

Gambaran Eritrosit Pada Sediaan Apusan Darah Tepi (ADT) Dengan Pewarnaan Giemsa Dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*)

Erythrocytes On Edge Blood Smear Preparations (ADT) With Giemsa Coloring And Mangosteen Skin Extract (Garcinia Mangostana)

Anraeni Resbiani¹, Dzikra Arwie², Asriyani Ridwan^{3*}

^{1,2,3} Prodi DIII Analis Kesehatan, Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

ABSTRACT/ABSTRAK

Keywords: Erythrocytes, Mangosteen peel (*Garcinia mangostana*)

The use of mangosteen skin extract which is used as coloring is one of the efforts to use mangosteen fruit skin-based products as a natural food coloring in addition to Giemsa coloring. The skin of mangosteen fruit contains 59 ppm anthocyanins. The purpose of this study was to look at the erythrocyte picture in ADT preparations using Giemsa coloring and mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana*) using concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. The type of research design used is laboratory analysis. This study used two stainings against the peripheral blood smear preparations, namely Giemsa coloring and mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana*), to see the picture of erythrocytes. The results of this study are a picture of the results of the examination of peripheral blood smears (ADT) based on concentration levels. A concentration of 20% shows a clearer picture of erythrocytes and is in accordance with the quality of Giemsa coloring compared to 40%, 60%, 80%, and 100%. The conclusion of this study is that erythrocyte examination of the peripheral blood smear (ADT) using mangosteen skin extract can be seen with concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, and erythrocyte images look clearer and resemble or correspond to giemsa coloring at a concentration of 20%.

Kata Kunci: Eritrosit, Kulit manggis (*Garcinia mangostana*)

Pemanfaatan ekstrak kulit manggis yang dijadikan sebagai pewarnaan merupakan salah satu upaya pemanfaatan produk berbasis kulit buah manggis sebagai pewarna makanan alami Selain pewarnaan giemsa. Kulit buah manggis mengandung 59 ppm antosianin. Tujuan penelitian ini untuk melihat gambaran eritrosit pada sediaan ADT dengan menggunakan pewarnaan giemsa dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Jenis desain penelitian yang digunakan adalah *experiment laboratory*. Dalam penelitian ini menggunakan dua pewarnaan terhadap sediaan apusan darah tepi yaitu pewarnaan giemsa dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) untuk melihat gambaran eritrosit. Hasil dari penelitian ini yaitu gambaran hasil pemeriksaan apusan darah tepi (ADT) berdasarkan tingkat konsentrasi, Konsentrasi 20% menunjukkan gambaran eritrosit lebih jelas dan sesuai dengan kualitas pewarnaan giemsa dibanding 40%, 60%, 80% dan 100%. Kesimpulan penelitian ini adalah pemeriksaan eritrosit pada apusan darah tepi (ADT) dengan menggunakan ekstrak kulit manggis dapat dilihat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan gambar eritrosit terlihat lebih jelas dan menyerupai atau sesuai dengan pewarnaan giemsa pada konsentrasi 20%.

Corresponding Author:

Asriyani Ridwan

Prodi DIII Analis Kesehatan, Stikes Panrita Husada Bulukumba,
Jln. Pendidikan Taccorong Kec.Gantarang, Bulukumba, Indonesia.

Email: asriyaniridwal@stikespanritahusada.ac.id

1. PENDAHULUAN

Sel darah merah (eritrosit), berbeda dengan sebagian sel tubuh lainnya karena eritrosit tidak memiliki nukleus. Nukleus eritrosit terlepas pada saat meninggalkan sumsum tulang. Eritrosit matang normal berbentuk diskus dan karena tidak memiliki nukleus, sel lini menjadi fleksibel, eritrosit dapat berubah bentuk dan mengecilkan diri ketika melewati pembuluh kapiler. Sel darah merah memiliki masa hidup 120 hari sejak dibentuk di jaringan hematopoietik. Pembentukannya diatur oleh eritropoietin, suatu hormon yang disintesis di ginjal kemudian keluar ke aliran darah menuju sumsum tulang sebagai respon terhadap adanya hypoxia jaringan.

