

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bunga Kencana Ungu (*Ruellia Simplex*)

1. Pengertian Bunga Kencana Ungu (*Ruellia Simplex*)

Kencana ungu (*Ruellia simplex*) adalah tanaman berbunga yang termasuk dalam famili Acanthaceae. Marga *Ruellia* sendiri merupakan kelompok terbesar kedua dalam keluarga tersebut, dengan sekitar 300 spesies yang tersebar di wilayah tropis dan subtropis. Secara morfologi, tanaman dalam marga ini memiliki bentuk yang sangat beragam, mulai dari herba, semak, hingga pohon. Beberapa spesies *Ruellia* antara lain *R. brevifolia*, *R. costata*, *R. elegans*, *R. repens*, dan *R. tuberosa*. *Ruellia simplex* berasal dari daerah tropis Amerika dan kemudian dibawa serta dibudidayakan sebagai tanaman hias di berbagai wilayah tropis lainnya. Menurut *The International Union for Conservation of Nature* (IUCN), tanaman ini belum masuk dalam daftar spesies terancam punah (red list IUCN). Kencana ungu kini telah tersebar luas di Indonesia, sering dijumpai tumbuh di sepanjang jalan, kawasan semak, dan di sekitar aliran sungai. Selain dikenal sebagai tanaman hias, berbagai kandungan yang bermanfaat bagi manusia telah diketahui oleh kencana ungu. Di beberapa daerah, pemanfaatannya sebagai obat herbal dilakukan oleh masyarakat, sementara sebagian lainnya menggunakannya sebagai pewarna alami, termasuk kain atau batik (Irsyam *et al.*, 2022).

Warna biru-ungu pada bunga Kencana Ungu (*Ruellia simplex*) ditampilkan oleh kandungan pigmen antosianin jenis malvidin dalam jumlah yang cukup banyak pada bagian bunganya. Pigmen ini mampu menghasilkan berbagai variasi warna, seperti merah muda, merah terang, merah tua, ungu, hingga biru pada berbagai bagian tumbuhan, termasuk daun, buah, dan bunga. Antosianin dapat memberi warna karena memiliki struktur ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya pada wilayah cahaya tampak (Sari *et al.*, 2020).



Gambar 1 Bunga Kencana Ungu (*Ruellia Simplex*)
(Dokumen Peneliti, 2025)

Klasifikasi Bunga Kencana Ungu

Adapun klasifikasi bunga kencana ungu sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteriade
Ordo	: Scrophulariales
Family	: <i>Acanthaceae</i>
Genus	: <i>Ruellia</i>
Species	: <i>Ruellia Simplex</i>

2. Morfologi Kencana Ungu

Ruellia simplex dapat berkembang dengan baik pada berbagai kondisi lingkungan, mulai dari area yang banyak air hingga lokasi yang hampir kering. Kemampuan adaptasi yang sangat baik dimiliki oleh tanaman ini, sehingga dapat ditanam pada beragam jenis tanah, seperti tanah liat, tanah masam, tanah berpasir, tanah lempung, hingga tanah yang lembap. Jenis ini juga mampu bertahan baik pada tempat yang terkena sinar matahari langsung maupun area yang teduh. Jumlah bunganya akan meningkat jika tumbuh di lokasi yang mendapatkan cahaya matahari penuh, sedangkan jumlah bunganya cenderung menurun ketika berada di tempat yang banyak naungan. Selain toleran terhadap cahaya matahari, *R. simplex* juga mampu bertahan terhadap kondisi salinitas tinggi dan kekeringan. (Irsyam *et al.*, 2022).



Gambar 2 Morfologi Bunga Kencana Ungu
(Irsyam *et al.*, 2022)

Pada Gambar 2. bagian A. terlihat bagian ranting *Ruellia simplex* sedangkan pada bagian B. (permukaan adaksial daun) dan C. (permukaan abaksial daun) adalah permukaan daun tunggal, berhadapan, helaian daun melonjong, melanset-linier hingga elips liner (Panjang hingga sekitar 25 cm dan lebar 2 cm). Tulang daun menyirip, urat daun melengkung ke ujung dan hampir sejajar dengan tepi daun, menonjol di bawah. Pangkal daun menirus atau meruncing, tepi daun rata-bergerigi, ujung melancip, permukaan adaksial berwarna hijau hingga hijau gelap, permukaan abaksial berwarna lebih pucat. Terlihat pada bagian D. dg (daun gagang) memiliki Panjang sekitar 2,3-85 cm berwarna hijau gelap, ujung melancip. dk (daun kelopak) yang saling berlekatan di bagian pangkal, bercuping atau berlobus 5. dm (daun mahkota) yang berbentuk terompet dengan tenggorokan berwarna ungu gelap, cuping mahkota berjumlah 5 helai, cuping atau lobus membulat, cuping saling berlekatan, berwarna ungu, jambon pucat, atau putih. Pada Gambar 2. bagian E. ts (tangkai sari) berjumlah 4 helai. Ks (kepala sari) melonjong, Panjang sekitar 405 mm, berwarna kecoklatan. Tp (tangkai putik) membenang, mencuat dari leher daun mahkota, berwarna putih atau kehijauan. Kp (kepala putik) membuat telur, pipih, Panjang sekitar 1,5-2 m, berwarna ungu hingga jambon. Dan pada bagian F. terlihat buah biji membulat berukuran 3-4 x 2-3 mm, pipih, lengket. Apabila terkena air biji akan berlendir (Irsyam *et al.*, 2022).

