



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

## CAESAR (*Caesalpinia* EXTRACT) : PEWARNA ALAMI TANAMAN INDONESIA PENGGANTI GIEMSA

Fajriyah Yuni Sri Wulandari<sup>1</sup>, Shintya Devi Widiyani<sup>2</sup>, Arya Iswara<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Laboratorium Sitohistoteknologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

### Info Artikel

Diterima 20 September 2019  
Direvisi 23 Agustus 2019  
Disetujui 25 September 2019  
Tersedia Online 30 September 2019

**Keywords:** *Giemsa, Secang, Pewarnaan, Pelarut, Buccal Smear.*

### Abstrak

Pewarna giemsa memiliki kandungan bahan kimia yaitu eosin, methylene blue dan azzure (Gandasoebrata, 2007). Cairan giemsa sangat mudah terbakar dan menguap. Beracun jika tertelan, kontak langsung atau terhirup menyebabkan kerusakan organ-organ. Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dapat digunakan sebagai pewarna alami karena mengandung Brazilin (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>) yang memiliki pigmen warna merah dan memiliki arah warna sesuai kadar pH. Proses pewarnaan dengan ekstrak secang pada preparat buccal smear menggunakan pelarut aquadest, metanol, (alkohol 96% + KOH 10% non evaporasi dan evaporasi), dan alkohol 96% ditambah buffer A+buffer B dengan cara diteteskan 3-5 tetes ekstrak secang dan pelarutnya, ditunggu selama 15 menit. Hasil dari pewarnaan diamati tampak atau tidaknya epitel pada preparat buccal smear. Hasil pengecatan dengan pelarut aquadest dan alkohol 96% tidak tampak adanya epitel serta warna. Pelarut metanol tampak adanya epitel dengan warna orange pudar, dengan alkohol 96% + KOH 10% non evaporasi tampak adanya epitel dengan warna pink. Hasil pengecatan dengan warna paling baik yaitu warna merah dari pelarut alkohol 96% + KOH 10% evaporasi.

### Pendahuluan

Terdapat berbagai macam jenis zat pewarna di Laboratorium yang dapat di gunakan untuk mewarnai sel maupun

jaringan. Salah satu di antaranya yaitu Giemsa. Giemsa adalah metode pewarnaan mikroskopis yang di kembangkan oleh Gustav Giemsa (Bracia, 2007). Metode

### \*Corresponding Author:

Arya Iswara

Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

[aryaiswara@unimus.ac.id](mailto:aryaiswara@unimus.ac.id)

pewarnaan giemsa pada awalnya di rancang terutama untuk mewarnai parasit plasmodium yang dapat menyebabkan penyakit malaria. Akan tetapi dapat juga digunakan untuk pewarnaan histologi untuk mewarnai kromatin, membran inti sel, metachromasia dan berbagai komponen sel lainnya. Pewarnaan giemsa paling bagus dan sering digunakan untuk mengidentifikasi parasit (Hormalia, 2017)

Di dalam giemsa terdapat beberapa kandungan kimia sebagai penyusun larutan yaitu eosin, methylene blue, dan azur (Gandasoebrata, 2007). PH pada larutan giemsa yaitu pH 7 atau sering disebut giemsa stock pH 7 (Depkes RI, 1993). Pengencer pada giemsa biasanya air pengencer dengan pH 6,8-7,2 ( paling ideal 7,2) (Depkes RI, 1993). Eosin dan Methylene blue yang terdapat dalam giemsa dapat menimbulkan efek yang negatif bagi tubuh kita apabila digunakan terus menerus diantaranya apabila tertelan menimbulkan iritasi saluran pencernaan, menimbulkan sianosis apabila terhirup, dan apabila terpapar pada kulit secara langsung menimbulkan iritasi (Hamdaoui, dan Chiha, 2006). Selain itu, juga memiliki dampak buruk bagi lingkungan terutama air yang tercemar limbah kimia tersebut dan tanaman di sekitar pembuangan limbah pewarnaan giemsa.

Di Indonesia banyak sekali tanaman-tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami yang ramah lingkungan dan tidak berbahaya bagi kesehatan kita. Salah satu diantaranya yaitu Secang. Secang (*Caesalpinia sappan* L.) adalah tanaman Leguminosae yang pada umumnya dikenal sebagai kayu brazil atau sappan. Kandungan utama pada secang (*Caesalpinia sappan* L.) yaitu Brazilin. Menurut Sanusi (1993), dikatakan bahwa kayu secang dapat di gunakan sebagai pewarna alami karena mengandung brazilin yang memiliki pigmen warna merah dan memiliki sifat yang mudah larut dalam air. Brazilin memiliki kandungan zat warna merah-sappan, asam tanat dan asam galat. Brazilin atau brazilin ( $C_{16}H_{14}O_5$ ) memiliki arah warna yang berbeda-beda sesuai kadar pH. Brazilin akan

berwarna kuning apabila berada pada pH 2-5, sedangkan pada pH 6-7 akan menghasilkan warna merah, dan pada pH 8 ke atas akan berwarna merah keunguan (Safitri et al, 2009).

