

# Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Metode Giemsa Menggunakan Alternatif Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral

Monika Yati, Ahmad Muhlisin, Akhmad Muntaha, Erfan Roebiakto

Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

E-mail: yatimonika2@gmail.com

## Abstrak

Pewarna Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 adalah pewarnaan sediaan apusan darah dengan harga yang relatif mahal sehingga digunakan alternatif pewarna buah naga dan pengencer air mineral karena lebih aman dan ekonomis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kualitas pewarnaan sediaan apusan darah menggunakan alternatif pewarna buah naga pengencer air mineral. Jenis penelitian adalah observasional laboratorium. Hasil pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat (A), pewarna buah naga pengencer buffer fosfat (B), pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E dan F mempunyai kualitas pewarnaan yang baik berturut-turut sebesar 100%, 100%, 100%, 93%, 100%, 97%. Berdasarkan uji *Mann-Whitney* tidak ada perbedaan kualitas pewarnaan A dengan B sig p = 1,000 dan tidak ada perbedaan kualitas pewarnaan A dengan C, D, E, F sig p = 1,000 menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Disimpulkan bahwa pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek dapat digunakan sebagai alternatif pewarna Giemsa dan pengencer buffer fosfat pH 6,8. Saran untuk tenaga ATLM dapat menggunakan alternatif pewarna buah naga dan pengencer air mineral yang memiliki pH mendekati buffer fosfat pH 6,8 apabila ketersediaan Giemsa dan buffer tidak ada.

**Kata Kunci:** air mineral; buah naga; sediaan apusan darah

## Abstract

Giemsa stain phosphate buffer diluent pH 6.8 is a blood smear stain that is relatively expensive, so it is used as an alternative to dragon fruit stain and mineral water diluent because it is safer and more economical. This research aimed to determine the quality of staining blood smears using an alternative dragon fruit stain as a mineral water diluent. The type of research is laboratory observational. The results of Giemsa staining with phosphate buffer diluent (A), dragon fruit stain with phosphate buffer diluent (B), dragon fruit stain with branded mineral water diluent C, D, E and F have good colouring quality of 100%, 100%, 100 respectively. %, 93%, 100%, 97%. Based on the Mann-Whitney test, there is no difference in the quality of staining between A and B sig p = 1,000 and there is no difference in the quality of staining between A and C, D, E, F, sig p = 1,000 using the Kruskal-Wallis test. It was concluded that branded mineral water diluent dragon fruit stain can be used as an alternative to Giemsa stain and pH 6.8 phosphate buffer diluent. Suggestions for ATLM personnel can be to use alternative dragon fruit stain and mineral water diluents which have a pH close to phosphate buffer pH 6.8 if Giemsa and buffers are not available.

**Keywords:** blood smear; dragon fruit; mineral water

## A. PENDAHULUAN

Darah merupakan cairan tubuh yang sangat vital untuk kelangsungan hidup manusia. Darah di dalam tubuh bersirkulasi pada jantung serta pembuluh darah<sup>1</sup>. Dalam proses fisiologis tubuh darah berperan penting sebagai cairan yang membawa nutrisi ke seluruh bagian tubuh dan mengembalikan hasil metabolisme tersebut untuk dilakukan proses ekskresi<sup>2</sup>. Darah terdiri dari 45% komponen seluler yaitu sel eritrosit, leukosit dan

---

<sup>1</sup> Novi Khila Firani, *Mengenal Sel-Sel Darah Dan Kelainan Darah* (Malang: Universitas Brawijaya Press, 2018).

<sup>2</sup> Linda Rosita, Abrory Agus Cahya, and Fathiya Rahma Arfira, *Hematologi Dasar* (Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, 2019).

trombosit serta komponen non-seluler berupa cairan disebut sebagai plasma yang membentuk 55% bagian darah<sup>3</sup>.

Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang menggunakan sampel darah untuk mengetahui jumlah, kualitas maupun morfologi darah yang berguna dalam menegakkan diagnosis, menetapkan pengobatan, memantau kemajuan pengobatan dan menilai perkembangan suatu penyakit<sup>4</sup>. Pemeriksaan hematologi terdiri dari hematologi rutin dan hematologi lengkap. Salah satu pemeriksaan hematologi lengkap adalah hitung jumlah sel darah dan hitung jenis leukosit menggunakan sediaan apusan darah<sup>5</sup>.

