
 <p>UNIVERSITAS ABDURRAB</p>	<p>Klinikal Sains 12 (2) (2024) JURNAL ANALIS KESEHATAN KLINIKAL SAINS http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal</p>	
<p>MODIFIKASI AMONIUM OKSALAT DENGAN PEWARNA ALAMI BIT MERAH SEBAGAI FORMULA BARU REAGEN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT</p> <p>Agus Widodo¹, Kartika Ikawati² Program Studi Analis Kesehatan, Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang Jl. Jend. Sudirman 350 Semarang Telp.(024)609684 Alamat email ;kartika.ikawati56@gmail.com</p>		
<p>Info Artikel</p> <hr/> <p><i>Sejarah Artikel:</i></p> <p>Diterima September 2024</p> <p>Disetujui November 2024</p> <p>Dipublikasikan Desember 2024</p> <hr/> <p><i>Keywords: trombosit ; dye red bit ; Amonium oksalat</i></p> <hr/>	<p>Abstrak</p> <p>Hitung jumlah trombosit metode Brecker koncrete dengan reagen Amonium oxalate 1% mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat mewarnai trombosit sehingga sulit dihitung. Bit merah mengandung pewarna alami yang dapat mewarnai organela trombosit. Penelitian ini bertujuan membuktikan kemampuan modifikasi Amonium oksalat dengan pewarna alami bit merah (<i>Beta vulgaris L</i>) sebagai formula baru reagen hitung jumlah trombosit. Jenis penelitian ini <i>eksperimen laboratory</i> dengan perbandingan hitung jumlah trombosit menggunakan reagen Amonium oksalat 1% dan modifikasi Amonium oksalat-ekstrak bit merah perbandingan 1:1, 1:2, 2:1 dan cara otomatis sebagai <i>gold standar</i>. Sebagai obyek penelitian adalah darah vena EDTA dari 30 sampel mahasiswa AAK 17 Semarang yang diambil dengan teknik sampling <i>convenience</i>. Hitung trombosit cara manual menggunakan metode Brecker koncrete dengan bilik hitung dan cara otomatis menggunakan hematology analyzer. Ketajaman pewarnaan trombosit dinilai di bawah mikroskop. Uji perbandingan menggunakan <i>Repeated Anova</i>. Hasil penelitian mendapatkan warna trombosit yang diperiksa dengan reagen modifikasi Amonium-bit (1:2) lebih tajam dengan rata-rata jumlahnya mendekati <i>gold standard</i>. Hasil uji komparatif didapatkan sig 0.069 (> 0.05) atau tidak ada perbedaan yang signifikan. Ekstrak bit (<i>Beta vulgaris L</i>) berpotensi sebagai alternatif pewarna alami pada hitung jumlah trombosit cara manual (Brecker koncrete).</p> <p>Kata Kunci: trombosit, bit merah, Amonium oksalat</p> <p>Abstract</p> <p><i>Platelet count using the Brecker concrete method with 1% Ammonium oxalate reagent has a weakness that it cannot color platelets so that they are difficult to count. Red beet contains natural dyes that can color platelet organelles. This study aims to prove the ability of Ammonium oxalate modification with natural red beet dye (Beta vulgaris L) as a new formula for platelet count reagents. Method. This type of research is a laboratory experiment with a comparison of platelet counts using 1% Ammonium oxalate reagent and modification of Ammonium oxalate-red beet extract in a ratio of 1: 1, 1: 2, 2: 1 and automatic methods. The object of research is EDTA venous blood from 30 samples of AAK 17 Semarang students taken using the convenience sampling technique. Manual platelet counts using the Brecker concrete</i></p>	

