

MORFOLOGI SEL DARAH PADA APUSAN DARAH TEPI (SADT) MENGGUNAKAN PEWARNAAN ALTERNATIF EKSTRAK KOL UNGU (*Brassica oleracea* L)

Ayu Nirmala Sari¹⁾, Masrillah²⁾

^{1,2)} Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh, Aceh

Email: ayunirmala79@gmail.com

ABSTRAK

Pewarnaan Giemsa adalah pewarnaan sintesis yang terdiri dari eosin dan metilen biru yang biasa digunakan dalam pewarnaan sediaan apus darah. Namun penggunaan pewarnaan sintesis ternyata memiliki beberapa kekurangan yaitu tidak ramah lingkungan, cukup mahal dan berbahaya bagi kesehatan. Maka dari itu, dibutuhkan pewarnaan alternatif alami yang lebih ramah lingkungan, murah dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Dalam penelitian ini digunakan pewarna alternatif ekstrak etanol kol ungu (*Brassica oleracea* L) yang mengandung zat antosianin. Antosianin merupakan golongan senyawa kimia organik yang dapat larut dalam pelarut polar, serta bertanggung jawab dalam memberikan warna orange, merah, ungu, biru, hingga hitam pada tumbuhan tingkat tinggi seperti: bunga, buah-buahan, biji-bijian, sayuran dan umbi-umbian. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa preparat yang diberi pewarnaan Giemsa dapat menampilkan eritrosit, leukosit dan trombosit yang penampakan nya itu jelas di bawah mikroskop, sementara pada pewarnaan ekstrak etanol kol ungu yang mengandung zat antosianin yang bersifat asam menunjukkan bahwa pewarnaan ini hanya dapat mewarnai eritrosit, namun tidak untuk leukosit dan trombosit karena zat warna pada ekstrak kol ungu tidak mampu mewarnai inti sel. Maka dapat disimpulkan bahwa namun ekstrak kol ungu dapat dijadikan pewarnaan alternatif untuk sediaan apus darah yang tujuannya untuk melihat morfologi eritrosit.

Kata Kunci: Preparat, apus darah, SADT, kol ungu, ekstrak etanol, *Brassica oleracea*, pewarna alternatif.

PENDAHULUAN

Pewarnaan sintesis digunakan untuk berbagai keperluan, baik ini untuk pewarnaan peralatan rumah tangga, kendaraan, barang kerajinan, pewarna tekstil, interior/eksterior bangunan untuk pewarnaan makanan dan minuman. Pewarnaan juga banyak digunakan sebagai bahan uji laboratorium. Zat pewarna sintesis memiliki keunggulan yaitu, lebih stabil, lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan, daya mewarnainya lebih kuat dan memiliki rentang warna yang lebih luas, tidak mudah luntur dan berwarna cerah (Kant, 2012). Namun, pewarnaan sintesis dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan berbahaya karena dapat terdegradasi menjadi senyawa yang bersifat karsinogenik dan beracun (Widjajanti, 2011). Selain itu pewarnaan sintesis terbilang cukup mahal.

Pewarnaan Giemsa termasuk salah satu pewarnaan sintesis. Prinsip dari pewarnaan Giemsa adalah adanya presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan metilen biru dan eosin yang dilarutkan di dalam methanol. Pewarnaan Giemsa adalah pulasan yang terdiri dari eosin, metilen azur dan metilen biru yang berguna untuk mewarnai sel darah melalui fiksasi dengan metil alkohol. Pewarna Giemsa paling umum digunakan, tetapi Giemsa memiliki kelemahan, yaitu kurang kuat mewarnai granula sel – sel granulosit. Selain itu, Kandungan methylen blue, eosin, dan azur B bersifat tidak mudah terurai dan menimbulkan limbah yang berbahaya (*toxic*) serta mudah terbakar (*flameable*) (Mukh *et al.*, 2018).