Sediaan apusan darah tepi (SADT) merupakan pemeriksaan mikroskopis yang bertujuan mengamati morfologi sel darah atau komponen lain yang memberikan informasi penting terhadap status hematologi seseorang. Menurut jenisnya sediaan apusan darah tepi dibagi menjadi apusan darah tebal dan apusan darah tipis. Sediaan apusan darah tipis merupakan apusan yang sering digunakan di laboratorium hematologi untuk penilaian morfologi sel darah yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit<sup>6</sup>. Dalam melakukan pemeriksaan sediaan apusan darah tepi secara tepat diperlukan pewarnaan untuk mempermudah pengamatan sel-sel darah. Pewarnaan Romanowsky merupakan teknik pewarnaan yang umum digunakan untuk apusan darah tepi karena memberikan hasil yang memuaskan<sup>7</sup>. Salah satu pewarnaan sediaan apusan darah tepi yang direkomendasikan oleh *The International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) adalah Giemsa<sup>8</sup>.

Pewarnaan Giemsa adalah pewarnaan sediaan apusan darah tepi modifikasi Romanowsky yang sering digunakan di Indonesia karena memberikan hasil pewarnaan lebih jelas dan memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap iklim tropis<sup>9</sup>. Kekurangan dari pewarnaan Giemsa yaitu bersifat mudah terbakar, toksik dan sulit terurai. Apabila digunakan secara terus menerus dapat menimbulkan iritasi jika tertelan dan terhirup atau terpapar

---

<sup>3</sup> Gilang Nugraha, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*, 2nd ed. (Jakarta: Trans Info Media, 2017).

<sup>4</sup> Rosita, Cahya, and Arfira, *Hematologi Dasar*.

<sup>5</sup> Nugraha, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*.

<sup>6</sup> Nugraha.

<sup>7</sup> Rukman Kiswari, *Hematologi & Transfusi* (Jakarta: Erlangga, 2014).

<sup>8</sup> Barbara J. Bain, *Blood Cells A Practical Guide*, 5th ed. (London: Gower Medical, 2015).

<sup>9</sup> Nugraha, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*.

kulit secara langsung<sup>10</sup>. Selain itu, pewarna Giemsa memiliki harga relatif mahal dan terkadang persediaannya habis atau bahkan sudah kadaluwarsa.

Untuk menghindari hal tersebut maka diperlukan pewarna alternatif pengganti Giemsa yang lebih aman, ekonomis, mudah didapatkan dan ramah lingkungan (*eco-friendly*). Pewarna alami yang lebih aman dapat diperoleh dari buah, bunga, daun, dan batang tanaman yang mengandung pigmen antosianin<sup>11</sup>. Pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang memiliki daging buah yang berwarna merah keunguan dan kulitnya yang berwarna merah mengandung antosianin yang cukup tinggi<sup>12</sup>. Antosianin adalah zat warna merah hingga biru dalam bunga, daun, dan buah pada tanaman yang dapat digunakan sebagai pewarna alami untuk dijadikan alternatif pewarna yang tidak berbahaya bagi kesehatan<sup>13</sup>.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Luspianasari<sup>14</sup> didapatkan kualitas sediaan yang baik pada morfologi sel eritrosit, sel leukosit dan sel trombosit sebesar 83% menggunakan buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna alternatif pengganti pewarnaan Giemsa. Penelitian lain dilakukan oleh Fitriani<sup>15</sup> yang menunjukkan buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai bahan alternatif pengganti pewarna Wright-stain memberikan 83% hasil yang baik terhadap kualitas sediaan apusan darah tepi untuk morfologi sel eritrosit, sel leukosit dan sel trombosit.

Pada prosedur pewarnaan sediaan apusan darah tipis menggunakan pewarna buah naga perlu dilakukan pengenceran menggunakan larutan buffer fosfat sebagaimana prosedur pewarnaan Giemsa. Larutan buffer memiliki harga yang relatif mahal dan terkadang persediaan bahan di laboratorium terbatas sehingga digunakan larutan pengencer lain dengan harga terjangkau dan mudah didapatkan seperti air mineral bermerek. Menurut Nugraha dan Badrawi<sup>16</sup> buffer fosfat dapat diganti dengan larutan pengencer lain asalkan

---

<sup>10</sup> Islawati, Asriyani Ridwan, and Rahmat Aryandi, "Ekstrak Betasianin Dari Umbi Bit (*Beta Vulgaris*) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi," *Jurnal Kesehatan Panrita Husada* 6, no. 2 (2021): 152–60.

<sup>11</sup> Elfi Anis Saati et al., *Pigmen Sebagai Zat Pewarna Dan Antioksidan Alami Identifikasi Pigmen Bunga, Pembuatan Produknya Serta Penggunaannya* (Malang: UMM Press, 2019).

<sup>12</sup> Melainia Priska et al., "Antosianin Dan Pemanfaatannya," *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)* 6, no. 2 (2018): 79–97.

