

Gambaran Eritrosit Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarna Alami Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L*)

*Erythrocyte Images In Edge Blood Stains Using Natural Purple Tiles (*Ipomoea Batatas L*)*

Nur Ihsan Wahyudi^{1*}, Subakir Salnus², Fitriani³

^{1,2} Program Studi DIII Analis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

³ Prodi Keperawatan Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

ABSTRACT / ABSTRAK

Keywords:

Erythrocytes
Peripheral Blood Smear
Anthocyanin.

Erythrocytes are red blood cells, which are the blood cells with the largest volume, the volume of erythrocytes is about 40-45% of the total blood volume. Erythrocytes function as carrying oxygen from the lungs to all fingers and organs. In erythrocytes there is a protein compound, namely hemoglobin (Hb), this compound can bind to iron so that it can give blood a red color. The purpose of this study was to determine the erythrocyte appearance in the peripheral blood smear using natural dyes from purple sweet potato. The research design method used in this study was a laboratory experiment. The sample in this study was a blood smear of 25 samples with the number of treatment groups there were 5 types including control and each group was made replications 5 times. The sampling technique used in this study was simple random sampling. The method used in this study was the Peripheral Blood Smear (ADT) with the principle of anthocyanin staining from purple sweet potato extract. The results showed that there were differences in the results of the erythrocyte picture in ADT at a concentration of 10% 20% 40% 60% and 80%. Based on the research data, the results of the erythrocyte staining on the peripheral blood smear using anthocyanin staining are quite clear on the erythrocyte image using a concentration of 40%. So it can be concluded that anthocyanin staining obtained from purple sweet potato extract can be used as a peripheral blood smear examination. (ADT).

Kata Kunci:

Eritrosit
Apusan Darah Tepi
Antosianin.

Eritrosit merupakan sel darah merah, yang merupakan sel darah dengan jumlah volume terbanayak, volume *eritrosit* adalah sekitar 40-45% dari keseluruhan volume darah. Fungsi eritrosit sebagai pembawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan dan organ. Di dalam *eritrosit* terdapat suatu senyawa protein yakni haemoglobin (Hb) senyawa ini dapat mengikat zat besi sehingga dapat memberi warna merah pada darah. Tujuan dari penelitian ini diketahuinya gambaran *eritrosit* pada apusan darah tepi menggunakan pewarna alami dari ubi ungu. Metododesain Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *exsperimen laboratory*. Sampel dalam penelitian ini adalah preparat apusan darah tepi sebanyak 25 sampel dengan jumlah kelompok perlakuan ada 5 macam termasuk kontrol dan setiap kelompok dibuat ulangan sebanyak 5 kali. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel secara acak sederhana (*Simple random sampling*). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah Apusan Darah Tepi (ADT) dengan prinsip pewarnaan antosianin dari ekstrak ubi ungu. Hasil Penelitianterdapat perbedaan hasil gambaran eritrosit dalam ADT pada konsentrasi 10% 20% 40% 60% dan 80%. Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan hasil gambaran eritrosit pada apusan darah tepi dengan menggunakan pewarnaan antosianin nampak cukup jelas pada gambaran *eritrosit* dengan menggunakan konsentrasi 40%. Maka dapat di simpulkan bahwa pewarnaan *antosianin* yang di peroleh dari ekstrak ubi ungu dapat di gunakan sebagai pemeriksaan apusan darah tepi (ADT).

Corresponding Author:

Nur Ihsan Wahyudi,
Jurusan Analis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba,
Jln. Pendidikan Taccorong Kec. Gantarang, Bulukumba, Indonesia.
Email: nur.ihsan.wahyudi67@gmail.com

