5 menit. Selanjutnya, tahap pewarnaan dilakukan dengan meneteskan larutan ekstrak buah senduduk masing – masing konsentrasi hingga semua apusan tergenangi dan dibiarkan selama 20 – 30 menit. Preparat yang telah terwarnai, selanjutnya dibilas dengan air mengalir kemudian dilakukan penngeringan. Preparat yang telah dilakukan pewarnaan, diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x objektif¹². Analisis data dari sediaan apus darah tepi yang diwarnai menggunakan ekstrak buah senduduk pada setiap konsentrasi disajikan secara deskriptif dengan mendeskripsikan data berdasarkan hasil pengamatan dengan tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, maserasi buah senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dipekatkan pada alat rotary evaporator dengan waktu 50 menit menggunakan suhu 50°C. Hal ini didasarkan pada senyawa antosianin stabil pada suhu 40 – 50°C dengan pH 3-5. Pigmen dan suhu tersebut, mampu dipergunakan untuk menjaga intensitas warna ungu antosianin yang terdapat pada senduduk. Ketika suhu yang digunakan melebihi suhu tersebut, senyawa antosianin rusak dan akan membuat antosianin berubah menjadi warna coklat-keunguan¹⁷.



Gambar 1. Gambaran Morfologi Eritrosit, Leukosit dan Trombosit Pada Perbesaran (A) Konsentrasi 20 %, (B) Konsentrasi 40 %, (C) Konsentrasi 60 %, (D) Konsentrasi 80 %, (E) Konsentrasi 100 %, (F) Kontrol Positif (Giemsa), (G) Kontrol Negatif (Akuades)

Konsentrasi buah senduduk 20 %, 40%, 60%, 80% dan 100% menunjukkan bahwa morfologi eritrosit terwarnai dengan jelas. Hal ini disebabkan oleh morfologi eritrosit mampu berinteraksi dengan senyawa antosianin yang terkandung dalam buah senduduk. Ekstrak buah senduduk yang bersifat

asam mampu berinteraksi dengan keadaan basa dari sitoplasma dan hemoglobin sehingga morfologi eritrosit teramati dengan baik dan jelas⁶. Pada semua konsentrasi yang digunakan morfologi sel darah merah dan inti sel leukosit terlihat jelas, sentral polar terlihat jelas pada konsentrasi 40 %,

60 %, 80 % dan 100%. Konsentrasi 80% dan 100% jelas dengan morfologi trombosit dapat dibedakan dengan sel darah yang lain.

Pada konsentrasi 60 % dan 80 % terdapat debris/artefak pada apusan darah tepi. Hal ini dimungkinkan karena resuspensi ekstrak dan endapan pada saat pengocokan. Penggunaan pewarna apusan darah tepi seperti pada Giemsa, larutan *stock* giemsa tidak diperbolehkan melakukan pengocokan atau dilakukan pengadukan dikarenakan endapan/kristal giemsa naik di permukaan sehingga menyebabkan artefak pada apusan darah¹⁸. Pada konsentrasi 100% eritrosit, trombosit, inti sel terlihat jelas. Pada kontrol negatif menggunakan akuades, sel darah merah terlihat namun tidak dapat menunjukkan sentral polar dan pada leukosit tidak terwarnai baik pada inti sel, sitoplasma dan granula. Pada kontrol positif menggunakan giemsa, eritrosit, leukosit dan trombosit terwarnai dengan baik dan mampu dibedakan dengan sel darah lain. Inti sel, sitoplasma dan granula leukosit terlihat dengan jelas.