	<p><i>method with a counting chamber and an automatic method using a hematology analyzer. The sharpness of platelet staining is assessed under a microscope. The comparison test uses Repeated Anova. The results of the study showed that the color of platelets examined with the Ammonium-bit modification reagent (1: 2) was sharper with an average number approaching the gold standard. The statistical test results obtained sig 0.069 (> 0.05) or no significant difference. Beet extract (Beta vulgaris L) has the potential as an alternative natural dye in manual platelet counts (Brecker koncrete)</i></p> <p>keywords : trombosit, red bit, Amonium oksalat</p> <p style="text-align: right;">© 2024 Universitas Abdurrab</p>
<p>✉ Alamat korespondensi: Perum Villa Durian No 56, RT.13.RW.01 Srandol Wetan Banyumanik Semarang</p> <p>E-mail: kartika.ikawati56@gmail.com</p>	<p style="text-align: right;">ISSN 2338-4921</p>

PENDAHULUAN

Di dalam tubuh kita terdapat tiga jenis sel darah yaitu ; eritrosit, leukosit dan trombosit. Trombosit mempunyai fungsi utama sebagai sumbat pada cedera vaskuler, sehingga tubuh tidak mengalami kehilangan darah. Trombosit berupa fragmen tidak berinti terdiri dari bagian plasma dan bagian yang bergranula. Sel ini berukuran 1-4 μm dengan volume 7-8 fl. Jumlah trombosit pada keadaan normal 150.000-450.000 / μL (Guyton, 2014). Sifat sel mudah agregasi, aglutinasi, mudah pecah dan sulit dibedakan dengan kotoran. Data hitung jumlah trombosit digunakan untuk membantu penegakan diagnosa dan perjalanan penyakit (Hoffbrand, 2016).

Hitung sel trombosit dapat dilakukan dengan cara manual dan otomatis. Hitung sel cara otomatis mempunyai kelebihan yaitu cepat, praktis dan lebih akurat. Sedangkan kekurangannya harganya mahal, tidak setiap laboratorium klinik sederhana memiliki alat ini. Alat otomatis juga tidak dapat membaca hasil jika terdapat abnormalitas bentuk dan ukuran sel. Pada keadaan seperti ini diperlukan hitung cara manual sebagai metode konfirmasi. Salah satu hitung jumlah trombosit cara manual yang menjadi rujukan adalah metode Brecker koncrete (Wuan,2021). Kelebihan metode ini adalah reagen Amonium oksalat mampu melisis eritrosit dan leukosit tetapi trombosit tidak lisis sehingga dapat dihitung di bawah mikroskop. Kelemahannya reagen tidak mengandung zat warna sehingga trombosit hanya nampak mengkilat dengan latar belakang jernih. Kondisi ini menyulitkan pembacaan dengan mata telanjang (Dhiana, 2022). Oleh karena itu perlu upaya inovatif untuk menyempurnakan reagen ini dengan penambahan zat warna.

Tren baru saat ini adalah kesadaran untuk beralih dari penggunaan zat warna sintetis ke zat warna alami yang mendukung inovasi *green chemistry*. Penggunaan pewarna alami yang mempunyai kemampuan sebagai molekul fluoresen dalam aplikasi bio-imaging dan biomedis banyak menarik perhatian karena ramah lingkungan, murah, aman dan terbarukan (Polturak and Aharoni, 2018). Salah satu tanaman yang menghasilkan pigmen alami adalah bit merah/Beet root. Bit merah mengandung pigmen betalain yang terdiri dari dua kelompok warna yaitu betaxanthin yang berwarna kuning-oranye dan betacyanin berwarna merah-ungu (Bartosz., 2021). Pewarna bit merah dari betalain dapat diperoleh secara optimal dengan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol. Pigmen betanin sebagai turunan dari betacyanin yang berperan dalam pembentukan warna merah (E-162) dapat mencapai 0,5 g/kg berat basah bit (Bartosz., 2021).

Prinsip kerja pewarnaan trombosit dengan zat warna betalain didasarkan adanya RNA dan organela sel lainnya pada sitoplasma yang menyerap zat warna. Molekul bit merah berpotensi memberikan efek fluoresen pada sel (Bartosz, 2021). Penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan adalah penggunaan pewarna dari bit merah untuk pengecatan SADT (Islawati dkk, 2021), pewarnaan sperma (Mamay, 2023) dan pengecatan gram (NauE *et al.*, 2022) Penelitian tersebut menyimpulkan pigmen bit merah berpotensi sebagai pewarna pada organela sel. Penelitian ini bertujuan membuktikan kelebihan modifikasi Amonium oksalat dengan pewarna alami bit merah (*Beta vulgaris L*) sebagai formula baru reagen hitung jumlah trombosit.

