

STUDI POTENSI EKSTRAK ANTOSIANIN DARI KULIT MANGGIS (*Garcinia Mangostana*) SEBAGAI PEWARNA APUSAN DARAH TEPI (ADT) DALAM MELIHAT GAMBARAN LEUKOSIT

Study Of The Potential Of Anthocyanin Ekstracts From Mangosteen Peel (Garcinia Mangostana) As A Peripheral Blood Smear (Adt) Dye In Viewing Leukocyte Images

Eka Susilawati^{1*}, Artati², Subakir Salnus³

^{1*} Jurusan Analis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

² Poltekes Kemenkes Makassar, Indonesia

³ Prodi DIII Analis Kesehatan, Stikes Panrita Husada Bulukumba, Indonesia

ABSTRACT / ABSTRAK

Keywords:

Leukocyte, *Garcinia mangostana* (mangosteen)

Kata Kunci:

Leukosit, Kulit manggis (*Garcinia mangostana*)

White blood cells or Leukocytes are one of the components in the blood that serves as an exterminator of disease seeds / bacteria that enter the TISSUE RES (reticuloendoel system) through human blood and also as a carrier or carrier of fatty substances from the intestinal wall through the spleen and then to the blood vessels. The purpose of this study to see the picture of Leukocytes in ADT preparations using giemsa coloring and mangosteen bark extract (*Garcinia mangostana*) using concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. The type of research used is experimen laboratory. In this study used two stainings on the preparation of peripheral blood apusan namely giemsa staining and mangosteen bark extract (*Garcinia mangostana*) to see the picture of leukocytes. Based on the results of the study that the examination showed a picture of leukocytes not seen in all types of concentrations. This is because anthocyanins contained in mangosteen skin do not have azure B content that can bind or take blue-purple or blue color on the cell nucleus, nucleuprotein in leukocytes.

Sel darah putih atau Leukosit merupakan salah satu komponen dalam darah yang berfungsi sebagai pembasmi bibit penyakit / bakteri yang masuk kedalam jaringan RES (*Sistem retikuloendoel*) melalui darah manusia dan juga sebagai pengangkut atau pembawa zat lemak dari dinding usus melalui limpa lalu menuju ke pembuluh darah. Tujuan penelitian ini Untuk melihat gambaran Leukosit pada sediaan ADT dengan menggunakan pewarnaan giemsa dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimen laboratory*. Dalam penelitian ini menggunakan dua pewarnaan terhadap sediaan apusan darah tepi yaitu pewarnaan giemsa dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) untuk melihat gambaran leukosit. Berdasarkan hasil penelitian bahwa pemeriksaan menunjukkan gambaran leukosit tidak terlihat pada semua jenis konsentrasi. Ini dikarenakan antosianin yang terkandung dalam kulit manggis tidak memiliki kandungan azure B yang dapat mengikat atau mengambil warna biru-ungu atau biru pada inti sel, nukleuprotein pada leukosit.

Corresponding Author:

Eka susilawati

Jurusan Analis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba,

Jln. Pendidikan Taccorong Kec.Gantarang, Bulukumba, Indonesia.

Email: ekasusilawati322@gmail.com

1. PENDAHULUAN

Sel darah putih atau Leukosit merupakan salah satu komponen dalam darah yang berfungsi sebagai pembasmi bibit penyakit / bakteri yang masuk kedalam jaringan RES (*Sistem retikuloendoel*) melalui darah manusia dan juga sebagai pengangkut atau pembawa zat lemak dari dinding usus melalui limpa lalu menuju ke pembuluh darah (Pratama, 2012). Apusan darah tepi (ADT) merupakan pemeriksaan dengan teknik mikroskopik untuk mengamati morfologi sel darah bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi yang cukup banyak dan bermakna terhadap keadaan hematologi seseorang. Bahan pemeriksaan yang ideal untuk pembuatan preparat darah apus adalah darah segar (kapiler maupun vena) yang tidak ditambah dengan antikoagulan, tetapi darah EDTA (dengan perbandingan 1 mg/cc darah) dapat pula dipakai untuk keperluan tersebut asalkan diperhatikan batas waktu penyimpanannya (kurang dari 1 jam). Untuk mempermudah pengamatan sel dan komponennya pada apus darah tepi secara 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