1. PENDAHULUAN

Sel darah merah atau *eritrosit* merupakan sel darah dengan jumlah paling banyak dalam tubuh manusia, Sel darah merah normal selalu berbentuk bikonkaf, tidak memiliki inti, dan mengandung hemoglobin yang merupakan representasi warna merah di dalam darah. Kelainan pada *eritrosit* di mana keadaan pada *eritrosit* atau masa hemoglobin yang beredar tidak memenuhi fungsinya untuk menyiapkan oksigen pada jaringan tubuh (Setiawan & Kunci, 2014). Di Indonesia, pewarnaan yang umum digunakan ialah pewarnaan giemsa sebab giemsa lebih tahan lama dalam iklim tropis. Beberapa rumah sakit dan klinik bahkan puskesmas juga menggunakan pewarna giemsa dalam mewarnai sediaan apusan darah tepi, karena giemsa memberi hasil representatif dengan warna granula orange-merah dan preparat apusan darah tepi juga dapat bertahan dengan baik (Ardina & Rosalinda, 2018). Ada pun pewarnaan alami yang mudah di dapatkan di berbagai pasaran tradisional mau pun lokal sebagai pengganti pewarnaan giemsa. Untuk itu diperlukan pencarian alternatif yang umumnya lebih alami dan murah yang dimanfaatkan sebagai zat warna alami. Salah satunya diantaranya adalah warna merah dari ubi jalar ungu (Ali & Arqomah, 2013).

Pemeriksaan preparat apusan darah tepi merupakan rangkaian dari *hematologic* yang penting di lakukan dalam melakukan pemeriksaan jenis-jenis sel darah. Dari pemeriksaan apus darah tepi keunggulannya yaitu dapat menilai berbagai unsur-unsur sel darah tepi seperti morfologi sel darah *eritrosit*, *leukosit*, *trombosit*, dan menentukan jenis dan jumlah *leukosit* untuk mengestimasi jumlah *trombosit* dan mengidentifikasi parasite yang ada (Ardina & Rosalinda, 2018). Di Indonesia, sumber bahan alami telah digunakan sebagai sumber bahan pangan kehidupan manusia dan obat tradisional yang dimanfaatkan oleh sebagian masyarakat secara turun temurun (Salnus, 2019). Antosianin merupakan zat warna yang mudah larut dalam air dan ditemukan pada tanaman, pada bagian bunga, daun, umbi, buah atau sayur. Antosianin adalah senyawa yang terdiri dari gugus gula dan antosianidin. Antosianidin ini banyak di temukan di dalam buah, sayuran atau umbi ini terdapat pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin dan malvidin (Kimet *al.*, 2012). Dalam antosianin dapat member warna yang berbeda pada jenisnya ubi yaitu merah, ungu, biru, atau kuning, tergantung pada kondisi pHnya. Pada kondisi pH asam dalam antosianin berwarna merah atau ungu, pada pH basa dalam antosianin berwarna hijau atau kuning, dan pada pH netral terdapt di dalamnya berwarna biru (Ilmu *et al.*, 2015).

Menurut peneliti yang dilakukan oleh Maga and Tu (1994) bahwa antosianin berpengaruh besar pada karakteristik asam basa sel, yaitu antosianin yang bersifat asam akan mewarnai sel yang bersifat basa dan sebaliknya, hal ini terkait dengan kestabilan antosianin dalam kondisi asam. Maka dari itu antosianin bisa di katakan mampu mewarnai SADT. Berdasarkan uraian diatas antosianin dapat di gunakan sebagai pewarna alami sehingga peneliti tertarik untuk menjadikan ubi ungu (*Ipomoea Batatas L.*) sebagai pewarna alternatif pada pewarnaan apusan darah tepi dalam sampel penelitian.

2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

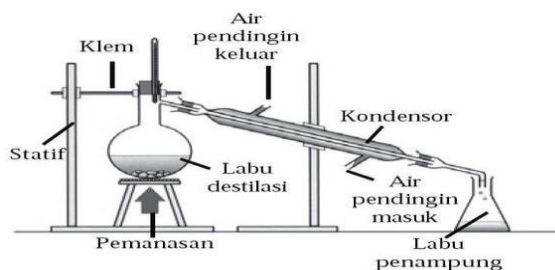
Desain penelitian: Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *exsperimen laboratory*. *exsperimen laboratory* merupakan suatu penelitian yang memberikan perlakuan terhadap sampel yang diteliti di Laboratorium (Sugiyono, 2010). Sampel dalam penelitian ini adalah preparat apusan darah tepi sebanyak 25 preparat dalam 1 sampel EDTA dengan jumlah kelompok perlakuan ada 5 macam termasuk kontrol dan setiap kelompok dibuat ulangan sebanyak 5 kali. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel secara acak sederhana (*Simple random sampling*). Pada teknik sampling secara acak, setiap individu dalam populasi memiliki peluang yang sama untuk dijadikan sampel. Menurut (Asnidar, & Sumarmi 2015) Dalam metode penelitian ini penulis menyusun langkah kerja dimulai dengan menentukan permasalahan penelitian, menentukan populasi dan sampel penelitian.