3. Kandungan Bunga Kencana Ungu (*Ruellia Simplex*)

Berbagai senyawa fitokimia dikandung oleh kencana ungu (*Ruellia Simplex*) sehingga banyak kegunaan yang dimiliki oleh tanaman ini bagi masyarakat. Pada bagian batang, ekstraknya sering dimanfaatkan sebagai obat herbal. Selain itu, bunga kencana ungu memiliki kandungan antioksidan yang cukup kuat serta bersifat antidiabetik, karena ekstraknya dapat berperan sebagai penghambat enzim amilase sehingga bermanfaat bagi penderita diabetes. Di dalam bunga kencana ungu juga terdapat pigmen antosianin, khususnya jenis malvidin, yang menghasilkan beragam warna seperti merah muda, merah kebiruan, hingga ungu. Kandungan antosianin dari ekstrak bunganya berpotensi digunakan sebagai pewarna alami, termasuk sebagai alternatif pewarna untuk sediaan apusan darah tepi (SADT) (Stiya wati, 2023).

Antosianin adalah pigmen alami dari kelompok flavonoid yang larut dalam pelarut bersifat polar. Enam jenis Antosianin, yaitu sianidin, pelargonidin, delphinidin, petunidin, peonidin, dan malvidin, yang sangat umum ditemukan di alam dan mencakup sekitar 90% dari semua antosianin. Zat ini berperan dalam memberikan warna oranye, merah, ungu, dan ungu pada berbagai tumbuhan tingkat tinggi, seperti bunga, buah, biji, sayuran, dan umbi. Antosianin bersifat hidrofilik sehingga mudah larut dalam air, dan juga dapat larut dalam pelarut organik polar seperti etanol, metanol, aseton, dan kloroform. Warna yang dihasilkan antosianin dipengaruhi oleh tingkat keasaman (pH) di sekitarnya, sehingga pigmen ini dapat digunakan sebagai indikator.

4. Potensi Pigmen Antosianin Sebagai Pewarna Alternatif Giemsa

Pada SADT

Pewarnaan Antosianin menggunakan pigmen alami golongan flavonoid yang stabil pada pH asam sekitar 3-5 dan menghasilkan warna merah hingga magenta. Antosianin bersifat amfipatik karena memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar dan cincin aromatik yang bersifat non-polar, sehingga mampu berinteraksi dengan protein melalui ikatan hidrogen, elektrostatik, maupun interaksi hidrofobik. Pewarnaan ini

bekerja dengan cara antosianin berinteraksi dengan protein sel darah, terutama pada eritrosit yang kaya akan hemoglobin. Namun, kemampuan penetrasi antosianin terhadap struktur sel yang lebih kompleks relatif terbatas. Protein sel bersifat amfoter (senyawa yang dapat basa/asam), sehingga pada kondisi asam akan bermuatan positif. Walaupun antosianin juga bermuatan positif, pewarnaan akan tetap terjadi karena hal tersebut tidak bergantung seperti muatan listrik, tetapi juga melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antara pigmen dan protein sel (Ma *et al.*, 2022). Sebaliknya pewarna Giemsa merupakan pewarna sintetis yang bekerja berdasarkan kombinasi zat warna basa mewarnai inti sel dan kromatin leukosit, sedangkan zat warna asam mewarnai sitoplasma eritrosit. Pewarnaan Giemsa berlangsung optimal pada pH netral hingga sedikit basa dan menghasilkan gambaran morfologi sel darah yang jelas dan konsisten (Yati *et al.*, 2023).

Antosianin dapat diidentifikasi dengan penambahan HCL dan NaOH. Penambahan asam menghasilkan warna tetap merah, sedangkan penambahan basa menimbulkan perubahan warna menjadi warna hijau biru. Dengan demikian, hasil menunjukkan tanda positif terdapat pigmen antosianin (Nining *et al.*, 2023).

5. Karakteristik Kimia Antosianin Berbeda Tanaman

Antosianin dari bunga kencana ungu (*Ruellia Simplex*) didominasi oleh malvidin yang tersedia cukup besar pada bagian bunga dengan kecenderungan tinggi terhadap eritrosit. Morfologi leukosit juga dapat ditemukan, namun tidak dapat menyerap warna dengan baik. Hal ini dikarenakan antosianin yang terkandung dalam kencana ungu tidak memiliki kandungan azzure B yang dapat mengikat warna biru-ungu atau biru pada inti sel dan neukleoprotein pada leukosit (Stiya wati, 2023). Berdasarkan penelitian terdahulu (Sari *et al.*, 2020) mendapatkan hasil bahwa ekstrak bunga kencana ungu dapat mengikat warna dengan pada eritrosit, namun pada leukosit dan trombosit tidak dapat mengikat warna dengan baik. Sedangkan pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) memiliki kelimpahan antosianin ternatin yaitu turunan poliasilasi dari delphinidin

3,3,5-triglukosida (Gamage *et al.*, 2021). Malvidin, yang dinamai 3',5'-dimetoksi-3,4',5,7-tetrahidroksiflavilium asam anion, adalah jenis kation antosianidin yang struktur kimianya mirip dengan delphinidin tetapi memiliki gugus metil yang terikat pada posisi 3' dan 5' (Sadowska *et al.*, 2023). Penelitian terdahulu (Aini *et al.*, 2023) yang menggunakan Bunga Telang, pada konsentrasi 25% kontras yang dihasilkan lebih baik, sedangkan 50% terlihat eritrosit berwarna biru-ungu dengan intensitas warna lebih gelap, tebal dan kontras yang lebih tajam dan pada konsentrasi 75% terlihat eritrosit berwarna biru kehijauan. Adapun sel darah yang dapat diamati berdasarkan morfologi sel darah secara mikroskopik, hanya eritrosit yang memiliki kualitas pewarnaan yang cukup baik sedangkan kualitas pewarnaan trombosit dan leukosit kurang jelas sehingga gambaran yang diperoleh kurang baik.

