

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Darah**

Darah adalah cairan yang terdapat didalam tubuh manusia yang berperan sebagai pertukaran  $O_2$  (oksigen) dan  $CO_2$  (karbon dioksida) Serta sebagai media transportasi berbagai bahan antara sel. Darah berfungsi untuk menyangga perubahan pH serta mengeluarkan panas yang berlebih ke permukaan tubuh.

Sebanyak 7-8% berat tubuh manusia ditentukan oleh volume darah yang mengalir setiap waktu melalui pembuluh arteri dan vena yang dipompa oleh jantung. Darah memiliki temperatur normal pada suhu 38 °C dengan pH yang berkisar antara 7,35 hingga 7,45. Volume darah pada manusia berbeda dikarenakan perbedaan antara jenis kelamin, yang dapat menentukan proporsi ukuran tubuh. Laki-laki dewasa memiliki volume darah yang berkisar antara 5–6 L, sedangkan pada wanita dewasa berkisar antara 4–5 L. Darah juga memiliki dua bagian utama yang terdiri dari bagian cair dan bagian padat. Bagian cair yaitu plasma darah dan bagian padatnya tersusun dari sel darah merah (Eritrosit), sel darah putih (Leukosit), dan keping darah (Trombosit). (Rosita, 2019)

##### **1. Plasma Darah**

Plasma darah merupakan cairan matriks ekstraseluler bening dengan sedikit warna yang kekuningan, dan terdiri dari komponen yang meliputi air (92%) dan 8% sisanya terdiri atas glukosa, lemak, protein, vitamin, hormon, enzim, antibodi, karbon dioksida, dan mineral lainnya. (Rosita *et al.*, 2019)

##### **2. Eritrosit (Sel Darah Merah)**

Eritrosit merupakan komponen sel yang memiliki jumlah terbesar di dalam darah dan juga memiliki fungsi sebagai sel pengangkut oksigen di dalam tubuh. Jumlah eritrosit pada laki laki yang berjumlah sekitaran 5,4 juta sel per mikroliter darah, sedangkan untuk wanita yang berjumlah sekitaran 4,8 juta sel per mikroliter darah. Eritrosit berbentuk seperti cakram bikonkaf dengan diameter sekitar 7,5µm, ketebalan sekitar 2,6µm di tepi dan 0.75µm ditengah. (Rosita *et al.*, 2019)

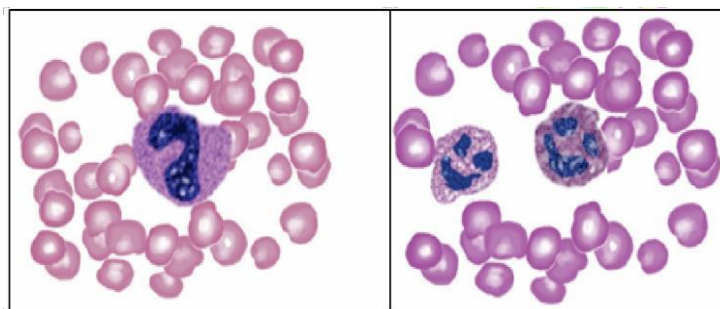
##### **3. Leukosit (Sel Darah Putih)**

Leukosit (*leuko* = putih, *cyte* = sel) atau yang sering disebut sel darah putih merupakan sel darah yang masih mempunyai inti sel, yang berbeda dengan eritrosit. Leukosit juga tidak mempunyai hemoglobin maupun kemampuan untuk membawa

oksigen. Leukosit diklasifikasikan menjadi granular atau agranular tergantung pada ada tidaknya granula sitoplasma (vesikel) yang bisa terlihat di pewarnaan apabila diamati dibawah mikroskop. Leukosit umumnya dibedakan menjadi 5 kelompok, yaitu neutrofil, basofil eosinofil, monosit, dan limfosit. Kisaran jumlah leukosit darah normal adalah  $4,3-10,8 \times 10^9/L$ . Neutrofil dan limfosit menyusun komposisi leukosit dengan presentase terbesar, secara berturut-turut 45-74% dan 16-45%. Sisanya, monosit menyusun 4-10%, eosinofil 0-7%, dan basofil 0-2% dari total leukosit. (Rosita *et al.*, 2019)