<sup>13</sup> Lydia Ninan Lestario, *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya Dalam Kesehatan, Dan Prospeknya Sebagai Pewarna Makanan* (Yogyakarta: UGM Press, 2017).

<sup>14</sup> Witta Luspianasari, "Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Bahan Alternatif Alami Pewarna Giemsa Pada Sediaan Apusan Darah Tepi." (Poltekkes Kemenkes Banjarmasin, 2022).

<sup>15</sup> Annisa Fitriani, "Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Bahan Alternatif Alami Pewarna Wright-Stain Pada Sediaan Apusan Darah Tepi" (Poltekkes Kemenkes Banjarmasin, 2022).

<sup>16</sup> Gilang Nugraha and Imaduddin Badrawi, *Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik* (Jakarta: Trans Info Media, 2018).

memiliki pH yang sesuai dengan larutan penyangga. Ketepatan *Power of Hydrogen* (pH) buffer sebagai larutan pengencer sediaan apusan darah berkisar antara 6,8 - 7,2<sup>17</sup>.

Menurut Standar Nasional Indonesia 3553:2015 menyebutkan syarat mutu air mineral memiliki pH berkisar antara 6,0 hingga 8,5<sup>18</sup>. Air Mineral adalah air minum dalam kemasan yang mengandung sejumlah mineral tanpa penambahan mineral dengan atau tanpa penambahan oksigen (O<sub>2</sub>) dan karbondioksida (CO<sub>2</sub>)<sup>19</sup>.

Penelitian sebelumnya tentang pemanfaatan larutan buffer alternatif untuk sediaan apusan darah menunjukkan hasil pewarnaan apusan darah pada morfologi sel eritrosit dan leukosit metode Giemsa, Wright stain dan Romanowsky menggunakan pengencer alternatif air mineral B, C, D, E dan F memiliki hasil 62,67%, 92,00%, 82,67%, 80,00% dan 68,00 % dibandingkan dengan pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A). Pada pengencer C,D,E dapat digunakan sebagai pengencer alternatif metode Giemsa, Wright stain dan Romanowsky sedangkan pengencer B dan F tidak dapat digunakan<sup>20</sup>.

Berdasarkan uraian tersebut diketahui bahwa antosianin pada buah naga dapat digunakan sebagai alternatif pewarna dan air mineral dapat digunakan sebagai pengencer alternatif buffer fosfat pH 6,8 sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas pewarnaan sediaan apusan darah metode Giemsa menggunakan alternatif pewarna buah naga dan pengencer air mineral.

## **B. METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional laboratorium. Rancangan penelitian dalam penelitian ini adalah *comparative study* yaitu membandingkan kualitas pewarnaan sediaan apusan darah tipis pada morfologi sel eritrosit, leukosit dan trombosit yang diwarnai menggunakan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek dan pewarna Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8. Sampel yang digunakan yaitu darah vena antikoagulan EDTA dengan 6 perlakuan dan 5 pengulangan sehingga besar sampel adalah 30 slide

---

<sup>17</sup> R. Gandasoebrata, *Penuntun Laboratorium Klinik* (Jakarta: Dian Rakyat, 2018).

<sup>18</sup> Badan Standardisasi Nasional, "SNI 3553:2015 : Air Mineral," *Badan Standardisasi Nasional* (Jakarta: Dewan Standardisasi Indonesia, 2015).

<sup>19</sup> Kementerian Perindustrian RI, "Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 78/M-IND/PER/11/2016 Tentang Pemberlakuan Standar Nasional Indonesia Air Mineral, Air Demineral, Air Mineral Alami, Dan Air Minum Embun Secara Wajib" (Jakarta: Kementerian Perindustrian RI, 2016).

<sup>20</sup> Neni Oktiyani et al., "Utilization of Alternative Buffer Solutions for Staining Thin Blood Smears by the Giemsa, Wright Stain and Romanowsky Method," *Tropical Health and Medical Research* 5, no. 1 (2022): 34–45.

sediaan apusan darah tipis. Bahan penelitian adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), air mineral bermerek, buffer fosfat pH 6,8, *Giemsa stock*, *methylene blue*, metanol absolut, HCl 1%, gliserin, oil imersi.