METODE

Jenis penelitian ini adalah *eksperiment laboratory* dengan metode komparatif. Reagen pengencer yang dibandingkan kualitas pewarnaan dan hitung jumlah trombosit adalah reagen Amonium oksalat 1%, modifikasi ekstrak bit merah dengan Amonium oksalat perbandingan 1:1, 1:2, 2:1. Reagen ini digunakan pada hitung manual menggunakan bilik hitung Improved Neubauer. Sebagai *gold standar* adalah cara otomatis menggunakan alat hematologi analyzer. Obyek penelitian ini adalah darah *whole blood* dari 30 sampel mahasiswa AAK 17 Agustus 1945 Semarang dengan teknik *sampling convenience*. Pewarna alami dari bit merah dibuat dengan cara ekstraksi dengan etanol yang dilakukan di Lab Farmasi UNISULA. Hitung trombosit cara manual dilakukan di laboratorium AAK 17 Semarang sedangkan cara otomatis dilakukan di Lab Kesmas Kota Semarang.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah; bilik hitung Improved Neubauer, mikroskop, hematologi analyzer, mikropipet, tabung reaksi, labu takar, gelas ukur, beakerglass, *rotary evaporator*, corong, pipet tetes, spuit injeksi, timbangan digital, pisau, thermometer, stopwatch, hot plate, oven,

pH meter, kertas saring, cawan porselin. Bahan yang diperlukan adalah ; buah bit, etanol, darah vena dengan antikoagulan EDTA, Ammonium oxalate 1%, aquadest.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Ekstrak Bit

Ekstraksi etanol dilakukan dengan cara remaserasi. Umbi bit merah dikupas dan dipotong kecil, kemudian dikeringkan pada suhu kamar, dan diolah menjadi bubuk powder. Sebanyak 150 g bubuk bit dimaserasi dengan 250 ml etanol 80% dalam wadah dan dishaker 2 hari pada suhu kamar. Hasil maserasi disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 50°C (Lazăr, S. *et al.* 2021)

2. Pembuatan Reagen Modifikasi Amonium oxalate dan Bit

Formula baru modifikasi Amonium oksalat dengan ekstrak bit merah (perbandingan 1 : 1) sebagai berikut : 1). Ditimbang 1g Amonium oksalat dan 1 g ekstrak etanol bit merah di neraca elektrik. 2). Memasukkan ke dalam labu takar. 3). Menambahkan aquadest ad 100 ml. Pembuatan reagen diulang dengan perbandingan Amonium oksalat dengan ekstrak bit merah 1: 2 dan 2:1.

3. Prosedur Pemeriksaan Hitung Trombosit Cara Manual (Brecher koncrete)

Pemeriksaan hitung trombosit cara manual dilakukan dengan mengencerkan darah vena EDTA dengan reagen pereaksi di dalam tabung. Campuran tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam bilik hitung Improved Neubauer dan dihitung jumlah trombositnya pada kotak seluas 1 mm² dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x (Wuan dkk, 2020).

4. Pengamatan Warna Trombosit

Pengamatan terhadap ketajaman pewarnaan dilakukan bersamaan dengan hitung trombosit pada bilik hitung. Penilaian dilakukan secara kualitatif dengan menyebut warna trombosit (Wuan dkk, 2020)

5. Hitung Jumlah Trombosit Cara Otomatis dengan Alat Hematology Analyzer

Cara ini dilakukan dengan prinsip kerja *Impedance flow cytometri*. Alat akan menghitung trombosit yang masuk melalui pipa yang disesuaikan dengan ukuran sel. Sinar laser akan mengenai sel dan akan terserap oleh sel, sehingga dapat terbaca jumlahnya (Wuan dkk, 2020).