Kadar total antosianinnya juga berbeda signifikan, yaitu 15,2 mg pada bunga telang (*Clitoria ternatea*) yang mana kadar antosianinnya didapatkan dari ekstraksi air dari kelopak bunga kering yang digiling (Voss M *et al.*, 2020) dalam penelitiannya, nilai absorpsi serapan maksimal diukur pada panjang gelombang 2 mm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan 728 ppm pada bunga kencana ungu (*Ruellia Simplex*) dengan menggunakan metode maserasi (Sarofa & Puspitasari, 2024).

6. Pengaruh pH, Stabilitas Pigmen, Dan Konsentrasi Antosianin Terhadap Kualitas Pewarnaan SADT.

Antosianin memiliki warna merah pada pH asam, berubah menjadi pH netral dan kebiruan pada pH yang lebih tinggi. Malvidin adalah salah satu dari enam antosianin paling menonjol dan anggota keluarga antosianidin O-metilasi. Kelarutan Malvidin dalam air lebih tinggi dibandingkan dalam metanol dan etanol. Namun, kelarutan ini menurun seiring dengan meningkatnya derajat asilasi. Asam syringat dan asam 4-hidroksibenzoat adalah metabolit utama malvidin. Ketika terpapar kondisi pH tinggi (pH>7), malvidin terasilasi akan terurai dan melepaskan asam syringat (Sadowska *et al.*, 2023). Ketika pH meningkat mendekati netral, struktur

kimia antosianin berubah menjadi bentuk kuinonoidal yang berwarna biru, sedangkan pada pH basa pigmen cenderung terfradasi sehingga warna memudar atau berubah menjadi kekuningan. Perubahan ini berpengaruh langsung pada kualitas pewarnaan sediaan apusan darah tepi (SADT), karena hanya pada rentang pH tertentu antosianin mampu memberikan kontras warna yang jelas pada eritrosit, leukosit, dan trombosit. Oleh karena itu, pada ekstrak infusa bunga kencana ungu perlu dilakukan pengaturan pH larutan, misalnya dengan penambahan sedikit asam organik (asam sitrat atau asam asetat) agar pH ekstrak berada pada kisaran pH 3–5 sehingga warna yang dihasilkan lebih stabil dan tajam selama proses pewarnaan (Singh *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian terdahulu oleh (Sarofa & Puspitasari, 2024) antosianin pada bunga kencana ungu (*Ruellia Simplex*) stabil pada pH 3, sedangkan pada pH di atas 4 absorbansi menurun secara signifikan karena Antosianin rentan terhadap degradasi dan perubahan warna menjadi tak berwarna atau bentuk kalkon, disebabkan oleh keberlimpahan gugus hidroksil (-OH) pada struktur molekulnya yang memfasilitasi reaksi hidrolisis dan isomerisasi pada kondisi pH netral hingga basa.

Stabilitas pigmen antosianin sangat krusial untuk kualitas dan daya tahan pewarnaan. Antosianin diketahui kurang stabil dan menunjukkan penurunan warna pada konsentrasi larutan yang lebih tinggi serta suhu yang lebih tinggi. Untuk meminimalkan degradasi warna, penyimpanan larutan antosianin pada suhu 4°C sangat direkomendasikan. Stabilitas yang lebih tinggi pada suhu rendah menghasilkan hasil pewarnaan yang lebih baik dan memungkinkan larutan pewarna digunakan kembali untuk jangka waktu yang lebih lama. Modifikasi seperti penambahan asam asetat 4% dan ekstrak lemon juga meningkatkan stabilitas pigmen antosianin (Singh *et al.*, 2021).

B. Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari bahan tanaman dengan menggunakan pelarut sesuai, bertujuan untuk memperoleh pigmen antosianin secara optimal. Untuk mendapat simplisa dapat dilakukan dengan

cara pencucian yaitu membersihkan kotoran dari tumbuhan, pencucian dilakukan dengan air mengalir seperti yang dilakukan (Sari *et al.*, 2020) Antosianin bersifat polar sehingga mudah larut dalam pelarut polar seperti air, sehingga metode infusa banyak digunakan terutama untuk bahan dengan jaringan lunak seperti bunga. Metode infusa dilakukan dengan pemanasan singkat pada suhu 75°-90° agar pigmen cepat terekstraksi tanpa pemanasan berlebihan yang dapat menyebabkan degradasi antosianin. Stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh pH, di mana pigmen ini lebih stabil pada kondisi asam (pH 3–5) karena berada dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah hingga ungu. Oleh karena itu, dalam proses ekstraksi sering ditambahkan asam organik lemah untuk menjaga pH tetap asam sehingga warna ekstrak lebih stabil dan intensitas pewarnaan tetap optimal (Hujjatusnaini *et al.*, 2021)

C. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT)

1. Pengertian SADT

Sediaan apusan darah tepi (*peripheral blood smear*) adalah pemeriksaan laboratorium hematologi dasar yang melibatkan pembuatan preparat darah pada kaca objek untuk menilai morfologi unsur sel darah perifer seperti eritrosit, leukosit dan trombosit melalui pemeriksaan mikroskopik setelah pewarnaan tertentu, misalnya Giemsa sehingga struktur dan karakter sel darah menjadi lebih jelas diamati.