a) Neutrofil

Neutrofil mempunyai granula yang lebih kecil dibandingkan leukosit granuler lain, terdistribusi merata dan berwarna lilac pucta. Karena granula tidak tertarik baik pada asam eosin (merah) atau basa (biru), leukosit ini adalah neutrofilik (neutro = neutral, bersifat netral). Myeloblast adalah sel prekursor pertama yang kemudian berkembang menjadi promyelosit. Promyelosit dapat ditandai dengan produksi granula primer, atau disebut juga dengan granula azurofil. Promyelosit berkembang menjadi myelosit, sel yang menghasilkan granula spesifik atau sekunder. Kemudian myelosit mengalami pematangan menjadi neutrofil batang yang dimana inti selnya mengalami perubahan menjadi bentuk batang. Terakhir, neutrofil yang mengalami maturasi lebih lanjut memiliki inti sel yang bersegmen dan mempunyai banyak lobus. (Rosita *et al.*, 2019)

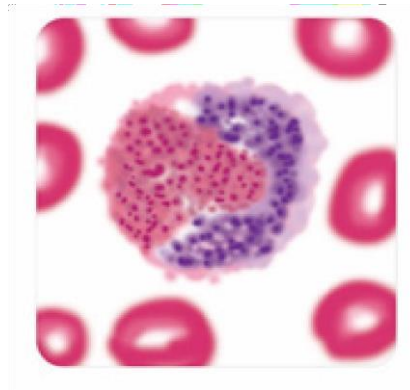


Gambar 2. 1 Dua jenis neutrofil, neutrofil batang (kiri) dan neutrofil bersegmen (kanan) (diadaptasi dari Rodak *et al.*, 2026).

b) Eosinofil

Eosinofil mempunyai granula berukuran besar dan seragam. Eosinofil tertarik kuat pada eosin, atau bersifat eosinofilik (menyukai eosin). Eosin yang berwarna merah-oranye dan bersifat asam, sehingga eosinofilnya akan

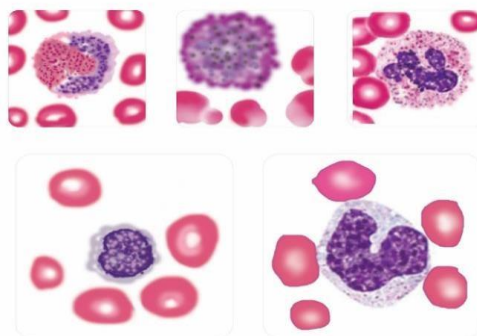
terlihat kemerahan. Eosinofil paling sering memiliki dua atau tiga lobus. (Rosita *et al.*, 2019)



Gambar 2. 2 Eosinofil (Rodak et al., 2016)

c) Basofil

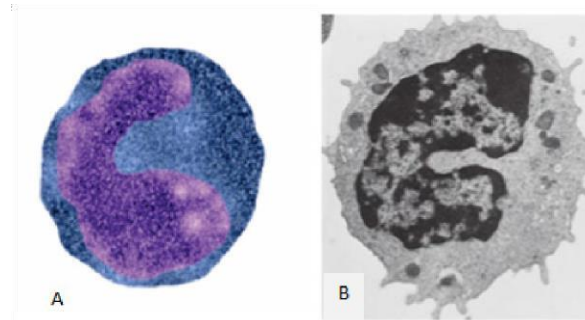
Basophil mempunyai granula yang berbentuk bulat dengan ukuran yang bervariasi, dengan sifat basofil yang sangat menyukai basa atau basofilik. Maka dengan itu, pengecetan menggunakan pewarnaan dasar, basofil tampak terlihat berwarna biru keunguan. Dengan Granula yang memiliki dua lobus. (Rosita *et al.*, 2019)



Gambar 2. 3 Basofil (diadaptasi dari Rodak et al., 2016)

d) Monosit

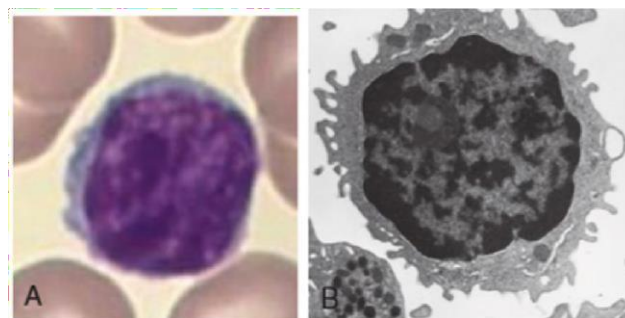
Monosit yang berbentuk seperti ginjal atau berbentuk tapal kuda, dengan sitoplasma yang berwarna biru ke abu-abuan, yang mempunyai granula azurophilic yang sangat halus. (Rosita *et al.*, 2019)