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara deskriptif yaitu menggambarkan pewarnaan trombosit dan analisis komparatif untuk membandingkan jumlah trombosit. Analisis komparatif dilakukan dengan uji *statistic Repeated Anova* untuk mengetahui formula yang optimal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit terhadap 30 sampel menggunakan metode otomatis dan manual dengan reagen Amonium oksalat 1% dan modifikasi Amonium oksalat dengan ekstrak bit perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Hitung Jumlah Trombosit

Metode dan Reagen	N	Min (sel/ μ L)	Mak (sel/ μ L)	Mean ((sel/ μ L)	Std. Deviation
Cara otomatis	30	193.000	459.000	300.333	70.418.127
Amonium oksalat 1 %	30	166.000	355.000	254.566	54.340.994
Amonium oksalat-bit (1:1)	30	176.000	399.000	270.336	59.355.449
Amonium oksalat-bit (1:2)	30	190.000	440.000	307.166	71.429.291
Amonium oksalat-bit (2:1)	30	169.000	361.000	255.900	55.305.016

Berdasarkan tabel 1. di atas diketahui bahwa rata- rata jumlah trombosit yang dihitung dengan cara otomatis didapat 300.333 sel/ μ L, dengan nilai minimal 193.000 sel/ μ L dan maksimal 459.000 sel/ μ L. Rata-rata jumlah trombosit terbanyak yang dihitung dengan dengan reagen modifikasi Amonium oksalat-bit (1:2) sebanyak 307.166 sel/ μ L. Sedangkan jumlah trombosit paling sedikit yang dihitung denga reagen tunggal Amonium oksalat 1% diperoleh rata-rata 254.566 sel/ μ L. Selisih jumlah trombosit cara otomatis dan manual dapat dilihat pada tabel berikut ini :

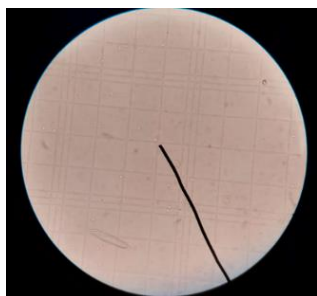
Tabel 2. Selisih Hasil Hitung Jumlah Trombosit

Metode	Jumlah (sel/ μ L)	Reagen	Jumlah (sel/ μ L)	Selisih	%
Otomatis	300.333	Amonium oksalat 1%	254.566	45.767	15,2
		Amonium oksalat-bit (1:1)	270.336	29.997	9,9
		Amonium oksalat-bit (1:2)	307.166	6.833	2,3
		Amonium oksalat-bit (2:1)	255.900	44.433	14,8
Amonium oksalat 1%	254.566	Otomatis	300.333	45.767	15,2
		Amonium oksalat-bit (1:1)	270.336	15.770	6,19
		Amonium oksalat-bit (1:2)	307.166	52.600	20,7
		Amonium oksalat-bit (2:1)	255.900	1.334	0,52

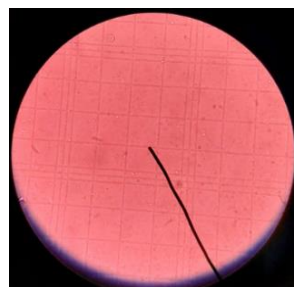
Pada tabel 2 diketahui bahwa, apabila dibandingkan dengan cara otomatis maka jumlah trombosit yang paling mendekati adalah yang dihitung dengan reagen modifikasi Amonium oksalat-bit perbandingan (1:2) dengan selisih 6.833 sel/ μ L atau 2,3% lebih banyak daripada cara otomatis. Hal sebaliknya jika dibandingkan dengan reagen tunggal Amonium oksalat 1% maka jumlah trombosit yang dihitung

reagen modifikasi perbandingan 1:2 didapatkan selisih yang paling banyak yaitu 52.600 sel/ μ L atau 20,7% lebih banyak.