Dalam pemeriksaan mikroskopik darah terdapat dua jenis sediaan apusan yang biasa dilakukan untuk mendiagnosis, yaitu apusan darah tipis dan apusan darah tebal, apusan darah tipis biasanya digunakan untuk pemeriksaan anemia serta hitung jenis leukosit (*differential count*) yang dilakukan untuk mengetahui jumlah relatif setiap jenis sel, yaitu neutrofil segmen, neutrofil batang, eosinofil, basofil, monosit, dan limfosit. Sedangkan apusan darah tebal pewarnaan ini biasanya digunakan untuk pemeriksaan malaria, karena dapat menampilkan parasit dalam darah, seperti plasmodium dengan lebih jelas, walaupun sel darah merah akan lebih sukar dilihat karena lapisan darah yang tebal. Sediaan apusan darah

tipis akan dilakukan pada penelitian ini (Nurjannah S.Tr., M.Imun *et al.*, 2025).

Teknik pewarnaan SADT pertama kali diperkenalkan oleh Romanowsky dan Malachowski (1891) menggunakan methylene blue dan eosin, kemudian dimodifikasi oleh berbagai ilmuwan seperti Leishman, May-Grünwald, Wright, dan yang paling dikenal hingga kini adalah Giemsa. Pewarnaan Romanowsky mengombinasikan zat warna azure B (biru) dan eosin (merah) sehingga menghasilkan warna polikromatik pada sel. Di laboratorium klinik, pewarnaan yang paling umum digunakan adalah Giemsa karena memberikan hasil yang jelas dan stabil. Giemsa juga sering dipadukan dengan Wright sehingga dikenal sebagai Wright–Giemsa. Masing-masing sel darah yang terlihat dibawah mikroskop memiliki fungsi klinis yang berbeda, seperti neutrofil yang merespons cepat terhadap inflamasi, eosinofil yang meningkat pada alergi dan infeksi parasit, monosit sebagai pertahanan kedua setelah neutrofil, limfosit yang berperan pada infeksi virus dan infeksi kronis, serta basofil yang terlibat dalam proses penyembuhan dan reaksi alergi tertentu. Selain leukosit, SADT juga memungkinkan pengamatan eritrosit, termasuk bentuk dan kelainan morfologinya, serta trombosit untuk menilai jumlah relatif dan gambaran morfologi yang dapat membantu mendeteksi gangguan hemostasis (Victoria *et al.*, 2019).

Teknik pemeriksaan sediaan apusan darah tepi (SADT) umumnya menggunakan darah antikoagulan EDTA yang ditetesi dan diwarnai (Anggreani *et al.*, 2025). Hal ini disebabkan oleh darah vena memiliki volume yang lebih banyak, komposisi yang lebih stabil, serta mengandung plasma dengan konsisten. Darah vena juga lebih mudah dipisahkan antara sel darah dan plasmanya, yang penting dalam proses identifikasi reaksi antigen-antibodi pada pemeriksaan SADT. Namun, dalam kondisi tertentu, darah kapiler juga dapat digunakan, misalnya ketika pengambilan darah vena sulit dilakukan seperti pada bayi atau pasien dengan pembuluh darah kecil. Meskipun demikian, penggunaan darah memiliki beberapa keterbatasan, seperti volume sampel sedikit, risiko hemolisis yang lebih

tinggi, serta kemungkinan hasil yang kurang representative akibat pencampuran dengan cairan jaringan. Oleh karena itu, darah vena tetap menjadi pilihan utama untuk pemeriksaan SADT karena memberikan hasil yang lebih reliabel dan valid secara diagnostik.

2. Sediaan Apusan Darah Tepi Yang Baik

Untuk mendiagnosis penyakit, kualitas sediaan apus darah yang baik secara makroskopis sangat penting. Beberapa hal yang harus diperhatikan saat membuat sediaan apus darah tepi (SADT) adalah lama fiksasi, pewarnaan, dan suhu. Bentuk sel darah putih dipengaruhi oleh waktu fiksasi. Bentuk morfologi sel darah tidak dipengaruhi oleh kualitas pewarnaan sediaan apus darah tepi. Pewarnaan membantu mengidentifikasi sel darah dan melihat morfologinya. Struktur eritrosit dipengaruhi oleh suhu simpan darah karena banyak cairan eritrosit keluar dari sel, suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan eritrosit mengerut atau kreasi (Febriyani & Santosa, 2020).

Sediaan apusan darah yang baik mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

1. Panjang apusan mencakup sekitar dua pertiga hingga tiga perempat dari Panjang slide.
2. Bentuk apusan menyerupai jari (finger-shaped), dengan ujung sedikit membulat dan tidak runcing, sehingga menyediakan area pemeriksaan yang optimal.
3. Sisi kiri dan kanan apusan tampak jelas dan tidak terhapus, menunjukkan penyebaran darah yang merata pada permukaan slide.
4. Permukaan apusan halus dan seragam, tanpa goresan, lubang, atau ketidakraturan lainnya.
5. Pada bagian tipis apusan (feather edge), Ketika slide diarahkan ke cahaya, tampak gradasi warna halus menandakan sel tersebar tipis dan tidak saling menumpuk (Smith *et al.*, 2016).

