

# PENGGUNAAN EKSTRAK BUAH MURBEI (*Morus Alba L*) SEBAGAI PEWARNAAN ALTERNATIF PENGGANTI GIEMSA PADA PEMERIKSAAN MALARIA METODE SEDIAAN APUS DARAH TEBAL

Rosalia Maria Hysentha Jamlean, Anita Oktari, Dani Mahmud

Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

E-mail: nio80zahra@gmail.com

## ABSTRAK

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit yang disebut *Plasmodium*, yang tahap perkembangbiakannya akan memasuki dan menghancurkan sel-sel darah merah. Pemeriksaan yang dilakukan untuk mendiagnosa penyakit malaria adalah dengan melakukan pemeriksaan sediaan apus darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan apakah penggunaan ekstrak buah murbei dapat digunakan sebagai pewarna alternatif dan pada konsentrasi berapa hasil pewarnaan layak digunakan. Metode yang digunakan adalah bersifat eksperimen. Antosianin digunakan sebagai zat warna alternatif pada pewarnaan sediaan apus darah tebal (malaria) dengan modifikasi ekstrak buah murbei. Konsentrasi yang digunakan yaitu 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, dan 20%. Berdasarkan hasil uji Mann Whitney U maka diketahui bahwa setiap konsentrasi ekstrak murbei memberikan nilai  $Asymp.Sig < 0,05$  maka dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi murbei yang digunakan tidak bisa digunakan untuk memberikan pewarnaan yang sama dengan kualitas pewarnaan Giemsa 3% dan Ekstrak buah Murbei tidak dapat digunakan sebagai pewarna alternatif. Pada penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan ekstrak buah murbei yang sangat tinggi atau pekat. Pembuatan atau penggunaan ekstrak buah murbei lebih memperhatikan tingkat pH, atau keasaman. Sampel yang akan digunakan lebih baik menggunakan darah yang masih segar. Peneliti yang akan melakukan pengujian tentang Malaria harus mempunyai jam terbang yang tinggi tentang cara pemeriksaan dan mengenal morfologi dari setiap stadium Malaria dengan baik.

**Kata Kunci:** Buah murbei, *Antosianin*, Pewarna Alternatif, Apus Darah Malaria

## ABSTRACT

*Malaria is a disease caused by a parasite called Plasmodium, whose reproductive stage enters and destroys red blood cells. The examination carried out to diagnose malaria is by examining blood smear preparations. The purpose of this study was to determine whether the use of mulberry fruit extract can be used as an alternative dye and at what concentration the staining results are suitable for use. The method used is experimental. Anthocyanins were used as an alternative dye for staining thick blood smears (malaria) with modified mulberry fruit extract. The concentrations used were 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, and 20%. Based on the results of the Mann Whitney U test, it is known that each concentration of mulberry extract gives an  $Asymp.Sig$  value  $< 0.05$ , so in this study it can be concluded that the concentration of mulberry used cannot be used to provide the same coloring with the quality of Giemsa staining 3% and fruit extract. Mulberry cannot be used as an alternative dye. In future research, it is expected to use very high or concentrated mulberry fruit extract. The manufacture or use of mulberry fruit extract pays more attention to the pH level, or acidity. The sample to be used is better to use fresh blood. Researchers who will conduct testing on Malaria must have flight hour knowledge about the way of examination and know the morphology of each stage of Malaria well.*

**Keyword:** Mulberry fruit, Anthocyanin, Alternative Dyes, malaria blood smear

## 1. Pendahuluan

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit yang disebut Plasmodium, yang dalam tahap pembiakannya akan memasuki dan menghancurkan sel-sel darah merah. Pemeriksaan yang dilakukan untuk mendiagnosa penyakit malaria adalah dengan melakukan pemeriksaan sediaan apus darah (Widoyono, 2011). Plasmodium yang menginfeksi manusia yaitu, *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, *P.malariae* dan *P.knowlesi*. Salah satu jenis Plasmodium yang menyebabkan malaria berat disebabkan *P.falciparum* dengan berbagai komplikasi yang dapat mengakibatkan kematian terutama pada anak. *P.vivax* adalah Plasmodium yang dapat tinggal berbulan-bulan sampai bertahun-tahun di dalam sel hati dan jika kondisi imunitas tubuh menurun menimbulkan kambuh atau relaps (I Gede Yasa Asmara, 2018).