Gambar 2. 4 (A) Monosit yang diamati dengan mikroskop cahaya, (B) Monosit yang diamati dengan mikroskop elektron. (Abbas, Litchman, & Pillai, 2018)

e) Limfosit

Limfosit mempunyai nukleus yang berwarna gelap bulat. Sitoplasmanya berwarna biru langit dan membentuk lingkaran di sekitar nukleus. Limfosit tergolong berukuran kecil dengan diameter 6-9  $\mu\text{m}$  dan besarnya berdiameter 10-14  $\mu\text{m}$ . (Rosita *et al.*, 2019)



Gambar 2. 5 Limfosit dengan pengamatan melalui (A) mikroskop cahaya dan (B) mikroskop elektron (Abbas, Litchman, and Pillai, 2018)

#### 4. Trombosit

Trombosit merupakan fragmen sel dengan ukuran yang sangat kecil, yang berbentuk kepingan dengan berdiameter sekitaran 2-4  $\mu\text{m}$ . Trombosit terbentuk dari hasil pemisahan tonjolan sitoplasma megakaryocyte. Setiap fragmen sel tersebut kemudian memasuki sirkulasi sebagai trombosit dengan densitas 150.000 hingga 400.000 keping  $\mu\text{L}$  ( $\text{mm}^3$ ) darah. Trombosit berperan sebagai dalam proses pembekuan darah dan perbaikan pembuluh darah yang mengalami kerusakan minor, sehingga mencegah terjadinya kehilangan darah dari pembuluh. Dari preparat apus darah tepi, trombosit sangat terlihat seperti berkelompok. (Rosita *et al.*, 2019)

#### B. Sediaan Apusan Darah Tepi ( SADT)

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu pemeriksaan yang dapat digunakan untuk penunjang diagnosis yang berhubungan dengan terapi dan

prognosis. Pemeriksaan hematologi terdiri dari hematologi rutin dan hematologi khusus. pemeriksaan hematologi rutin adalah sediaan apusan darah tepi (SADT).

Sediaan Apus Darat Tepi (SADT) menjadi salah satu pemeriksaan hematologi yang bertujuan untuk pemeriksaan mikroskopis untuk mengamati morfologi sel darah, seperti gambaran darah tepi, jumlah eritrosit, indeks eritrosit, jumlah retikulosit dan trombosit. Pemeriksaan sediaan apus darah tepi meliputi 2 bagian pemeriksaan yaitu pemeriksaan hitung jumlah leukosit (termasuk pemeriksaan rutin) dan gambaran sel darah serta unsur-unsur lain seperti parasit, sel-sel ganas dan melihat serta menilai morfologi sel darah bahkan komponen lain yang dapat memberikan informasi tentang keadaan hematologi seseorang. Pada sediaan perlu dilakukan pewarnaan agar mempermudah proses pemeriksaan sel-sel darah. Sediaan apus yang dibuat dan dipulas dengan baik merupakan syarat yang mutlak untuk mendapatkan hasil makroskopis maupun mikroskopis yang baik.

Spesimen darah yang digunakan pada pemeriksaan SADT adalah darah vena dengan antikoagulan EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*). Untuk mempermudah pengamatan sel dan komponen lainnya pada apus darah tepi dengan tepat, maka sangat perlu dilakukan suatu teknik pewarnaan, yaitu pewarnaan menggunakan cat giemsa, pewarnaan menggunakan cat wright dan pewarnaan menggunakan kombinasi antara cat giemsa dan cat wright, atau yang dikenal dengan istilah cat giemsa-wright.

Slide terlebih dahulu dilapisi oleh lapisan darah yang tipis dan diwarnai dengan pengecatan giemsa atau wright. Tapi, Sebelum pengecatan preparat, terlebih dahulu slide yang dilapisi oleh darah difiksasi menggunakan methanol (methyl alcohol). Dikarenakan Proses fiksasi sangat bertujuan untuk merekatkan apusan darah tepi supaya tidak terkelupas dari preparatnya dan dapat menghentikan proses metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Larutan fiksasi yang tidak baik dikarena terjadinya penguapan atau penurunan konsentrasi, dan dapat mempengaruhi perubahan morfologi sel dan perekatan apusan darah. (Ghofur *et al.*, 2022)