D. Giemsa

Pewarna Giemsa merupakan salah satu teknik pewarnaan pada sediaan apus darah tepi yang merupakan modifikasi dari metode Romanowsky. Pewarnaan ini banyak digunakan di Indonesia karena mampu menghasilkan

tampilan warna sel yang lebih jelas serta memiliki stabilitas yang baik, sehingga tetap efektif digunakan pada kondisi iklim tropis. Pewarna giemsa digunakan untuk mewarnai apusan darah guna memeriksa sel darah (eritrosit, leukosit dan trombosit), parasit yang menyebabkan penyakit malaria serta teknik pewarnaan histologi digunakan untuk mewarnai membran inti sel, kromatin, metakromasia, dan berbagai komponen sel lainnya. Kandungan pewarna Giemsa terdiri dari eosin, methylen azure, dan methylen blue, yang berfungsi untuk mewarnai sel darah melalui proses fiksasi dengan metil alkohol. Methylen azure dan methylen biru yang bersifat basa digabungkan dengan eosin yang bersifat asam, yang menghasilkan eosinat, sehingga hasil pewarnaan menjadi lebih stabil. Sitoplasma diwarnai merah muda oleh eosin, sedangkan inti sel diwarnai biru lembayung oleh methylen blue. Oleh karena itu, eritrosit yang tidak memiliki inti akan berwarna merah muda ketika sediaan darah diwarnai dengan larutan Giemsa, sedangkan leukosit yang memiliki inti akan berwarna biru lembayung (Yati *et al.*, 2023).

Beberapa faktor perlu diperhatikan agar pewarnaan Giemsa menghasilkan pengecatan yang baik. Pertama, kualitas *Giemsa stock* harus sesuai standar, yaitu tidak terkontaminasi air dan masih memiliki aktivitas zat warna yang optimal. Kedua, air yang digunakan untuk mengencerkan Giemsa harus jernih, tidak berbau, serta berada pada pH 7,2, karena perubahan pH dapat memengaruhi warna dan penampilan sel darah. Ketiga, kualitas pembuatan sediaan juga berperan penting; ketebalan apusan darah menentukan hasil pewarnaan, dan proses fiksasi yang terlalu kuat dapat menghambat penetrasi larutan Giemsa ke plasma sehingga proses hemolisis dan pewarnaan menjadi kurang optimal (Wantini & Huda, 2021). Berdasarkan penelitian (Realdy, 2025) konsentrasi terbaik pada (Sri *et al.*, 2020) Giemsa ditunjukkan pada 10% dengan masa inkubasi 20 menit, sedangkan pada konsentrasi terbaik ditunjukkan pada 10% dengan masa inkubasi 25 menit. Oleh sebab itu, konsentrasi Giemsa sebesar 10% terbukti menjadi parameter yang paling optimal dan konsisten dalam menghasilkan pewarnaan berkualitas tinggi, dimana pada konsentrasi itu menunjukkan bahwa pewarnaan menghasilkan

intensitas pewarnaan yang seimbang, latar belakang yang bersih, serta detail morfologi sel darah yang jelas dan mudah dikenali.

Namun, pewarna Giemsa juga memiliki beberapa kekurangan. Zat ini bersifat mudah terbakar, toksik, dan sulit terurai. Iritasi dapat ditimbulkan oleh penggunaan jangka panjang apabila tertelan, terhirup, atau terkena kulit secara langsung. Selain itu, harga Giemsa relatif mahal, dan ketersediaannya di pasaran sering kali dibatasi, bahkan tidak jarang ditemukan dalam kondisi habis atau kadaluwarsa. Kendala tersebut dapat diatasi dengan pewarna alternatif yang lebih aman, ekonomis, mudah diperoleh, dan ramah lingkungan. Pigmen antosianin yang pada berbagai bagian tanaman seperti buah, bunga, daun, dan batang terdapat salah satu sumber pewarna alami yang memenuhi kriteria tersebut. Bunga kencana ungu merupakan salah satu contoh tanaman yang memiliki kandungan antosianin cukup tinggi pada bagian bunganya sehingga berpotensi digunakan sebagai pewarna alternatif Giemsa (Sari *et al.*, 2020).

E. Darah

Darah adalah cairan penting yang membawa berbagai zat dan bergerak di seluruh tubuh melalui jantung dan pembuluh darah (Khila Firani, 2018). Sekitar 7–8% dari berat tubuh manusia merupakan volume darah yang terus mengalir di arteri dan vena sebagai hasil pompa dari jantung. Suhu darah normal berada pada kisaran 38°C, dengan pH sedikit basa, yaitu 7,35–7,45. Rentang pH ini sangat penting karena berperan dalam menjaga keseimbangan asam–basa melalui sistem buffer yang memengaruhi fungsi fisiologis tubuh. Warna darah juga dipengaruhi oleh kadar oksigen yang dibawanya: darah yang kaya oksigen tampak merah cerah, sedangkan darah dengan kadar oksigen rendah berwarna merah lebih gelap (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

Volume darah pada setiap orang dapat berbeda-beda, salah satunya dipengaruhi oleh jenis kelamin yang berhubungan dengan perbedaan ukuran tubuh yang dimiliki. Pada laki-laki dewasa, volume darah umumnya berkisar 5–6 liter, sedangkan pada perempuan dewasa sekitar 4–5 liter. Darah tersusun atas dua komponen utama, yaitu komponen cair dan komponen seluler.

