

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) adalah spesies vegetasi yang keberadaannya tersebar secara luas di kawasan hutan Nusantara. Spesies ini memiliki karakteristik dapat berkembang secara alamiah pada kawasan yang memperoleh paparan cahaya matahari yang memadai, contohnya di area lereng pegunungan, kawasan belukar, serta padang dengan tingkat kelembaban yang moderat, bahkan dapat dibudidayakan sebagai elemen dekoratif pada destinasi pariwisata (Azizah & Hartana, 2018). Berdasarkan penelitian Suryani (2017), tanaman senduduk memiliki berbagai macam nama disetiap daerahnya yaitu senduduk atau sikaduduak dalam dialek Minangkabau, harendong dalam bahasa Sunda, serta kluruk dan senggani dalam istilah Jawa. Tumbuhan semak dari suku Melastomaceae, tanaman senduduk, tersebar luas di berbagai negara, seperti Sri Lanka dan Asia Tenggara, serta Indonesia, Filipina, Taiwan, Papua Nugini, Australia, dan Amerika Serikat (Azizah & Hartanah, 2018).



**Gambar 2.1** Tanaman Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) (a) Daun, (b) Buah,

### Klasifikasi tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Kingdom : Plantae  
Devisi : Spermatophyta  
Subdivisi : Angiosprema  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Myrtales  
Famili : Melastomataceae  
Genus : *Melastoma*  
Spesies : *Melastoma malabathricum* L.

Menurut Habibi (2020), senduduk tua dapat ditanam lagi dengan menanam batangnya sendiri. Pohon ini bercabang dan tingginya sekitar 0,5 hingga 4 meter, dengan biji kecil berwarna coklat. Pohon ini berambut dan memiliki satu helai daun bulat memanjang sampai lonjong dengan ujung yang meruncing dengan bulat dipangkal di tepi rata. Permukaannya kasar dengan bulu yang jarang.

Gagang dan tandan bunga berwarna hijau kecoklatan, dengan warna ungu kemerahan di sepanjang ujung cabang. Bunga disetiap kelompok dibagi menjadi dua atau tiga bunga. Daun senduduk berukuran panjang 6-15 cm dan lebar 2-6,5 cm. Terdapat 5 kelopak bunga berbentuk tabung dengan bentuk cuping yang berukuran 4,5-6,5 cm saat mekar sempurna. Tangkai putik panjangnya 8-17 mm dan berwarna kuning keputihan (Kurnia *et al.*, 2014).

#### **2.1.1 Manfaat Senduduk**

Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) adalah salah satu tanaman obat tradisional. Tumbuhan senduduk secara tradisional digunakan sebagai analgesik, penurun panas, peluruh urine, penghilang bengkak, pelancar aliran darah, dan penghenti pendarahan (Noviyanty & Linda, 2020). Senduduk juga dapat digunakan untuk mengobati masalah pencernaan seperti diare, disentri, keputihan (leukorea), wasir, sakit gigi,

dan sariawan, serta luka bakar yang dibuat dari daun, buah, dan akar senduduk. Kandungan tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) (Habibi, 2020).

### **2.1.2 Senyawa Fitokimia Bunga Senduduk**

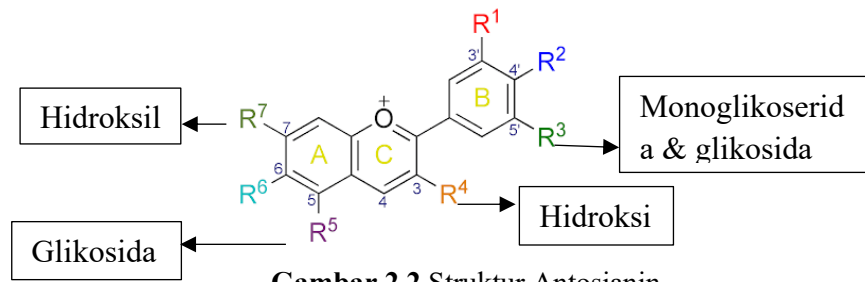
Menurut hasil penelitian Rendowaty *et al* (2021), menunjukkan bahwa bunga senduduk mengandung fenol, flavonoid, dan antosianin. Saponin dan tanin termasuk golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol dan antosianin termasuk dalam kelompok flavonoid yang merupakan antioksidan pada tumbuhan.

#### **a. Saponin**

Saponin adalah glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang ditemukan secara luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Istilah saponin berasal dari bahasa Latin "*sapo*" yang berarti "*sabun*" (Novitasari & Putri, 2016). Selain digunakan sebagai sabun, saponin juga telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional (Wink, 2015). Beberapa jenis tumbuhan yang diketahui mengandung saponin termasuk belimbing, mahkota dewa (Firawati, 2018).

#### **b. Flavonoid**

Menurut (Ningsih *et al.*, 2023), flavonoid salah satu kelompok senyawa fenol adalah metabolit sekunder yang memiliki struktur benzena tersubstitusi pada gugus hidroksil (OH). Salah satu senyawa yang tergolong ke dalam golongan flavonoid adalah antosianin. Antosianin adalah pigmen bagian dari flavonoid yang larut dalam air. Antosianin bisa ditemukan dalam bunga yang berwarna merah hingga ungu karna senyawa antosianin akan menghasilkan warna merah, orange, ungu, dan biru.



**Gambar 2.2** Struktur Antosianin

Struktur antosianin pada gambar 2.2 terdapat 3 cincin yang terdiri dari cincin A, cincin B, dan cincin C. Pada cincin A dan B memiliki gugus samping yaitu hidroksil, metoksil dan hidrogen yang dapat langsung berikatan dan ikatan glikosida mudah larut dalam cairan seluler dan dapat memberi warna pada sel darah merah (Heliawati, 2018). Pada sel darah merah dapat mengikat senyawa antosianin pada gugus hidroksil dan hidrogen pada cincin A dan mengikat metoksi pada cincin B (Liliani, 2017). Pengaruh perbedaan letak dan jumlah gugus tersubstitusi terhadap warna antosianin dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Wahjuningsih *et al.*, 2023).

**Tabel 2.1** Gugus yang Tersubstitusi pada Antosianin

Antosianidin	Gugus yang tersubstitusi						Warna
	3	5	6	7	3'	5'	
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	H	Merah-Orange
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	Merah-Biru
Malvidin	OH	OH	H	OH	OMe	OMe	Merah-Biru
Delphinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	Merah-Biru
Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	H	Merah- Orange
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	H	Orange

Proses penyerapan pada senyawa antosianin didasarkan pada reaksi asam basa, dimana Antosianin dalam kondisi pH 1-3 yang bersifat asam akan menghasilkan warna merah hingga merah muda pada eritrosit dan granula dari jenis leukosit yaitu eosinofil yang bersifat basa, pH 6-8 yang bersifat basa akan memberi warna pada inti dan granula pada leukosit dan trombosit yang bersifat asam. Antosianin dapat menghasilkan pigmen warna alami yang memiliki range warna merah, ungu, biru, dan hijau kekuningan (Aprilliani *et*

*al.*, 2022; Perdani, 2023; Khoo *et al.*, 2017). Warna yang dihasilkan oleh antosianin tergantung pada tingkat keasaman (pH) yang disajikan pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2** Warna pH Antosianin

No	Warna	pH			Sumber
		Asam	Netral	Basa	
1	Merah	1-2	-	-	Bunga, buah dan sayur yang memiliki pigmen warna antosianin
2	Merah keunguan	3	-	-	
3	Biru / ungu kemerahan	4	-	-	
4	Ungu	5	-	-	
5	Ungu kebiruan	6	-	-	
6	Biru	-	7-8	-	
7	Biru gelap	-	-	9-10	
8	Hijau	-	-	11	
9	Hijau kekuningan	-	-	12	
10	Kuning	-	-	13	
11	Orange	-	-	14	

### c. Tanin

Tanin adalah polifenol larut dalam air yang berasal dari asam fenolik dan juga dikenal sebagai asam tanat (Nofita & Dewangga, 2021). Tanin adalah jenis metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman dan disintesis oleh tanaman itu sendiri (Hersila *et al.*, 2023) Tanin ditemukan dalam banyak makanan nabati, seperti akar, kayu, kulit kayu, daun, dan buah (Nofita & Dewangga, 2021).