Maka dari itu, upaya yang dilakukan untuk mengatasi permasalahan pada penggunaan pewarnaan sintesis tersebut adalah dengan menciptakan atau membuat pewarnaan alternatif alami yang lebih ramah lingkungan, murah dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Pewarna alami merupakan alternatif pewarna yang tidak toksik, dapat diperbaharui, mudah terdegradasi dan ramah lingkungan (Titiek, 2015). Pewarnaan alternatif yang sudah ada sebelum penelitian ini

yaitu, pewarnaan dengan ekstrak ubi jalar (*Ipomoea batatas*), kulit manggis (*Garcinia mangostana*), buah naga (*Hylocereus costaricensis*), dan banyak tanaman lainnya. Selain tanaman di atas, terdapat tanaman lain yang diduga juga dapat menjadi sumber zat warna alternatif yaitu kol ungu (*Brassica oleracea* L), mengandung zat warna antosianin berupa golongan senyawa kimia organik yang dapat larut dalam pelarut polar, serta bertanggung jawab dalam memberikan warna orange, merah, ungu, biru, hingga hitam pada tumbuhan tingkat tinggi. Berdasarkan kepolarannya dalam pelarut universal, antosianin dalam tumbuhan berada dalam bentuk aglikon yang dikenal sebagai antosianidin dan antosianin dalam bentuk glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik membentuk ester dengan monosakarida (glukosa, galaktosa, ramnosa, dan pentosane) atau dapat dikatakan adanya proses hidrolisis pada reaksi esterifikasi sebuah antosianidin (aglikon) dengan satu atau lebih glikon (gugus gula) dapat membentuk antosianin (Melania *et al.*, 2018).

Pigmen antosianin telah sejak lama dikonsumsi oleh manusia dan hewan bersamaan dengan buah atau sayuran yang mereka makan. Selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit atau keracunan yang disebabkan oleh pigmen ini. Bahkan dilakukan, pigmen antosianin terbukti memiliki efek positif terhadap kesehatan. Banyak bukti menunjukkan antosianin bukan saja tidak beracun (*non-toxic*), tetapi juga memiliki sifat farmakologi dan terapi yang positif. Oleh karena itu, pigmen ini dapat dikonsumsi tanpa menunjukkan efek negatif bagi kesehatan (Muhammad *et al.*, 2018). Alasan menggunakan kol ungu sebagai tanaman untuk pewarnaan alternatif yaitu karena tanaman ini mudah didapatkan, tidak terlalu mahal, dan juga tanaman ini memiliki warna ungu yang diduga dapat menghasilkan ekstrak yang baik.

Tujuan dilakukannya pewarnaan ini untuk melihat atau mengamati morfologi sel darah pada sediaan apusan darah tepi (SADT) menggunakan pewarna alternatif alami berupa ekstrak etanol dari kol ungu (*Brassica oleracea* L) sebagai pengganti pewarna Giemsa dan juga membandingkan hasil pewarnaan Giemsa dengan ekstrak etanol kol ungu. Hasil dari pewarnaan ini akan digunakan untuk melihat gambaran struktur morfologi dari sel darah (eritrosit, trombosit dan leukosit) menggunakan pewarnaan alternatif ekstrak antosianin dari kol ungu. Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol karena terdapat beberapa jurnal yang menggunakan kol ungu sebagai pewarna alternatif menggunakan ekstrak etanol, hanya saja tidak digunakan sebagai pewarna alternatif untuk apusan darah tetapi Yusuf (2018) menggunakan ekstrak etanol kol ungu sebagai film indikator warna dalam bentuk film kitosan-PVA (Polivinil Alkohol).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu oven, mortal/blender, kertas saring, pipet tetes, botol sampel/labu alas bulat, kaca benda, kaca penutup, jarum lancet dan mikroskop. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest, etanol 96%, methanol, kol ungu (*Brassica oleracea* L) dan sampel darah.