Desain penelitian ini adalah desain penelitian eksperimen laboratorium. Penelitian ini dilakukan di laboratorium STIKES Panrita Husada Bulukumba. Populasi dalam penelitian ini adalah Mahasiswa Stikes Panrita Husada Bulukumba Prodi Analisis Kesehatan. Sampel dalam penelitian ini sebanyak 5 orang. Bahan dan alat penelitian yang digunakan yaitu : timbangan, neraca digital, blender, alat destilasi, labu ukur, gelas kimia, termometer 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.

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 ekstraksi, dekantasi dan destilasi.

1) Ekstraksi

- Dibersihkan kulit manggis disikat halus dibawah air yang mengalir.
- Kering anginkan diruangan hingga kering.
- Kulit manggis yang telah kering dipotong kecil-kecil kemudian ditimbang sebanyak 1 kg menggunakan neraca digital.
- Ditetaskan HCL pekat kedalam botol methanol 1000 mL.
- Tetesan pertama sebanyak 5 tetes, kemudian kertas pH dicelupkan ke dalam methanol yang sudah di tetesi dengan HCL pekat.
- Tetesan kedua, 5 tetes perlakuan sama pada langkah awal.

- Jumlah HCL pekat yang diteteskan sebanyak 30 tetes, sehingga bisa mencapai pH 4.
 - Disiapkan wadah dan masukkan methanol yang telah dicampur HCL pekat.
 - Haluskan kulit manggis dan masukan kedalam wadah berisikan methanol pH 4.
 - Setelah dihaluskan kulit manggis direndam lalu masukkan kedalam jergen kosong dan tutup rapat, diamkan selama 1x24 jam.
- 2) Dekantasi
- Disaring ekstrak antosianin kulit manggis yang telah didiamkan selama 1x24 jam didalam wadah.
 - Diendapkan beberapa menit sehingga terpisah antara larutan dan endapan.
 - Setelah terpisah, pindahkan larutan ekstrak antosianin ubi jalar ungu ke dalam botol menggunakan bantuan statif dan corong.
 - Diberikan label, kemudian di simpan selama 1x24 jam.
- 3) Destilasi
- Siapkan alat dan bahan dan dirangkai alat destilasi
 - Dimasukkan sampel kedalam labu destilasi dan masukkan thermometer hingga mengenai sampel tersebut dengan cara digantung yang digunakan untuk mengatur ketetapan suhu
 - Dinyalakan alat heating mantle sambil diatur suhunya 80°C atau lebih.
 - Proses destilasi berakhir, jika tidak ada lagi pelarut yang menetes dan sampel menjadi kental.
- b) Pengambilan darah vena
- 1) Cuci tangan persiapkan alat dan bahan
 - 2) Jelaskan prosedur kepada pasien dan tujuan pengambilan darah
 - 3) Pilih dan kaji kondisi vena. Pasang pengalasan dibawah area vena yang akan diambil
 - 4) Lakukan pembendungan pada lengan diatas vena anjurkan klien untuk membuka dan menutup tangannya. Bersihkan area penusukan dengan kapas alcohol
 - 5) Buka jarum pegang dengan tangan dominan tusukan jarum dengan sudut 15 – 45° derajat Pertahankan tehnik steril.
 - 6) Bila jarum sudah masuk vena tarik jarum sampai darah mengisi spuit sesuai kebutuhan. Bila menggunakan vakutainer pegang plastik adapter tekan tabung vakum dan biarkan darah masuk sesuai kebutuhan.
 - 7) Lepaskan tournikuet
 - 8) Cabut jarum dari vena secara perlahan dan gunakan kapas alcohol untuk menekan tempat penusukan. Bila darah sudah berhenti keluar, berikan plaster.
 - 9) Tempatkan darah pada tabung yang sesuai jika dibutuhkan berikan label pada tabung.
- c) Prosedur pembuatan sediaan apus darah tepi
- 1) Disiapkn kaca objek yang bersih dan kering
 - 2) Diteteskan sampel darah kira-kira 2 cm dari salah satu pinggirannya kira-kira $\frac{1}{2}$ cm dari tempat menuliskan identitas.
 - 3) Diperhatikan besar tetesan yang ideal untuk apusan yaitu ± 3 cm.