Apusan darah tepi (ADT) merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskop untuk melihat morfologi sel darah bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi yang cukup banyak dan bermakna terhadap keadaan hematologik seseorang. Spesimen darah yang digunakan pada pemeriksaan ADT adalah darah vena dengan antikoagulan EDTA yang belum lama (kurang dari 1 jam). Untuk mempermudah pengamatan sel dan komponennya pada apus darah tepi dengan tepat, maka perlu dilakukan suatu teknik pewarnaan. Terdapat berbagai macam teknik pewarnaan yang digunakan untuk ADT sesuai tujuan pemeriksaan, teknik pewarnaan yang digunakan untuk mengamati sel dan komponen sel darah pada umumnya didasarkan pada sifat sel dan komponen sel terhadap zat warna (Nugraha, 2017).

Selain pewarnaan giemsa, pada penelitian ini juga akan digunakan ekstrak kulit manggis sebagai pewarnaan. Kulit buah manggis memiliki 593 ppm antosianin. Pemanfaatan ekstrak kulit manggis yang dijadikan sebagai pewarnaan merupakan salah satu upaya pemanfaatan produk berbasis kulit buah manggis sebagai pewarna makanan alami (Rita farida, 2015).

2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

2.1. Desain penelitian

Desain penelitian ini adalah desain penelitian eksperimen laboratory

2.2. Lokasi penelitian

Penelitian ini di lakukan di laboratorium STIKES Panrita Husada Bulukumba.

2.3. Populasi dan sampel penelitian

a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah masyarakat Desa Gattareng Kabupaten Bulukumba

b. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah perwakilan masyarakat Desa Gattareng Kabupaten Bulukumba sebanyak 5 orang

2.4. Bahan dan alat penelitian

Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu: timbangan, neraca digital, blender, alat destilasi, labu ukur, gelas kimia, thermometer dan corong objek glass, deck glass, mikroskop, tabung EDTA, pipet tetes, botol semprot, spuit, tourniquet, rak pewarnaan, plaster, kapas. Bahan yang digunakan yaitu : aquadest, methanol, HCl pekat, kertas pH, kertas saring, Sampel darah vena, giemsa pekat, aquadest, kapas alkohol 70%, buffer pH 6,4 (aquadest), methanol, dan ekstrak kulit manggis.

2.5. Koleksi/tahapan penelitian

a. Pra Analitik

Dipersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan seperti : mikroskop, rak pewarnaan, pipet tetes, objek glass, spuit, tissue, darah vena, larutan giemsa, kasa alkohol 70%, methanol, aquadest, dan oil mersi.

b. Analitik

a) Pembuatan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*)

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode dekantasi dan destilasi.

1. Dekantasi

- a. Dibersihkan kulit manggis disikat halus dibawah air yang mengalir.
- b. Setelah dibersihkan, kulit manggis ditimbang sebanyak 2 kg menggunakan neraca digital.
- c. Kemudian dihaluskan menggunakan blender
- d. Ditetaskan HCL pekat ke dalam botol metanol 1000 mL.
 1. Tetesan pertama sebanyak 5 tetes, kemudian kertas pH dicelupkan ke dalam metanol yang sudah di tetesi dengan HCL pekat.
 2. Tetesan kedua, 5 tetes perlakuan sama pada langkah awal.
 3. Jumlah HCL pekat yang ditetaskan sebanyak 30 tetes, sehingga bisa mencapai pH 4.
- e. Disiapkan wadah dan masukkan methanol yang telah dicampur HCL pekat.
- f. Masukkan kulit manggis yang sudah diblender ke dalam wadah berisikan methanol pH 4.
- g. Setelah itu, direndam lalu masukkan ke dalam jerigen kosong dan tutup rapat, diamkan selama 1x24 jam.
- h. Keesokan harinya dilakukan penyaringan ekstrak antosianin ekstrak kulit manggis yang telah didiamkan selama 1x24 jam di dalam wadah.
- i. Diendapkan beberapa menit sehingga terpisah antara larutan dan endapan.
- j. Setelah terpisah, pindahkan larutan ekstrak antosianin ubi jalar ungu ke dalam botol menggunakan bantuan statif dan corong.
- k. Diberikan label, kemudian di simpan selama 1x24 jam.

