

PENGARUH WAKTU PENGECATAN MENGGUNAKAN EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan*) TERHADAP WARNA SEL ERITROSIT PADA SEDIAAN APUSAN DARAH TEPI (SADT)

Andri Sukeksi¹Joko Teguh Isworo², Devi Alvionita Tamara Putri³,

^{1,2,3} DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding author : andri@unimus.ac.id

Abstrak

Pemeriksaan sediaan apusan darah tepi merupakan pemeriksaan yang bertujuan menilai berbagai unsur sel darah salah satunya yaitu sel darah merah (eritrosit) dan mempermudah pengamatan berbagai jenis sel serta mengevaluasi pengamatan morfologi sel darah. Pemeriksaan mikroskopik menggunakan giemsa terdiri dari eosin dan methylene blue. Tetapi pewarna sintetik giemsa memiliki harga yang mahal, bersifat karsinogenik dan sulit terurai dalam tanah dan air. Sumber daya alam yang banyak di Indonesia yang dapat dimanfaatkan salah satunya tumbuhan kayu secang (*Caesalpinia sappan*) yang memiliki kandungan zat brazilin berwarna merah. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi ethanol 96%. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu secang sebagai pewarna alternatif dalam pewarnaan sel darah merah (eritrosit) pada sediaan apusan darah tepi. Penelitian menggunakan desain eksperimental dengan variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit. Hasil penelitian menunjukkan terdapat hasil antar perlakuan dengan pewarna giemsa sebagai *goal standart*. Berdasarkan uji setiap waktu pengecatan kualitas hasil pewarnaan yang dapat digunakan sebagai alternatif pewarnaan sel darah merah pada sediaan apusan darah tepi adalah waktu 20 menit.

Kata kunci : Kayu secang, Brazilin, Apusan darah

Abstract

*Examination of blood preparations is an examination that aims to assess various blood cells, one of which is red blood cells (erythrocytes) and observations of various types of cells as well as observations of blood cell morphology. Microscopic examination using Giemsa consists of eosin and methylene blue. But Giemsa synthetic dyes are expensive, carcinogenic and difficult to decompose in soil and water. There are many natural resources in Indonesia that can be utilized, one of which is the secang wood (*Caesalpinia sappan*) which contains red brazilin. The extraction method used is 96% ethanol maceration. The purpose of the study was to determine the effect of sappan wood extract as an alternative stain for staining red blood cells (erythrocytes) in peripheral blood smear preparations. The study used an experimental design with variations in painting time of 15 minutes and 20 minutes. The results showed that there were differences between treatments with Giemsa dye as the goal standard. Based on the test each time, the quality of the staining results that can be used as an alternative to staining red blood cells on a peripheral blood smear is 20 minutes.*

Key words : Secang wood, Brazilin, Blood smear

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pemeriksaan apusan darah tepi mampu menilai berbagai unsur sel darah tepi seperti morfologi sel (eritrosit, leukosit, trombosit), menentukan jumlah dan jenis leukosit, mengestimasi jumlah trombosit, dapat mengidentifikasi adanya parasit dalam sel darah (Riswanto,2013). *International Council for Strandardization in*

Haematologi (ICSH) menyarankan metode pewarnaan Romanowsky karena mampu memberikan hasil memuaskan pada apusan darah tepi (Bain, 2014).

Larutan pewarna yang biasa digunakan adalah Larutan giemsa terdapat kandungan methylene blue, eosin, dan methylene azure yang menyebabkan hasil dari ketahanan zat warna tersebut terlihat lebih baik. Kandungan eosin pada giemsa memiliki senyawa bersifat karsinogenik IARC kelas-3 yang dapat didefinisikan sebagai bahan kimia penyebab kanker (Zakia, 2020 ; Jupri 2019). Di Indonesia terdapat tumbuh-tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pewarna alami. Zat warna alami (Anonymous, 2008). Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pewarna alami pengecatan sel eritrosit pada SADT yaitu kayu secang (*Caesalpinia sappan*). Kandungan kimia dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan*) yaitu asam galat, tanin, resin, resorsin, brazilin, dan minyak atsiri. Pemanfaatan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) yang memiliki kandungan zat senyawa pigmen yaitu brazilin dengan pH 2-5 akan menghasilkan warna kuning kemerahan sehingga mampu mewarnai sel darah merah (eritrosit). Sel darah merah (eritrosit) pada pH asam akan terwarnai yang dapat bereaksi dengan larutan asam (Novia, 2020).

ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) murni yang bersifat asam, diharapkan mampu mewarnai dalam pengecatan sel eritrosit dengan variasi waktu sebagai pewarnaan alternatif alami. Pewarnaan alami dari ekstrak kayu secang murni dapat mengurangi penggunaan bahan kimia yang mencemari lingkungan dan bersifat karsinogenik.

Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian yaitu mengetahui pengaruh waktu pengecatan menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) sebagai pewarnaan alternatif alami dalam sel eritrosit pada sediaan apusan darah tepi (SADT)

Ulasan Pendekatan

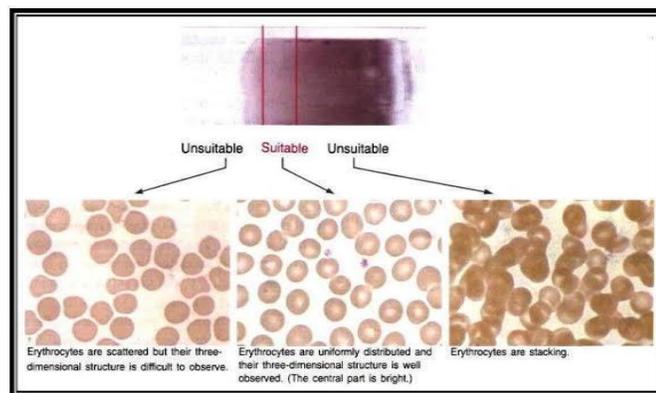
a. Melakukan pemeriksaan Sediaan Apusan Darah Tepi

Apusan darah tepi dapat mengetahui morfologi darah yang normal dan abnormal, menentukan jenis sel darah, mengestimasi jumlah trombosit dan mencari parasit didalam darah (WHO, 2011). Dalam pembuatan apusan darah diperlukan pencampuran yang sempurna antara darah dengan antikoagulan (Arif M., 2015).

Morfologi preparat sediaan apusan darah tepi dibagi menjadi enam zona berdasarkan distribusi eritrosit. Zona I disebut zona irreguller (tidak teratur, berdesakan, 3%), zona II (tipis tidak rata, berdesakan, 14%), zona III (tebal, bergerombol, rouleux, 45%), zona IV (sama zona II, tipis, 18%), zona V (even zona, tidak berdesakan, tidak bertumpukan, regular, rata, bentuk utuh, 11%) dan zona VI

(sangat tipis, lebih longgar dan jarang 9%). Preparat dengan kriteria yang baik pada pembacaan sediaan apusan darah tepi memilih bagian yang dipakai (zona dimana eritrosit tersebar rata). Pembacaan sediaan apusan darah tepi dilakukan pada zona baca IV sampai VI, karena memiliki distribusi sebaran sel yang hampir sama rata (Santosa B, 2010). Diperlukan latihan terus menerus agar mendapatkan hasil apusan darah yang baik. Kecepatan dalam menggeser apusan sangat diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang maksimal (Kiswari., 2011).

Gambar 1 Ciri sediaan apus darah yang baik (Sumber: Arif M, 2015)



b. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi

Pewarnaan Giemsa dapat digunakan untuk membedakan inti sel dan morfologi sitoplasma dari sel darah merah, sel darah putih, trombosit dan parasit yang ada didalam darah. Giemsa yang memiliki kombinasi zat warna dapat bersifat polikromatik yang dapat menghasilkan beberapa warna terhadap SADT (Nugraha G, 2015).

c. Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Gambar 2. Serpihan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) (Sumber : Direktorat Obat Asli Indonesia, 2008)



Bagian kayu secang yang sering dipakai merupakan serutan dari potongan kayu. Kandungan kayu secang terdapat brazilin, sappanchalcone, caesalpin J, caesalpin P, protosappanin A, protosappanin B, homoisoflavonoid β -sitosterol, monohidroksibrazilin, benzil dihidrobenzofuran. Selain itu juga mengandung sappanol, episappanol, 3-deoksisappanol, 3-O-metilsappanol, 3-O-metilepisappanol, 3-O-metilbrazilin, 4-O-metilepisappanol, sappanon β , 3-deoksisappanon β , dibenzoksozin, 10-O-metilsappanon β , dll (Pawar et al., 2008). Kayu secang dapat dimanfaatkan karena mengandung pigmen brazilin yang berwarna merah.

d. Pigmen Senyawa Brazilin

Komponen utama yang diisolasi dari tanaman kayu secang (*Caesalpinia sappan*) yaitu hasil oksidasi dari brazilin yang berwarna kuning disebut brazilin yang berwarna merah. Brazilin kristal yang berwarna kuning akan teroksidasi yang menghasilkan brazilien berwarna merah dan dapat larut dalam air (Ye Min al., 2006). Sulfur yang berwarna kuning dalam brazilin berbentuk murni, kristal, dan dapat larut dalam air. Brazilien yang terekstrak dapat menghasilkan jumlah yang banyak selama ekstraksi maupun penyimpanan brazilin. Brazilin dapat mengoksidasi gugus hidroksil dari brazilin menjadi gugus karbonil pada paparan udara dan cahaya (Oliveira et al., 2002).