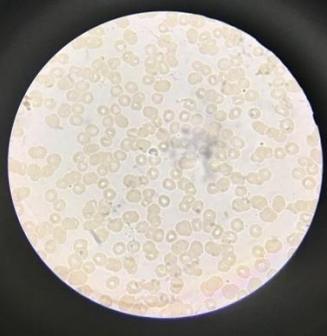
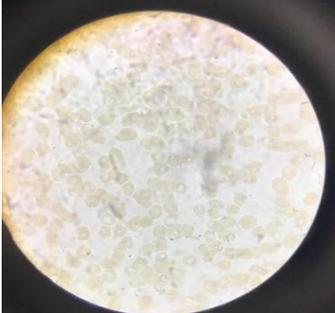
- 4) Terapkan spreader didepan tetesan dengan membentuk sudut 30 – 40° dengan kaca objek, kemudian spreader digeser kebelakang hingga menyentuh tetesan.
 - 5) Tetesan akan melebar disepanjang pinggiran spreader. Segera dorong spreader kedepan.
 - 6) Dorong spreader kedepan dengan cepat dan tekanan yang cukup (dibutuhkan banyak latihan).
- d) Cara pewarnaan sediaan apus darah tepi
- Sediaan apus diwarnai dengan pewarnaan Giemsa dan ekstrak kulit manggis. Sediaan yang telah kering diletakkan diatas bak pewarnaan lalu difiksasi dengan *methanol* selama 5 menit atau sampai kering. Digenangi sediaan dengan zat giemsa atau ekstrak kulit manggis selama 30 menit. Kemudian cuci di air mengalir atau aquadest, diletakkan sediaan dalam sikap vertikal dan biarkan mengering pada udara.
- c. Pasca analitik
- Pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop dengan bantuan oil imersi pada pembesaran lensa 100x.

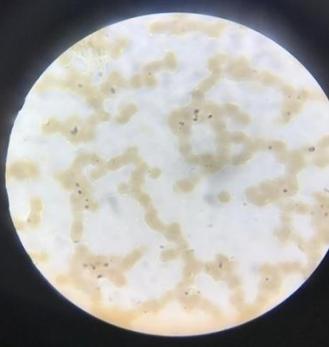
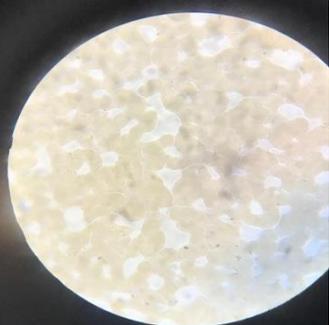
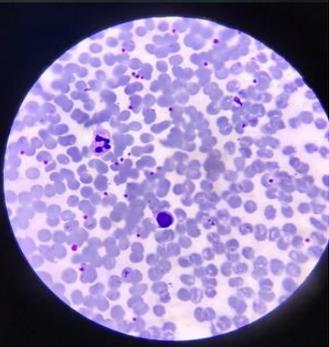
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Stikes Panrita Husada Bulukumba pada tanggal 15 – 25 Agustus 2020 terhadap sampel darah mahasiswa Analis Kesehatan STIKES Panrita Husada Bulukumba terhadap 26 preparat pemeriksaan dalam 5 sampel darah vena EDTA, pengambilan sampel dengan tehnik *Random Sampling* (secara acak). Maka diperoleh hasil pemeriksaan sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Apusan Darah Tepi

konsentrasi	Kode Sampel	Hasil Pengamatan	Keterangan
20 %	A1		
40%	B2		

60%	C3		
80%	D4		
100%	E5		
-	Control		Giemsa

Berdasarkan Tabel 1 diatas menunjukkan gambaran hasil pemeriksaan apusan darah tepi (ADT) berdasarkan tingkat konsentrasi 20%,40%, 60%, 80% dan 100%. Tidak ditemukan gambaran Leukosit pada setiap konsentrasi. Tetapi pada konsentrasi 20% menunjukkan gambaran eritrosit lebih jelas dibanding 40%, 60%, 80% dan 100%.