Komponen cair disebut plasma darah, sedangkan komponen padat terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit) yang berperan penting dalam proses pembekuan. Keseluruhan komponen tersebut disebut sebagai *whole blood*, yang secara umum terdiri atas sekitar 55% plasma dan 45% sel-sel darah (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

F. Plasma Darah

Plasma darah memiliki peran penting dalam menjaga kestabilan kondisi tubuh, seperti mengatur suhu, tekanan darah, kadar gula, serta mempertahankan volume darah. Selain itu, plasma juga membantu membawa sisa hasil metabolisme yang tidak lagi dibutuhkan tubuh untuk kemudian dibuang. Plasma darah berbeda dengan serum karena kandungan zat pembekunya. Perbedaan utamanya terletak pada ada atau tidaknya fibrinogen. Serum dihasilkan setelah darah dibiarkan menggumpal secara alami sehingga fibrinogennya hilang, lalu cairan yang tersisa dipisahkan. Sementara itu, plasma diperoleh dari darah yang tidak dibiarkan menggumpal sehingga fibrinogen tetap ada di dalamnya (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

G. Eritrosit

Eritrosit, atau sel darah merah, adalah jenis sel yang jumlahnya paling banyak di dalam darah. Sel ini memiliki tugas utama yaitu membawa oksigen ke seluruh tubuh. Pada laki-laki dewasa yang sehat, jumlah eritrosit rata-rata mencapai sekitar 5,4 juta sel per mikroliter darah, sedangkan pada perempuan dewasa sehat jumlahnya sekitar 4,8 juta sel per mikroliter. (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

Eritrosit memiliki bentuk khas seperti cakram yang bagian tengahnya lebih cekung (bikonkaf). Ukurannya relatif kecil, dengan diameter sekitar 7,5 μm , ketebalan kurang lebih 2,6 μm di bagian pinggir, dan hanya sekitar 0,7 μm di bagian tengah. Karena bentuk dan ukurannya yang hampir seragam, sel darah merah ini dapat bergerak dan ditemukan di hampir seluruh jaringan tubuh. Membran eritrosit tersusun atas sekitar 40% lemak, 10% karbohidrat, dan 50% protein.. (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

Hemoglobin merupakan protein berpigmen yang memberi warna pada darah. Ketika hemoglobin berikatan dengan oksigen, warnanya menjadi merah cerah. Sebaliknya, jika kadar oksigen rendah, warnanya berubah menjadi lebih gelap kebiruan. Karena itu, darah di pembuluh arteri yang kaya oksigen tampak merah terang, sedangkan darah pada pembuluh vena yang membawa sedikit oksigen terlihat lebih gelap atau kebiruan (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

H. Leukosit

Leukosit, yang juga dikenal sebagai sel darah putih, adalah jenis sel darah yang masih memiliki inti, ini berbeda dengan sel darah yang disebut dengan eritrosit. Leukosit tidak memiliki hemoglobin dan tidak bisa menghantarkan oksigen. Selain itu, leukosit terlihat lebih pucat jika dibandingkan dengan eritrosit. Umumnya, leukosit dibagi menjadi lima jenis, yaitu neutrophil, basophil, eosinophil, monosit, dan limfosit. Setiap jenis leukosit ini memiliki ciri dan tugas yang berbeda (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

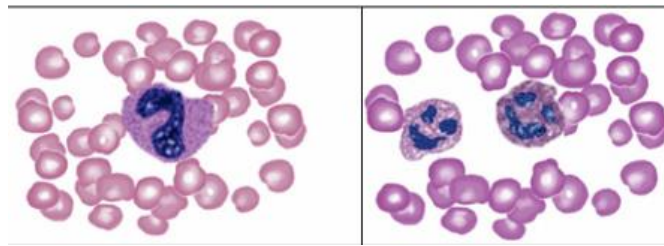
Kisaran jumlah leukosit normal dalam darah adalah antara 4,3 hingga 10,8 x 10⁹/L. Neutrofil adalah limfosit adalah dua jenis sel yang paling banyak terdapat dalam leukosit, dengan persentase 45-7% untuk neutrophil dan 16-45% untuk limfosit. Sedangkan monosit mencakup 4-10%, eosinophil 0-7%, dan basophil 0-2% dari total leukosit. Namun, jumlah dan persentase ini bisa berbeda-beda antara orang dan kelompok etnis yang berbeda. Misalnya, jumlah leukosit juga tergantung pada jenis kelamin, usia, tingkat aktivitas, dan waktu. Jumlahnya bisa berbeda jika leukosit bereaksi terhadap stress, rusak, atau jika sumsum tulang tidak memproduksinya dalam jumlah cukup (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

1. Jenis dan Karakteristik Leukosit

a. Neutrofil

Neutrofil memiliki butiran yang lebih kecil dibandingkan dengan sel darah putih bergranula lainnya, tersebar secara merata, dan berwarna ungu muda. Butiran ini tidak menyerap baik zat asam (merah) maupun basa (biru). Nukleus memiliki dua hingga lima lobus, dihubungkan oleh untaian

material nucleus yang sangat tipis. Seiring bertambahnya umur sel, jumlah lobus nucleus meningkat (Smith *et al.*, 2016).