## 2.2 Sediaan Apus Darah Tepi (SADT)

Pemeriksaan apusan darah tepi adalah prosedur yang dilakukan dengan meneteskan darah kapiler atau vena pada kaca benda dan kemudian diwarnai. Sediaan apusan darah tepi (SADT) digunakan untuk membantu menganalisis morfologi berbagai jenis sel darah, termasuk eritrosit, leukosit, dan trombosit, serta untuk menghitung jumlah dan jenis leukosit. Selain itu, SADT juga berperan penting dalam identifikasi parasit penyebab malaria (Ardina & Rosalinda, 2018; Sorontou, 2021).

Menurut Anwar *et al* (2023), pembuatan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) biasanya menggunakan darah segar ataupun darah yang telah diberi antikoagulan EDTA. Antikoagulan EDTA dapat menghilangkan  $Ca^{2+}$  dari darah. Antikoagulan lain seperti heparin dapat menyebabkan leukosit

menggumpal dan memberikan warna biru samar pada latar belakang yang diwarnai dengan zat pewarna Romanowsky (Choudhary *et al.*, 2018).

Kualitas pewarnaan SADT adalah salah satu bukti validitas hasil pemeriksaan SADT. *International Council for Standardization in Hematology* menganjurkan beberapa metode pewarnaan, termasuk pewarnaan Giemsa, *Wright's*, *Lieshman*, dan *May-Grünwald* (Salnus & Arwie, 2020). Sediaan apusan darah di bagi menjadi dua yaitu apusan darah tipis dan apusan darah tebal (Wuan, 2020).

### **2.2.1. Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis**

Pemeriksaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) tipis adalah metode yang umum digunakan di laboratorium, termasuk untuk pemeriksaan malaria, analisis morfologi sel darah, dan konfirmasi sel darah. Metode ini memerlukan lebih sedikit darah dibandingkan dengan sediaan apus darah tebal. Pada pemeriksaan SADT tipis, perubahan pada eritrosit terlihat lebih jelas, dan morfologinya lebih mudah diamati. Pemeriksaan ini biasanya digunakan untuk menegakkan diagnosis penyakit malaria. Pemeriksaan malaria tersebut bertujuan untuk melihat bentuk parasit malaria didalam eritrosit. Kelebihan menggunakan SADT tipis dalam mendiagnosis penyakit malaria yaitu pada bentuk parasit *Plasmodium* yang terlihat di dalam eritrosit, sehingga dengan metode ini morfologi parasit dapat di lihat dengan sempurna (Wuan, 2020).

### **2.2.2. Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tebal**

Pemeriksaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) tebal memerlukan lebih banyak darah dibandingkan dengan SADT tipis, sehingga jumlah sel yang terlihat dalam satu lapang pandang menjadi lebih banyak. Salah satu keunggulan SADT tebal dalam mendiagnosis penyakit malaria adalah kemampuannya untuk menemukan parasit lebih cepat, karena volume darah yang digunakan lebih besar. Sehingga memudahkan pemeriksaan parasit malaria pada infeksi ringan,

kelemahan SADT tebal ini morfologi yang ditemukan tidak sempurna karena bentuk parasit yang tidak lengkap (Wuan, 2020).

### 2.2.3 Perbedaan Sediaan Apusan Tebal dan Tipis

Adapun perbedaan sediaan apusan darah tebal dan apusan darah tipis dapat dilihat pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3** Perbedaan Sediaan Apusan Tebal dan Tipis

No	Sediaan Tebal	Sediaan Tipis
1	Sediaan darah tebal biasanya digunakan untuk mengidentifikasi parasit.	Sediaan darah tipis digunakan untuk mengidentifikasi jenis parasit penyebab infeksi.
2	Sediaan darah tebal dibuat dengan meneteskan darah di atas kaca objek, kemudian ditutup dengan kaca penutup.	Sediaan darah tipis disiapkan dengan meneteskan sedikit darah, kemudian diratakan hingga membentuk pola menyerupai lidah.
3	Sediaan darah tebal direndam dengan air atau aquades sebelum proses pewarnaan. Langkah ini bertujuan untuk melisis eritrosit, sehingga yang tersisa dalam sediaan hanyalah leukosit, trombosit, dan parasit.	Sediaan darah tipis tidak perlu direndam air sebelum pewarnaan, karena tujuannya adalah mengamati parasit malaria di dalam eritrosit sehingga dapat membedakan antara eritrosit yang terinfeksi dan yang normal.
4	Sediaan darah tebal lebih efektif digunakan untuk mendeteksi keberadaan infeksi parasit.	Sensitivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan sediaan darah tebal, terutama jika infeksi parasit masih ringan.
5	Tidak diberi fiksasi dengan metanol.	Difiksasi menggunakan metanol.
6	Sediaan darah tebal terutama digunakan untuk mengidentifikasi infeksi dan memperkirakan keberadaan parasit dalam darah.	Sediaan darah tipis terutama digunakan untuk mengenali spesies parasit serta memeriksa bentuk parasit, seperti skizon atau gametosit.

### 2.2.4 Pemeriksaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis

Sebagian besar pemeriksaan hematologi mencakup pemeriksaan preparat apusan darah tepi. Pemeriksaan apusan darah tepi sangat berguna karena memungkinkan penilaian terhadap berbagai komponen sel darah tepi, termasuk morfologi (trombosit, leukosit, eritrosit), jumlah dan jenis leukosit, estimasi jumlah trombosit, serta identifikasi parasit (Ardina & Rosalinda, 2018).

Apusan darah yang baik didapatkan untuk memenuhi syarat diperlukan melakukan apus darah secara terus menerus agar mendapatkan apusan yang sempurna. Menurut Kiswari (2014), beberapa kesalahan yang membuat Sediaan Apusan Darah tepi (SADT) tipis yang dapat membuat tidak layak digunakan dapat dilihat pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4** Sebab Akibat Apusan Darah Tidak Layak Diperiksa

No	Sebab	Akibat
1	Pemeriksaan dilakukan setelah penundaan pasca pengambilan sampel.	Kerusakan atau perubahan struktur sel darah.
2	Darah yang ditetaskan pada kaca objek tidak langsung dioleskan, melainkan ditunda terlebih dahulu.	Terdapat ketidaksesuaian proporsi pada sel-sel berukuran besar, seperti monosit dan neutrofil.
3	Kaca objek yang kotor tidak dibersihkan sebelum digunakan.	Menimbulkan terbentuknya bintik-bintik pada sediaan darah.
4	Jumlah tetesan darah yang terlalu sedikit atau berlebihan.	Apusan yang terlalu tebal dan pendek atau terlalu tipis dan panjang
5	Sudut saat melakukan apusan terlalu besar atau terlalu kecil	Sudut yang terlalu besar dapat menyebabkan apusan menjadi terlalu tebal, sedangkan sudut yang terlalu kecil dapat membuat apusan menjadi terlalu panjang.
6	Saat melakukan apusan dorongan sangat lambat	Dapat menyebabkan penyebaran sel tidak baik
7	Tekanan spreader pada kaca objek tidak tepat.	Tekanan terlalu kuat menyebabkan apusan darah terlalu tipis
8	Ruangan lembab	Kelembaban yang terlalu tinggi menyebabkan apusan memerlukan waktu lebih lama untuk kering, yang dapat merusak eritrosit.