Brazilin mengandung Karbon, Hidrogen, dan oksigen seperti halnya eosin dan methylene blue namun dalam methylene blue tidak mengandung Oksigen. Adanya kandungan tersebut dapat mempengaruhi kadar pewarna yang di hasilkan brazilin dan juga pH yang dimiliki brazilin akan berwarna merah pada pH netral dan pada pH basa akan berwarna merah keunguan hal tersebut sangat mirip dengan eosin dan methylene blue yang terdapat pada pewarna giemsa. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin mengetahui bagaimana memanfaatkan pewarna alami dari Secang (*Caesalpinia sappan* L.) sebagai pewarna alami pengganti giemsa.

#### **Bahan dan Metode**

Terdapat berbagai macam jenis zat pewarna di Laboratorium yang dapat di gunakan untuk mewarnai sel maupun jaringan. Salah satu di antaranya yaitu Giemsa. Giemsa adalah metode pewarnaan mikroskopis yang di kembangkan oleh Gustav Giemsa (Bracia, 2007). Metode pewarnaan giemsa pada awalnya di rancang terutama untuk mewarnai parasit plasmodium yang dapat menyebabkan penyakit malaria. Akan tetapi dapat juga digunakan untuk pewarnaan histologi untuk mewarnai kromatin, membran inti sel, metachromasia dan berbagai komponen sel lainnya. Pewarnaan giemsa paling bagus dan sering digunakan untuk mengidentifikasi parasit (Hormalia, 2017)

Di dalam giemsa terdapat beberapa kandungan kimia sebagai penyusun larutan yaitu eosin, methylene blue, dan azur (Gandasoebrata, 2007). PH pada larutan giemsa yaitu pH 7 atau sering disebut giemsa stock pH 7 (Depkes RI, 1993). Pengencer pada giemsa biasanya air pengencer dengan pH 6,8-7,2 ( paling ideal 7,2) (Depkes RI, 1993). Eosin dan Methylene blue yang terdapat dalam giemsa dapat menimbulkan efek yang negatif bagi tubuh kita apabila

digunakan terus menerus diantaranya apabila tertelan menimbulkan iritasi saluran pencernaan, menimbulkan sianosis apabila terhirup, dan apabila terpapar pada kulit secara langsung menimbulkan iritasi (Hamdaoui, dan Chiha, 2006). Selain itu, juga memiliki dampak buruk bagi lingkungan terutama air yang tercemar limbah kimia tersebut dan tanaman di sekitar pembuangan limbah pewarnaan giemsa.

Di Indonesia banyak sekali tanaman-tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami yang ramah lingkungan dan tidak berbahaya bagi kesehatan kita. Salah satu diantaranya yaitu Secang. Secang (*Caesalpinia sappan* L.) adalah tanaman Leguminosae yang pada umumnya dikenal sebagai kayu brazil atau sappan. Kandungan utama pada secang (*Caesalpinia sappan* L.) yaitu Brazilin. Menurut Sanusi (1993), dikatakan bahwa kayu secang dapat di gunakan sebagai pewarna alami karena mengandung brazilin yang memiliki pigmen warna merah dan memiliki sifat yang mudah larut dalam air. Brazilin memiliki kandungan zat warna merah-sappan, asam tanat dan asam galat. Brazilin atau brazilin (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>) memiliki arah warna yang berbeda-beda sesuai kadar pH. Brazilin akan berwarna kuning apabila berada pada pH 2-5, sedangkan pada pH 6-7 akan menghasilkan warna merah, dan pada pH 8 ke atas akan berwarna merah keunguan (Safitri *et al*, 2009).

Brazilin mengandung Karbon, Hidrogen, dan oksigen seperti halnya eosin dan methylene blue namun dalam methylene blue tidak mengandung Oksigen. Adanya kandungan tersebut dapat mempengaruhi kadar pewarna yang di hasilkan brazilin dan juga pH yang dimiliki brazilin akan berwarna merah pada pH netral dan pada pH basa akan berwarna merah keunguan hal tersebut sangat mirip dengan eosin dan methylene blue yang terdapat pada pewarna giemsa. Berdasarkan

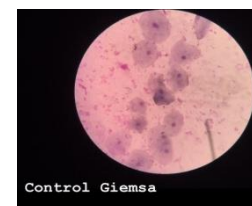
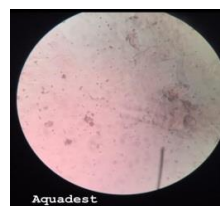
latar belakang tersebut peneliti ingin mengetahui bagaimana memanfaatkan pewarna alami dari Secang (*Caesalpinia sappan* L.) sebagai pewarna alami pengganti giemsa.