Sumber Tanaman

Kol ungu (*Brassica oleracea* L) merupakan salah satu jenis sayuran yang banyak terdapat di Indonesia. Kol ungu mempunyai manfaat sebagai pewarna alami dan menimbulkan warna-warna seperti merah dan biru. Kol ungu mempunyai banyak manfaat karena mempunyai banyak kandungan antara lain vitamin A, B, C dan E, mineral kalium, kalsium, fosfor, natrium dan besi, sulfur serta mengandung antosianin (Mamat *et al.*, 2018).

Ekstrak Kol Ungu (*Brassica oleracea* L)

Proses ekstraksi merupakan suatu teknik pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan distribusi kelarutannya (zat terlarut) terhadap dua cairan pelarut atau lebih yang saling bercampur. Sedangkan proses maserasi merupakan teknik pemisahan zat target dengan zat sisa berdasarkan prinsip kepolaran dimana zat target akan terlarut ke dalam pelarut yang memiliki sifat polaritas yang sesuai dengan zat target (Subakir dan Dzikra, 2020).

Prosedur pembuatan ekstrak yaitu kol ungu ditimbang sebanyak 300 gr, menurut Rima *et al.*, (2014) kol ungu segar dipotong kecil – kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 100° selama 10 menit. Kol ungu kering kemudian di buat serbuk dengan menggunakan blender, sehingga didapatkan serbuk kol ungu yang homogen, metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi pada suhu ruangan. Sampel sejumlah 68 gram dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan pelarut sampai seluruh bahan terendam. Jenis pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Sebagai kontrol selama 1X24 jam, sesekali dilakukan pengadukan. Lalu diambil ekstrak dengan cara menyaring dengan kain saring atau kertas dan menuangnya.

Pembuatan Preparat Apus Darah

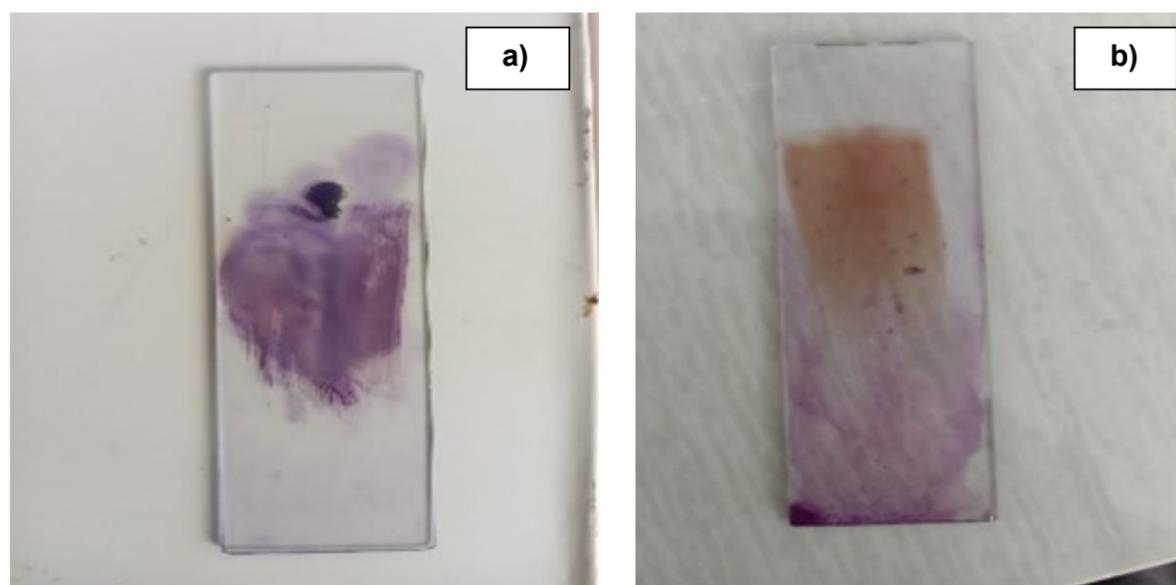
Pengambilan sampel darah menggunakan jarum lancet dilakukan dengan cara menusuk jari dengan jarum hingga darah keluar, lalu diteteskan pada kaca benda yang bersih. Kemudian dibuat apusan darah tipis menggunakan bantuan kaca benda lain, dengan cara kaca benda lain tersebut diletakkan di sisi kiri tetesan darah hingga membentuk sudut 45°, lalu kaca benda tersebut ditarik kekanan dan didorong kekiri dengan cepat hingga terbentuk apusan darah yang tipis.