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan kulit buah manggis sebagai bahan pembuatan pewarna alami untuk sediaan apusan darah tepi (ADT). Antosianin merupakan sekelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar luas pada tanaman, antosianin juga tergolong pigmen yang disebut flavonoid pada umumnya dapat larut dalam air. Salah satu

pelarut yang sering kali digunakan untuk mengekstrak antosianin adalah air (aquades) kombinasi dengan asam. Karena air memiliki konstanta dielektrik yang tinggi dibanding pelarut lainnya (Farida, Rita, 2015). Ekstraksi antosianin dapat dilakukan dengan beberapa jenis pelarut seperti, air, etanol, methanol dan yang paling efektif adalah menggunakan methanol yang diasamkan dengan HCL. Penelitian ini menggunakan methanol sebagai pelarut yang diasamkan dengan HCL 1% dengan pH 4. Pada beberapa penelitian HCL 1% menunjukkan jenis pengasaman paling efektif karena dapat mendenaturasi membran sel tanaman dan melarutkan senyawa antosianin keluar dari sel (Sani, 2019).

Antosianin memiliki sifat hidrofilik yang memudahkannya larut dalam air. Selain bersifat hidrofilik, antosianin juga dapat larut dalam pelarut organik yang bersifat polar seperti etanol, methanol, aseton dan kloroform. Warna yang ditimbulkan oleh antosianin tergantung dari tingkat keasaman (pH) lingkungan sekitar sehingga pigmen ini dapat dijadikan sebagai indikator (pH), merah keunguan (pH 4), ungu (pH 5-6), biru (pH 8), hijau (pH 12), dan kuning (pH 13). Penelitian Gambaran Leukosit pada Mahasiswa Analisis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarna Alami Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak antosianin Kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dapat digunakan sebagai pewarna alami pada ADT serta dapat mengetahui konsentrasi ekstrak antosianin kulit manggis yang paling efektif sebagai pewarna alami pada ADT. Penelitian ini menggunakan kulit manggis dengan pelarut methanol dimana ada 5 jenis variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dengan masing-masing 5 kali pengulangan. Dari sampel darah yang diambil, dibuatkan preparat sebanyak 25 slide dan 1 slide giemsa sebagai kontrol dan difiksasi menggunakan methanol 3-5 menit dengan tujuan untuk merekatkan zat warna pada sediaan. Setelah preparat kering dilakukan pewarnaan ekstrak kulit manggis yang telah diencerkan selama 30 menit lalu dibilas dengan aquadest sampai bersih dan dikeringkan pada suhu ruangan, setelah kering preparat di tetesi oil emersi lalu diamati dibawah mikroskop untuk melihat gambaran leukosit dengan pembesaran pembesaran 100x.

Sel darah putih (Leukosit) adalah sel yang terdapat dalam darah, yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh terhadap benda asing. Biasanya leukosit tidak hanya satu jenis saja, tapi ada 5 jenis leukosit yang terdapat dalam darah normal (Kiswari, 2014). Sel darah putih (Leukosit) merupakan bagian penting dari system pertahanan tubuh yang fungsinya untuk melawan mikro organisme penyebab infeksi, sel tumor, dan zat-zat asing yang berbahaya. terdapat beberapa jenis leukosit yaitu Basofil, Eosinofil, limfosit, Neutrofil batang, Neutrofil segmen, Monosit.