Alternatif pewarnaan pada pemeriksaan mikroskopis dari sediaan darah secara empiris telah dipublikasikan sebagai pengganti giemsa, diantaranya menggunakan ubi ungu bahwa konsentrasi 80% dapat menampilkan morfologi eritrosit secara jelas dan konsentrasi 100% eritrosit tampak terwarnai bertumpuk yang mengakibatkan pengamatan lapang pandang lebih gelap¹². Ekstrak kol ungu, sel eritrosit terwarnai dengan jelas, akan tetapi leukosit dan trombosit tampak buram, pucat dan hampir tidak terlihat¹³. Sedangkan, infusa bunga telang mampu mewarnai sel eritrosit, namun tidak dapat mewarnai leukosit⁷. Penggunaan ekstrak buah senduduk mampu membedakan morfologi trombosit dibandingkan sel darah lain dengan jelas pada konsentrasi 100 %. Ekstrak buah senduduk yang dari buah segar tanpa pengeringan dan pemanasan yang langsung dilakukan maserasi pada tempat gelap serta tertutup dan dilakukan ekstraksi menggunakan alat rotary evaporator dalam suhu yang stabil 50°C dapat menghasilkan senyawa antosianin dengan warna ungu-kemerahan yang dapat mewarnai nukleoprotein dalam trombosit, sehingga morfologi trombosit dapat teramati dan dapat dibedakan dengan sel darah yang lain⁴. Pada konsentrasi 80% morfologi trombosit dapat dibedakan dengan sel darah lain,

morfologi eritrosit dan inti leukosit leukosit terlihat namun lebih pucat dibandingkan pada konsentrasi 100%. Sedangkan, pada konsentrasi 20 %, 40% dan 60% morfologi trombosit terlihat sangat pucat.

Hasil penelitian ini menunjukkan sitoplasma leukosit hampir seluruhnya terwarnai pada semua konsentrasi. Namun, warna yang dihasilkan terlihat sangat pucat. Berbeda halnya dari pewarnaan giemsa, sitoplasma akan berwarna biru-ungu yang merupakan efek Romanowsky dari gabungan pewarna azure B dan eosin Y dimana efek ini mirip dengan pigmen antosianin. Hasil pewarnaan dari ekstrak senduduk menunjukkan sitoplasma terwarnai samar, Hal ini dikarenakan tidak adanya unsur biru romanowsky yang dapat diserap oleh sitoplasma di pewarnaan¹⁴.

Gambaran inti sel leukosit pada konsentrasi 80 % dan konsentrasi 100 % tampak jelas terwarnai. Sedangkan, konsentrasi 20%, 40% dan 60% tampak lebih pucat. Kandungan dalam ekstrak buah senduduk berpotensi mewarnai DNA dan kromatin seperti pada kandungan eosin Y dan azure B dari pewarna giemsa. Eosin Y dapat melakukan pewarnaan granula eosinofil yang bersifat basa. Azure B dapat mewarnai RNA, DNA dan kromatin yang merupakan komponen sel bersifat asam. Kontras warna ungu dihasilkan dari Efek Romanowsky terhadap DNA. Antosianin yang terkandung di dalam ekstrak buah senduduk hanya mampu mewarnai inti sel leukosit dengan menghasilkan warna ungu kemerahan yang sangat mirip dengan efek Romanowsky¹⁵. Secara struktural antosianin mampu berikatan dengan purin. Antosianin mengandung kationik dalam struktur kimianya, sehingga menghasilkan interaksi diantara polinukleotida dan molekul antosianin di dalam nukleus. Pewarnaan yang terdeteksi pada inti sel yang diwarnai dengan antosianin memiliki reaksi yang sama¹⁶.

KESIMPULAN

Ekstrak buah senduduk dengan konsentrasi 80 % dan konsentrasi 100% pada sediaan apusan darah tepi mampu mewarnai eritrosit dan inti leukosit dengan jelas. Namun, tidak mampu mewarnai granula dari leukosit dan trombosit secara optimal. Sehingga, ekstrak buah senduduk memiliki potensi sebagai pengganti pewarna giemsa pada sediaan apusan darah tepi