Pengamatan morfologi trombosit di bawah mikroskop dilakukan dengan pembesaran 400x. Pengamatan morfologi trombosit untuk mengetahui kualitas pewarnaan trombosit. Perbedaan pewarnaan dapat dilihat pada gambar 1 dan 2 di bawah ini :



Gambar 1. Amonium oxalate 1%



Gambar 2. Modifikasi Amonium oxalat 1%-bit Perbandingan (1:2)

Berdasarkan pada gambar 1 nampak trombosit yang dihitung dengan Amonium oxalat 1% tidak berwarna dan latar belakang jernih. Sedangkan trombosit yang diperiksa dengan reagen modifikasi Amonium oxalat : bit perbandingan (1:2) nampak berwarna orange-merah muda dengan latar belakang kemerahan seperti yang terlihat pada gambar 2.

Berdasarkan uji normalitas data didapatkan semua kelompok data berdistribusi normal ($\text{sig} > 0.05$). Selanjutnya dilakukan uji perbedaan menggunakan *Repeated Anova* tes dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Uji *Pairwise Comparisons Repeated Anova*

Metode	<i>Pairwise Comparisons</i>	<i>Sig</i>
Otomatis	Amonium oxalat 1%	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (1:1)	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (1:2)	0.069
	Amonium oxalat 1% : bit (2:1)	0.000
Amonium oxalat 1%	Otomatis	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (1:1)	0.003
	Amonium oxalat 1% : bit (1:2)	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (2:1)	0.760
Amonium oxalat 1% : Bit (1:1)	Otomatis	0.000
	Amonium oxalat 1%	0.003
	Amonium oxalat 1% : bit (1:2)	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (2:1)	0.003
Amonium oxalat 1% : Bit (1:2)	Otomatis	0.069
	Amonium oxalat 1%	0.000

	Amonium oxalat 1% : bit (1:1)	0.000
	Amonium oxalat 1% : bit (2:1)	0.000
Amonium oxalat 1% : Bit (2:1)	Otomatis	0.000
	Amonium oxalat 1%	0.760
	Amonium oxalat 1% : bit (1:1)	0.003
	Amonium oxalat 1% : bit (1:2)	0.000

Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa perbedaan jumlah trombosit tidak bermakna didapatkan antara metode otomatis dengan modifikasi Amonium oxalat-bit perbandingan (1:2) dengan sig 0.069 (> 0.05) dan antara reagen Amonium oxalat 1% dengan modifikasi Amonium oxalat : bit (2:1) dengan sig 0.760 (> 0.05). Didapatkan perbedaan bermakna antara trombosit yang dihitung dengan reagen tunggal Ammonium oxalat1% dengan reagen modifikasi perbandingan 1:1 dan 1:2 dengan sig < 0.05

Hitung jumlah trombosit cara manual dengan reagen modifikasi Amonium oxalat sebagai metode konfirmasi diharapkan dapat mengatasi kekurangan cara otomatis yang tidak dapat membaca trombosit dengan kelainan morfologi (Ajeet, 2023). Berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop diketahui bahwa trombosit yang dihitung dengan reagen modifikasi Amonium oxalat-bit (1:2) terwarnai orange-merah muda. Apabila dibandingkan dengan reagen lainnya, konsentrasi ini memberikan pewarnaan yang paling baik. Hasil penelitian ini mendapatkan jumlah trombosit yang mendekati *gold standard* adalah yang dihitung dengan reagen modifikasi Amonium oxalat-bit (1:2) dengan selisih 6.833 sel/ μL (2,3%). Secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna dengan sig 0.069 (> 0.05).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Jangbhadur (2020), yang mendapatkan jumlah trombosit rata-rata dengan cara otomatis 1,70/ μl dan cara bilik hitung 1,77/ μl atau tidak ada variasi yang signifikan dengan nilai sig 0,57. Penelitian Jangbhadur mendapatkan jumlah trombosit cara bilik hitung lebih banyak dibanding cara otomatis (Singh, *et.al.* 2020). Hasil penelitian Ramadhani (2020) mendapatkan hasil pemeriksaan trombosit secara manual dengan reagen Amonium oxalate lebih mendekati cara otomatis yaitu *gold standard* hematology (Dhiana, 2022). Demikian halnya dengan hasil penemuan (Geelani, *et.al.*, 2017) yang mendapatkan jumlah trombosit cara manual lebih tinggi. Hal itu kemungkinan disebabkan oleh adanya trombosit berukuran besar. Trombosit raksasa dengan ukuran 10-20 μm tidak dapat dihitung oleh alat otomatis tetapi dapat diamati di bilik hitung (Geelani *et al.*, 2017).