Perubahan brazilin dibandingkan menjadi warna merah karena adanya peningkatan delokalisasi dari gugus karbonil. Struktur brazilin atom dengan posisi C6a, atom oksigen pirone yang mempunyai sp^3 hibrid dan bagian molekul tersebut tidak planar yang mempunyai andil dalam delokalisasi elektron. Brazilin juga mempunyai sp^3 karbon pada atom C9 yang mempunyai sifat tidak planar dibagian molekul. Senyawa brazilin dan brazilin memiliki perbedaan struktur pada warna (Oliviera et al., 2002).

e. Ekstraksi

Ekstraksi digunakan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia pada pelarut. Ekstraksi yang sederhana tidak melibatkan suhu yang tinggi. Ekstraksi dengan cara dingin dapat dilakukan dengan jenis maserasi, perlokasi dan sokletasi. Adapun jenis ekstraksi yang digunakan untuk memisahkan kandungan senyawa brazilin pada kayu secang menggunakan maserasi yang mengandung pelarut asam.

Metode maserasi dapat dilakukan dengan merendam sampel dalam jangka waktu tertentu. Dilakukan selama 24jam tanpa menggunakan pemanasan. Keuntungan dari maserasi dapat menggunakan peralatan yang sederhana dan relatif murah, (Agung, 2011).

Kayu secang dapat dimanfaatkan karena mengandung pigmen brazilin yang berwarna merah. Warna merah dari kayu secang diharapkan bisa sebagai pengganti larutan giemsa.

METODE

- Jenis Penelitian: Eksperimen. Dilakukan dengan cara merancang, membuat formulasi, dan mengevaluasi pada sediaan.
- Tempat dan Waktu Penelitian : Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2022.
- Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah pemanfaatan brazilin pada ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) sebagai pewarnaan alternatif alami sel darah merah (eritrosit) dan variabel terikat adalah sediaan apusan darah tepi yang diberi pewarnaan alami dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

- Hasil secara diskriptif

Tabel 1. distribusi secara **makroskopis** hasil pewarnaan SADT menggunakan giemsa dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) dengan variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.

Perlakuan	Perbandingan		
	pengenceran aquadest	Baik	Kurang baik
Giemsa 15 menit	1:9	(16) 100%	-
Giemsa 20 menit	1:9	(16) 100%	-
Ekstrak kayu secang 15 menit	1:1	(11)68,75%	(5) 31,2%
Ekstrak kayu secang 20 menit	1:1	(14) 87,5%	(2) 12,5%

Tabel 1. Hasil dari pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dan ekstrak kayu secang hasilnya secara makros lebih bagus yang menggunakan giemsa karena semua hasilnya bain, ekstrak kayu manis dengan waktu 20 menit lebih bagus dibandingkan waktu 15 menit.

Tabel 2 distribusi secara **mikroskopis** hasil pewarnaan sel darah merah pada SADT menggunakan giemsa dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinnia sappan*) dengan variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.

Perlakuan	Perbandingan		
	pengencer aquadest	Baik	Kurang baik
Giemsa 15 menit	1:9	(16) 100%	-
Giemsa 20 menit	1:9	(16) 100%	-
Ekstrak kayu secang 15 menit	1:1	(10) 62,5%	(6) 37,5%
Ekstrak kayu secang 20 menit	1:1	(15) 93,75 %	(1) 6,25%

Tabel 2 Hasil dari pewarnaan sel darah merah (eritrosit) pada SADT menggunakan pewarnaan Giemsa perbandingan pengencer aquadest 1:9 waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit sel eritrosit pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dengan kategori baik. Pewarnaan ekstrak kayu secang (*Caesalpinnia sappan*) perbandingan pengencer aquadest 1:1 dengan variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit didapatkan hasil baik pada pengecatan 20 menit dengan prosentase baik 93,75%.. Hasil pengecatan pada waktu 15 menit didapatkan 62,5%.

Keterangan standard penilaian :

Baik (80% - 100%) = Intensitas warna eritrosit kuat dengan sentral polar, memiliki bentuk bikonkaf, dan berlatarbelakang kontras.

Kurang baik (60% - 100%) = Intensitas warna eritrosit lemah dengan sentral polar, bentuk bikonkaf, dan latar belakang kurang kontras.

b. Hasil secara diskriptif

Hasil tersebut dilakukan uji statistika dengan menggunakan uji uji non-parametrik Chisquare untuk mengetahui adakah hubungan signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil non-parametrik Chisquare, maka diketahui bahwa diatas nilai sig secara makroskopis sebesar 0.280 dan secara mikroskopis sebesar 0.072 p value > 0.05 sehingga disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh perbedaan pengenceran aquadest kayu secang 1:1 dengan perlakuan waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.