Tahap selanjutnya difiksasi menggunakan methanol selama 5 menit dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Selanjutnya pewarnaan dilakukan dengan ekstrak alternatif kol ungu (*Brassica oleracea* L) selama 5 menit, sebagai pengganti pewarna Giemsa. Setelah 5 menit kemudian apusan darah dicuci menggunakan aquadest dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Hasil pembuatan apusan darah diamati di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

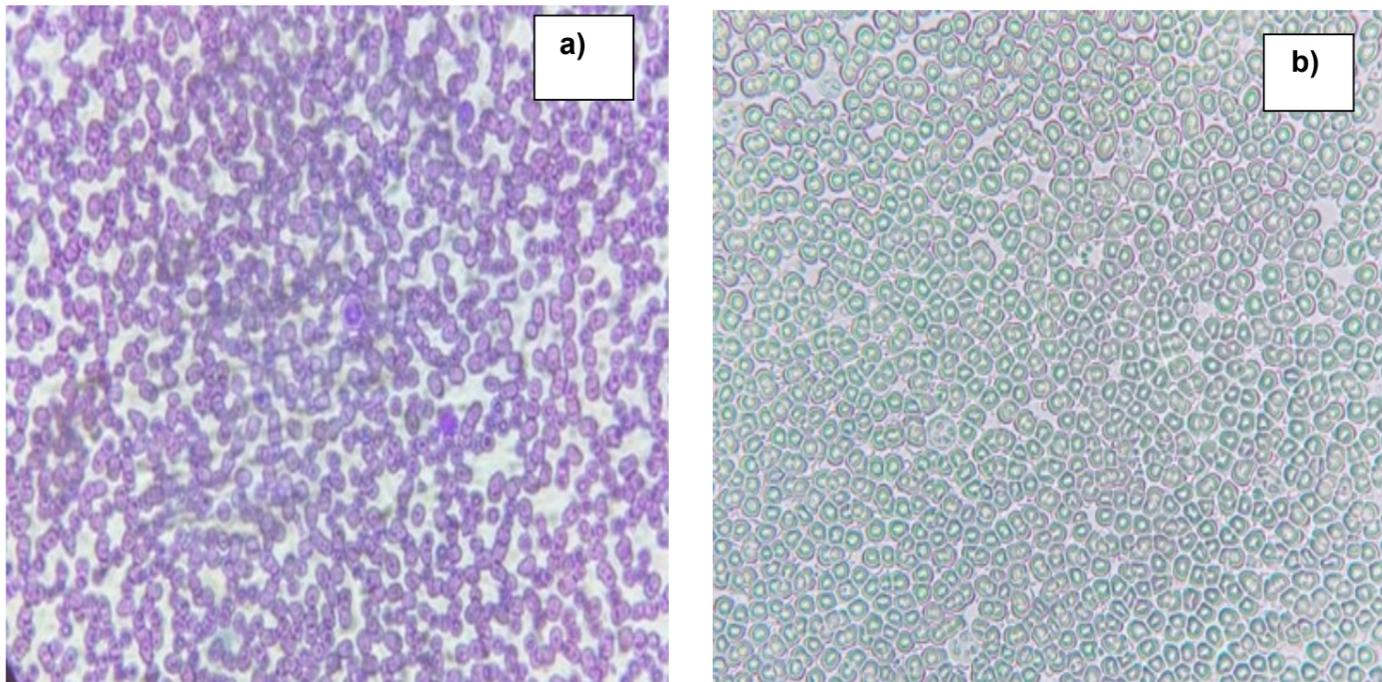
Hasil Pengamatan

Setelah preparat apus darah diberi pewarnaan Giemsa dan ekstrak kol ungu, preparat tersebut diamati dan diperoleh hasil seperti gambar berikut:



Gambar 1. a). Preparat Apus Darah dengan Giemsa b) Preparat Apus Darah dengan Pewarnaan Alternatif Ekstrak Kol Ungu.