Penambahan ekstrak bit pada reagen Amonium oxalat menyebabkan angka temuan trombosit lebih banyak, karena trombosit terwarnai. Hasil penelitian ini diperkuat dengan penelitian Undakong (2018) yang membuktikan bahwa pewarna alami dalam buah bit mengandung gugus hidroksil atau fenolik yang berperan dalam kemampuan pewarnaan sel darah (Udonkang, *et.al.*, 2018). Meskipun

trombosit tidak berinti tetapi masih bisa melakukan sintesis protein karena memiliki kandungan RNA, mikrotubulus, lisosom dan organela lainnya yang menyerap zat warna. Sedikit berbeda dengan hasil penelitian Islawati (2021), yang meneliti ekstrak betasianin sebagai pewarnaan SADT, mendapatkan hasil bahwa pewarnaan pada leukosit dan trombosit kurang baik tetapi pewarnaan terhadap eritrosit cukup baik. Penelitian Islawati menggunakan pelarut methanol-HCl (Islawati,dkk, 2021). Aprita Das (2020), menyatakan bahwa pewarna fluoresensi larut air yang diekstrak dari akar bit sebagai pigmen efisien untuk pencitraan sel yang efektif (Arpita, *et.al*, 2020).

Bit mengandung pewarna betalain yang terdiri dari betacyanin dan betaxanthin. (Ghareaghajlou *et.al*, 2021). Betasianin adalah pigmen berwarna merah hingga ungu yang mengandung residu siklo-3,4-dihidroksifenilalanin (Bartosz,, 2021). Ekstrak etanol pada ekstrak bit membuat Ph ekstrak menjadi tidak asam sehingga menimbulkan efek hiperkromik (intensitas pewarnaan berlebih). Pada penelitian ini ekstrak bit dibuat dengan maserasi etanol menghasilkan pH sedikit asam (pH 5-6,5) dan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C sehingga tetap mendukung proses pewarnaan. Pencampuran Amonium oxalat dengan ekstrak bit tidak merusak stabilitas pewarna dalam bit. Pewarna dalam bit akan mengalami degradasi jika bertemu dengan beberapa kation logam (Fu *et al.*, 2020). Karakteristik betasianin ini yang mungkin mempengaruhi pewarnaan terhadap sel (Islawati, 2021), bakteri (NauE *et al.*, 2022) dan sperma dengan waktu yang relatif cepat (Lazăr *et al.*, 2021). Temuan ini menyarankan kegunaan ekstrak bit merah sebagai pewarna alami yang ditambahkan pada reagen Amonium oxalat pada metode Brecker koncrete untuk mengoptimalkan hitung jumlah trombosit. Pilihan penggunaan pewarnaan alternatif tersebut menjanjikan dalam hal nilai ekonomis dan mengurangi polusi lingkungan karena tidak mengandung senyawa azo karsinogenik.

Kesimpulan

Modifikasi Amonium oxalat dan ekstrak bit merah memberikan tampilan warna orange-merah muda pada trombosit. Rata-rata jumlah trombosit yang dihitung dengan reagen modifikasi Amonium oksalat-bit didapatkan lebih banyak daripada tanpa penambahan ekstrak bit. Modifikasi Amonium oxalat dengan ekstrak bit perbandingan 1:2 merupakan reagen paling optimal karena mendekati gold standar. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa Ekstrak bit (*Beta vulgaris L*) berpotensi sebagai alternatif pewarna alami pada hitung jumlah trombosit cara manual metode Brecker koncrete.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Akademik Pendidikan Tinggi Vokasi (DAPTV) Dirjen Pendidikan Vokasi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini. Terimaakasih kepada LLDIKTI Wilayah VI Jawa Tengah yang telah