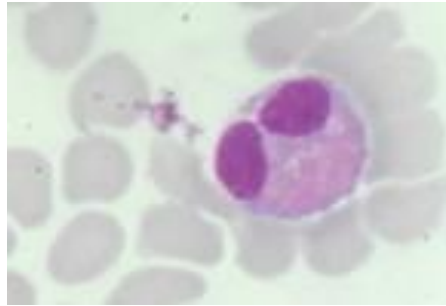


Gambar 3 Dua jenis neutrophil, Neutofil Segmen (kanan) dan Neutofil batang (kiri) (Smith *et al.*, 2016)

Neutrofil dan monosit berasal dari sel induk pluripotent yang terdapat di sumsum tulang. Proses pematangannya dipengaruhi oleh sitokin dan berbagai faktor pertumbuhan. Tahap awal pembentukannya dimulai dari sel myeloblast, yaitu sel muda pertama yang nantinya akan berkembang menjadi promielosit. Ciri menonjol dari promielosit adalah adanya berbagai granul primer, yang juga disebut azurofil. Selanjutnya, promielosit berubah menjadi myelosit, membentuk granula sekunder spesifik. Myelosit matang menjadi neutrophil batang, dilepaskan dari simpanan sumsum tulang. Neutrophil batang adalah neutrophil yang relative muda dengan inti sel yang memadat dan berbentuk seperti pita. Neutrophil pita yang beredar pada tahap akhir matang neutrophil bersegmen, dibuktikan dengan banyaknya lobus pada inti sel (Smith *et al.*, 2016).

b. Eosinofil

Sel ini serupa dengan neutrophil kecuali granula sitoplasmanya lebih kasar. Eosinofil memiliki butiran yang besar dan seragam. Eosinofil sangat tertarik pada eosin, yang membuat mereka disebut eosinofilik (suka eosin). Eosin berwarna merah-oranye dan bersifat asam, jadi eosinophil akan terlihat kemerahan. Butiran biasanya tidak menghalangi atau menutupi inti sel, jadi inti tetap terlihat dengan jelas. Eosinofil biasanya memiliki dua atau tiga lobus yang saling terhubung oleh benang tipis dari materi inti sel (Smith *et al.*, 2016).

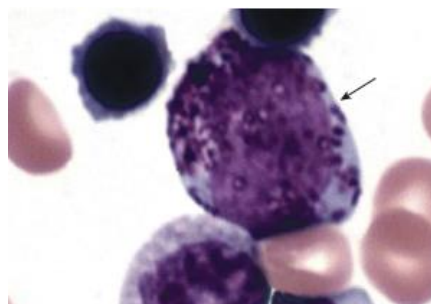


Gambar 4 Eosinofil dengan pewarnaan Giemsa 10%
(Ardina Rinny & Rosalinda Sherly, 2018)

Kinerja eosinophil dipengaruhi oleh beberapa factor yang berasal dari sel-sel kekebalan tubuh lainnya, seperti sel Mast yang berperan penting dalam system kekebalan tubuh, seperti dalam respons alergi dan peradangan. Sel-sel ini memproduksi factor kimia yang disebut *eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis* (ECFa) yang membantu meningkatkan reseptor pada neutrophil dan membantu menghilangkan parasite (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

c. Basofil

Basofil memiliki butiran/granula bulat yang ukurannya berbeda. Ciri khas basophil adalah suka dengan basa, atau bisa disebut basofilik. Ketika dicat dengan pewarnaan dasar, basophil akan tampak berwarna biru mukeungan. Granula ini biasanya menutupi inti sel, yang memiliki dua lobus (Smith *et al.*, 2016).



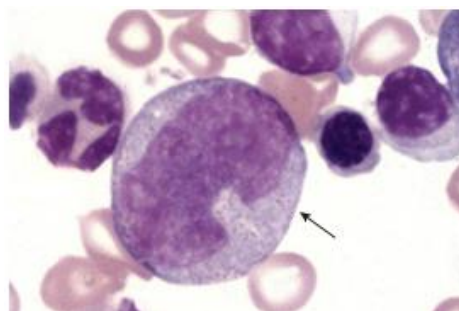
Gambar 5 Basophil, (Smith *et al.*, 2016)

Basophil diturunkan dari sel induk yang menghasilkan sel darah dan berkembang karena pengaruh beberapa jenis sitokin, terutama interleukin-3 (IL-3). Di dalam granula basophil mengandung heparin dan histamin. Selain itu, basophil bisa membuat protein granula tergantung pada sinyal dari sel lain yang mengaktifkannya. Misalnya, basophil bisa dibuat untuk

menghasilkan zat yang menyebabkan peradangan alergi, yaitu granzim B. Selain itu, sel mast bisa memicu basophil agar menghasilkan dan melepaskan asam retinoate, yang berfungsi sebagai pengatur system kekebalan dan terlibat dalam asam retinoat, yang berfungsi sebagai pengatur system kekebalan dan terlibat dalam penyakit alergi (Smith *et al.*, 2016).

d. Monosit

Monosit merupakan jenis leukosit yang ukurannya lebih besar dibandingkan sel darah putih lainnya. Bentuk intinya khas, biasanya menyerupai ginjal atau tapal kuda. Sitoplasma monosit tampak biru keabuan dan mengandung butiran halus yang disebut granula azurofilik, yang sebenarnya merupakan bagian dari lisosom. Di dalam peredaran darah, monosit hanya “melewati” pembuluh darah sebelum berpindah menuju jaringan tubuh. Setelah memasuki jaringan, monosit akan berubah menjadi makrofag. Sebagian makrofag akan menetap di jaringan tertentu, misalnya makrofag alveolar di paru-paru atau makrofag di limpa. Sementara itu, sebagian lainnya bersifat bergerak bebas, yaitu makrofag yang berpindah dari satu area ke area lain dan berkumpul di lokasi yang mengalami infeksi atau peradangan (Smith *et al.*, 2016).



