

PEWARNAAN SEDIAAN APUSAN DARAH TEPI (SADT) MENGUNAKAN INFUSA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*)

Nur Aini Hidayah Khasanah, Fajar Husen, Nilasari Indah Yuniati

Departemen Teknologi Laboratorium Medis, STIKes BCH Purwokerto

e-mail: nuraini@stikesbch.ac.id

ABSTRAK

Pewarnaan giemsa merupakan salah satu pewarnaan rutin yang direkomendasikan dalam pembuatan sediaan apusan darah tepi (SADT). Pada penelitian ini diuji bahan alami berupa infusa bunga telang (*Clitoria ternatea*) untuk tujuan pewarnaan SADT. Kandungan pigmen biru-ungu antosianin *C. ternatea* berpotensi sebagai pewarna alternatif alami. Studi ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif, bertujuan menilai kualitas morfologi sel darah pada SADT yang diberi infusa bunga *C. ternatea* dengan konsentrasi berbeda serta membandingkan hasil pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* dengan giemsa. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi dan Kimia Klinik STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto pada bulan Desember 2022. Sampel diperoleh dari darah kapiler dosen STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto. Dibuat 4 preparat, masing-masing yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75% infusa bunga *C. ternatea* dan pewarnaan giemsa 10%. Parameter pengamatan berupa warna eritrosit, warna dari jenis leukosit dan kontras pewarnaan, diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Hasil menunjukkan konsentrasi 25% infusa bunga *C. ternatea* mewarnai eritrosit dengan intensitas warna biru-ungu dan kontras paling baik dibandingkan konsentrasi 50% dan 75%. Eritrosit cenderung basa sehingga dapat terwarna dengan antosianin yang asam. Semua konsentrasi tidak dapat mewarnai sel leukosit sebagaimana pada pewarna giemsa, namun infusa *C. ternatea* dapat dijadikan pewarna alternatif alami untuk mengamati eritrosit.

Kata kunci : *Clitoria ternatea*, telang, giemsa, SADT, antosianin

ABSTRACT

Giemsa stains is a common stains recommended in making prepareate of peripheral blood smear (SADT). This study tested a natural ingredient as butterfly pea flower (*Clitoria ternatea*) infusion for SADT staining purposes. The content of the blue-purple anthocyanin pigment *C. ternatea* has the potential as a natural alternative dye. This study is a type of qualitative descriptive research, aimed at assessing the morphological quality of blood cells in SADT given *C. ternatea* flower infusion with different concentrations and comparing the staining results of *C. ternatea* flower infusion with giemsa. The research was conducted at the Laboratory of Hematology and Clinical Chemistry STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto in December 2022. Samples were obtained from the capillary blood of the STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto lecturer. Four preparations were made, each containing 25%, 50%, 75% *C. ternatea* flower infusion and 10% Giemsa staining. Observation parameters in erythrocyte color, color of the type of leukocyte and staining contrast, were observed with a light microscope with a magnification of 400x. The results showed that the concentration of 25% *C. ternatea* flower infusion colored erythrocytes with blue-purple intensity and the best contrast compared to 50% and 75%. Erythrocytes tend to be alkaline so they can be stained with acidic anthocyanins. All concentrations cannot stain leukocyte cells as in Giemsa dye, but *C. ternatea* infusion can be used as a natural alternative dye to observe erythrocytes.

Keywords: *Clitoria ternatea*, eggplant, giemsa, SADT, anthocyanins

PENDAHULUAN

Pemeriksaan apusan darah tepi merupakan prosedur yang dibuat dengan cara meneteskan darah kapiler atau vena pada kaca benda kemudian diwarnai. Sediaan apusan darah tepi (SADT) digunakan untuk membantu menilai morfologi berbagai jenis sel darah seperti eritrosit, leukosit dan trombosit serta menghitung jumlah dan jenis leukosit, (Rinny and Sherly Rosalinda, 2018). SADT juga penting dalam identifikasi parasit penyebab malaria (Sorontou, 2021).