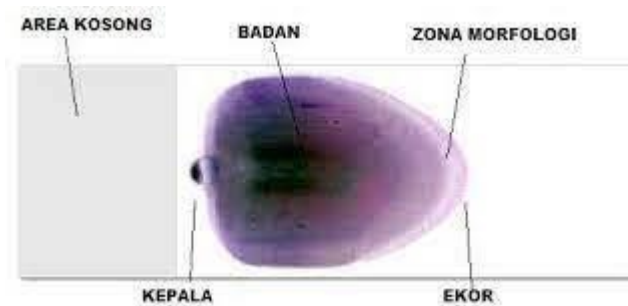
Kriteria SADT tipis yang baik menurut Wuan (2020) yaitu:

1. Sediaan tidak boleh melebar hingga tepi kaca objek; panjangnya harus antara 1/2 hingga 2/3 dari panjang kaca.
2. Bagian yang diperiksa harus cukup tipis, di mana eritrosit tersebar secara merata, berdekatan, dan tidak saling menumpuk.
3. Ketebalan apusan harus berangsur-angsur menipis dari bagian kepala ke ekor, tidak terlalu tebal, dan hasil pewarnaannya harus baik.



4. Eritrosit di bagian kepala terlihat saling bertumpukan di bagian tengah, eritrosit terdistribusi merata dan struktur tiga dimensi mudah terlihat, sedangkan di bagian ekor, eritrosit menyebar tetapi struktur tiga dimensi sulit diamati.
5. Sisi tepi sediaan harus rata, tidak berlubang, dan bebas dari garis-garis.
6. Leukosit harus tersebar secara luas, tidak terkumpul di tepi atau ujung sedimen.

Preparat sediaan apusan darah yang baik dan bagus terdiri tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor, bisa dilihat pada Gambar 2.3.

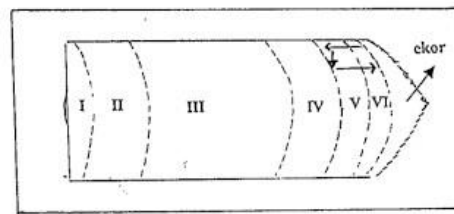


**Gambar 2.3** Bagian-bagian SADT Tipis (Arif, 2015).

Jika dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran  $10\times$  lensa objektif, terbagi menjadi enam zona sesuai dengan sebaran sel darahnya, yaitu (Kiswari, 2014):

1. Zona I (*Irregular zone*): Area dengan distribusi eritrosit tidak beraturan, membentuk formasi seperti rantai atau anggur dengan variasi ukuran
2. Zona II (*Thin zone*): Wilayah dengan sel eritrosit tersusun tidak teratur dan saling bertumpuk.
3. Zona III (*Thick zone*): Bagian terluas dengan konsentrasi eritrosit terpadat, menunjukkan penumpukan dan akumulasi sel yang signifikan.

4. Zona IV (*Thin zone*): Memiliki karakteristik serupa dengan zona II, ditandai penyebaran eritrosit yang tidak teratur dan tumpang tindih.
5. Zona V (*Even zone/regular zone*): Kawasan dengan distribusi eritrosit seragam, tanpa tumpang tindih atau aglutinasi, mempertahankan integritas sel.
6. Zona VI (*Very thin zone*), yaitu zona yang sangat tipis dan area ekor atau akhir.



**Gambar 2.4** Zona-zona Pada Apusan SADT Tipis (Budiwiyono, 1995).

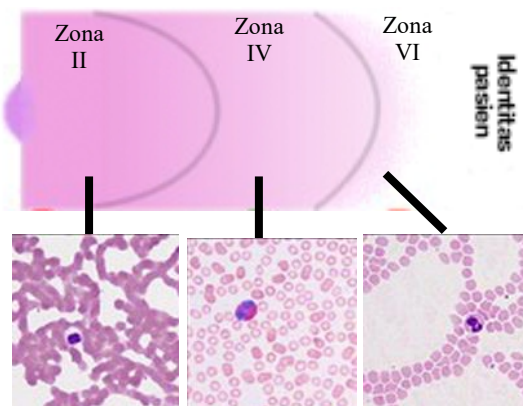
Di zona II dan IV, distribusi sel darah merah tersusun lebih rapat, berbeda dengan area lain yang lebih renggang. Bagian zona IV-VI yang berada di dekat ekor dapat diperiksa dari sisi atas maupun bawah saat melakukan pembacaan sediaan. Menurut Santosa (2010), cara membaca yang tepat menjadi faktor penting yang menentukan keberhasilan dalam mengevaluasi sediaan apus darah.

### 2.2.5 Pewarna Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis

Sebelum mengamati SADT tipis dibawah mikroskop disarankan untuk melakukan pewarnaan. Pewarnaan membantu memperjelas sel-sel dalam apusan darah dan memungkinkan untuk membedakan sel-sel ini bila dilihat di bawah mikroskop. Pewarna yang paling umum digunakan adalah Giemsa (Dewi *et al.*, 2022). Giemsa adalah pewarna yang terdiri dari *eosin*, *methylen azure*, yang memberi warna merah jambu pada sitoplasma, dan *methylen blue* yang memberi warna biru pada inti sel darah putih (Sari & Masrillah, 2022). Ketiga pewarna ini larut dalam metil alkohol, bila pada larutan giemsa pH terlalu rendah <6,8, maka sel darah merah berubah menjadi merah

muda karena lebih banyak menyerap pewarna asam atau eosin serta sel darah putih juga menunjukkan bagian inti sel yang kurang jelas (Sari & Masrillah, 2022).

Pengencer Giemsa sebaiknya memiliki pH 6,8 agar tidak mempengaruhi pewarnaan morfologi sel darah. Oleh karena itu, diperlukan larutan penyangga atau buffer untuk menjaga keseimbangan pH. Fungsi buffer adalah untuk mempertahankan pH ketika sejumlah kecil basa atau asam ditambahkan ke dalam larutan (Indriani, 2017). Giemsa dapat diencerkan dengan buffer dan air suling dengan tingkat keasaman 6,8 (Rumpaidus *et al.*, 2023).



**Gambar 2.5** Teknik Pembacaan Sediaan SADT Tipis (Nugraha, 2017).

Proses persiapan apusan darah dilakukan melalui dua tahap utama, yakni pembuatan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis serta pewarnaannya menggunakan metode pewarnaan Giemsa.

1. Membuat Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis (Wuan, 2020).
  - a. Memilih kaca objek yang memiliki tepi rata untuk digunakan sebagai kaca penggeser. Atur posisi kaca objek secara diagonal agar penyebaran darah tidak mencapai tepi kaca tersebut.
  - b. Meneteskan setetes kecil darah pada kaca objek dengan jarak sekitar  $\pm 2-3$  mm dari tepinya. Tempatkan kaca penggeser di depan tetesan darah dengan posisi miring sekitar  $30^\circ$  hingga  $45^\circ$  terhadap kaca objek.