Terlihat perbedaan warna pada kedua preparat yang masing-masing telah diberi pewarnaan tersebut. SADT yang diberi pewarnaan Giemsa terlihat menyerap warna dengan baik sehingga berwarna lebih pekat dibanding preparat SADT yang diberi pewarnaan ekstrak kol ungu. Namun untuk lebih jelas melihat morfologi SADT, kedua preparat tersebut selanjutnya diamati di bawah mikroskop untuk melihat morfologi sel-sel darah pada preparat tersebut. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 3. a) Morfologi Sel Darah dengan Menggunakan Pewarnaan Giemsa (b) Morfologi Sel Darah dengan Menggunakan Pewarnaan Alternatif Ekstrak Etanol Kol Ungu (*Brassica oleracea*).

Hasil pengamatan pada preparat apusan darah tepi (SADT) menggunakan pewarnaan ekstrak kol ungu dan pewarna Giemsa dengan perbesaran 100x terlihat jelas perbedaan keduanya. Preparat dengan pewarnaan Giemsa menunjukkan warna ungu yang dominan dan morfologi sel darah yang diperoleh terlihat lebih jelas, sedangkan pada pewarnaan alternatif menunjukkan warna yang lebih pucat dan morfologi sel darah yang dihasilkan tidak terlihat jelas. Adapun sel darah yang dapat diamati berdasarkan sel darah secara mikroskopik, pada pewarnaan Giemsa dapat terlihat morfologi sel eritrosit, sel leukosit dan juga trombosit. Sedangkan pada pewarnaan alternatif hanya sel eritrosit yang memiliki kualitas pewarnaan cukup jelas, sedangkan pada sel trombosit dan leukosit tidak terlihat begitu jelas atau tidak terwarnai dengan baik, dimana morfologi sel eritrosit yang diperoleh berbentuk bulat atau oval dan dari samping seperti cakram (bionkaf) dengan sentral akromia (berwarna pucat). Sedangkan kualitas gambar pada Sel leukosit dan trombosit kurang jelas atau tidak terlihat.

Kol ungu mengandung antosianin yang berperan dalam berbagai warna merah dan biru pada tanaman. Menurut Susanti *et al*, (2019), Yusuf *et al.*, (2018) zat warna dari kol ungu diperoleh dengan cara ekstraksi sehingga diperoleh ekstrak kol ungu yang berwarna ungu. Warna ungu yang ditampilkan pada kol ungu merupakan pigmen golongan senyawa antosianin yang memiliki kisaran warna dari merah ke kuning. Pigmen antosianin memiliki presentase derajat degradasi yang tinggi, memiliki sensitifitas tinggi terhadap berbagai macam faktor yaitu suhu, perubahan pH, ketersediaan oksigen dan cahaya. Pada penelitian yang telah dilakukan diperoleh warna ungu kemerahan, hal itu disebabkan karena tidak dilakukannya proses pemekatan ekstrak menggunakan evaporator. Hal ini disebabkan karena jumlah zat pelarut yang digunakan sangat mendominasi jumlah larutan, selain itu karakteristik pelarut (etanol) memiliki sifat ionisasi yang mudah melepaskan ion hidrogen yang bermuatan positif, akibatnya larutan memiliki pH ke arah asam yang menyebabkan terbentuknya larutan ekstrak berwarna ungu kemerahan. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan

oleh Muhammad Yusuf *et al.*, (2018) ekstrak hasil perlakuan memberikan warna pigmen ungu yang cukup gelap karena tingkat konsentrasi ekstrak yang dihasilkan sangat tinggi. Selama proses perolehan ekstrak pigmen berlangsung, diperoleh larutan jernih dengan warna ungu kemerahan sebelum dilakukannya proses pemekatan ekstrak menggunakan evaporator.