Validitas SADT sangat ditentukan oleh kualitas pewarnaan. Kualitas pewarnaan dipengaruhi oleh kualitas zat warna, teknik pewarnaan dan metode yang digunakan. Penggunaan zat warna bertujuan mempertajam komponen tertentu dari sel sehingga tampak kontras. Pewarnaan standar yang biasa digunakan untuk pembuatan SADT adalah pewarnaan giemsa, merupakan salah satu pewarnaan Romanowsky yang direkomendasikan *International Council for Standardization in Haematology (ICSH)* (Rinny and Sherly Rosalinda, 2018).

Komposisi giemsa terdiri dari eosin yang bersifat asam dikombinasikan *methylen blue* dan *methylene azzure* yang bersifat basa. Campuran *methylen blue* dan *methylene azzure* membentuk eosinat, membuat hasil pewarnaan lebih stabil (Tahir *et al.*, 2020). Menurut (Nurjanah, 2020) eosin memberi warna merah muda pada sitoplasma sedangkan *methylen blue* memberi warna biru lembayung pada inti sel, sehingga jika sediaan darah diwarnai dengan larutan giemsa, eritrosit akan terwarnai merah muda karena eritrosit tidak memiliki inti, sedangkan leukosit sebagai sel berinti terwarnai biru lembayung. Leukosit ada yang bergranula dan tidak bergranula.

Meskipun pewarna giemsa baik digunakan sebagai pewarna rutin namun giemsa juga memiliki kekurangan yaitu bersifat toksik, mudah terbakar dan menguap serta pada penyimpanan yang kurang baik akan menurunkan kualitas pewarnaan. Jika tertelan akan menyebabkan keracunan. Kontak langsung dan terhirup dapat menyebabkan kerusakan organ-organ (Wulandarai, Widiyani

and Iswara, 2019). Untuk meminimalisir penggunaan giemsa saat ini banyak diteliti bahan alami yang dapat dijadikan sebagai pewarna alternatif, salah satunya adalah bunga telang (*Clitoria ternatea*).



Gambar 1. Bunga telang (*Clitoria ternatea*)

Bunga *C. ternatea*, memiliki nama lain *Butterfly pea flower* berasal dari Ternate, Maluku, merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis pada berbagai kisaran jenis tanah, toleran terhadap curah hujan yang tinggi maupun kekeringan. Bunga *C. ternatea* berwarna ungu, biru atau merah karena kandungan senyawa antosianin. Kestabilan yang baik dari antosianin bunga *C. ternatea* sehingga dapat digunakan sebagai pewarna alami lokal terutama untuk makanan, obat dan industri tekstil (Suryana, 2021).

Antosianin merupakan senyawa

amfoter yang dapat berinteraksi dengan asam maupun basa. Dalam lingkungan asam antosianin berwarna merah, sedangkan pada lingkungan basa menjadi biru dan ungu (Samber, Semangun and Prasetyo, 2013)

Antosianin bersifat polar, artinya lebih mudah larut dalam air seperti aquades dan asam tartat (Angriani, 2019), sehingga senyawa bioaktif yang terdapat dalam bunga *C. ternatea* dapat diperoleh melalui ekstraksi menggunakan metode infusa. Menurut (Ramadhani, Ngazizah and Khasanah, 2021) infusa dapat mengekstraksi zat-zat aktif yang bersifat polar atau larut dalam air hanya dengan memanaskan simplisia dalam air pada suhu 90°C selama 15 menit.

Sejauh ini penggunaan bunga *C. ternatea* sebagai pewarna alami untuk SADT belum pernah dilakukan. Penelitian sebelumnya oleh (Azka, Mandasari and Santoso, 2021), ekstrak bunga *C. ternatea* dapat dijadikan sebagai alternatif pewarnaan pengganti *methylen blue*. Perendaman selama 15 menit dapat membedakan warna sitoplasma dan inti sel dengan cukup jelas pada pengecatan *diff quick* sel

epitel mukosa mulut.