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan 2 pewarnaan yaitu ekstrak kulit manggis dan giemsa sebagai control. 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% yaitu 10 ml ekstrak tanpa penambahan aquadest. Pewarna giemsa merupakan kelompok kontrol dalam penelitian ini. Pewarnaan Wright-Giemsa merupakan modifikasi pewarnaan Romanowsky yang mengandung pewarna kationik atau basa seperti (1) Azure B yang dapat memberikan warna biru-ungu atau biru pada inti sel, nukleoprotein, granula basofil dan granula neutrofil dan (2) pewarna anion atau asam, seperti Eosin Y yang dapat memberikan warna merah atau orange pada eritrosit dan granula eosinofil serta mewarnai inti sel.

Berdasarkan hasil penelitian bahwa pemeriksaan menunjukkan gambaran leukosit tidak terlihat pada semua jenis konsentrasi. Ini dikarenakan antosianin yang terkandung dalam kulit manggis tidak memiliki kandungan azure B yang dapat mengikat atau mengambil warna biru-ungu atau biru pada inti sel, nukleoprotein pada leukosit. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan sediaan darah diantaranya teknik pembuatan sediaan darah (apusan darah tipis yang tidak memiliki bagian ekor akan mempersulit proses

identifikasi), sumber daya manusia (keterampilan dan ketelitian), proses fiksasi yang tidak tepat (menggunakan methanol yang tidak absolut dan tidak langsung difiksasi setelah sediaan kering), pewarnaan yang kurang tepat, Ketelitian yang baik dari peneliti, Keterampilan dalam melakukan pembuatan sediaan darah sangat dibutuhkan oleh peneliti, karena bentuk apusan sediaan darah dapat mempersulit pengamatan hasil pewarnaan.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil gambaran leukosit pada apusan darah tepi (ADT) dengan menggunakan pewarnaan ekstrak antosianin kulit manggis tidak terlihat. Maka dapat di simpulkan bahwa pewarnaan antosianin yang di peroleh dari ekstrak kulit manggis tidak dapat di gunakan sebagai pewarnaan pada apusan darah tepi (ADT) dalam melihat gambaran leukosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2014. *Pembuatan Sediaan Apusan Darah Tepi*. <https://nae010693.wordpress.com/tag/sediaan-apus-darah-tepi/> diakses pada 15 januari 2018
- Ardina, R.rosalinda, Shery. (2018). *Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright dan Kombinasi Wright Giemsa*. *Jurnal Surya Medika Volume 3 No. 2*.
- Bain, B. J. (2016). *Hematologi kurikulum inti*.
- Budiwiyono, imam. *Pembuatan dan interpretasi sediaan apus darah tepi, patologi klinik fakultas kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang, juni 2013*, hal 5-6.
- Endang, S & Farid, S. 2015. Ekstrak Kulit Manggis Bubuk. *Jurnal Teknik Kimia*, 10, 2-3
- Farida, R. Nisa, fitri. C. (2015). *Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode Microwave Assisted Ekstraktion (Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut)*. Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode MAE – Farida, dkk *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 2 p.362-373*.
- Gandasoebarta, R. 2010. *Penuntun Laboratorium Klinik*, Jakarta, Dian Rakyat.
- Guyton, Artuhur. 2012. *Komponen Darah*
- Kiswari, R. 2014. *Hematologi & Transfusi Darah*, Jakarta, Erlangga.
- Muhiddin RA.; Arief, M; Hardjoeno, H. *Tes Anemia, Dalam: Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik, Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin: Makassar, 2012*, hal 35-40.
- Nugraha, G. 2017. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar Edisi 2*, Jakarta, CV. Trans Info Media.
- Riswanto. 2013. *Morfologi Eosinofil pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa*
- Rita, F & Fithri, C. 2015 *Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode Microwave Assisted Extraction (Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut)*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3, 362-363
- Srihari, endang. Lingganingrum, F.S. (2015). *Ekstrak kulit manggis. Jurnal Tehnik kimia Vol.10, No,1, September, 1-7*.
- Susila, S. 2014. *Metodelogi Penelitian Cross Sectional: Kedokteran & Kesehatan*, Klaten, Boss Script.