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pembuatan ekstrak buah naga metode maserasi, pembuatan larutan induk buah naga, pembuatan sediaan apusan darah tipis, pewarnaan dan pemeriksaan mikroskopis sediaan apusan darah dengan perbesaran 1000× menggunakan minyak imersi. Pembuatan ekstrak buah naga dimulai dengan menimbang 100 gram daging buah naga kemudian dihaluskan menggunakan blender. Buah naga yang sudah dihaluskan direndam dalam pelarut metanol sebanyak 200 ml yang diasamkan dengan 2 ml HCl 1% selama 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan waterbath pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan larutan induk buah naga dilakukan dengan mencampur 3,0 ekstrak kental pewarna buah naga dan 0,8 metilen biru dengan metanol sebanyak 250 ml serta 250 ml gliserol sambil diaduk dengan batang pengaduk. Larutan induk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap dan ditutup rapat kemudian dilakukan pengocokan. Sebelum digunakan larutan induk disaring menggunakan kertas saring sesuai volume yang dibutuhkan.

Prosedur pembuatan sediaan apusan darah yaitu darah diambil sebanyak 10 ul menggunakan mikropipet kemudian diletakkan di ujung kaca objek. Disiapkan kaca penghapus dan diletakkan disebelah kiri tetesan darah dengan sudut 30 – 45 ° kemudian digeser ke kanan hingga menyentuh tetesan darah. Dengan cepat kaca penghapus digeserkan ke arah kiri dan darah harus habis sebelum mencapai ujung kaca objek.

Sebelum dilakukan pewarnaan, dibuat larutan pewarna konsentrasi 20% dengan perbandingan 1 : 4 yaitu 1 bagian pewarna dengan 4 bagian pengencer. Pewarnaan dilakukan dengan meletakkan sediaan apusan darah yang sudah kering di atas rak pewarnaan kemudian fiksasi menggunakan metanol, diamkan selama 5 menit dan kelebihan metanol dibuang. Teteskan larutan pewarna hingga menggenangi permukaan sediaan apusan darah dan diamkan selama 15 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara.

Analisa data dilakukan berdasarkan 6 kriteria yaitu sel eritrosit, neutrofil, eosinofil, limfosit, monosit dan trombosit menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*. Penelitian ini telah lolos uji etik yang diterbitkan oleh Komisi

Etik Penelitian Kesehatan RSD Idaman Kota Banjarbaru dengan No. RS00121/KEPK-RSDI/03/2023.

### C. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 1. Pengukuran pH Pewarna dan Pengencer

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH Pewarna dan Pengencer Menggunakan pH Meter

No	Pewarna dan Pengencer	pH	Fungsi
1.	Ekstrak buah naga	4,90	Pewarna alternatif
2.	Eosin dalam Giemsa	5,00	Pewarna kontrol
3.	Buffer fosfat	6,80	Pengencer kontrol
4.	Air mineral bermerek C	6,82	Pengencer alternatif
5.	Air mineral bermerek D	7,04	Pengencer alternatif
6.	Air mineral bermerek E	6,91	Pengencer alternatif
7.	Air mineral bermerek F	7,02	Pengencer alternatif

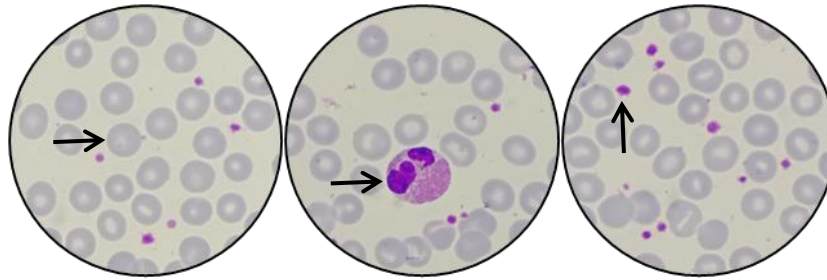
#### 2. Persentase Hasil Pemeriksaan Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah

Tabel 2. Persentase Hasil Pemeriksaan Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah

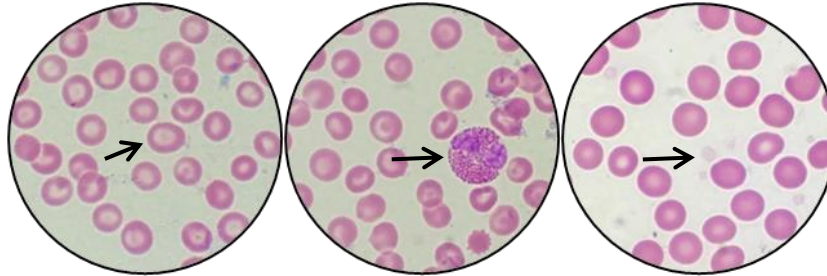
Pewarna dan Pengencer	Pengulangan					Persentase
	1	2	3	4	5	
A Giemsa dan Buffer Fosfat pH 6,8	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	100%
B Buah Naga dan Buffer Fosfat pH 6,8	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	100%
C Buah Naga dan Air Mineral Bermerek c	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	100%
D Buah Naga dan Air Mineral Bermerek d	5/6 Baik	5/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	93%
E Buah Naga dan Air Mineral Bermerek e	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	100%
F Buah Naga dan Air Mineral Bermerek f	6/6 Baik	6/6 Baik	6/6 Baik	5/6 Baik	6/6 Baik	97%