Hasil ekstrak berwarna ungu kemerahan yang dihasilkan tidak dapat bekerja dengan baik saat apusan darah diberi pewarnaan alternatif dari ekstrak kol ungu karena warna yang tidak pekat dan ekstrak yang kurang kental, hingga pada saat proses pencucian dengan aquades zat warna antosianin ikut memudar sehingga morfologi sel darah ketika diamati di bawah mikroskop tidak terlihat begitu jelas. Selain itu waktu pengecatan atau pewarnaan yang tidak tepat dapat menghasilkan warna yang tidak baik, memungkinkan morfologi yang dihasilkan juga tidak jelas, karena proses pewarnaan tidak merata atau sel terlalu banyak atau terlalu sedikit menyerap zat warna.

Pewarnaan SADT menggunakan pewarnaan ekstrak kol ungu menunjukkan kualitas gambar yang jelas pada sel erosit, hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah komponen senyawa antosianin dapat berinteraksi dengan sel eritrosit dengan baik, selain itu sifat keasaman pada senyawa antosianin yang memiliki kecenderungan kesesuaian dengan keadaan asam pada eritrosit membuat interaksinya semakin baik. Pada keadaan ini senyawa antosianin dapat terikat dengan baik di bagian permukaan dari sel eritrosit sehingga dapat teramati di bawah mikroskop. Sedangkan pada sel leukosit dan trombosit hasil yang diamati berupa lapang pandang yang terlihat buram, pucat dan bahkan hampir tidak terlihat keberadaannya.

Pewarnaan menggunakan Giemsa diperoleh kualitas gambar yang jelas, karena mengandung campuran eosin dan metilen biru, dimana pada eosin mengandung asam dan metilen biru mengandung basa sehingga pewarnaan ini dapat melihat morfologi sel dengan jelas, berupa sel eritrosit, leukosit dan trombosit. Pewarna giemsa terdiri dari eosin dan metilen blue yang berguna mewarnai sel darah melalui fiksasi dengan metil alkohol. Giemsa pada konsentrasi tertentu untuk mendapatkan warna yang optimal dan sesuai dengan standar teknis sehingga dapat diketahui jenis – jenis leukostei, parasit, trombosit dan benda – benda lain.

Berdasarkan penelitian ini dapat dilihat bahwa pewarnaan Giemsa pada SADT menunjukkan morfologi sel darah yang terlihat lebih jelas dibandingkan dengan pewarnaan alternatif ekstrak kol ungu. Karena Giemsa adalah zat warna yang mengandung eosin dan metil azur yang memberi warna merah pada sitoplasma dan metilen blue pada inti leukosit. Metode pewarnaan ini banyak digunakan untuk mempelajari morfologi sel – sel darah, sel – sel lien, sel – sel sumsum dan juga untuk mengidentifikasi parasit – parasit darah. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Rinny *et al.*, (2018) Giemsa sangat baik untuk mengidentifikasi berbagai sel granulosit dan sel – sel darah lainnya, menghasilkan gambaran inti yang jelas, sangat baik dalam membedakan komponen basofilik atau eosinofilik dari sel limfoid dan mieloid dan keunggulan utama Giemsa ialah lebih tahan lama dalam iklim tropis dan sangat baik untuk mempelajari parasit – parasite darah.