Pemeriksaan menggunakan mikroskop merupakan Gold Standar untuk mendiagnosis pasti malaria, pemeriksaan mikroskop dilakukan untuk menentukan ada tidaknya parasit malaria (positif atau negatif), spesies dan stadium Plasmodium, pemeriksaan yang dilakukan untuk mendiagnosa penyakit malaria adalah dengan melakukan pemeriksaan sediaan apus darah (Widoyono, 2011).

Standar baku emas diagnosis Malaria adalah pemeriksaan secara mikroskopis pada sediaan darah tipis dan tebal dengan pengecatan Giemsa konsentrasi 3%, pengencer Giemsa Buffer Fosfat Ph 7,2 dengan waktu 20-30 menit. Perubahan pH pada larutan Giemsa dan Wright berpengaruh pada sel-sel darah hasil pewarnaan terutama pH asam dan basa (Suryanta, 2013).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan apakah penggunaan Ekstrak Buah Murbei (*Morus Alba L*) sebagai pewarna alternatif pada pewarnaan sediaan *Plasmodium Falciparum* dan *Plasmodium Vivax*, dan Untuk mengetahui pada konsentrasi berapa hasil pewarnaan layak digunakan sebagai zat warna alternatif.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1. Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan desain penelitian perbandingan kelompok statis (*Static Group Comparison*). Adalah penelitian yang dilakukan dengan cara menyeleksi dua kelas untuk penelitian. Dua kelas tersebut antara lain adalah satu kelompok kelas eksperimen dan satu kelas kontrol yang berjumlah sama, yaitu suatu kelompok eksperimen yang dikenakan perlakuan tertentu, kemudian diamati hasil dari masing-masing pewarnaan tersebut kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sebelumnya telah dilakukan tes awal.

Penelitian ini bersifat eksperimen peneliti melakukan pengumpulan data, kemudian percobaan

modifikasi perlakuan dengan cara mengganti Giemsa sebagai zat warna alternatif pada pewarnaan sediaan apus darah tebal (Malaria). Data dari hasil pengamatan yang dilihat secara mikroskopik, kemudian diolah dan dianalisis.

### 2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel preparat apus darah tebal suspek malaria yang kemudian digunakan sebagai sampel pemeriksaan pada penelitian ini. Bahan yang digunakan sebagai bahan baku ekstraksi adalah Buah Murbei (Bandung).

### 2.3. Reagen

Reagen pendukung lainnya yang digunakan adalah Larutan Giemsa 3%, Methanol Murni, dan Aquades.

### 2.4. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah Freeze Dry dan Mikroskop.

### 2.5. Tahap Preparasi

Buah murbei yang telah dibersihkan kemudian ditimbang sebanyak 250 gram, buah murbei tersebut lalu dihaluskan atau diblender untuk selanjutnya dilarutkan kedalam aquades untuk dilakukan ekstraksi.

### 2.6. Tahap Ekstraksi Metode Maserasi

Ekstraksi buah murbei dilakukan dengan melarutkan sebanyak 250 gram buah murbei yang telah diblender kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquades sebanyak 750 ml, ekstraksi atau perendaman dapat dilakukan selama 1 – 3 hari dengan menggunakan wadah yang berwarna coklat atau gelap dan disimpan dalam ruangan yang tidak terkena cahaya, baik itu cahaya matahari ataupun cahaya lampu. Hasil maserasi tersebut disaring untuk memisahkan filtrat dan residu.

### 2.7. Cara Kerja Freeze Dryer

Pengoperasian alat tersebut sedikit lebih panjang karena banyak menu display yang harus disetting dahulu dan harus lebih hati-hati karena banyak peralatan yang terbuat dari gelas. Prinsip kerja alat ini adalah mengubah fase padat (es atau freeze) menjadi fase gas (uap). Ekstrak cair atau kental yang sebelum dimasukkan kedalam Freeze Dryer, terlebih dahulu dibekukan dalam Refrigerator (lemari es) selama 24 jam sampai membeku atau menjadi es. Setelah menjadi es, kemudian lebur atau dihaluskan dan dimasukkan kedalam nampan freeze dryer, setelah itu dimasukkan ke dalam freeze dryer. Alat disetting sesuai dengan yang diinginkan. Oleh vacuum pump alat tersebut akan menyedot solvent yang telah beku (freeze) menjadi uap.