#### 3. Gambar Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Secara Mikroskopis

Kualitas pewarnaan sediaan apusan darah tipis menggunakan pewarna buah naga pengencer buffer fosfat dan pewarna buah naga pengencer air mineral sesuai dengan pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (kontrol) yaitu eritrosit berwarna merah muda, inti leukosit berwarna ungu, sitoplasma neutrofil dan eosinofil berwarna merah, sitoplasma monosit dan limfosit berwarna merah kebiruan, granula eosinofil berwarna merah dan sel trombosit berwarna ungu kemerahan.



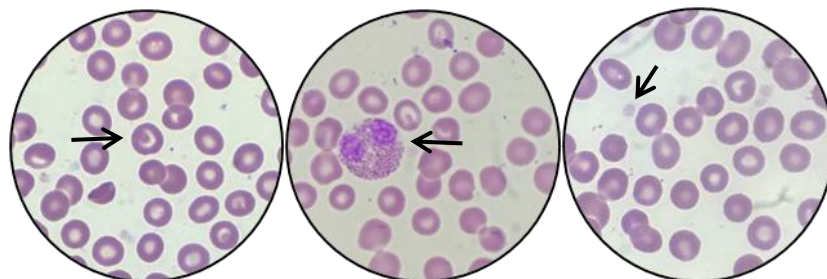
Gambar 1. Pewarna Giemsa Pengencer Buffer Fosfat pH 6,8 (A)  
Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)



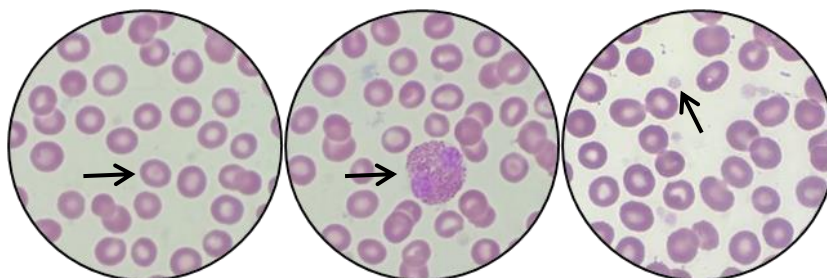
Gambar 2. Pewarna Buah Naga Pengencer Buffer Fosfat pH 6,8 (B)  
Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)



Gambar 3. Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral Bermerek C  
Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)

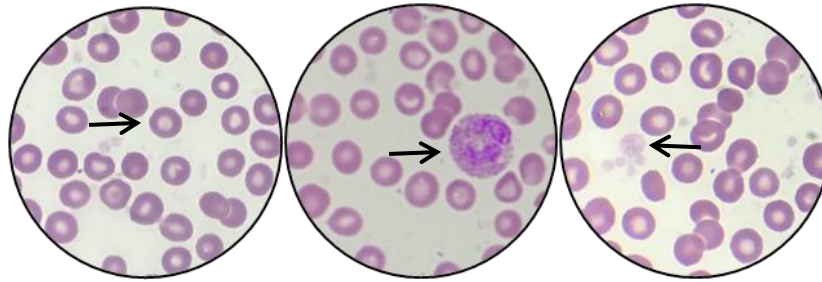


Gambar 4. Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral Bermerek D  
Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)



Gambar 5. Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral Bermerek E

Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)



Gambar 6. Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral Bermerek F  
Sel Eritrosit (Kiri), Sel Leukosit (Tengah) dan Sel Trombosit (Kanan)

Berdasarkan tabel 2, didapatkan persentase kualitas pewarnaan sediaan apusan darah morfologi sel eritrosit, sel leukosit dan sel trombosit yang diwarnai menggunakan pewarna Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A), pewarna buah naga pengencer buffer fosfat pH 6,8 (B), dan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E serta F berturut-turut sebesar 100%, 100%, 100%, 93%, 100%, dan 97%. Dari persentase tersebut diketahui kualitas pewarnaan menggunakan pewarna buah naga pengencer buffer fosfat pH 6,8 (B) dan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E, F sudah sesuai dengan kriteria pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A).