### **1. Giemsa**

Giemsa adalah pewarnaan sediaan apusan darah tepi yang dimodifikasi oleh *Romanowsky* dan *Malachowski* dengan pencampuran *methylene blue*, *eosin* dan *Azur*, Yang memberikan hasil pewarnaan yang sangat lebih jelas dan memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap iklim tropis. (Yati *et al.*, 2023)

Pewarnaan giemsa juga, merupakan pewarnaan yang direkomendasikan dalam pembuatan sediaan apusan darah tepi (SADT). Yang bertujuan untuk mengamati komponen sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit) serta komponen darah yang lain. selain itu, komponen pada pewarna giemsa, terdapat larutan sebagai penyangga yaitu buffer dengan pH 6,8. Penggunaan buffer 6,8 bertujuan untuk mempertahankan pH dari pewarna giemsa sehingga pewarna tidak menjadi basa dan tidak menjadi asam. (Muflihah *et al.*, 2024)

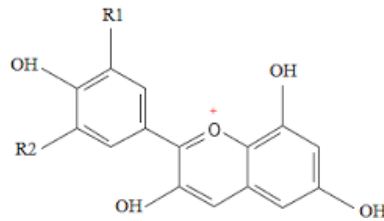
Kekurangan dari pewarnaan giemsa yaitu bersifat toxic, mudah terbakar, dan sulit terurai. Apabila digunakan secara terus menerus, dapat menimbulkan iritasi pada kulit jika terkena secara langsung. Selain itu, pewarna giemsa memiliki harga relatif yang sangat mahal, dan terkadang persediaannya mudah habis atau bahkan kadang sudah kadaluwarsa. Maka dengan itu, Untuk menghindari hal tersebut maka, sangat diperlukan pewarna alternatif sebagai pengganti Giemsa yang lebih aman, ekonomis, mudah didapat dan ramah lingkungan (eco-friendly). Pewarna alami yang lebih aman dapat diperoleh dari buah, bunga, daun, dan batang tanaman yang mengandung pigmen antosianin. (Yati *et al.*, 2023)

## **2. Antosianin**

Antosianin merupakan kelompok pigmen larut air pada tanaman yang paling banyak ditemukan disamping klorofil. Senyawa ini dalam bahasa Yunani berasal dari kata anthos yang berarti bunga dan kyanos yang berarti biru. Antosianin adalah komponen alami yang terakumulasi pada vakuola dan bertanggungjawab untuk warna merah, biru dan ungu pada buah, sayur, bunga dan tumbuhan lainnya. Seringkali, senyawa ini juga terdapat pada daun, batang, biji, dan jaringan lain. Secara umum, pigmen turunan pelargonidin dan sianidin menghasilkan warna merah dan ungu secara berurutan, sedangkan pigmen delphinidin menunjukkan warna ungu atau biru.

Selain itu, mereka berperan sebagai antioksidan dan dalam melindungi deoxyribonucleic acid (DNA) dan aparatus fotosintesis dari fluks radiasi tinggi. Substitusi beberapa gugus kimia pada rangka antosianin dapat mempengaruhi warna yang diekspresikan oleh antosianin dan kestabilannya. Penambahan gugus glikosida atau peningkatan jumlah gugus hidroksil bebas pada cincin A yang menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Sebaliknya,

penambahan gugus metoksi atau metilasi akan menyebabkan warna cenderung merah dan relatif stabil.(Ifadah *et al.*, 2022)



Gambar 2. 6 Struktur Kimia Antosianin (Sumber. Wikipedia,2005)

### C. Bunga Kamboja (*Plumeria rubra* L. cv. *Acutifolia*)

Kamboja Merah (*Plumeria rubra*) adalah salah satu spesies tumbuhan yang termasuk dalam genus *Plumeria* (kamboja). Tumbuhan ini berasal dari Meksiko. Amerika Tengah, Kolombia dan Venezuela. Tumbuhan ini telah dibudidayakan secara luas di daerah beriklim subtropis dan tropis di seluruh dunia dan merupakan tanaman taman (Sanjaya *et al.*, 2024)

klasifikasi ilmiah tanaman kamboja sebagai berikut :

|              |                         |
|--------------|-------------------------|
| Kingdom      | : Plantae               |
| Subkingdom   | : Tracheobionta         |
| Super Devisi | : Spermatophyta         |
| Devisi       | : Magnoliophyta         |
| Kelas        | : Magnoliopsida         |
| Sub Kelas    | : Astreidae             |
| Ordo         | : Gent                  |
| Famili       | : Apoc                  |
| Genus        | : <i>Plumeria</i>       |
| Spesies      | : <i>Plumeria rubra</i> |