### 2.8. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Buah Murbei

Disiapkan alat dan bahan lalu ditimbang 5 gram sampel serbuk buah murbei kemudian dimasukkan dalam

gelas kimia dan ditambahkan aquadest sebanyak 25 ml, dilarutkan dalam 25 ml larutan sebagai larutan stok 20 %, setelah dilakukan pengenceran dapat dilakukan penyaringan sebanyak 3x untuk mendapatkan kualitas pengenceran yang baik. Ditetaskan buah murbei dengan konsentrasi 10%,12%,14%,16%,18% dan 20% pada masing-masing preparat darah malaria positif, yang sudah difiksasi dengan metanol dan diwarnai preparat tersebut selama 20-40 menit kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan preparat yang telah dibilas lalu dikeringkan dibawah suhu kamar dan diamati pada mikroskop dengan pembesaran 1000 kali.

## 2.9. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Buah Murbei

Dibuat larutan stok 20% dengan cara ditimbang serbuk buah murbei sebanyak 5 gram ditambahkan pelarut sampai dengan 25 ml (%b/v). Untuk membuat larutan dengan konsentrasi 10%,12%,14%,16%, dan 18% dapat menggunakan rumus pengenceran  $V^1 \times \%^1 = V^2 \times \%^2$ .

## 2.10. Tahap Pembuatan Preparat Darah Tebal dengan Ekstrak Murbei

Disiapkan gelas objek yang bersih dan kering (bebas lemak), diambil satu tetes darah dari sampel darah tersebut diatas slide yang tersedia,dibuatkan tetesan darah tersebut menjadi satu bulatan dengan ketebalan yang telah ditentukan (ketebalannya merata),dibiarkan preparat tersebut mengering pada suhu kamar,diwarnai preparat tersebut selama 30 menit lalu air mengalir,dikeringkan preparat yang telah dibilas lalu diamati dibawah mikroskop.

## 2.11. Interpretasi Skala Penilaian Mikroskopis Malaria Menurut WHO

- (-) : Tidak ditemukan parasit
- (+) : 1-10 Parasit/100 LP
- (++) : 11-100 Parasit/100 LP
- (+++)
- (++++)

## 2.12. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data yang diperoleh dari hasil uji penelitian ini dikelompokkan dan disajikan dalam bentuk tabel, untuk mengetahui gambaran rata-rata kualitas sediaan apus darah dan bentuk palmodium malaria. Selanjutnya data akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis data Uji Kruskal Wallis dan uji penegasan menggunakan Uji Mann Whitney.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Zat warna alami yang digunakan dalam penelitian ini adalah antosianin, antosianin yang digunakan diperoleh dari Ekstrak buah Murbei, yang kemudian dibuat pewarna alternatif pengganti Giemsa untuk mewarnai sediaan apus darah Malaria, warna ungu (antosianin)

adalah warna yang digunakan sebagai alternatif pengganti giemsa . Antosianin memiliki beberapa variasi mulai dari merah, ungu, biru, sampai kuning hal itu dapat dipengaruhi oleh pH. Antosianin yang di peroleh dari ekstrak buah murbei dan kulit buah manggis juga dapat berwarna merah tergantung dari konsentrasi pH nya. Pada suasana asam , antosianin dapat berwarna merah sedangkan pada pH basa antosianin dapat berwarna dari kuning kehijauan sampai hijau pekat, yang dibuktikan dengan dilakukannya uji antosianin (Harborne,1996).