Alat: Wadah, parut, pisau, sendok tanduk, jergen, pipet tetes (*Pyrex*), neraca digital (Henherr Scale), gelas kimia (*Pyrex*), statif, corong (*Pyrex*), saringan, labu erlenmeyer (*Pyrex*), hotplate (IKA RCT Basic), klem, labu destilat (*Pyrex*), kondensor (BMW), heating mantle, thermometer (GEA Medical), selang destilat, kaca objek (*Pyrex*), mikroskop (*Olympus*), pipet

pasteur, pipet volume (*Pyrex*), bulf, spuit (*Onemed*), Tali pembendung (*Torniquet*), tabung vakum ungu yang berisi anti koagulan edta, gelas ukur (*Pyrex*), rak pengecetan, rak pengering, rak tabung reaksi, botol semprot, timer, tabung reaksi (*Pyrex*), batang pengaduk (*Pyrex*), botol reagen.

Bahan: HCL pekat (*Rofa*), methanol (*Rofa*), kertas pH universal (*Suncare*), kertas saring (*whatman*), kapas alkohol 70%, plaster, label, tissue, kain kasa steril, *oil imersi*, ekstrak antosianin ubi ungu (*Ipomoea Batatas L.*), dan *aquadest*.

Prosedur kerja (Pembuatan ekstrak Antosianin): Proses dapat dimulai dengan membersihkan ubi jalar ungu terlebih dahulu kemudian memotong daging ubi jalar ungu kemudian dihaluskan dan ditimbang sebanyak 50 gram daging ubi jalar ungu menggunakan blender atau parut. Kemudian ke dalam labu leher tiga yang sudah dirangkai dengan pendingin balik, *magnetic stirrer*, *termometer*, *statif* dan penangas air dimasukkan daging ubi jalar kuning yang sudah halus, dan pelarut *methanol*. Campuran *diekstraksi* pada suhu yang *divariasikan* (60°C, 70°C, 75°C, 80°C dan 90°C) dan waktu *ekstraksi* yang *divariasikan* (60 menit, 90 menit, 120 menit, 150 menit, dan 180 menit). Ekstrak yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Setelah disaring, ekstrak *didistilasi* pada suhu 80°C untuk menghilangkan kandungan *methanolnya*. Setelah proses *destilasi* selesai ekstrak *antosianin* dapat di peroleh (Purwanti *et al.*, 2019).



Gambar. Rangkaian alat *destilasi*

Prosedur kerja:

Pembuatan Apusan Darah Tepi (ADT)

Disiapkan kaca objek yang bersih dan kering. Ditetaskan sampel darah kira-kira 2 cm dari salah satu pinggirnya/ kira-kira ½ cm dari tempat menuliskan identitas. Diperhatikan besar tetesan yang ideal untuk apusan yaitu ± 3 cm. Terapkan spreader di depan tetesan dengan membentuk sudut 30 - 40° dengan kaca objek, kemudian spreader digeser ke belakang hingga menyentuh tetesan. Tetesan akan melebar sepanjang pinggir spreader. Segera dorong spreader kedepan. Dorong spreader kedepan dengan cepat dan tekanan yang cukup (dibutuhkan banyak latihan).

Pewarnaan Apusan Darah Tepi (ADT)

Letakkan sediaan yang telah dipulas diatas rak pewarnaan dengan lapisan darah berada diatas. Teteskan/genangi dengan *methanol* diatas sediaan itu, sehingga bagian yang terlapis darah tertutup seluruhnya dan biarkan selama 5 menit. Lalu sisa *methanol* dibuang. Teteskan/genangi sediaan dengan Antosianin dari ekstrak ubi ungu biarkan selama 30 menit lalu bilas dengan *aquadest*. Letakkan sediaan dalam posisi vertikal dan biarkan mengering pada udara. Setelah kering kemudian dibaca di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dengan bantuan minyak imersi.