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk mengetahui kualitas pewarnaan SADT menggunakan pewarna alami infusa bunga *C. ternatea* dengan konsentrasi bertingkat yaitu 25%, 50% dan 75%, serta membandingkan hasil pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* dengan giemsa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif, bertujuan membandingkan hasil preparat apusan darah tepi dari tiap perlakuan kemudian hasil yang diperoleh dideskripsikan secara subjektif berdasarkan gambaran yang ditampilkan pada hasil penelitian. Pengamatan dilakukan terhadap parameter berupa warna eritrosit, warna dari jenis leukosit yaitu limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi dan Kimia Klinik STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto pada bulan Desember 2022. Sampel diperoleh dari darah kapiler dosen STIKes Bina Cipta

Husada Purwokerto. Dibuat 4 preparat, 1 preparat untuk pewarna giemsa, 1 preparat pewarna bunga *C. ternatea* konsentrasi 25%, 1 preparat pewarna bunga *C. ternatea* konsentrasi 50%, 1 preparat pewarna bunga *C. ternatea* konsentrasi 75%.

Bahan penelitian meliputi bunga *C. ternatea* yang sudah dikeringkan dengan oven pada suhu 40-45 °C, pewarna giemsa 10%, methanol absolut, aquades steril, lancet, minyak imersi, alkohol swab, kertas *tissue* dan kertas saring whatman. Alat yang digunakan meliputi beaker *glass*, *hotplate* dan *magnetic stirrer*, timbangan digital, alumunium foil, thermometer air raksa, erlenmeyer, mikroskop cahaya, *object glass*, *cover glass*, pipet tetes, rak pewarnaan dan kamera.

Prosedur kerja penelitian ini meliputi:

a. Pembuatan infusa bunga *C. ternatea*

Bunga dipisahkan dari bagian kelopaknya kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40-45°C selama 24 jam. Simplisia ditimbang sebanyak 2,5, 5 dan 7,5 gram. Masing-masing ditambahkan

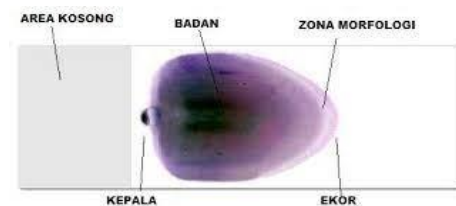
pelarut aquades steril sebanyak 100 ml dalam tabung erlenmeyer sehingga terdapat 3 variasi konsentrasi yaitu 25%, 50% dan 75%. Larutan selanjutnya dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan *hotplate* dan *magnetic stirrer* pada suhu 75-90°C selama 15 menit, kemudian dilanjutkan dengan tahap penyaringan menggunakan kertas saring Whatman.

b. Pembuatan Sediaan Apusan Darah tepi (SADT)

Disiapkan *object glass* yang bersih dan kering. Sebanyak $\pm 3 \mu\text{l}$ sampel darah ditetaskan di atas *object glass*. Diambil *object glass* lain sebagai *spreader* di depan tetesan dengan membentuk sudut 30-40°, kemudian *spreader* ditarik ke belakang hingga tetesan menyebar memenuhi sisi *object glass*. Dorong *spreader* dengan cepat dan tekanan yang cukup ke arah depan *object glass*.

c. Pewarnaan preparat

Sediaan diletakkan di atas rak pewarnaan dengan lapisan darah berada di atas. Sediaan selanjutnya digenangi dengan methanol sehingga bagian hapusan darah tertutup seluruhnya dan diamkan selama 5 menit kemudian methanol yang tersisa dibuang dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya sediaan digenangi infusa bunga *C. ternatea* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% dan sebagai kontrol digunakan pewarna giemsa. Diamkan selama 20 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Sediaan dikering anginkan tanpa bantuan pengering dengan cara diletakkan dalam posisi vertikal. Sediaan diamati di menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1000x pada zona baca atau zona morfologi.