KESIMPULAN

1. Pewarnaan secara makroskopis pada sediaan apusan darah tepi (SADT) ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan variasi perbandingan waktu 15 menit didapatkan hasil (11)68,75% baik dan (5) 31,2% kurang baik, sedangkan waktu 20 menit didapatkan hasil (14) 87,5% baik dan (2) 12,5% kurang baik.
2. Pewarnaan secara mikroskopis pada sediaan apusan darah tepi (SADT) ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan variasi perbandingan waktu 15 menit didapatkan hasil (10) 62,5% baik dan (6) 37,5% kurang baik, sedangkan waktu 20 menit didapatkan hasil (15)93,75 % baik dan (1) 6,25% kurang baik.
3. Tidak Terdapat pengaruh perbedaan secara makroskopis pada sediaan apusan darah tepi (SADT) menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.
4. Tidak terdapat pengaruh perbedaan pewarnaan secara mikroskopis sel darah merah pada sediaan apusan darah tepi (SADT) menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, S.S., 2016. Gambaran Hitung Jenis Leukosit Dengan Pewarnaan Kombinasi Giemsa dan Wright Di Laboratorium STIKes Muhammadiyah Ciamis. Anal. Kesehat.1.
- Ardina, R., Rosalinda, S., 2018. Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, dan Kombinasi Wright-Giemsa. J. Surya Med. 3, 5–12. <https://doi.org/10.33084/jsm.v3i2.91>
- Arif, M., 2015. Penuntun Praktikum Hematologi. Fakultas Kedokteran UNHAS Makassar.
- Ayomi, M.R., 2019. Analisis Sensitivitas dan Spesifitas Pemeriksaan Mikroskopik Malaria Berdasarkan Sediaan Darah Tipis dan Sediaan Darah Tebal di Rumah Sakit Sele Be Solu Kota Sorong, Papua Barat.
- Bahri, S., Jalaluddin, J., Rosnita, R., 2018. Pembuatan Zat warna alami dari kulit batang jambang (*Syzygium cumini*) Sebagai vahan dasar pewarna Tekstil. J. Teknol. Kim. Unimal 6, 10. <https://doi.org/10.29103/jtku.v6i1.465>
- Bain, B.J., 2014. Blood cells: a practical guide. John Wiley & Sons.
- Freund, M. H. 2012. Atlas Hematologi : Praktikum Hematologi dengan Mikroskop, Edisi 11. Kedokteran EGC, Jakarta.
- Gandasoebrata, R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat, Jakarta.

- McKenzie, S.B. 2014. *Clinical Laboratory Hematology*. Pearson Education Inc, New Jersey.
- Nugraha, G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Trans Info Media. Jakarta.
- Nugraheni, T. N. 2020. Gambaran Sediaan Apus Darah Tepi Menggunakan Pemanfaatan Brazilin Pada Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Dengan Penambahan Methylene Blue .
- Piaton. 2016. Guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining in haematology and non-gynaecological cytopathology. the French Society of Clinical Cytology (SFCC) and of the French Association for Quality Assurance in Anatomic and Cytologic Pathology (AFAQA)
- Primasari, N., 2018. Gambaran Morfologi Sel Eosinofil dan Limfosit pada Sediaan Apusan Darah Tipis dalam Pewarnaan Giemsa yang Diencerkan Menggunakan NaCl Fisiologis dan Aquadest.
- Putri, Z.R., 2020. Modifikasi Ekstrak Daun Jati Muda (*Tectona grandis*) Dengan Methylene blue sebagai Pewarna Alternatif pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT).
- Rinny Ardina, S. R. (2018). Morfologi Eosinofil Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarnaan Giemsa, Wright, Dan Kombinasi Wright-Giemsa . *Jurnal Surya Medika* , 6 Volume 3 No.2 .
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Alfabedia dan Kanal Medika, Yogyakarta.
- Rosdarni, Haju, L., Mustakim, 2020. Pengaruh Variasi Waktu Pewarnaan Ekstrak Metanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) sebagai Pewarna Alternatif Preparat Tumor Mamae 4, 39–43.
- Santosa, B., 2010. Differential Counting berdasarkan Zona Baca Atas dan Bawah pada Preparat Darah Apus. *Keperawatan dan Kesehat.* 1, 56–59.
- Sari dan Suhartati, R., Sari, R., Suhartati Balai Litbang Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar Jl Perintis Kemerdekaan Km, dan, Selatan, S., pos, K., 2010. Secang (*Caesalpinia sappan* L.) : Tumbuhan Herbal Kaya Antioksidan 57–68.