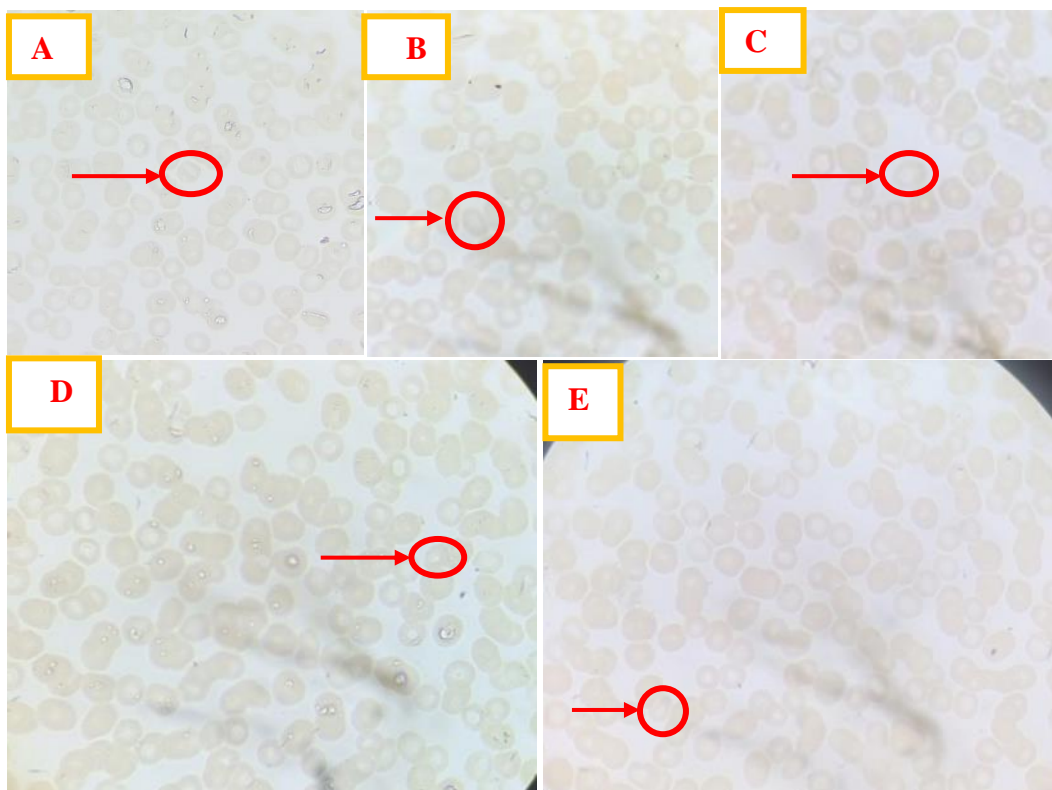
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 1. presentasi pada hasil pewarnaan antosianin pada apusan darah tepi yang dilakukan laboratorium hematologi stikes panrita husada bulukumba, pada tingkat kejelasan eritrosit 40% jelas berdasarkan lembar hasil survey langsung pada mahasiswa stikes panrita husada bulukumba.

Table 1. Tingkat Kejelasan Eritrosit Pada Apusan Darah Menggunakan Pewarna Antosianin.

No	Konsentrasi	Tingkat Kejelasan			
		Tidak Jelas	Kurang Jelas	Jelas	Sangat Jelas
1	10%	-	√	-	-
2	20%	-	√	-	-
3	40%	-	-	√	-
4	60%	-	√	-	-
5	80%	-	√	-	-

Gambar 1. Hasil pemeriksaan sediaan darah menggunakan antosianin



Berdasarkan gambar 1 hasil pengamatan apusan darah tepi menggunakan pewarnaan antosianin dibawah mikroskop dengan pembesaran 100X pada konsentrasi 40% jelas.

Pada penelitian ini menggunakan ubi jalar ungu sebagai sampel dalam penelitian ini karena total antosianin mempunyai kadar yang lebih besar dari pada varietas sedangkan ubi jalar yang lainnya juga tanaman dengan berwarna lain (Pratiwi & Priyani, 2019).