2. Destilasi

- a. Siapkan alat dan bahan dan dirangkai alat destilasi
- b. Dimasukkan sampel kedalam labu destilasi dan masukkan thermometer hingga mengenai sampel tersebut dengan cara digantung yang digunakan untuk mengatur ketetapan suhu
- c. Dinyalakan alat heating mantle sambil diatur suhunya 80°C atau lebih.
- d. Proses destilasi berakhir, jika tidak ada lagi pelarut yang menetes dan sampel menjadi kental.

b) Pengambilan darah vena

1. Menyiapkan tourniquet, kapas alkohol, kapas kering, spuit, tabung dan plaster.
2. Perintahkan pasien untuk meluruskan lengannya, jangan membengkok, pilih lengan yang sering melakukan aktivitas, letakkan lengan diatas meja.
3. Lakukanlah perabaan (palpasi) pada bagian vena yang akan di tusuk.
4. Pasien diminta mengepalkan tangan.
5. Pasang torniquet ± 3 jari diatas lipatan siku.
6. Desinfeksi Lokasi vena yang akan ditusuk dengan kapas alkohol 70% dengan sekali usap.

7. Tusuk bagian vena tadi dengan lubang jarum menghadap keatas dengan kemiringan antara jarum dengan kulit 15°
8. Setelah volume darah sudah cukup lepaskan tourniquet dan pasien minta untuk membuka kepalan tangannya
9. Segera lepaskan atau tarik jarum dan letakkan kapas kering diatas bekas suntikan dan menekan bagian tersebut dan ditutup dengan plaster.
10. Memindahkan sampel darah dari dalam spuit ke tabung yang berisi EDTA dengan cara melepaskan jarum lalu mengalirkan darah melalui dinding tabung.
11. Homogenkan dengan cara membolak-balikkan tabung beberapa kali.

c) Cara membuat sediaan apus darah tepi

Membuat sediaan apusan dilakukan dengan cara meletakkan satu tetes darah di objek glass lalu didorong menggunakan objek glass lain yang membentuk sudut 45° hingga membentuk seperti lidah kucing. Ditunggu hingga kering di udara dan ditulis nama pasien dan tanggal pada pinggir objek glass.

d) Cara pewarnaan sediaan apus darah tepi

1. Letakkan sediaan yang telah dipulas diatas rak pewarnaan dengan lapisan darah berada diatas
2. Teteskan/genangi dengan metil alkohol diatas sediaan itu, sehingga bagian yang terlapis darah tertutup seluruhnya. Biarkan selama 5 menit kemudian bilas dengan aquadest
3. Sampel pertama ditetesi/genangi sediaan dengan Giemsa biarkan selama 20 menit lalu bilas dengan aquadest
4. Kemudian sampel kedua ditetesi/genangi dengan ekstrak kulit manggis biarkan 20 menit lalu bilas dengan aquadest
5. Letakkan sediaan dalam posisi vertikal dan biarkan mengering pada udara.

c. Pasca analitik

Pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop dengan bantuan oil imersi pada perbesaran lensa 100x untuk melihat eritrosit dalam apusan darah tepi