### Hasil

Kualitas hasil pengecatan preparat Buccal Smear dengan menggunakan pelarut metanol, aquadest, dan alkohol 96% memiliki intensitas warna yang berbeda-beda hal tersebut disebabkan karena perbedaan pelarut dan juga dipengaruhi oleh kadar pH (Tabel 1). Pelarut metanol menghasilkan warna orange pudar karena pH ekstrak secang dengan pelarut metanol sekitar pH 4-5. Sedangkan, dengan pelarut aquadest pewarna luntur dan tidak menghasilkan warna pada preparat buccal smear karena tidak ada ikatan antara pelarut dengan ekstrak secang. Pada pewarnaan dengan pelarut alkohol 96% + KOH 10% dengan metode evaporasi dan non evaporasi menghasilkan warna pink-merah karena pH ekstrak secang dengan pelarut alkohol 96% ditambah dengan KOH 10% sehingga pH larutan tersebut menjadi basa sekitar pH 8-9.

Tabel 1. Hasil Pengamatan

Jenis pelarut	Hasil pewarnaan
Aquadest	Tidak tampak
Metanol	Tampak
Alkohol 96% + KOH 10% ( secang non evaporator )	Tampak
Alkohol 96% + KOH 10% ( secang evaporator )	Tampak
Alkohol 96% + Buffer A+ BufferB	Tidak tampak

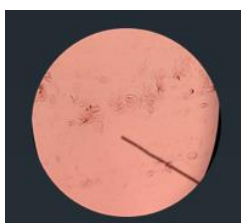




Gambar 3. Preparat bucal smear pearut methanol



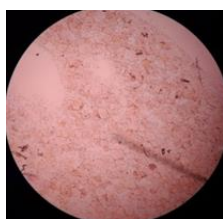
Gambar 4. Preparat bucal smear pelarut alkohol 96% + KOH 10% non evaporasi



Gambar 5. Preparat bucal smear + buffer A + buffer B dalam waktu 15 menit



Gambar 6. Preparat bucal pelarut alkkohol 96% + KOH 10% evaporasi



Gambar 7. Preparat Bucal Smear pelarut alkohol 96% + Buffer A + Buffer B dalam waktu 30 menit .

### Diskusi

Pewarnaan dengan menggunakan ekstrak secang dengan menggunakan variasi pelarut seperti aquadest, metanol, (alkohol 96% + KOH 10% non evaporasi dan evaporasi), dan alkohol 96% ditambah buffer A+buffer B pada preparat buccal smear menghasilkan warna serta tampak tidaknya epitel yang berbeda-beda. Dari variasi pelarut tersebut kita dapat mengetahui warna yang dihasilkan serta kualitas epitel dari pewarna ekstrak secang pada preparat buccal smear. Hasil pewarnaan yang di dapat paling baik yaitu pada pewarnaan dengan pelarut alkohol 96% + KOH 10% dengan metode evaporasi dan non evaporasi menghasilkan warna pink-merah hal tersebut disebabkan karena pH

ekstrak secang dengan pelarut alkohol 96%

Gambar 1. Preparat arutan Gambar 2. Preparat a bucal smear kontrol it mer bucal smear pelarut I giemsa pH 6- aquadest 1 warna merah, dan pada pH 8 ke atas akan berwarna merah keunguan (Safitri et al, 2009).

Adanya perlakuan ekstraksi ternyata sangat berpengaruh terhadap arah dan kepekatan warna. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa kimia yang mempunyai sifat dapat berubah dan bereaksi pada kondisi suhu tertentu dalam lingkungan asam basa. Pada kondisi tersebut senyawa kimia dapat bereaksi maupun terurai menjadi senyawa jenis lain atau muncul senyawa baru yang memberikan warna yang berbeda dari kondisi awalnya. Suhu ekstraksi yang tinggi akan semakin merah, hal ini sesuai dengan pendapat (Heyne, 1987) yang mengatakan bahwa kandungan kimia pada kayu secang meliputi tanin, asam galat, resorsin dan pigmen merah yang mempunyai sifat larut dalam air panas. Selanjutnya dikatakan bahwa brazilin apabila mengalami oksidasi akan mengalami perubahan menjadi senyawa brazilin yang berwarna merah kecoklatan.