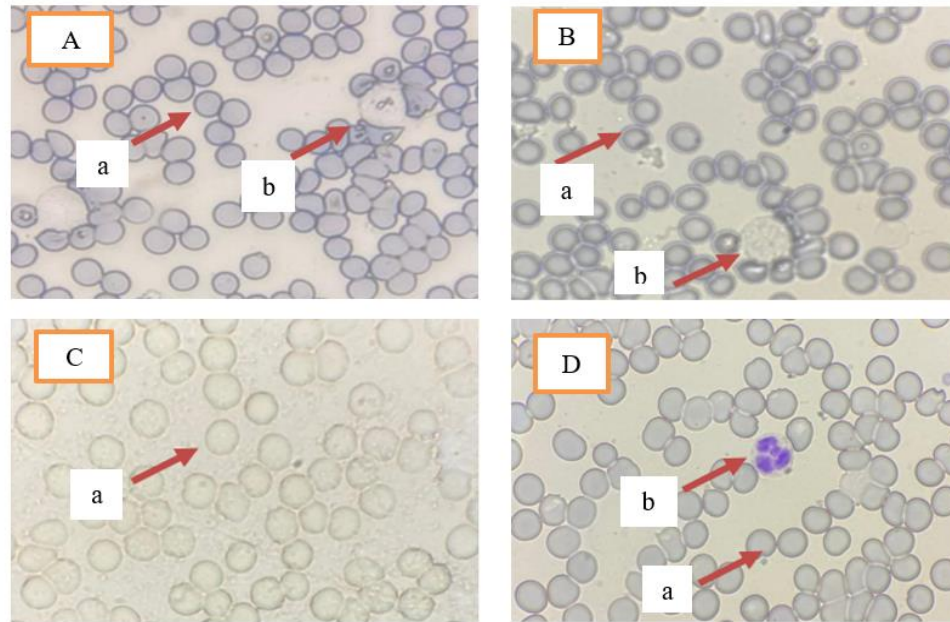


Sumber: <https://yayanakhyar.wordpress.com>

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pewarnaan SADT menggunakan pewarna infusa bunga *C. ternatea*

konsentrasi 25%, 50%, 75% dan pewarna giemsa pada perbesaran 1000x sebagai berikut:



Gambar 2. Morfologi eritrosit (a) dan leukosit (b) hasil pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* konsentrasi 25% (A), konsentrasi 50% (B), konsentrasi 75% (C) dan pewarnaan giemsa (D) perbesaran 1000x

Penilaian terhadap kualitas morfologi sel darah dengan pewarna infusa bunga *C. ternatea* konsentrasi berbeda dan pewarna giemsa disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Penilaian kualitas morfologi sel darah pada pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* (*Clitoria ternatea*) konsentrasi berbeda dan pewarna giemsa

Pewarnaan	Morfologi sel darah		kontras
	Eritrosit	Leukosit	
<i>C. ternatea</i> 25%	Ungu kebiruan	inti tidak terwarnai	Baik
<i>C. ternatea</i> 50%	Ungu kebiruan pekat	inti tidak terwarnai	Sangat tajam
<i>C. ternatea</i> 75%	Kehijauan	tidak terlihat	Tidak baik
Giemsa	Ungu-pink	inti terwarnai lembayung	Baik

Gambar 2 menunjukkan infusa bunga *C. ternatea* konsentrasi 25%

memberikan intensitas warna paling baik terhadap eritrosit. Eritrosit berwarna ungu kebiruan dengan bagian tengah yang cekung (bikonkaf) berwarna lebih terang. Kontras yang dihasilkan dari konsentrasi 25% lebih baik dibandingkan hasil pewarnaan giemsa 10% dalam mewarnai eritrosit. Pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* konsentrasi 50% terlihat eritrosit berwarna biru-ungu dengan intensitas warna lebih gelap, tebal dan kontras yang lebih tajam dibandingkan konsentrasi 25%. Pada infusa bunga *C. ternatea* konsentrasi 75% terlihat eritrosit berwarna biru kehijauan. Hasil ini berarti bahwa zat warna antosianin dari bunga *C. ternatea* mampu menembus ke dalam eritrosit, kecuali pada konsentrasi 75% justru eritrosit tidak terwarnai biru-ungu.