mendampingi dan membimbing pelaksanaan penelitian ini serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajeet. K. P. (2023) 'Comparison of Platelet Counts Estimated by Peripheral Blood Smear Examination and Automated Haematology Analyzer', *International Journal For Multidisciplinary Research*, 5(6), pp. 1–8. doi: 10.36948/ijfmr.2023.v05i06.10262.
- Arpita, D., Debarati D., Ajay G. (2020) 'An innovative cell imaging by beet root extracted pigment', *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. [CrossRef] [PubMed]*, 230, p. 118037. doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118037>.
- Bartosz, I.S., Bartos, G. (2021) 'Biological properties and applications of betalains', *J.Molecules*, 26(9), pp. 1–36. doi: 10.3390/molecules26092520.
- Dhiana, G.R. (2022) 'Perbandingan Pemeriksaan Trombosit Cara Rees Ecker dan Amonium Oxalate dengan Gold Standard Hematology Analyzer', *Cerdika: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 2(3), pp. 358–364. doi: 10.36418/cerdika.v2i3.351
- Fu, Y. *et al.* (2020) 'Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), pp. 11595–11611. doi: 10.1021/acs.jafc.0c04241.
- Geelani, S. *et al.* (2017) 'Assessment of Platelet Count in Normal Kashmiri Population', *International Journal of Contemporary Medical Research*, 4(1), pp. 5–8.
- Ghareaghajlou, N., Nezhadi, H.S and Ghasempour, Z. (2021) 'Red cabbage anthocyanins: Stability, extraction, biological activities and applications in food systems.', *Food chemistry*, 365, p. 130482. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130482.
- Guyton, A.C. (2014) *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 12th edn. Jakarta.: EGC.
- Hoffbrand, A.V, Pettit & Moss. (2016). *Kapita Selekta Hematologi*. ed.6
- Islawati, Ridwan, A dan Aryandi, R. (2021) 'Ekstrak Betasianin dari Umbi Bit (*Beta vulgaris*) sebagai Pewarna Alami pada Sediaan Apusan Darah Tepi', *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*, 6(2), pp. 152–160. doi: 10.37362/jkph.v6i2.644.
- Lazăr, S. *et al.* (2021) 'Optimization of betalain pigments extraction using beetroot by-products as a valuable source', *Inventions*, 6(3), pp. 1–11. doi: 10.3390/inventions6030050.
- Mamay, Ernawati and Nurisani, A. (2023) 'Potential of Sappan Wood, Purple Cabbage and Beetroot Extract in Sperm Staining', *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 5(2), pp. 100–111. doi: 10.33086/ijmlst.v5i2.3961.
- NauE, D. A. B., *et al.* (2022) 'Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram', *Husada Mahakam : Jurnal Kesehatan*, 12(1), pp. 19–24.

- Polturak, G., Aharoni, A. (2018) ““La Vie en Rose””: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments’, *Molecular Plant*, 11(1), pp. 7–22. doi: 10.1016/j.molp.2017.10.008.
- Singh, Jangbhadur, Parvaiz, S., Shafi, A., Jeelani, N.M.J. (2020) ‘Comparison Of Platelet Count By Automated And Manual Methods , A Study And Review Of Literature In A Medical College Hospital In Kashmir’, *British Journal of Medical & Health Sciences (BJMHS)*, 2(4), pp. 177–188. Available at: www.jmhsci.org.
- Udonkang, M. I. *et al.* (2018) ‘Spectrophotometry, Physiochemical Properties, and Histological Staining Potential of Aqueous and Ethanol Extracts of Beetroot on Various Tissues of an Albino Rat.’, *Biomedicine hub*, 3(3), pp. 1–10. doi: 10.1159/000492828.
- Wuan, A.O., Yona, A.D., Handayani, A., Santosa, B., Trisna, C., Yayuningsih, D.W., *et.al.* (2021) *Hematologi Teknologi Laboratorium Medik*. 1st edn. Edited by Maharani A.Y. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.