Gambar 2. 7 Bunga Kamboja Merah (*Plumeria rubra*) (Sumber. Wiki Loves Earth,2017)

### 1. Morfologi Bunga Kamboja

Tanaman kamboja memiliki ukuran sekitar 3-7 m, dan memiliki getah putih. Tanaman yang berasal Amerika tropik ini biasanya ditanam sebagai tanaman hias dipekarangan, taman, kuburan, atau tumbuh liar. Tumbuh di dataran rendah sampai 700 mdpl. Batang pokok besar, ada pula jenis yang berbatang tinggi tumbuh membengkok, berkayu keras, memiliki banyak cabang yang besar, berdaging, sedangkan cabang muda lunak dan berair terdapat tanda bekas tangkai daun yang telah lepas. Bunga kamboja memiliki jumlah kelopak sebanyak lima helai yang besar dan bentuknya hampir sama. Namun, tiap jenisnya memiliki bentuk dan ukuran yang berbeda. Bunga kamboja senantiasa tumbuh bergerombol pada tiap ujung cabangnya. Masing-masing tangkai mahkota bunga memiliki panjang yang berbeda-beda sesuai dengan jenisnya, panjangnya berkisar 20-40 cm. Pada setiap tandan dapat ditemui puluhan kuntum bunga. Daun kamboja memiliki panjang sekitar 30-40 cm dengan ujungnya yang membulat, ada pula yang meruncing sesuai jenisnya berukuran sekitar 20-30 cm. Permukaan daun ada yang mengkilat, ada pula yang tidak mengkilat. mempunyai tulang daun yang terlihat jelas (Sanjaya *et al.*, 2024)

### D. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif yang larut dengan menggunakan pelarut cair tertentu dari bahan simplisia. Simplisia adalah bahan alami yang berasal dari alam dan belum mengalami proses pengolahan kecuali proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan untuk memperpanjang masa simpan dan mempermudah penggunaannya. Simplisia banyak digunakan sebagai bahan dasar ekstraksi. Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua yaitu berdasarkan suhu pemanasannya yaitu cara dingin dan cara panas. Metode ekstraksi cara dingin meliputi metode maserasi dan perkolasi sedangkan cara panas meliputi refluks, soxhletasi, infusa, dekokta, destilasi, dan digesti. Selain cara panas dan cara dingin terdapat pula metode ekstraksi modern yang meliputi ekstraksi sentrifugasi, superkritikal, dan ultrasonik (sonikasi). (Triyanti *et al.*, 2025)

## 1. Metode Metode Ekstraksi

### a) Ekstraksi padat-cair

Ekstraksi padat-cair merupakan suatu proses memisahkan solute dari padatan yang tidak dapat larut. Selama proses ekstraksi padat-cair terdapat mekanisme yang terjadi yaitu suatu pelarut akan bercampur dengan padatan inert yang menyebabkan permukaan padatan dilapisi oleh pelarut. Proses ini menyebabkan massa pelarut berdifusi pada permukaan padatan inert ke dalam pori padatan inert tersebut. Laju difusi yang terjadi lambat karena pelarut harus menembus dinding sel padatan. Campuran solut yang terdapat dalam pelarut berdifusi keluar dari permukaan padatan inert sehingga bercampur dengan pelarut sisa. (Wahyuningsih *et al.*, 2024)

### b) Ekstraksi Cara Dingin

Metode ekstraksi cara dingin tidak dilakukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung yang bertujuan supaya senyawa yang diinginkan tidak rusak. Berikut beberapa metode ekstraksi cara dingin:

#### a. Maserasi

Maserasi merupakan suatu metode sederhana yang paling banyak digunakan karena dapat digunakan untuk skala kecil maupun skala industri. Cara kerja metode ini pertama masukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert tertutup rapat pada suhu kamar. Ketika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasu dalam sel tanaman maka proses ekstraksi dihentikan. Apabila proses ekstraksi telah selesai maka pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan. Metode ini juga terdapat kelemahan yaitu membutuhkan banyak waktu dalam ekstraksinya, penggunaan pelarut yang cukup banyak, memungkinkan beberapa senyawa hilang, beberapa senyawa kemungkinan sulit diekstrak pada suhu kamar. Metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil pada saat ekstraksi