Senyawa antosianin diekstrak dengan *methanol* yang diasamkan dengan HCL pekat (pH4). *Methanol* adalah pelarut memiliki sifat polar dan mempunyai tingkat kepolaran yang hamper sama dengan antosianin, selain itu *methanol* mudah didapatkan dengan harga murah. Pada beberapa penelitian HCL pekat ini menunjukkan jenis pengasam paling efektif, karena dapat mendenaturasi

membran sel tanaman dan melarutkan senyawa antosianin keluar dari sel (Pratiwi & Priyani, 2019).

Dalam ekstrak ubi ungu mengandung pigmen antosianin, kemudian kami membuat konsentrasi 10% 20% 40% 60% 80% dengan bantuan aquadest untuk mewarnai preparat apusan darah. Pada perlakuan konsentrasi ini hanya melakukan percobaan.

Berdasarkan pada hasil pemeriksaan gambaran pada apusan darah tepi menggunakan antosianin pada konsentrasi 10% dan 20% pada tingkat kejelasannya dinyatakan kurang jelas dikarenakan pada saat pengenceran lebih banyak aquadestnya di bandingkan antosianinnya.

Pada konsentrasi 40% dinyatakan jelas gambaran eritrositnya karena disebabkan dalam melakukan pengenceran sebanding dengan antosianin dan aquadest pada saat pengenceran, sehingga pada saat pemeriksaan bentuk *eritrosit* dan kelainan *eritrosit* terlihat jelas.

Sedangkan hasil konsentrasi 60% dan 80% pada tingkat kejelasannya kurang jelas karena dapat disebabkan dalam melakukan pengenceran terlalu banyak antosianinnya dari pada aquadestnya, sehingga bisa dikatakan kental dalam pengenceran.

Pada penelitian ini, penelitian ini menggunakan pewarnaan *antosianin*. *Antosianin* dapat di peroleh dari ubi ungu. Pewarna *antosianin* berwarna merah yang dapat di peroleh dari ekstrak ubi ungu. Hasil penelitian ini seperti yang di lakukan oleh peneliti Mahmudatussa'adah *et al.*, (2015) Warna *antosianin* memiliki beberapa variasi mulai dari merah, ungu, biru, sampai kuning hal itu dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satunya Warna dan konsentrasi *antosianin* dapat berubah karena pengaruh panas. *Antosianin* yang di peroleh dari ekstrak ubi ungu juga dapat berwarna merah tergantung dari kadar pH nya pada pH asam *antosianin* dapat berwarna merah sedangkan pada pH basa antosianin dapat berwarna ungu sampai kebiruan (Mahmudatussa'adah *et al.*, 2015).

Lokasi pengambilan sampel berada di Stikes Panrita Husada Bulukumba. Jumlah sampel yang diperiksa sebanyak 25 preparat bertujuan untuk melihat gambaran *eritrosit*. Untuk lokasi penelitian yang dilakukan di laboratorium hematologi Stikes Panrita Husada Bulukumba. Dengan pemeriksaan menggunakan Metode Apusan Darah Tepi (ADT), Pemeriksaan preparat apus darah tepi merupakan bagian yang penting dari rangkaian pemeriksaan hematologi. Keunggulan dari pemeriksaan apus darah tepi ialah mampu menilai berbagai unsur sel darah tepi seperti morfologi sel *eritrosit*, *leukosit*, *trombosit* (Ardina & Rosalinda, 2018).

Hal yang pertama kali dilakukan adalah pengambilan sampel darah menggunakan spuit kemudian dimasukkan kedalam tabung vakum berwarna ungu yang berisi EDTA sebanyak 3ml. Setelah itu dilakukan pembuatan sediaan apusan darah tepi kemudian apusan darah yang telah dibuat difiksasi dengan larutan *Methanol* selama 3-5 menit dengan tujuan untuk merekatkan zat warna pada sediaan. Setelah preparat kering dilakukan pengecatan Antosianin selama 30 menit lalu dibilas dengan aquadest sampai bersih dan dikeringkan di pada suhu ruangan, setelah kering preparat di tetesi oil mersi lalu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

Berdasarkan penilaian hasil pewarnaan sediaan apusan darah tepi menggunakan pewarnaan antosianin dengan berbagai jenis konsentrasi yang berbeda. Maka tingkat kejelasan warna pada gambaran eritrosit menggunakan konsentrasi 40% jelas tapi pada gambaran leukosit dan trombosit tidak nampak jelas.