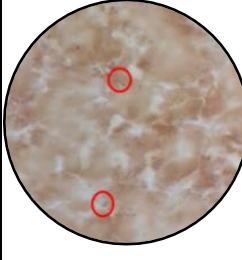
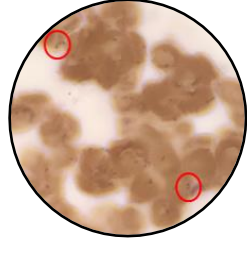
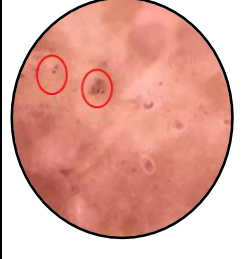
Penelitian ini bertujuan untuk mengobservasi konsentrasi ekstrak buah murbei yang dapat dijadikan pewarna alternatif pengganti Giemsa pada pemeriksaan malaria metode sediaan apus darah. Variasi konsentrasi yang dieksperimenkan pada penelitian ini adalah kstrak murbei konsentrasi 10%, 12%, 14%, 16%, 18% dan 20%. Sebagai kontrolnya adalah pemeriksaan Malaria sediaan apus darah yang diwarnai oleh Giemsa 3%. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa pewarnaan sediaan apus darah tebal Malaria menggunakan Ekstrak buah Murbei pada konsentrasi 10%,12%,14%,16%,18% dan 20% tidak dapat digunakan karena hasil pewarnaan menunjukkan warna yang sangat pudar, sehingga sel Eritrosit, Sitoplasma dan Inti *Plasmodium Vivax* dan *Plasmodium Falciparum* tidak terwarnai. Hasil pewarnaan yang kurang baik atau sangat pudar ini disebabkan oleh konsentrasi zat warna antosianin) sangat rendah. Berbeda dengan hasil pewarnaan pada uji pendahuluan (UP) yang dilaksanakan pada bulan April 2021 - Mei 2021, pada Uji Pendahuluan konsentrasi yang digunakan adalah 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50%, pada konsentrasi 20% - 35% sediaan darah tebal dapat terwarnai. Hasil pewarnaan pada konsentrasi 25% - 35% menunjukkan hasil yang baik,dimana sel Eritrosit, Sitoplasma, dan Inti *Plasmodium Vivax* dan *Plasmodium Falciparum* dapat terwarnai dan dilihat dengan jelas saat pemeriksaan menggunakan mikroskop, karena ekstrak buah Murbei merupakan zat warna alami (antosianin) jika dibandingkan dengan giemsa yang merupakan zat warna sintetis.

## 3.1. Hasil Pewarnaan Ekstrak Murbei

Tabel 1. Hasil Pewarnaan Giemsa 3%

<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Ekstrak Murbei

	
<i>P. falciparum</i> 10%	<i>P. falciparum</i> 12%
	
<i>P. falciparum</i> 14%	<i>P. falciparum</i> 16%
	
<i>P. falciparum</i> 18%	<i>P. falciparum</i> 20%

Data pada penelitian ini bersifat non-parametrik dan variasi perlakuannya lebih dari dua, maka analisis data menggunakan Kruskal Wallis. Hipotesis uji Kruskal wallis pada penelitian ini adalah jika nilai Asymp.sig > 0,05 maka variasi konsentrasi ekstrak murbei memberikan kualitas pewarnaan yang tidak berbeda signifikan. Jika Asymp.Sig < 0,05 maka variasi konsentrasi ekstrak murbei memberikan perbedaan kualitas pewarnaan yang signifikan. Hasil uji Kruskal wallis berdasarkan perhitungan spss IBM versi 25 memberikan nilai Asymp.Sig 0,000 < 0,05. Dikarenakan hasil uji Kruskal Wallis memberikan perbedaan yang signifikan maka analisis data dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Tabel 3. Hasil Uji lanjut Mann Whitney U

Kelompok Perlakuan	Uji	
	Asymp. Sig	Keterangan
10% terhadap Giemsa 3%	0,001 < 0,05	Berbeda signifikan
12% terhadap Giemsa 3%	0,001 < 0,05	Berbeda signifikan
14% terhadap Giemsa 3%	0,002 < 0,05	Berbeda signifikan
16% terhadap Giemsa 3%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
18% terhadap Giemsa 3%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan
20% terhadap Giemsa 3%	0,000 < 0,05	Berbeda signifikan

Berdasarkan hasil uji Mann Whitney U maka diketahui bahwa setiap konsentrasi ekstrak murbei memberikan nilai Asymp.Sig < 0,05 maka dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi murbei yang digunakan masih belum memberikan kualitas pewarnaan yang sama dengan kualitas pewarnaan oleh Giemsa 3%.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian secara Mikroskopis dan hasil pengolahan data yang telah dilakukan pada Pemeriksaan Apus Darah Malaria dengan menggunakan Ekstrak buah Murbei (*Morus Alba L*), peneliti memberikan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada konsentrasi Ekstrak buah Murbei yang diujikan dalam penelitian ini tidak bisa digunakan sebagai pewarna alternatif pada pewarnaan sediaan *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*.
2. Ekstrak buah Murbei tidak dapat digunakan sebagai zat warna Alternatif , pada konsentrasi 10%,12%,14%,16%,18% dan 20% memberikan hasil pewarnaan yang tidak sama atau lebih pudar jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan Giemsa 3%. Sehingga Ekstrak buah Murbei ini tidak bisa digunakan sebagai zat warna alternatif.