Antosianin memiliki beberapa variasi warna yang dapat dihasilkan mulai dari merah, ungu, biru, sampai kuning. Perbedaan warna ini dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satunya karena pengaruh panas. Selain itu dipengaruhi juga oleh pH. Pada pH asam antosianin dapat berwarna merah sedangkan pada pH basa antosianin

berwarna ungu sampai kebiruan (Wahyudi and Salnus, 2020). Darah manusia memiliki pH normal cenderung basa sehingga antosianin dari infusa bunga *C. ternatea* memberikan warna ungu kebiruan. Lebih lanjut menurut (Sorontou, 2021) kandungan sel darah merah manusia sebagian besar adalah hemoglobin yang biasanya akan mengambil komponen asidofilik dari zat warna.

Berdasarkan Gambar 2 (A, B) dapat dilihat bahwa pewarnaan infusa bunga *C. ternatea* kurang representatif dalam mewarnai leukosit. Tanda panah pada gambar 2 (b) menunjukkan leukosit yang tidak dapat diidentifikasi jenisnya apakah limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil karena komponen basofilik atau eosinofilik dari sel limfoid dan myeloid tidak terwarnai dengan pewarna infusa bunga *C. ternatea*. Pada konsentrasi 75% justru leukosit tidak terlihat sama sekali karena kontras yang kurang baik antara eritrosit yang berwarna hijau muda dengan leukosit yang transparan sehingga tidak dapat dilihat (Gambar 2. C).

Penggunaan pewarna giemsa

(Gambar 2.D) mampu mewarnai sel leukosit dengan jelas. Granula dan inti neutrofil terwarnai dengan sangat baik dibandingkan sel disekitarnya. Giemsa sangat baik untuk mengidentifikasi berbagai sel granulosit (Rinny and Sherly Rosalinda, 2018).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Nirmala Sari and Masrillah, 2022) menggunakan ekstrak kol ungu (*Brassica oleracea L*) dimana sel eritrosit dapat dilihat dengan jelas, bentuk sel bulat atau oval bikonkaf dengan sentral akromia (berwarna pucat), namun kualitas sediaan pada leukosit dan trombosit kurang jelas atau tidak terlihat.

Hasil pewarnaan menggunakan giemsa diperoleh kualitas gambar yang jelas. Giemsa merupakan pewarna diferensial yang baik karena mengandung campuran eosin dan *methylen blue* dan *azzure*, dimana eosin bersifat asam dan *methylen blue* bersifat basa sehingga pewarnaan ini dapat melihat morfologi sel eritrosit, leukosit dan trombosit, parasit dan benda inklusi dengan jelas (Wulandarai, Widiyani and Iswara, 2019).

Secara kualitatif (Tabel 1) menunjukkan konsentrasi 25% memberikan hasil yang paling baik dibandingkan konsentrasi 50% dan 75% dalam mewarnai eritrosit. Sel terwarnai ungu kebiruan, warna tidak terlalu tebal namun kontras baik sehingga jelas untuk dilihat.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa variasi konsentrasi yang diujikan tidak dapat mewarnai leukosit. Hal ini menurut (Nirmala Sari and Masrillah, 2022) disebabkan inti sel leukosit bersifat asam sehingga antosianin tidak dapat berikatan dengan inti sel dan tidak membentuk warna, karena prinsip pewarnaan adalah asam hanya dapat memberikan warna pada sel yang bersifat basa dan basa hanya dapat mengamati sel yang bersifat asam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 25% infusa bunga *C. ternatea* (*Clitoria ternatea*) mewarnai eritrosit dengan intensitas warna paling baik yaitu biru-