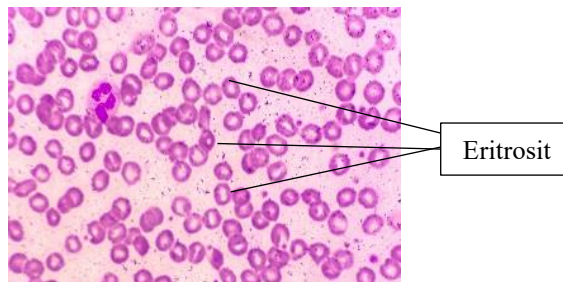
- c. Menarik kaca penggeser ke belakang sampai menyentuh tetesan darah, lalu biarkan darah menyebar hingga ke ujung penggeser.
  - d. Membuat apusan darah dengan panjang sekitar 3-4 cm pada kaca objek dengan menekan kaca tersebut secara perlahan. Pastikan darah mengalir dengan baik sebelum kaca penggeser mencapai ujung yang lain. Apusan darah tidak boleh terlalu tebal atau terlalu tipis. Ketebalan apusan dapat disesuaikan dengan mengatur sudut kemiringan serta kecepatan pergerakan kaca penggeser. Semakin besar sudut atau semakin cepat pergerakan kaca penggeser, maka apusan yang dihasilkan akan semakin tipis.
  - e. Mengeringkan apusan darah dengan udara. Identitas pasien dituliskan pada bagian tebal kaca objek dengan pulpen.
2. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Tipis dengan pewarnaan Giemsa (Wuan, 2020):
- a. Meletakkan sediaan apus di atas rak pewarnaan
  - b. Sediaan apus di fiksasi menggunakan metanol selama 2-3 menit
  - c. Sediaan apus yang sudah di fiksasi lalu digenangi dengan giemsa 10% selama 20-30 menit
  - d. Membilas sediaan apus secara perlahan dengan air mengalir
  - e. Meletakkan sediaan apus di dalam rak dalam posisi tegak hingga mengering.

### **2.3 Morfologi Sel Darah**

Sel-sel darah atau korpuskuli mengisi 45% dari volume darah, dan sisanya 55 % adalah plasma darah. Komponen sel-sel darah termasuk eritrosit sebesar 99 %, leukosit sebesar 0,2 %, dan trombosit sebesar 0,6 hingga 1 %. Komponen sel leukosit termasuk basofil, eosinofil, neutrofil, limfosit, dan monosit (Prasetyaningsih, 2020). Morfologi sel darah sebagai berikut:

### 2.3.1 Eritrosit

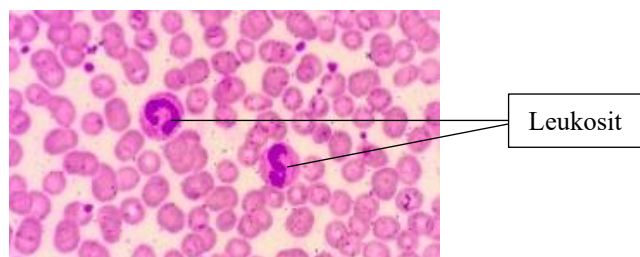
Eritrosit, atau yang lebih dikenal sebagai sel darah merah, memiliki bentuk bikonkaf tanpa inti serta mengandung hemoglobin, yang bertanggung jawab dalam memberikan warna merah pada darah (Wahyudi et al., 2020). Ukuran diameter eritrosit berkisar antara 7,5 hingga 8  $\mu\text{m}$ . Sel ini memiliki dua fungsi utama, yaitu mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh serta membawa karbon dioksida dari jaringan kembali ke paru-paru (Sa'adah, 2018).



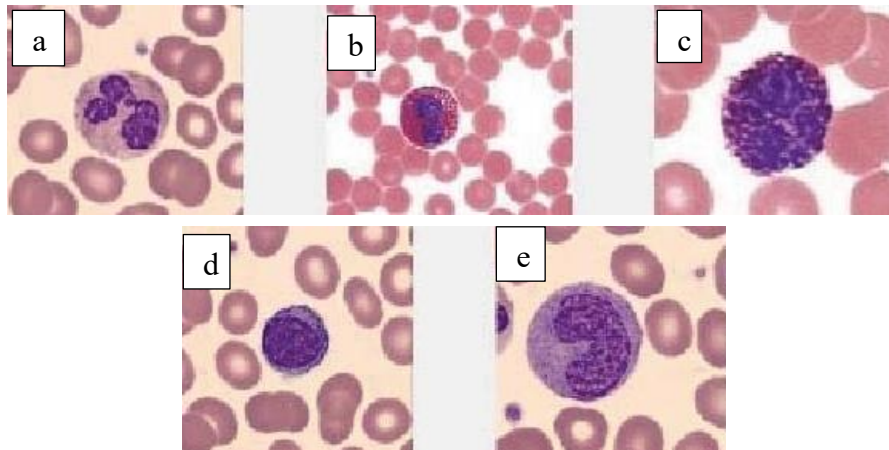
**Gambar 2.6** Sel Eritrosit (Dokumentasi Pribadi, 2023)

### 2.3.2 Leukosit

Leukosit atau sel darah putih memiliki bentuk bulat dengan membran tengah yang jelas (nukleus). Leukosit cenderung tidak beraturan dan berwarna terang ketika diwarnai. Jumlah leukosit jauh lebih sedikit dibandingkan dengan eritrosit, yakni sekitar 5 hingga 10 juta sel per milimeter darah, dengan rata-rata 7 juta sel per milimeter darah atau setara dengan  $7000/\text{mm}^3$ . Leukosit terdiri dari lima jenis, yaitu granulosit (neutrofil, eosinofil, dan basofil) yang memiliki inti berlobus lebih dari satu, serta agranulosit (monosit dan limfosit) yang hanya memiliki satu lobus inti (Sa'adah, 2018).



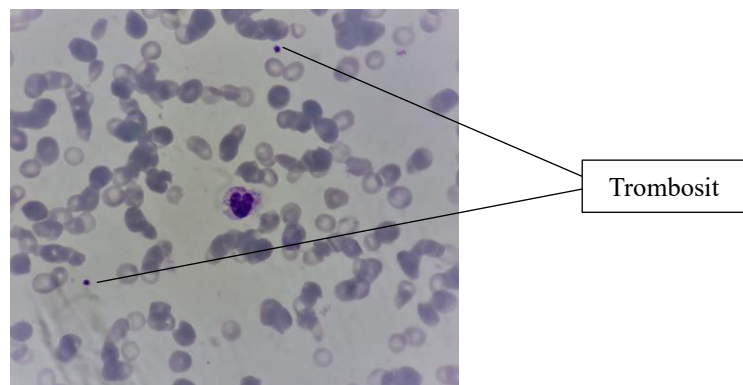
**Gambar 2.7** Sel Leukosit (Dokumentasi Pribadi, 2023)



**Gambar 2.8** Jenis-jenis Sel Leukosit, (a) Neutrofil (b) Eosinofil, (c) Basofil, (d) Limfosit, dan

### 2.3.3 Trombosit

Trombosit adalah komponen penting dari sel darah manusia yang memiliki fungsi dalam proses penghentian pendarahan. Partikel darah tersebut memiliki bentuk seperti piringan mungil yang tidak memiliki nukleus, dengan diameter berkisar 1-4  $\mu\text{m}$ . Pada keadaan sehat, kuantitas keping darah dalam sistem sirkulasi manusia berada di rentang 150.000 sampai 450.000/ $\text{mm}^3$  (Anwar & Nurhamsiah, 2018).