Pewarnaan alternatif ekstrak kol ungu tidak menghasilkan pewarnaan sebaik Giemsa karena pada saat pengamatan tidak dilakukan proses pemekatan ekstrak menggunakan evaporator sehingga ekstrak yang dihasilkan tidak pekat dan kental. Ketika diamati di bawah mikroskop diperoleh morfologi sel yang hanya jelas pada sel eritrosit nya saja, sedangkan pada sel leukosit dan trombosit tidak diperoleh hasil yang jelas karena pada kol ungu mengandung zat antosianin yang asam, sehingga ia hanya dapat mewarnai sel yang bersifat basa, sedangkan pada sel leukosit dan

trombosit keduanya memiliki inti sel yang bersifat asam. Pada prinsip pewarnaan, asam hanya akan dapat mengamati sel yang bersifat basa dan basa hanya dapat mewarnai atau mengamati sel yang bersifat asam, maka hal inilah yang menyebabkan sel leukosit dan trombosit tidak dapat terlihat dengan jelas pada saat diamati di bawah mikroskop. Jadi kekurangan pada ekstrak etanol kol ungu ini adalah tidak dapat mewarnai sel leukosit dan sel trombosit karena tidak mempunyai kandungan basa di dalamnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pewarnaan menggunakan Giemsa dapat memperoleh warna yang lebih baik dibandingkan dengan pewarna alternatif ekstrak kol ungu. Karena pada Giemsa mengandung campuran zat berupa eosin yang bersifat asam dan metilen biru yang bersifat Basa, karena kandungan zat yang dimilikinya, pewarnaan Giemsa dapat dilihat dengan jelas morfologi apusan darah berupa sel eritrosit, sel leukosit dan trombosit. Sedangkan ekstrak kol ungu hanya mampu mewarnai sel eritrosit karena ekstrak kol ungu mengandung zat antosianin yang bersifat asam, sehingga ia tidak mampu mewarnai sel leukosit serta trombosit yang memiliki inti sel dan juga bersifat asam. Ekstrak etanol kol ungu dapat digunakan sebagai pewarna alternatif apusan darah untuk mengamati sel eritrosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Kant, Rita. 2012. Textile Dyeing Industry an Enviromental Hazard, *Open Acces journal Natural Science*, 4(1) : 22-26. Aticle ID:17027,5 pages, DOI : 10.4236/ns. 2012.41004
- Mamat, P., Aminah., Rizky, A.F. 2018. Efektifitas Pemanfaatan Potensi Senyawa Fenolik Kubis Ungu (*Brassica Oleraceae var.carpitata*. L) Secara Instrumen UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 5(2) : 293-298.
- Melania Priska., Natalia, P., Ludovicus, C., dan Yullus, D.N. 2018. Antosianin dan Pemanfaatannya. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 6(2) : 79-97.
- Muhammad, Y., Sri, I., Nur Fitriani, U.A. 2018. Karakterisasi Antosianin Kubis Merah Sebagai Indikator Pada Kemasan Cerdas. *Jurnal Galung Tropika*. 7(1) : 46-55.
- Mukh, S., Indah, I., dan Dwi, R. 2018. Optimalisasi Pewarnaan Giemsa Pada Apusan Darah Tipis Terinfeksi Plasmodium berghei Untuk Mendukung Pengembangan Vaksin Malaria Iradiasi. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 7(1) : 77-84.
- Rima, Y.S., Ahmad, K.N., dan Erna, P.S. 2016. Optimasi Formula Gel Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L, var. *capitata f. rubra*) Menggunakan simplex lattice design dan Pengujian Aktivitas Antioksidan secara in vitro. *Journal homepage*. 6(2) : 171-180.
- Rinny, A., dan Sherly, R. 2018. Morfologi Eosinofil Paada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Geimsa, Wright, dan Kombinasi Wright-Giemsa. *Jurnal Surya Medika*. 3(2) : 5-12.
- Subakir salnus dan Dzikra Arwie. 2020. Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipopmoea batatas* L.) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*. 11(2) : 96-103.
- Titiek Pujilestari. 2015. Review: Sumber Pemanfaatan Zat Warna Alam Unuk Keperluan Industri. *Jurnal Dinamika Kerajinan dan Batik*. 32(2) : 93-106.
- Widjajanti, E., Regina, T.P., dan Utomo, M.P. 2011. Pola Adsropsi Zeolit Terhadap Pewarna Azo Metil Merah dan Metil Jingga. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Hal K115-K122, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.