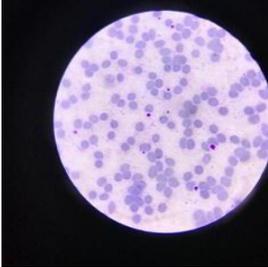
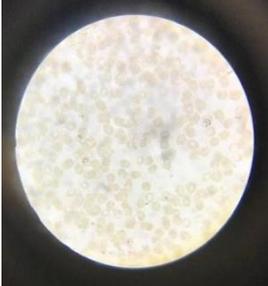
2.6. Analisis data

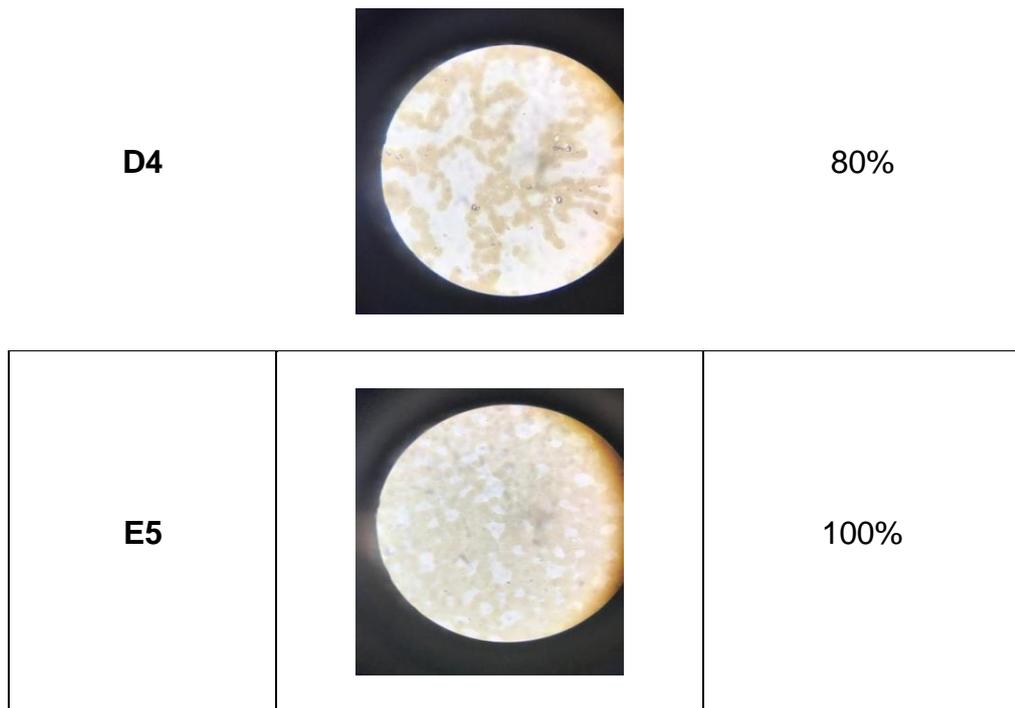
Menurut (Sugiyono, 2010) Analisis data adalah proses mencari dan menyusun secara sistematis data yang telah didapatkan dari hasil wawancara, catatan lapangan dan dokumentasi dengan cara mengorganisasikan data kedalam kategori, menjabarkan ke dalam unit-unit, melaksanakan sintesa, menyusun kedalam pola, memilih yang penting dan yang akan dipelajari serta membuat kesimpulan agar mudah dipahami oleh diri sendiri ataupun orang lain. Data yang didapatkan pada penelitian ini disajikan dalam bentuk uji deskriptif

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Stikes Panrita Husada Bulukumba pada tanggal 22 – 28 agustus 2020 terhadap 26 preparat pada sampel yang normal maka diperoleh hasil pemeriksaan sebagai berikut :

Tabel 1. hasil pemeriksaan apusan darah tepi

Kode sampel	Hasil pengamatan	Keterangan
-		Giemsa
A1		20%
B2		40%
C3		60%



Berdasarkan Tabel 1, menunjukkan gambaran hasil pemeriksaan apusan darah tepi (ADT) berdasarkan tingkat konsentrasi. Konsentrasi 20% menunjukkan gambaran eritrosit lebih jelas dan sesuai dengan kualitas pewarnaan giemsa dibanding 40%, 60%, 80% dan 100%. Sel darah merah atau eritrosit merupakan sel darah dengan jumlah yang paling banyak dalam tubuh manusia. Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut oksigen dan mengantarkannya ke sel-sel tubuh.(Oktaviani et al., 2017).