**Gambar 2.9** Sel Trombosit (Dokumentasi Pribadi, 2023).

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan perbedaan kelarutan antara dua cairan tidak saling larut, biasanya air dan pelarut organik lainnya, menentukan metode pemisahan zat yang dikenal sebagai ekstraksi (Badaring *et al.*, 2020). Metode

ekstraksi terbagi menjadi dua yaitu metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern.

#### **2.4.1 Metode Ekstraksi Konvensional**

##### **1. Maserasi**

Salah satu metode ekstraksi yang paling umum digunakan adalah maserasi, yang dilakukan dengan cara memasukkan tanaman yang telah dihaluskan menjadi serbuk bersama pelarut yang sesuai ke dalam wadah botol berwarna gelap. Wadah ini selanjutnya ditutup rapat dan ditempatkan pada temperatur ruangan. Metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan dan kekurangan, yaitu:

###### **a. Kelebihan**

Teknik perendaman tergolong prosedur yang tidak rumit, efisien waktu, dan tidak menggunakan panas, sehingga mampu menghindarkan degradasi atau hilangnya komponen aktif (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015; Chairunnisa *et al.*, 2019).

###### **b. Kekurangan**

Kekurangan dari metode maserasi mencakup durasi ekstraksi yang relatif panjang, membutuhkan larutan pengekstrak dalam volume besar, serta ada kemungkinan beberapa komponen tidak dapat terekstrak karena tingkat kelarutannya yang minimal pada temperatur ruangan (Wewengkang & Rotinsulu, 2021).

##### **2. Sokletasi**

Sokletasi merupakan cara pengambilan senyawa dari bahan padat melalui proses penyarian berulang menggunakan pelarut yang identik, sehingga semua senyawa target dapat terpisah dengan maksimal. Instrumen yang dipergunakan dalam tahapan ini adalah seperangkat peralatan sokletasi, yang terdiri dari labu didih dan tabung soklet (Ridwan *et al.*, 2015). Sokletasi dilakukan pada suhu 80 °C, sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi (Andasari *et al.*, 2020). Kelebihan dan kekurangan dari ekstraksi sokletasi yaitu:

a. Kelebihan

Proses ekstraksi tidak memerlukan waktu yang lama.

b. Kelemahan

Metode ekstraksi ini kurang sesuai untuk komponen yang sensitif terhadap panas karena pemanasan pada suhu tinggi dalam waktu yang lama dapat menyebabkan degradasi senyawa tersebut.

### 3. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang selalu baru. Prinsip kerja perkolasi melibatkan penempatan simplisia ke dalam percolator, di mana pelarut dialirkan dari atas melalui simplisia, sehingga zat terlarut mengalir ke bawah dan dikumpulkan (Astuti, 2008). Kelebihan dan kekurangan dari ekstraksi perkolasi yaitu:

a. Kelebihan

pada metode ini tidak terjadi kejenuhan, aliran pelarut meningkatkan proses difusi (dengan mengalirkan bahan pengestrak, mengakibatkan komponen terdorong keluar dari jaringan sel) (Sulaiman, 2011).

b. Kekurangan

Pelarut yang digunakan banyak dan waktu yang dibutuhkan lama. Interaksi antara material padat berjalan tidak homogen atau terbatas, dan pemakaian larutan pengestrak dingin selama proses ekstraksi dapat menurunkan efektivitas pelarutan senyawa (Sulaiman, 2011).

### 4. Infusa

Infusa adalah preparasi liquid yang diperoleh melalui teknik penyarian dengan cara mengestrak komponen-komponen dari tumbuhan berkhasiat. Prosedur ini menggunakan pemanasan hingga temperatur 95 °C dalam durasi 15 menit dengan menggunakan air steril atau aquadest sebagai medium pengestrak



(Kurniawati *et al.*, 2020). Teknik ini cocok untuk bahan simplisia tanaman seperti daun dan kulit kayu yang memiliki tekstur keras serta zat-zat yang tahan terhadap pemanasan saat diekstraksi (Isnawati & Retnaningsih, 2018). Kelebihan dan kekurangan dari metode infusa yaitu:

a. Kelebihan

Instrumentasi yang diperlukan tidak rumit, sehingga biaya pelaksanaan yang dibutuhkan relatif rendah.

b. Kekurangan

Komponen-komponen terlarut berpotensi mengalami mengendap ketika kelarutannya menurun akibat penurunan suhu (melalui proses jenuh), yang dapat mengakibatkan hilangnya komponen-komponen tersebut. Selain itu, metode ini tidak cocok untuk mengekstraksi senyawa atau simplisia yang tidak tahan panas. Simplisia yang mengandung zat albumin juga dapat mengalami koagulasi, menghalangi penarikan komponen-komponen berkhasiat. Infusa tidak dapat disimpan dalam jangka waktu lama karena dapat mengurangi stabilitas senyawa yang terkandung di dalamnya. Sebaiknya, infusa tidak disimpan dalam wadah berbahan besi untuk menghindari reaksi antara besi dan senyawa yang terdapat dalam infusa (Khaerani, 2010).

## 5. Dekokta

Dekokta adalah metode yang digunakan untuk mengekstrak sari senyawa aktif dari simplisia dengan cara merebusnya hingga suhu air mencapai 90-98 °C selama 30 menit (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Kelebihan dan kekurangan metode ekstraksi dekokta sebagai berikut:

a. Kelebihan

Proses pembuatannya sangat sederhana dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat, sehingga mudah untuk dilakukan di rumah (Agung, 2016).

b. Kekurangan

Menghasilkan ekstrak yang tidak stabil dan mudah mengendap, sehingga sebaiknya tidak disimpan lebih dari 24 jam.

**6. Digesti**

Metode digesti adalah salah satu metode ekstraksi yang sering disebut sebagai maserasi kinetik (dengan pengadukan terus-menerus) yang beroperasi pada temperatur diatas suhu ruangan. Secara umumnya, proses ini dilakukan pada rentang temperatur 40-50 °C (Depkes RI, 2000). Kelebihan dan kekurangan metode ekstraksi digesti sebagai berikut:

a. Kelebihan

Kemampuan cairan ekstrak untuk melarutkan zat diinginkan menjadi lebih besar.

b. Kekurangan

Metode ini dapat digunakan untuk ekstraksi dengan pelarut murni, tidak dengan campuran pelarut, pelarut yang diasamkan, atau dibasakan, menggunakan pelarut dengan volume yang besar dalam proses pemanasan, hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang tahan terhadap panas.

Memberikan dampak serupa dengan pengadukan, dimana viskositas larutan pengekstrak berkurang, menyebabkan minimalisasi lapisan pembatas. Selain itu, koefisien difusi berbanding lurus dengan temperatur absolut dan berbanding terbalik dengan viskositas. Oleh karena itu, peningkatan temperatur umumnya akan meningkatkan kecepatan difusi zat.

**7. Refluks**

Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi padat-cair yang dilaksanakan pada temperatur 50 °C dengan titik didih etanol 78,4 °C. Sistem penyairan ini banyak dimanfaatkan dalam industri herbal karena efisien, mudah dioperasikan, dan hemat biaya (Wang

*et al.*, 2013). Kelebihan dan kekurangan metode ekstraksi refluks sebagai berikut:

a. Kelebihan

Padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap paparan panas dapat diekstrak menggunakan metode ini (Irawan, *et al.*, 2010).

b. Kekurangan

Mebutuhkan jumlah pelarut yang banyak dan temperatur dapat berubah-ubah seiring berjalanya waktu, proses ekstraksi dalam waktu yang lama (Soares, 2021; Irawan, *et al.*, 2010).