Hasil pengukuran pH ekstrak buah naga memiliki tingkat keasaman 4,9 yang mendekati pH eosin dalam Giemsa yaitu 5,0 sehingga komponen yang bersifat basa menyerap ekstrak buah naga yang bersifat asam sebagai pengganti eosin. Prinsip pewarnaan Giemsa adalah azure B mempunyai sifat basa dan memberikan warna ungu kebiruan pada komponen yang bersifat asam, seperti asam nukleat, nukleoprotein, dan granula basofil. Sedangkan eosin Y bersifat asam mewarnai komponen sel bersifat basa seperti hemoglobin dan granula eosinofil menjadi berwarna merah hingga jingga<sup>21</sup>. Kombinasi Azure B dan eosin Y teroksidasi membentuk kompleks *tiazine-eosinate* yang bersifat polikromatik sehingga memberikan beberapa warna terhadap sediaan apusan darah dan mewarnai komponen sel bersifat netral seperti granula dan sitoplasma neutrofil<sup>22, 23</sup>.

Menurut Lestario, warna antosianin berbeda-beda tergantung pada pH medianya. Pada media asam antosianin akan berwarna merah, berwarna

<sup>21</sup> Babette B. Weksler, Schechte Geraldine P., and Scott Ely, *Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology*, 2nd ed. (China: Wolters Kluwer, 2017).

<sup>22</sup> Elaine M. Keohane, Otto Catherine N., and Jeanine M. Walenga, *Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications* (Canada: Elsevier, 2020).

<sup>23</sup> Nugraha, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*.



ungu dalam media netral dan dalam media basa berwarna biru<sup>24</sup>. Antosianin yang stabil pada pH asam memiliki kesesuaian dengan keadaan eritrosit dan menyerap zat warna asam serta terikat dengan permukaan sel sehingga sel eritrosit dapat terwarnai dan diamati secara mikroskopis<sup>25</sup>. Hal ini sejalan dengan penelitian Wahyudi, Salnus dan Fitriani<sup>26</sup> didapatkan hasil bahwa antosianin dari ekstrak ubi ungu (*Ipomoea Batatas L*) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi pelarut metanol dengan penambahan HCl pekat memberikan warna merah pada sel eritrosit.

Dalam penelitian lain tentang pewarnaan sediaan apusan darah tipis menggunakan antosianin dari ekstrak kulit manggis (*Garcinia Mangostana*) yang diekstrak dengan metode maserasi menggunakan metanol yang diasamkan dengan HCl pekat hingga mencapai pH 4 didapatkan hasil pewarnaan yang baik pada sel eritrosit menyerupai pewarnaan Giemsa konsentrasi 20%<sup>27</sup>. Penelitian yang sama dilakukan oleh Luspianasari<sup>28</sup>, antosianin pada filtrat buah naga sebagai pewarna alternatif alami pengganti eosin dengan penambahan zat warna *methylene blue* menunjukkan hasil pemeriksaan yang baik sesuai dengan kriteria pewarnaan Giemsa pengenceran 20% pada sel eritrosit, sel trombosit dan sel leukosit kecuali granula eosinofil. Perbedaan pH buah naga yaitu 5,2 yang lebih tinggi dari pH eosin Giemsa yaitu 5 yang menyebabkan granula eosinofil berwarna biru. Menurut Kiswari<sup>29</sup> salah satu penyebab pewarnaan yang tidak sesuai kriteria yaitu granula eosinofil berwarna biru karena konsentrasi zat warna eosin yang terlalu rendah.

Pada prosedur pewarnaan sediaan apusan darah tipis menggunakan pewarna Giemsa maupun buah naga perlu dilakukan pengenceran konsentrasi 20% menggunakan larutan buffer fosfat pH 6,8<sup>30</sup>. Larutan pengencer buffer fosfat digunakan sebagai larutan penyangga untuk

---

<sup>24</sup> Lestario, *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya Dalam Kesehatan, Dan Prospeknya Sebagai Pewarna Makanan*.

<sup>25</sup> Subakir Salnus and Dzikra Arwie, "Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi," *Jurnal Media Analis Kesehatan* 11, no. 2 (2020): 96.

<sup>26</sup> Nur Ihsan. Wahyudi, Subakir Salnus, and Fitriani, "Gambaran Eritrosit Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarna Alami Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L.*)," *Jurnal TML Blood Smear* 1, no. 1 (2020): 12–17.

<sup>27</sup> Anraeni Resbiani, Dzikra Arwie, and Asriyani Ridwan, "Gambaran Eritrosit Pada Sediaan Apusan Darah Tepi (ADT) Dengan Pewarnaan Giemsa Dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*)," *Jurnal TLM Blood Smear* 3, no. 1 (2022).

<sup>28</sup> Luspianasari, "Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Bahan Alternatif Alami Pewarna Giemsa Pada Sediaan Apusan Darah Tepi."

<sup>29</sup> Kiswari, *Hematologi & Transfusi*.