Eritrosit normal kelihatan bundar dengan diameter 7,5 μ m dengan ketebalan tepi 2 μ m. Eritrosit jika dilihat dari samping memiliki bentuk seperti cakram yang kedua permukaannya cekung (*biconcave disk*), tengah-tengah cakram tersebut lebih tipis dibandingkan dengan bagian lain yaitu 1 μ m. Bentuk biconcave inilah yang menyebabkan hemoglobin berkumpul di bagian tepi sel. Sehingga bagian tepi eritrosit lebih merah dari bagian sentralnya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah vena melalui vena *Mediana Cubiti* yang mana populasi sampelnya adalah masyarakat Desa Gattareng Kabupaten Bulukumba yang telah diambil dan diperiksa di Laboratorium Stikes Panrita Husada Bulukumba. Dengan pemeriksaan menggunakan metode Apusan Darah Tepi (ADT), Apusan darah tepi merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskop untuk mengamati morfologi sel darah. Yang mana Sediaan apusan darah diwarnai dengan prinsip pewarnaan Romanowsky menggunakan zat warna Giemsa. Larutan giemsa adalah campuran dari eosin yang berwarna merah, metilen biru yang berwarna biru dan metilen azur yang berwarna ungu. Dalam pewarnaan giemsa eosin berfungsi untuk memberi warna pada eritrosit.

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan 2 pewarnaan yaitu ekstrak kulit manggis dan giemsa. Pada pewarnaan ekstrak kulit manggis dilakukan pengenceran terlebih dahulu dengan konsentrasi 20% yaitu 2 ml ekstrak diencerkan dengan 8 ml aquadest, Konsentrasi 40% yaitu 4 ml ekstrak diencerkan dengan 6 ml aquadest, Konsentrasi 60% yaitu 6 ml ekstrak diencerkan dengan 4 ml aquadest, Konsentrasi 80% yaitu 8 ml ekstrak diencerkan 2 ml aquadest, Konsentrasi 100% 10 ml ekstrak tanpa penambahan aquadest.