## 2.4.2 Metode Ekstraksi Modern

Metode ekstraksi modern dibagi menjadi dua menurut Ma'ruf *et al* (2023) yaitu *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE).

### 1. *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

*Microwave Assisted Extraction* (MAE) adalah metode untuk mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam sampel menggunakan medium air dengan pendukung energi gelombang mikro (Bintari *et al.*, 2018). Kelebihan dan kekurangan metode ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) sebagai berikut:

a. Kelebihan

Ekstraksi MAE adalah meminimalkan penggunaan pelarut organik, efisiensi waktu, dan merupakan metode ekstraksi yang tidak merusak lingkungan (Shakinaz *et al.*, 2010).

b. Kekurangan

Diperlukan kondisi ekstraksi yang tepat dalam menggunakan pelarut mudah terbakar ataupun ekstrak senyawa yang bersifat termolabil (Mandal *et al.*, 2007).

### 2. *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE)

*Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) merupakan salah satu metode ekstraksi berbasis gelombang ultrasonik yang mulai banyak

diminati dalam perkembangan teknologi ekstraksi untuk bahan hasil pertanian dan proses kimiawi (Yuniarto *et al.*, 2021). Kelebihan dan kekurangan metode ekstraksi *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) sebagai berikut:

a. Kelebihan

UAE menghasilkan ekstraksi yang lebih tinggi, memakan lebih sedikit energi, mengurangi durasi ekstraksi, dan memperpanjang umur penyimpanan produk (Altemimi *et al.*, 2016).

b. Kekurangan

Memerlukan energi dan pembiayaan yang tinggi. Efek toksik dapat mengakibatkan kerusakan apabila terpapar ke tubuh dan area organ yang rentan terhadapnya.

## 2.5 Pewarnaan Giemsa

Pewarnaan giemsa merupakan salah satu pewarnaan yang umum dianjurkan dalam pembuatan sediaan apusan darah tepi (SADT) tipis, berdasarkan penelitian Rinny & Rosalinda (2018), giemsa termasuk dalam pewarnaan Romanowsky yang mendapat rekomendasi dari *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) sebagai pewarnaan baku dalam pembuatan SADT. Komposisi giemsa terdiri dari *methylen blue* dan *methylene azure* yang bersifat basa digabungkan dengan *eosin* yang bersifat asam dalam giemsa untuk membentuk eosinat sehingga menghasilkan pewarnaan yang lebih stabil (Tahir *et al.*, 2020). Proses penyerapan pada pewarnaan giemsa didasarkan pada reaksi asam basa dimana eosin yang bersifat asam akan memberikan warna merah hingga merah muda pada eritrosit yang bersifat basa, *methylen blue* yang bersifat basa akan memberi warna pada inti dan granula pada leukosit yang bersifat asam, *methylen azure* yang bersifat basa dapat memberikan warna pada sitoplasma leukosit yang bersifat asam (Puasa, 2017).

Kekurangan dari pewarnaan Giemsa adalah kurangnya ketepatan dalam mewarnai granula pada sel granulosit. Selain itu, kandungan *methylene blue*, *eosin*, dan *methylene azure* sulit terurai, yang dapat menghasilkan limbah berbahaya dan mudah terbakar (Mukh *et al.*, 2018). Keunggulan Giemsa terletak pada kemampuannya untuk menilai berbagai komponen sel darah, termasuk morfologi sel (eritrosit, leukosit, dan trombosit), menentukan jumlah dan jenis leukosit, memperkirakan jumlah trombosit, serta mengidentifikasi keberadaan parasit (Museyaroh *et al.*, 2024).

## 2.6 Pengaruh Sifat Pelarut Terhadap Ekstraksi

Jenis-jenis pelarut yang bersifat polar dan non polar dapat mempengaruhi hasil dari ekstraksi. Menurut penelitian Listiawati *et al* (2022) bahwa jenis pelarut polar lebih banyak digunakan dalam proses ekstraksi seperti etanol 96%, etanol 70%, etanol 96% + HCl dan pelarut polar lainnya. Selain itu, penelitian Rismiati (2022) mengungkapkan bahwa jenis pelarut polar juga mempengaruhi hasil dari kadar ekstraksi yang dihasilkan.

Berdasarkan teori yang diuraikan, antosianin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga dapat mengikat pelarut yang bersifat polar dan mendapatkan kadar antosianin lebih optimal. Kadar antosianin yang didapat akan berpengaruh pada pelarut yang digunakan. Adapun pengaruh sifat pelarut terhadap ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.5.

**Tabel 2.5** Jenis Pelarut dan Kadar Antosianin

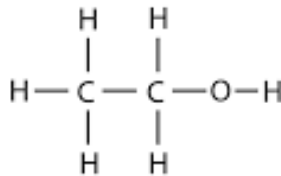
No	Jenis Pelarut	Kadar Antosianin (mg/L)	Metode	pH	Sumber
1	Etanol 70%	45,788	Spektrofotometri UV-Vis	-	Bunga kembang sepatu
2	Etanol 96%	48,260	Spektrofotometri UV-Vis	-	Bunga kembang sepatu
3	Etanol 96% + HCl 1%	127,045	Spektrofotometri UV-Vis	1,5	Yeast beras hitam
4	Etanol absolut + asam tartarat	57,17	Spektrofotometri UV-Vis	3,4	Bunga telang

Kadar antosianin yang tertinggi didapat pada etanol 96% + HCl 1% sebesar 127,045 pada ekstrak *yeast* beras hitam karena etanol 96% yang bersifat polar dan HCl yang asam dan polar sehingga dapat mengeluarkan

antosianin lebih banyak dibandingkan hanya menggunakan pelarut etanol 70% atau etanol 96% saja. Pada pelarut etanol absolut + asam tartarat didapatkan kadar antosianin 57,17 pada ekstraksi bunga telang. Pada penambahan asam tartarat dan dapat mendapatkan kadar antosianin lebih optimal dibanding hanya menggunakan pelarut etanol 70% atau etanol 96% saja (Agustin & Ismiyati, 2015; Zahroh & Agustini, 2021; Hafizah *et al.*, 2024).

### 2.6.1 Etanol 96%

Pelarut etanol yang berkonsentrasi tinggi yaitu 96% merupakan pelarut yang bersifat polar. Pelarut yang bersifat polar dapat mengekstraksi atau memisahkan berbagai macam senyawa polar maupun non polar.

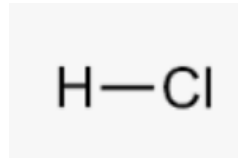


**Gambar 2.10** Struktur Etanol

Antosianin merupakan senyawa yang bersifat polar sama seperti etanol 96% sehingga etanol 96% dapat menembus ke dalam dinding sel tanaman dan menghasilkan antosianin. Etanol 96% merupakan pelarut yang mudah menguap sehingga tidak membutuhkan suhu yang tinggi yang dapat merusak senyawa yang tidak tahan panas pada saat ekstraksi. Etanol 96% mengandung kadar air yang sedikit dan konsentrasi etanol yang tinggi pada saat ekstraksi maka kadar antosianin yang didapat juga banyak dan didapatkan ekstrak kental (Wendersteyt *et al.*, 2021).

### 2.6.2 HCl 1 %

HCl atau yang lebih dikenal sebagai asam klorida, adalah larutan asam kuat yang sangat korosif, terbentuk dari kombinasi unsur hidrogen dan unsur klorin (Daulay *et al.*, 2022; Andriyani, 2022).