#### b. Perkolasi

Ekstraksi yang dilakukan secara perkolasi dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang sebelumnya telah dibasahi. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui

serbuk dan akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel hingga jenuh. Tahapan ekstraksi dengan perkolasi dilakukan pada suhu ruang ( $30^{\circ}\text{C}$ ) berguna untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi dengan mengurangi beban bakar sekaligus mengontrol suhu pada proses ekstraksi. Peningkatan kelarutan bahan aktif dalam cairan penyari dipengaruhi oleh suhu. Suhu ekstraksi yang terkontrol diharapkan dapat mengurangi variabilitas penelitian sehingga akan diperoleh rendemen yang banyak. Cara kerja ekstraksi menggunakan metode perkolasi yaitu; masukkan kapas dan kertas saring kedalam alas bulat. Ambil serbuk simplisia 400 g dengan pelarut methanol 1.600 mL dilakukan pada suhu ruang ( $20^{\circ}\text{C}$ - $25^{\circ}\text{C}$ ) kemudian masukkan ke dalam tabung alas bulat lalu maserasi selama 1 jam. Gelas beker diletakkan dibawah tabung alas bulat, selanjutnya buka kran pada labu alas bulat secara perlahan, cairan penyari dapat dialirkan dari atas ke bawah melalui simplisia, zat aktif dalam sel-sel simplisia akan dilarutkan oleh cairan penyari hingga keadaan jenuh. Perkolat yang diperoleh pada saat ekstraksi dikumpulkan, kemudian diuapkan dengan menggunakan penangas air hingga ekstraknya kental (Wahyuningsih *et al.*, 2024)

c) Ekstraksi Cara Panas

Metode ekstraksi cara panas melibatkan proses pemanasan selama ekstraksi berlangsung. Pemanasan akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Berikut beberapa metode ekstraksi cara panas:

a. Ekstraksi refluks

Metode refluks termasuk metode ekstraksi sederhana, murah, dan mudah di upscale pada skala industri. Hasil dari ekstraksi dari metode refluks dapat memberikan rendemen tertinggi dibandingkan menggunakan ekstraksi secara maserasi dan soxhlet. Hal ini karena metode ekstraksi cara panas dapat menyari senyawa yang terkandung dalam simplisia. Metode refluks dapat dilakukan dengan cara yaitu menimbang 50 g simplisia yang telah diperkecil ukurannya, kemudian masukkan ke dalam labu alas dengan menambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 300 mL terlebih dahulu. Masukkan pelarut hingga terendam

antara sampel dan pelarut, lalu panaskan selama 4 jam dengan suhu 70°C. Selanjutnya lakukan penyaringan supaya antara ampas dan filtratnya terpisah. Ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Berikut cara perhitungan rendemen ekstrak:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstra}}{\text{Berat simplisia kering}} \times 100\%$$

b. Soxhletasi

Metode ini dilakukan dengan cara sampel diletakkan di dalam kertas saring. Sampel ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Gunakan pelarut yang sesuai lalu masukkan ke dalam labu dan atur suhu penangas dibawah suhu reflux. Metode soxhlet ini memiliki keuntungan yaitu proses ekstraksi kontinyu, tidak membutuhkan banyak pelarut, tidak membutuhkan waktu yang lama. Selain memiliki keuntungan ekstraksi soxhlet juga memiliki kelemahan yaitu senyawa yang memiliki sifat termolabil terdegradasi disebabkan oleh ekstrak yang diperoleh secara terus menerus berada pada titik didih. (Wahyuningsih *et al.*, 2024)

d) Ekstraksi Cair-cair

Ekstrak cair-cair merupakan suatu pemisahan secara kimia fisika dimana zat yang di ekstraksi dipisahkan dari fasa air menggunakan pelarut organik, yang tidak larut dalam air secara kontak langsung baik secara kontinyu dan diskontinyu. Ekstraksi cair-cair ini memiliki keunggulan yaitu pelarut organik yang digunakan dapat di daur ulang, dapat digunakan berulang, dapat memisahkan asam-asam karboksilat antara satu asam dengan lainnya serta kemurniannya tinggi.

Ekstraksi cair-cair menjadi operasi pemisahan yang unggul, larutan yang akan dipisahkan memiliki sifat fisika yang mirip yaitu memiliki titik didih yang perbedaannya relative kecil. Ekstraksi caircair mempunyai prinsip dasar yaitu suatu larutan akan mengalami pengontakan dengan pelarut (solvent) lain yang tidak melarut (immisible) dengan pelarut asal yang memiliki perbedaan densitas sehingga dapat membentuk dua fasa setelah penambahan pelarut. (Wahyuningsih *et al.*, 2024)

**E. Kerangka Konsep**