Peneliti melakukan pengambilan 5 sampel darah kemudian dibuat 25 preparat untuk pewarnaan ekstrak kulit manggis dan 1 preparat untuk pewarnaan giemsa. Dibuat 5 preparat pada masing-masing sampel untuk melihat gambaran eritrosit setiap konsentrasi pada sampel tersebut. Hal yang pertama kali dilakukan adalah pengambilan sampel darah menggunakan spuit kemudian dimasukkan kedalam tabung vakum berwarna ungu yang berisi EDTA sebanyak 3 ml. Setelah itu, dilakukan pembuatan sediaan apusan darah tepi. Pada setiap sampel darah dibuat 5 sediaan untuk konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan 1 preparat untuk pewarnaan giemsa. Apusan darah yang telah dibuat difiksasi dengan larutan Metanol selama 3-5 menit dengan tujuan untuk merekatkan zat warna pada sediaan. Setelah preparat kering dilakukan pewarnaan giemsa dan ekstrak kulit manggis yang telah diencerkan selama 30 menit lalu dibilas dengan aquades sampai bersih dan dikeringkan pada suhu ruangan, setelah kering preparat ditetesi oil emersi lalu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran pembesaran 100x.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Hematologi Stikes Panrita Husada Bulukumba menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% ditemukan hasil bahwa gambar eritrosit dapat dilihat pada setiap konsentrasi tetapi yang lebih jelas untuk melihat gambaran eritrosit adalah konsentrasi 20%. Pada konsentrasi 40% gambar eritrosit hampir sama dengan konsentrasi 20% kemudian pada konsentrasi 60%, 80%, 100% gambar eritrosit kurang jelas karena pada konsentrasi tersebut warna ekstrak kulit manggis lebih pekat sehingga pada saat pemeriksaan apusan darah tepi ekstrak tersebut menggumpal pada objek glasss, itulah yang menghambat konsentrasi tersebut tidak terlalu jelas dibawah mikroskop.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan uraian hasil dan pembahasan terhadap pengaruh ekstrak kulit manggis pada pemeriksaan apusan darah tepi menggunakan sampel darah vena maka dapat disimpulkan Pemeriksaan eritrosit pada apusan darah tepi (ADT) dengan menggunakan ekstrak kulit manggis dapat dilihat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dan gambar eritrosit terlihat lebih jelas dan menyerupai pewarnaan giemsa pada konsentrasi 20%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Yayasan STIKes Panrita Husada Bulukumba yang telah mendanai serta fasilitas bahan yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardina, R. & Rosalinda, S. 2018. Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, dan Kombinasi Wright-Giemsa. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 3, 5-12.
- Andika setiawan, Suryani, E., & Wiharto. (2014). Segmentasi citra sel darah merah berdasarkan berdasarkan morfologi sel untuk mendeteksi anemia defisiensi besi.
- Bakta, I. M. 2017. *Hematologi Klinik Ringkas*, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Endang, S & Farid, S. 2015. Ekstrak Kulit Manggis Bubuk. *Jurnal Teknik Kimia*, 10, 2-3
- Freund, M. 2013. *Heckner Atlas Hematologi*, Jakarta, Buku kedokteran EGC.

- Fithri, C & Rita, F. 2015 Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode Microwave Assisted Extraction (Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut). Jurnal Pangan dan Agroindustri, 3, 362-363.
- Gandasoebrota, 2010. Penuntun Laboratorium Klinik, Jakarta, Dian Rakyat.
- Hormalia, H. 2017. Pengaruh Variasi Pengenceran Giemsa Terhadap Pewarnaan Giemsa Plasmodium sp Pada Pemeriksaan Sediaan Darah Tipis. AAK Borneo Lestari.
- Herawati Sudiono, D. I, 2009. Penuntun Patologi Klinik Hematologi. Jakarta: Biro Publikasi Fakultas Kedokteran Ukrida.
- Kiswari, R, 2014. Hematologi Dan Transfusi. Jakarta: Erlangga.
- Mulkan, H., Mayasari, F., & Fitriadi Noermansyah. (2014). Ekstraksi Antosianin Dari Jalar Dengan Variasi Solven, Dan Lama Waktu Ekstraksi. Vol.20(2).
- Nurul, W., Zainal, F., Pancawati, A. (2019). Pengaruh Lama Penundaan Pengecetan Setelah Fiksasi Apusan Darah Tepi Terhadap Morfologi Eritrosit. Jurnal Analis Medika Bio Sains, 125-129.
- Nugraha, G. 2017. panduan pemeriksaan laboratorium hematologi dasar jakarta, cv.trans info media.
- 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>
- Sudiono, D. I, 2009. Penuntun Patologi Klinik Hematologi. Jakarta: Biro Publikasi Fakultas Kedokteran Ukrida.
- Syarief, A. R., Dan, & Yuni, H. T. (2016). Pengaruh Waktu Maserasi Zat Antosianin. November, 1–10.
- Sadikin, M. 2002. Biokimia Darah, Yogyakarta, EGC.
- Tarwoto. 2013. Buku Saku Anemia Pada Ibu Hamil, Jakarta, Trans Info Media.
- Yuni, N. E. 2015. Kelainan Darah, Yogyakarta, Nuha Medika.