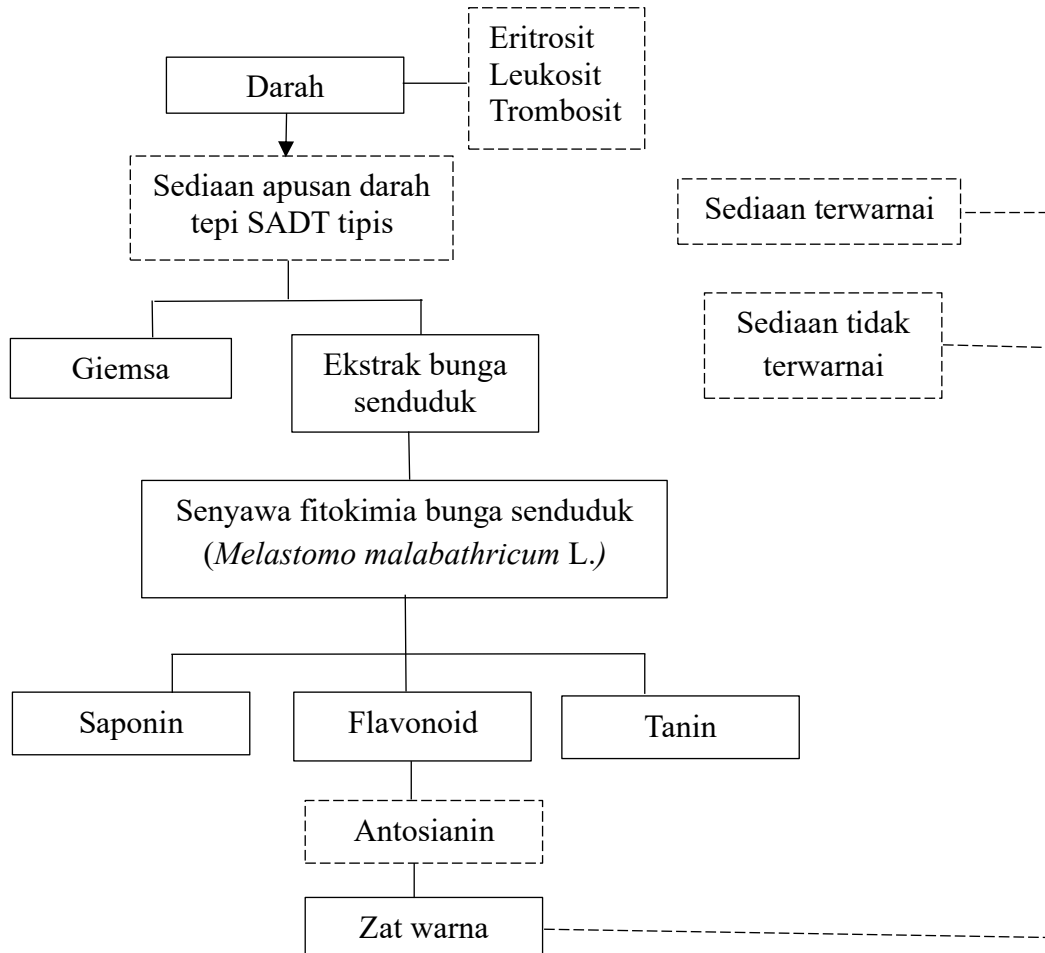
**Gambar 2.11** Struktur HCl

Pelarut HCl dengan konsentrasi 1% merupakan jenis pelarut yang bersifat polar yang digunakan sebagai pelarut ekstrak karena dengan penambahan asam klorida (HCl) diketahui dapat mempermudah mendegradasi dinding sel tanaman yang terdapat senyawa antosianin dengan mudah karena keasamannya, sehingga dapat menghasilkan antosianin yang lebih banyak (Ocviana, 2010).

### BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konseptual bisa dilihat sebagai berikut:



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

**Keterangan:**



: Diteliti



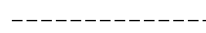
: Tidak Diteliti



: Diperiksa



: Terdiri



: Dilihat



### 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Darah memiliki tiga komponen seluler yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Pemeriksaan komponen-komponen darah tersebut dan mendapatkan hasil diagnostik yang tepat, maka diperlukan pemeriksaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) tipis. Pewarnaan pada pembuatan SADT dapat diperoleh menggunakan dua jenis pewarnaan yaitu kimia dan pewarnaan alternatif. Pewarnaan alternatif yang ramah lingkungan dan mudah didapatkan salah satunya adalah bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai pewarna pengganti pewarna kimia yaitu giemsa. Bunga senduduk mengandung senyawa bioaktif yang dikenal sebagai antosianin yang memiliki tiga warna yaitu merah, ungu dan biru. Warna senyawa antosianin dapat di pengaruhi oleh pH larutan. Pada pH asam antosianin dapat berwarna merah yang akan memberi warna pada eritrosit dan granula dari jenis leukosit yaitu eosinofil yang bersifat basa sedangkan pada pH basa antosianin berwarna ungu sampai kebiruan yang dapat mewarnai inti dan granula pada leukosit dan trombosit yang bersifat asam. Sehingga antosianin dapat berfungsi sebagai alternatif zat pewarna Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) tipis. Setelah itu, ekstrak bunga senduduk ini diwarnai pada SADT tipis untuk melihat morfologi sel yang diketahui.

## **BAB IV METODE PENELITIAN**

### **4.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dari Juni 2024 – September 2024. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Medis, Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan, STIKES Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun. Jl. Sutan Syahrir No.11 Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah.

### **4.2 Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif kualitatif. penelitian deskriptif adalah jenis penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan fenomena yang ada, baik fenomena alam maupun buatan manusia, atau untuk menganalisis dan mendeskripsikan hasil subjek tanpa bermaksud memberikan implikasi yang lebih luas, Penelitian kualitatif bertujuan untuk memahami fenomena manusia atau sosial dengan menghasilkan gambaran yang mendalam dan kompleks, yang dapat disampaikan melalui kata-kata. Penelitian ini melaporkan perspektif yang terperinci dari sumber informan dan disajikan secara deskriptif dalam konteks alami tertentu (Walidin *et al.*, 2015). Menurut Adiputra *et al.*, (2021), penelitian deskriptif merupakan jenis penelitian yang dilakukan yang untuk mendeskripsikan berbagai fenomena yang terjadi, baik bersifat alami maupun hasil rekayasa manusia, atau untuk menganalisis dan menjabarkan hasil subjek tanpa tujuan memberikan dampak yang lebih luas.

Penelitian ini menggunakan 2 jenis variabel penelitian yaitu kelompok pengontrol dan perlakuan. Kelompok kontrol yaitu pewarnaan SADT menggunakan giemsa 10% dan kelompok perlakuan yaitu pewarnaan SADT menggunakan ekstrak bunga senduduk dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Pengumpulan data menggunakan instrumen penelitian yaitu uji pewarnaan alami alternatif ekstrak bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Penelitian ini akan menentukan hubungan sebab-akibat antara perlakuan dan efek yang dihasilkan dari ekstrak bunga senduduk.

Penelitian ini juga akan melihat apakah ada perbedaan dalam morfologi sel darah antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

### 4.3 Populasi, Sampel, dan Objek penelitian

#### 4.3.1 Populasi

Populasi adalah kelompok yang akan dijadikan subjek penelitian atau yang karakteristiknya akan diteliti (Amin *et al.*, 2023). Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga senduduk.