#### Daftar Pustaka

1. Anita Oktari, Ahmad Muh'tamir. (2017)."Optimalisasi Air Perasan Buah Merah (Pandanus sp.) Pada Pemeriksaan Telur Cacing." JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM (www.teknolabjournal.com) (Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih Bandung) 6
2. Hasanah, L.R. (2019). Pengaruh pemberian filtrat buah murbei (*Morus alba.L* sebagai pewarna alternatif terhadap kualitas preparat gosok tulang femur kelinci (*Oryctolagus cuniculus L*). SKRIPSI. Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang.

3. Hormalia, Haitami, Muhammad Arsyad (2017). Pengaruh Variasi Pengenceran Giemsa Terhadap Pewarnaan Giemsa Plasmodium Sp Pada Pemeriksaan Sediaan Darah Tipis
4. Sandra Amalia, Ronald Y. K.(2021). "Penggunaan Ekstrak Metanol Dari Buah Murbei Buah Merah Dan Kulit Buah Manggis Sebagai Zat Warna Alternatif Pada Pemerisaan Malaria Sediaan Apus Darah Tebal Metode Pewarnaan Giemsa". PRODI KIMIA KONSENTRASI ANALIS MEDIS SEKOLAH TINGGI ANALIS KESEHATAN BANDUNG .
5. Santos.W.E.K, dan Estiasih.T. 2014. Kopigmentasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas var. Ayamurasaki*) Dengan Kopigmentasi Na-Kaseinat Dan Protein Whey Serta Stabilitasnya Terhadap Pemanasan. Jurnal Pangan dan Agroindustri.Vol 2. No.4.121-127.
6. Sari, Puspita, A Fitriyah, K. Mukhamad, Unus, F Mukhamad, L Triana. 2005. Ekstraksi dan stabilitas dari kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*). Jurnal Teknolgi dan Industri Pangan. 16(1):147.
7. Soeroso, E. G., Lestario, L. N., & Martono, Y. (2017). Penambahan gula dapat meningkatkan stabilitas warna ekstrak antosianin buah murbei hitam yang terpapar cahaya fluoresens. Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan, 28(1), 62–69. <https://doi.org/10.6066/jtip.2017.28.1.62>
8. Sitepu, R., Heryanto, Tatas H.P. Brotosudarmo, & Limantara, L. (2016). Karakterisasi antosianin buah murbei spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia. Journal of Natural Science, 5(2)(September 2016), 158–171.
9. Sri Winarti, Ulya Sarofa, dan Dhini Anggrahini.2008. Ekstraksi dan stabilitas warna ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) sebagai pewarna alami . Jurnal Teknik Kimia. Vol.3,No.1.
10. Sukardi, Syafiq Maulidinda Kiswaya, Dodyk Pranowo.2018. Antosianin Ekstrak Ubi Jalar Ungu Kering untuk Donor Elektron Sel Surya Pewarna Tersensitisasi (SSPT). Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri Vol. 7 No 3: 133-142
11. Tuty yuniarty 1, Siti Rachmi Misbach2.2016. Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas poiret*) . Sebagai Zat Pewarna Pada Pewarnaan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Teknologi Laboratorium Vol.5.No.2.
12. Vega Roosa Fione, Jeanne d’arc Zavera Adam.2020. Ekstrak ubi jalar ungu (*ipomea l batatas* ) sebagai solusi pewarna alamiah plak gigi. Jurnal Ilmiah Perawatan Manado.Vol.08.No.02.
13. Victoria Yusafin Jurian, Sonya suwonso, Mukhammad Fauzi. (2016). "AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN MURBEI (*Morus alba*) TERHADAP *Escherichia coli*." (Universitas Jember Laboratorium Laboratorium Pangan dan Hasil Pertanian).
14. Winata, E. W., & Yunianta, Y. (2014). EKSTRAKSI ANTOSIANIN BUAH MURBEI (*Morus alba L.*) METODE ULTRASONIC BATH (KAJIAN WAKTU DAN RASIO BAHAN: PELARUT)[IN PRESS APRIL 2015]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2).
15. Yuniartu.T., dan Misbach S.R. 2016. Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas poiret*) Sebagai Zat Pewarna Pada Pewarnaan *Staphylococcus aurus*.. Jurnal Teknologi Laboratorium. Vol.5,No.2. 59-63