Data penelitian yang didapatkan melalui hasil survey langsung pada Mahasiswa Stikes Panrita Husada Bulukumba untuk mengetahui penggunaan konsentrasi pewarnaan antosianin dari ekstrak ubi ungu sebagai pewarna dengan berbagai konsentrasi yang di ujikan untuk melihat yang lebih jelas dalam melakukan pewarnaan pada apusan darah tepi dapat dilihat secara langsung dibawah mikroskop. Ada pun beberapa konsentrasi yang ujikan yaitu konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan hasil gambaran eritrosit pada apusan darah tepi dengan menggunakan pewarnaan antosianin Nampak cukup jelas pada gambaran *eritrosit* dengan menggunakan konsentrasi 40%. Maka dapat disimpulkan bahwa pewarnaan *antosianin* yang diperoleh dari ekstrak ubi ungu dapat di gunakan sebagai pemeriksaan apusan darah tepi (ADT).

Peneliti menyarankan agar hasil penelitian ini bisa dijadikan sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut dan dapat dijadikan sebagai penambah wawasan khususnya dalam ilmu pengetahuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penelitian ini tidak terlepas dari dukungan rekan peneliti dan Stikes Panrita Husada Bulukumba yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, F., & Arqomah, R. (2013). *Ekstraksi zat warna dari kelopak bunga rosella (study pengaruh konsentrasi asam asetat dan asam sitrat)*. 19(1).
- Ardina, R., & Rosalinda, S. (2018). Morfologi eosinofil pada apusan darah tepi menggunakan pewarnaan giemsa, wright, dan kombinasi wright-giemsa. *Jurnal Surya Medika*, 3(2), 5–12. <https://doi.org/10.33084/jsm.v3i2.91>
- Diii, S., Kesehatan, A., Panrita, S., & Bulukumba, H. (2018). *Penentuan kriteria penilaian kesan jumlah leukosit pada pemeriksaan apusan darah tepi program studi diiii analis kesehatan*. 3(2), 118–127.
- Hambali, M., Mayasari, F., & Noermansyah, F. (2015). Ekstraksi antosianin dari ubi jalar dengan variasi konsentrasi solven, dan lama waktu ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2), 25–35.
- Ilmu, D., Pertanian, F. T., Bogor, I. P., Dqlq, Q., Qdwxudo, L. V. D., Irxqg, S., Sodqvv, L. Q., Dv, V., Àrzhuv, O., luxlwv, U., & Yhjhwdeohv, R. U. (2015). *Pengaruh pengolahan panas terhadap konsentrasi antosianin monomerik ubi jalar ungu (ipomoea batatas I)*. 35(2), 129–136.
- Mahmudatussa'adah, A., & , Dedi Fardiaz, , Nuri Andarwulan, F. K. (2015). Pengaruh pengolahan panas terhadap konsentrasi antosianin monomerik ubi jalar ungu (ipomoea batatas I). *Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680*, 35(2), 129–136.
- Pratiwi, S. W., & Priyani, A. A. (2019). *Pengaruh pelarut dalam berbagai ph pada penentuan kadar total antosianin dari ubi jalar ungu dengan metode ph diferensial spektrofotometri*. 4(1), 89–96. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v4i1.4080>
- Salnus S dan A. Uji broaktivitas ekstrak buah sawo manila (manilkara zapota) terhadap pertumbuhan bakteri salmonella typhi. *INTEK J Penelit*. 2019;6(1):32-35. <http://dx.doi.org/10.31963/intek.V6i1.1010>.
- Sugiyono. (2010). *Metode penelitian kuantitatif, kualitatif dan r&d*. alfabeta.
- Syamsuddin, Muriyati. "Asnidar, & Sumarmi.(2015)." Pedoman praktis metodolo penelitian internal. purwosari babadan ponogoro indonesia: cv. wade group.