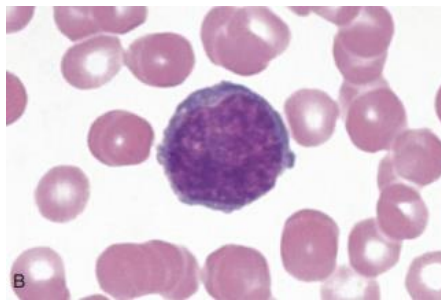
Gambar 6 Monosit, (Smith *et al.*, 2016)

Masa hidup makrofag dalam jaringan tergantung pada apakah mereka merespons peradangan atau infeksi, atau apakah mereka adalah makrofag “residen” seperti sel Kupffer atau makrofag alveolar. Makrofag residen bertahan jauh lebih lama daripada neutrophil jaringan. Misalnya, sel Kupffer memiliki masa hidup sekitar 21 hari. 69 Makrofag inflamasi, di

sisi lain, memiliki rentang hidup yang diukur dalam hitungan jam (Smith *et al.*, 2016).

e. Limfosit

Limfosit memiliki inti yang berwarna gelap dan bentuknya bulat. Bagian luar selnya berwarna biru muda dan membentuk lingkaran disekitar inti. Jika selnya lebih besar, sekitar 6-9 mikrometer, atau lebih besar, antara 10-14 mikrometer. Meskipun perbedaan ukuran antara limfosit kecil dan besar tidak terlalu besar, perbedaan ini tetap penting dalam dunia medis. Ukuran limfosit yang lebih besar bisa memberikan petunjuk penting saat ada infeksi virus yang akut dan pada beberapa penyakit yang berkaitan dengan system kekebalan tubuh (Smith *et al.*, 2016).



Gambar 7 Limfosit, (Smith *et al.*, 2016)

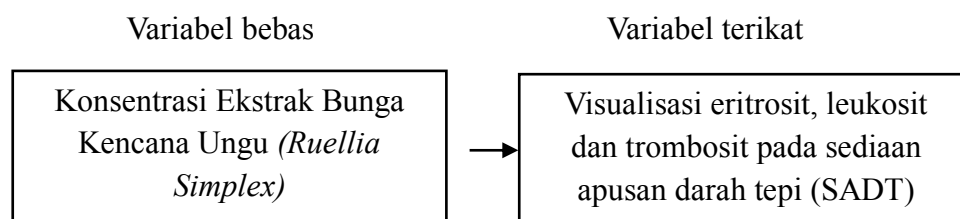
Limfosit terbagi menjadi tiga jenis utama : sel T, sel B, yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh yang bisa beradaptasi. Selain itu, ada juga sedikit sel lain yang dihasilkan dari sel awal yang sama dengan kedua jenis limfosit itu, yaitu sel pembunuh alami, Natural Killer (NK). Namun, cara kerja sel ini dalam mengenali antigen berbeda dengan limfosit. Limfosit ialah satu-satunya jenis sel dalam tubuh yang memiliki reseptor antigen yang tersebar dalam jumlah besar, dan masing-masing reseptor tersebut memiliki antigen yang unik dan berbeda-beda (Rosita, M.Kes, Sp.Pk *et al.*, 2019).

f. Trombosit

Trombosit (platelet) atau bisa juga disebut keping darah merupakan fragmen sel yang memiliki peran dalam mengunci proses hemostasis yakni menghentikan proses pendarahan setelah terjadinya cedera pada pembuluh

darah, yang melibatkan pembentukan sumbat atau bekuan darah yang stabil. Trombosit merupakan sel darah paling kecil dalam sirkulasi, dengan ukuran sekitar 1–4 mikrometer. Sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan yang berperan penting dalam berbagai respons fisiologis, seperti hemostasis, pembentukan trombus, penyembuhan luka, dan fungsi kekebalan. Meskipun tidak memiliki inti sel, trombosit tetap mengandung mitokondria. Umur hidupnya relatif singkat, yaitu sekitar 8–10 hari. Jumlah trombosit normal pada darah manusia berkisar antara 150.000–350.000 per mililiter darah. Trombosit dibentuk dari megakariosit, yaitu sel besar di sumsum tulang yang memiliki banyak lobus dan bersifat poliploid. Megakariosit menghasilkan trombosit dengan memanjangkan bagian sitoplasmanya hingga lebih dari 100 μm dengan lebar 2–4 μm , membentuk struktur yang disebut pro-trombosit. Tonjolan sitoplasma ini kemudian terlepas dari tubuh megakariosit dan masuk ke aliran darah sebagai trombosit matang. Proses pelepasan trombosit terjadi melalui sinusoid pada sumsum tulang merah (Sitanggang *et al.*, 2024).

I. Kerangka Konsep



Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil visualisasi pewarnaan SADT menggunakan ekstrak air Bunga Kencana Ungu (*Ruellia simplex*) sebagai pewarna alami alternatif pengganti giemsa. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Konsentrasi Ekstrak Bunga Kencana Ungu (*Ruellia simplex*) 50%, 75% dan 100%, sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah visualisasi eritrosit, leukosit dan trombosit pada sediaan apusan darah tepi (SADT), karena konsentrasi ekstrak bunga kencana ungu dapat memengaruhi visualisasi eritrosit, leukosit dan trombosit pada sediaan apusan darah tepi (SADT).