<sup>30</sup> Indonesian Skills Laboratory Network and Development (ISLaND), *Panduan Keterampilan Klinis* (Sidoarjo: Zifatama Jawara, 2020.).

mempertahankan pH agar tidak mengalami perubahan signifikan dari penambahan asam dan basa zat yang terdapat dalam pewarna dan air sehingga sel dapat menyerap zat warna yang sesuai dengan prinsip pewarnaan dalam larutan *Giemsa stock* maupun larutan induk buah naga<sup>31</sup>.

Kualitas pewarnaan sediaan apusan darah menggunakan buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E dan F sesuai dengan kriteria pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A). Hal ini disebabkan oleh pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E dan F memiliki pH berturut-turut 6,82, 7,04, 6,91 dan 7,02 yang mendekati pH kontrol yaitu buffer fosfat pH 6,8 sehingga sel eritrosit, leukosit dan trombosit dapat menyerap pewarna buah naga dengan baik (tabel 1). Hal ini sesuai dengan teori Nugraha dan Badrawi<sup>32</sup> menyebutkan larutan buffer fosfat dapat diganti dengan pengencer lain asalkan memiliki pH yang sesuai dengan larutan penyangga.

Pada hasil pemeriksaan sediaan apusan darah menggunakan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek D dan F terdapat slide yang tidak sesuai kriteria yaitu granula eosinofil berwarna ungu kebiruan. Pewarnaan perlakuan D dan F memiliki pH berturut-turut 7,04 dan 7,02 yang paling jauh dari pH standar buffer fosfat yaitu 6,80 (tabel 1). Menurut Bain<sup>33</sup> ketepatan pH larutan pengencer berperan penting terhadap kualitas pewarnaan. Jika pH pengencer terlalu rendah maka komponen sel bersifat basa akan lebih menyerap zat warna asam dan pengencer yang memiliki pH terlalu tinggi menyebabkan komponen sel bersifat asam menyerap zat warna basa secara berlebihan yaitu Azur B sehingga granula eosinofil berwarna biru. Dari persentase pewarnaan D dan F masih memiliki hasil yang baik sebesar 92% dan 96%. Selain dipengaruhi oleh perbedaan pH larutan pengencer, hal tersebut dapat disebabkan beberapa faktor lain diantaranya kualitas *Giemsa stock*, kualitas pengencer Giemsa, ketebalan sediaan apusan darah, kebersihan objek glass, lama fiksasi dengan metanol, waktu pewarnaan terlalu singkat dan konsentrasi larutan pewarnaan<sup>34,35</sup>.

Berdasarkan data penelitian yang telah diperoleh, dilakukan uji statistik menggunakan aplikasi *Statistical Program for Social Sciences (SPSS)*

---

<sup>31</sup> Heny Ekawati Haryono, *Kimia Dasar* (Yogyakarta: Deepublish, 2019).

<sup>32</sup> Nugraha and Badrawi, *Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik*.

<sup>33</sup> Bain, *Blood Cells A Practical Guide*.

<sup>34</sup> Kiswari, *Hematologi & Transfusi*.

<sup>35</sup> Banundari Rachmawati et al., *Panduan Skrining Malaria Di Unit Transfusi Darah* (Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2021).

dengan taraf kepercayaan 95%. Untuk mengetahui kualitas pewarnaan menggunakan pewarna buah naga dilakukan uji *Mann-Whitney* dengan membandingkan kualitas pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A) dan pewarna buah naga pengencer buffer fosfat pH 6,8 (B) didapatkan nilai signifikansi 1,000. Nilai signifikansi menunjukkan  $> 0,05$  yang berarti tidak ada perbedaan bermakna pada pewarna Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A) dengan pewarna buah naga pengencer buffer fosfat pH 6,8 (B). Dilakukan uji statistik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan kualitas pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A) dengan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E, dan F didapatkan nilai signifikansi 1,000 sehingga tidak ada perbedaan bermakna kualitas pewarnaan Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A) dengan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E, dan F.