DAFTAR PUSTAKA

1. Prasetyaningsih, Y. Darah & Komponennya. In: Maharani, E.A, editor. Hematologi Teknologi Laboratorium Medik. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;2019.p.21.
2. Wuan, A.O. Teknik Pembuatan Sediaan Apus Darah. In: Maharani, E.A, editor. Hematologi Teknologi Laboratorium Medik. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;2019.p.183-1842w8`1.
3. Puasa, R. 2017. Studi Perbandingan Jumlah Parasit Malaria Menggunakan Variasi Waktu Pewarnaan Pada Konsentrasi Giemsa 3% di Laboratorium RSUD Dr. H. Chasan Boesoirie Ternate. Jurnal Riset Kesehatan. 2017;6(2):23–27. doi: 10.31983/ jr.k.v6i2 .2929.
4. Ifadah, R. A., Wiratara, P. R. W., dan Afgani, C. A. Ulasan Ilmiah: Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan. Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian. 2021;3 (2). 11 - 21. doi:10.35308/jtpp.v3i2.4450.
5. Sari, A.N., Masrillah. Morfologi Sel Darah Pada Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Pewarna Alternatif Ekstrak Kol Ungu (*Brassica oleracea* L.). Prosiding Seminar Nasional Biotik [Internal];2021 19 Desember 2021.
6. Ardila, R., Afnita, Z., Sari, A.N., Diningrat, D.S. Ekstrak Kulit Buah Jambalang (*Syzygium cumini*) Sebagai Pewarna Alternatif Preparat Apusan Darah Tepi (SADT). In: Prosiding Sixth Postgraduate Bio Expo 2021 [Internal]; 2021 27 Oktober 2021, Medan. Available from: UNIMED Digital Library <http://digilib.unimed.ac.id/45855/3/Text.pdf>.
7. Khasanah, N.A.H., Husen, F., Yuniati, N.I. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). Jurnal Bina Cipta Husada. 2023;19(1):73-74.
8. Soesilo, T.D. Ragam dan Prosedur Penelitian Tindakan. Satya Wacana University Press: Salatiga; 2019. 86-89 p.
9. Nugraha, G. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Trans Info Media: Jakarta;2017.
10. Nugraha, G. Teknik Pengambilan dan Penanganan Spesimen Darah Vena Manusia untuk Penelitian. LIPI Press: Jakarta; 2022.46 p
11. Yayuningsih, D., Prayitno, H., Mazidah. Hematologi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;2018.
12. Salnus, S., Arwie, D. Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi. Jurnal Media Analis Kesehatan. 2020;11(2):93-94. doi: 10.32382/mak.v11i2.177.
13. Sari, A.N., Masrillah. Morfologi Sel Darah Pada Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Pewarna Alternatif Ekstrak Kol Ungu (*Brassica oleracea* L.). Prosiding Seminar Nasional Biotik [Internal];2021 19 Desember 2021, Aceh. Available From: <https://jurnal.ar-raniry.ac.id/index.php/PBio tik/article/view/11660/6218>.
14. Dogbevi, K, S., Ngo, B. K D., Branan, K. L., Gibbens, A. M., Grunlan, M. A., dan Gerard, L. C. A Thin Whole Blood Smear Prepared Via Pumpless Microfluidics. Springer.2021;25 (7): 25 – 29. doi:10.1007/s10404-021-02457-4.
15. Susilawati, E., Artati, dan Salnus S. Studi Potensi Ekstrak Antosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai Pewarna Apusan Darah Tepi (ADT) dalam melihat Gambaran Leukosit. Jurnal TLM Blood Smear. 2021;2(1).6–12. doi:10.37362/jmlt.v2i1.434.
16. Suebkhamphet, A., and Soththibandhu, P. Effect of Using Aqueous Crude Extract from Butterfly Pea Flowers (*Clitoria ternatea* L.) as a Dye on Animal Blood Smear Staining. Suranaree J. Sci. Technol. 2021;19(1):15-19.
17. Nusrullah, H.H dan Syahrir, M. The Effect of Temperature and Heating Time on The Stability Pigments of Citric Acid Extract on Red Dragon Fruit Skin (*Hylocereus polyrhizus*) and Applications in Food Materials. Journal Chemica. 2021;22(1).46-50.doi:<https://doi.org/10.35580/chemica.v2i12.17985>.
18. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Modul Pelatihan Mikroskopis Malaria Bagi Tenaga ATLM. Kementerian Kesehatan RI: Jakarta;2020.