ungu dan kontras yang baik. Semua konsentrasi infusa bunga *C. ternatea* yang diujikan tidak representative dalam mewarnai sel leukosit. Namun infusa bunga *C. ternatea* dapat dijadikan sebagai pewarna alternatif alami untuk pengamatan eritrosit. Untuk mendapatkan pewarnaan yang lebih sempurna dari infusa bunga *C. ternatea* dapat dimodifikasi dengan menambah bahan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Angriani, L. (2019) 'The Potential of Extract Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea* L.) as a Local Natural Dye for Various Food Industry', *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 2(1), pp. 32–37. doi: 10.20956/canrea.v2i1.120.
- Azka, E. N., Mandasari, A. A. and Santoso, S. D. (2021) 'Comparison of Natural Dyes from Telang Flower Extracts (*Clitoria ternatea* L) as a Substitute for Methylen Blue in Diff Quik Painting', *Procedia of Engineering and Life Science*, 1(2). doi: 10.21070/pels.v1i2.990.
- Nirmala Sari, A. and Masrillah, M. (2022) 'Morfologi Sel Darah pada Apusan Darah Tepi (SADT) menggunakan Pewarnaan Alternatif Ekstrak Kol Ungu (*Brassica oleracea* L)', *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 9 (2), p. 189. doi: 10.22373/pbio.v9i2.11660.
- Nurjanah (2020) 'Pewarnaan Sitologi pada Epitel Mukosa Menggunakan Giemsa Modifikasi', *Karya Tulis Ilmiah Unimus*. Semarang, pp. 6–11.
- Ramadhani, I. H., Ngazizah, F. N. and Khasanah, N. A. H. (2021) 'uji antibakteri bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L merr) secara infusa terhadap bakteri *Eschericia coli*', *Jurnal Borneo Cendekia*, 4(2), pp. 230–239. doi: 10.54411/jbc.v4i2.246.
- Rinny, A. and Sherly Rosalinda (2018) 'Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, dan Kombinasi Wright-Giemsa', *Jurnal Surya*

- Medika*, 3(2), pp. 5–12.
- Samber, L. N., Semangun, H. and Prasetyo, B. (2013) ‘Karakterisasi Antosianin Sebagai Pewarna Alami’, *Seminar Nasional x Pendidikan Biologi FKIP UNS*, (Harborne 2005), pp. 1–4.
- Sorontou, Y. (2021) ‘Comparing Of Staining Giemsa Dilutions For Rapid Detection Of Malaria Parasites At Thick And Thin Blood Smears In Biak And Abepura General Hospitals, Papua, Indonesia’, *Volatiles & Essent. Oils*, 8(4), pp. 10191–10201.
- Suryana, M. R. (2021) ‘Ekstraksi Antosianin Pada Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.): Sebuah Ulasan’, *Pasundan Food Technology Journal*, 8(2), pp. 45–50. doi: 10.23969/pftj.v8i2.4049.
- Tahir, K. A. *et al.* (2020) ‘Uji Aktivitas Antiplasmodium Dari Isolat Kulit Batang Kayu Tammate (*Lannea coromandelica* Houtt. Merr.) Secara In-Vitro’, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(1), pp. 16–21. doi: 10.33096/jffi.v7i1.591.
- Wahyudi, N. I. and Salnus, S. & F. (2020) ‘Gambaran Eritrosit pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarna Alami Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas* L)’, *Jurnal TML Blood Smear*, 1(1), pp. 12–17.
- Wulandarai, F. Y. S., Widiyani, S. D. and Iswara, A. (2019) ‘Caesar (*Caesalpinia extract*): Pewarna Alami Tanaman Indonesia Pengganti Giemsa’, *Jurnal Labora Medika*, 3, pp. 45–49.