Saat pengamatan sel masih dalam bentuk asalnya, tidak terjadi plasmolisis atau krenasi. Didalam preparat masih terdapat kotoran hal ini diduga berasal dari kotoran yang ada di dalam mulut yang ikut terambil saat pengambilan epitelium mukosa menggunakan tangkai skapel. Pengambilan sampel epitel mukosa juga sangat berpengaruh karena apabila kotoran dalam mulut ikut terambil dan peletakan pada preparat dengan cara tidak di rentangkan maka hasil yang di dapat juga tidak jernih dan menumpuk. Preparat epitelium mukosa mulut merupakan preparat yang bersifat sementara olehsebab itu preparat harus dengan cepat diamati supaya sel tidak mengering. Sebaiknya sebelummelakukan praktikum mulut harus dalam keadaan bersih, dapat dilakukan dengan berkumur terlebih dahulu, sehingga tidak ada kotoran yang terambil saat pengambilan epiteliummukosa

mulut. Dan diusahakan ketika merentangkan preparat epitelium mukosa mulut selharus direntangkan seluruhnya dan dilakukan lebih teliti agar semua sel epitelium mukosamulut dapat diamati dan tidak ada sel yang bertumpuk-tumpuk.

Pada pewarnaan dengan ekstrak secang pada preparat buccal smear sudah tampak epitel yang artinya pewarna secang dapat digunakan untuk melihat bentuk epitel pada preparat buccal smear. Tampak atau tidaknya epitel pada pewarnaan preparat buccal smear dengan ekstrak secang dan pelarutnya menandakan adanya ikatan antara epitel dengan pewarnaekstark secang. Sedangkan pada pewarnaan pelarut aquadest dan pelarut alkohol 96% + buffer A + buffer B pewarna luntur dan dan tidak tampak epitel pada preparat buccal smear karena tidak ada ikatan antara pelarut dengan ekstrak secang. Kualitas warna yang dihasilkan yaitu warna orange dan pink-merah belum sama dengan warna giemsa yaitu warna ungu. Maka sebab itu, dapat dilakukan penelitian lebih dengan pewarna ekstrak secang dengan variasi pelarut serta dapat berpotensi untuk pewarnaan sitologi seperti swab vagina atau pemeriksaan cairan pleura.

#### Referensi

- Balaciart. Daniel. 2004. Evaluation of Keratinization and Agnors Count in Exfoliative Cytology of Normal Oral Mucosa from Smokers and Non-Smokers. *Med Oral*. 9:197-203.
- Bracia, J.J. 2007. The Giemsa Stain: Its History and Aplicators. 15:292.
- Campbell. Neil. 2004. *Biologi*. Edisi Kelima. Jilid III. Jakarta: Penerbit Erlang]ga.
- Departemen Kesehatan RI. 1993. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Jakarta : Depkes RI pp 15-17.
- Gandasoebrata. 2007. Penuntun Laboratorium. Jakarta : Dian Rakyat. 23-24.
- Hamdaoui, O. Chiha, M. 2006. Removal of Methylene blue from Aqueous Solution. 54: 407-418.
- Harley, J.P.Prescott, L.M. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology* The McGraw-Hill compaines.
- Hernani. Risfaheri . Hidayat, T. 2017. Ekstraksi dan Aplikasi Pewarna Alami Kayu Secang dan Jambal dengan Beberapa Jenis Pelarut. 34:113-124.
- Hormalia, H. Haitami, H. Arsyad, M. Pengaruh Variasi pengenceran. 1-13.
- Jain, S., Pancholi,. B. Jain, R. 2012. Antimicrobial, free radical scavenging activities and chemical composition of *Peltophorum pterocarpum* Baker ex K. Heyne stem extract. *Der Pharma Chemica*, 4(5). 2073–2079.
- Panovska, T.K. Kulevanova, Stefova. 2005. In Vitro Antioxidant Activity of Some *Teucrium* Spesies (Lamiaceae). *Acta Pharm*. 55:207- 214.
- Rahmawati, F. 2011. Kajian potensi ‘wedang uwuh’ sebagai minuman fungsional. 619-631.
- Roni P. 2017. Studi Perbandingan Jumlah Parasit Malaria Menggunakan Variasi Waktu Pewarnaan Pada Konsentrasi Giemsa 3% di Laboratorium RSUD Dr.H. Chasan Boesoirie Ternate. 23-27.
- Sa’ati, E.A. Khoridah, L.A. Wachid M. Winarsih S. 2012. Kopigmentasi Tiga Ekstrak Antosianin dengan Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) dan Aplikasi pada Permen Jelly Sirsak. 178-186
- Heyne K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wanajaya.