#### **D. SIMPULAN**

Kualitas pewarnaan sediaan apusan darah menggunakan pewarna buah naga pengencer buffer fosfat pH 6,8 (B) dan pewarna buah naga pengencer air mineral bermerek C, D, E, F memiliki kualitas pewarnaan yang baik sesuai kriteria kontrol yaitu pewarna Giemsa pengencer buffer fosfat pH 6,8 (A). Saran untuk tenaga ATLM apabila Giemsa dan buffer tidak ada dapat menggunakan alternatif pewarna buah naga dan pengencer air mineral bermerek yang memiliki pH mendekati buffer fosfat pH 6,8 untuk pengamatan sel eritrosit, sel leukosit dan sel trombosit pada sediaan apusan darah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standardisasi Nasional. "SNI 3553:2015: Air Mineral." *Badan Standardisasi Nasional*. Jakarta: Dewan Standardisasi Indonesia, 2015.
- Bain, Barbara J. *Blood Cells A Practical Guide*. 5th ed. London: Gower Medical, 2015.
- Firani, Novi Khila. *Mengenal Sel-Sel Darah Dan Kelainan Darah*. Malang: Universitas Brawijaya Press, 2018.
- Fitriani, Annisa. "Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Bahan Alternatif Alami Pewarna Wright-Stain Pada Sediaan Apusan Darah Tepi." Poltekkes Kemenkes Banjarmasin, 2022.
- Gandasoebrata, R. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat, 2018.
- Haryono, Heny Ekawati. *Kimia Dasar*. Yogyakarta: Deepublish, 2019.
- Indonesian Skills Laboratory Network and Development (ISLaND). *Panduan Keterampilan Klinis*. Sidoarjo: Zifatama Jawara, 2020.
- Islawati, Asriyani Ridwan, and Rahmat Aryandi. "Ekstrak Betasianin Dari Umbi Bit (*Beta Vulgaris*) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi." *Jurnal Kesehatan Panrita Husada* 6, no. 2 (2021): 152–60.
- Kementrian Perindustrian RI. "Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 78/M-IND/PER/11/2016 Tentang Pemberlakuan Standar Nasional Indonesia Air Mineral, Air Demineral, Air Mineral Alami, Dan Air Minum Embun Secara Wajib." Jakarta: Kementrian Perindustrian RI, 2016.
- Keohane, Elaine M., Otto Catherine N., and Jeanine M. Walenga. *Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications*. Canada: Elsevier, 2020.
- Kiswari, Rukman. *Hematologi & Transfusi*. Jakarta: Erlangga, 2014.
- Lestario, Lydia Ninan. *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya Dalam Kesehatan, Dan Prospeknya Sebagai Pewarna Makanan*. Yogyakarta: UGM Press, 2017.
- Luspianasari, Witta. "Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Bahan Alternatif Alami Pewarna Giemsa Pada Sediaan Apusan Darah Tepi." Poltekkes Kemenkes Banjarmasin, 2022.
- Nugraha, Gilang. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. 2nd ed. Jakarta: Trans Info Media, 2017.
- Nugraha, Gilang, and Imaduddin Badrawi. *Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik*. Jakarta: Trans Info Media, 2018.
- Oktiyani, Neni, Ahmad Muhlisin, Erfan Roebiakto, Wahdah Norsiah, and Mahpolah. "Utilization of Alternative Buffer Solutions for Staining Thin Blood Smears by the Giemsa, Wright Stain and Romanowsky Method." *Tropical Health and Medical Research* 5, no. 1 (2022): 34–45.
- Priska, Melainia, Natalia Peni, Ludovicus Carvallo, and Yulius Dala Ngapa. "Antosianin Dan Pemanfaatannya." *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)* 6, no. 2 (2018): 79–97.
- Rachmawati, Banundari, Nyoman Suci, Edward, Dwi Retnoningrum, and Ariosta. *Panduan Skrining Malaria Di Unit Transfusi Darah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2021.
- Resbiani, Anraeni, Dzikra Arwie, and Asriyani Ridwan. "Gambaran Eritrosit Pada Sediaan Apusan Darah Tepi (ADT) Dengan Pewarnaan Giemsa Dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*)." *Jurnal TLM Blood Smear* 3, no. 1 (2022).
- Rosita, Linda, Abrory Agus Cahya, and Fathiya Rahma Arfira. *Hematologi Dasar*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, 2019.
- Saati, Elfi Anis, Moch Wachid, Moh Nurhakim, Sri Winarsih, and Muh. Luthfi Abd. Rohman. *Pigmen Sebagai Zat Pewarna Dan Antioksidan Alami Identifikasi Pigmen Bunga, Pembuatan Produknya Serta Penggunaannya*. Malang: UMM Press, 2019.
- Salnus, Subakir, and Dzikra Arwie. "Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea*

- Batatas L.) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi.” *Jurnal Media Analisis Kesehatan* 11, no. 2 (2020): 96.
- Wahyudi, Nur Ihsan., Subakir Salnus, and Fitriani. “Gambaran Eritrosit Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Pewarna Alami Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas* L).” *Jurnal TML Blood Smear* 1, no. 1 (2020): 12–17.
- Weksler, Babette B., Schechte Geraldine P., and Scott Ely. *Wintrobe’s Atlas of Clinical Hematology*. 2nd ed. China: Wolters Kluwer, 2017.