#### 4.3.2 Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi. Sampel dari penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak bunga senduduk yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

#### 4.3.3 Objek Penelitian

Objek penelitian ini sebanyak 27 sediaan SADT tipis yang berasal dari 5 sampel darah dan penambahan kontrol positif yang diwarnai dengan pewarna giemsa, kontrol negatif yang tidak terwarnai. Objek penelitian ini diaplikasikan pada ekstrak senduduk konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Penentuan jumlah objek penelitian tersebut dilakukan berdasarkan perhitungan rumus Federer berikut (Awaliyah, 2023):

$$\begin{aligned} (n - 1) (t - 1) &\geq 15 \\ (n - 1) (5 - 1) &\geq 15 \\ (n - 1) (4) &\geq 15 \\ 4n - 4 &\geq 15 \\ 4n &\geq 15 + 4 \\ 4n &\geq 19 \\ n &\geq 4.75 \approx 5 \end{aligned}$$

#### Keterangan:

$t$  : Jumlah perlakuan

$n$  : Jumlah sampel

$\geq 15$  : Faktor derajat kebebasan

Berdasarkan perhitungan yang menggunakan rumus perhitungan Federer kelompok perlakuan objek penelitian didapatkan replikasi sejumlah 5 apusan darah SADT tipis sehingga total objek penelitian dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

#### 4.4 Variabel

Pada penelitian ini dibutuhkan dua jenis variabel, yaitu variabel bebas (*independent*) dan variabel terikat (*dependent*). Variabel *dependent* didefinisikan sebagai variabel yang memengaruhi dan menjadi penyebab perubahan dari variabel terikat. Variabel *independent* disebut juga stimulus, prediktor atau anteseden, kausa dan determinan. Perubahan nilai yang terjadi pada variabel bebas akan mengakibatkan terjadinya perubahan pada variabel lainnya (Siyoto & Sodik, 2015; Masturoh & Temesvari, 2018).

4.4.1 Variabel *Independent* : Ekstrak bunga senduduk pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

4.4.2 Variabel *Dependent* : Pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) tipis pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

#### 4.5 Jenis dan Skala Data

Jenis data pada penelitian ini merupakan jenis data primer. Data primer merupakan data yang dikumpulkan atau diperoleh secara langsung dari sumber datanya (Handayani, 2021). Jenis data kualitatif adalah data yang dikumpulkan dari objek penelitian dan disajikan dalam bentuk non-angka. Skala data nominal adalah data yang dikumpulkan melalui pengelompokan atau klasifikasi sesuai dengan karakteristik tertentu.

#### 4.6 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dipaparkan menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif, berupa gambar morfologi sel darah yang ditampilkan dalam bentuk gambar dan tabel berdasarkan hasil pewarnaan sel darah menggunakan ekstrak bunga senduduk dengan berbagai konsentrasi. Adiputra *et al.* (2021) menyatakan bahwa penelitian deskriptif adalah jenis penelitian

yang bertujuan untuk mendeskripsikan fenomena yang ada, baik itu fenomena alam maupun buatan manusia, atau untuk menganalisis dan mendeskripsikan hasil dari subjek yang diteliti.

Hasil data yang diperoleh pada penelitian ini berupa pH dari ekstrak bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dengan berbagai konsentrasi dan morfologi sel darah yang teramati dibawah mikroskop. Semua data hasil pengamatan morfologi sel darah dinyatakan sebagai perbandingan konsentrasi pewarnaan terhadap kontrol.

#### **4.7 Instrumen Penelitian**

##### **4.7.1 Alat**

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini yaitu *double needle*, holder, tourniquet, kapas kering, alkohol swab 70%, tabung vakum EDTA, bantalan lengan, plester, pipet tetes, objek glass, tisu, rak pewarnaan mikroskop, corong, neraca analitik, kain flanel, kertas *Whatman* 40, pH meter, botol sampel, erlenmeyer, labu ukur, beaker glass, dan *rotary evaporator*.

##### **4.7.2 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk melakukan penelitian ini yaitu aquades steril, etanol 96%, HCl 1%, metanol, larutan giemsa, bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dan sampel darah vena dengan antikoagulan EDTA.

#### **4.8 Prosedur Kerja**

Prosedur kerja pada penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

##### **1. Pembuatan Simplisia**

Pengambilan bahan baku bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dalam bentuk simplisia. Setelah simplisia sudah dikumpulkan maka perlu dilakukan proses pengolah terlebih dahulu seperti melakukan sortasi basah pada simplisia berupa pemisahan daun dari ranting, tanah dan bagian tanaman lain yang tidak dibutuhkan. Setelah proses sortasi basah, dilakukan pencucian dengan air mengalir supaya meminimalisir tanah, kotoran yang tidak diinginkan masuk pada proses simplisia tersebut.

Pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Rendowaty *et al* (2021) bunga senduduk diambil bagian mahkota bunga saja kemudian dicuci dan pelayuan pada suhu ruangan selama 2-3 hari pada suhu kamar  $\pm 15-30$  °C. Setelah kering lakukan pencacahan atau dihaluskan dengan cara diblender agar mempercepat pengeluaran antosianin pada saat maserasi.

## 2. Pembuatan Ekstrak Bunga Senduduk

Pembuatan ekstrak diperoleh dengan metode maserasi dari campuran 200 gram serbuk bunga senduduk kering dan pelarut (etanol 96% dan HCl 1% perbandingan 9 : 1) dan perbandingan antara bunga dan pelarut sebesar 1 : 5. Selanjutnya, larutan tersebut dibiarkan selama  $1 \times 24$  jam dalam botol kaca yang ditutup rapat dan dilapisi dengan *aluminium foil* untuk melindunginya dari paparan cahaya langsung. Hal ini bertujuan untuk menjaga kestabilan kandungan antosianin di dalamnya, karena senyawa ini tidak stabil terhadap pemanasan dan dapat rusak akibat pengaruh cahaya. Sambil dihomogenkan sesekali, ekstrak disaring dengan kain flanel dan kertas *Whatman 40* sehingga diperoleh ekstrak cair kemudian ekstrak diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* selama 50 menit pada suhu 50 °C (Widyastuti *et al.*, 2022; Guntur *et al.*, 2021). Senyawa antosianin stabil berada di antara 40-50 °C dengan pH 3-5. Pada suhu ini digunakan untuk mempertahankan intensitas warna pada senyawa antosianin pada bunga senduduk (Romaidha *et al.*, 2024).

Warna antosianin tergantung pada pH larutan yang bersifat asam, sebagian antosianin tampak berwarna merah, pada pH netral antosianin memberikan warna ungu, sedangkan pada pH yang cenderung basa akan memberikan warna biru (Perdani, 2023). Jika suhu lebih tinggi, senyawa antosianin akan rusak dan antosianin akan berubah menjadi coklat-keunguan (Romaidha *et al.*, 2024).

Konsentrasi ekstrak bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% didapatkan dengan menggunakan rumus pengenceran ( $C_1.V_1 = C_2.V_2$ ). Perhitungan pengenceran konsentrasi ekstrak bunga senduduk dapat dilihat pada Lampiran 2.

### 3. Uji pH

Ekstrak bunga senduduk yang sudah di rotary evaporator dan ekstrak bunga senduduk konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dilakukan pengecekan derajat keasaman menggunakan pH meter.

### 4. Pengambilan Sampel Darah Vena

Sampel darah vena diambil secara tertutup sejumlah 3 cc. Torniquet dipasang  $\pm$  10 cm di atas siku dan bertahan maksimal 1 menit. Sebelum mengambil darah dilakukan palpasi, lalu desinfeksi pada area kulit yang ingin dilakukan penusukan dengan alkohol swab 70% dan biarkan mengering. Pada titik vena, masukkan jarum ke atas. Kumpulkan darah dalam tabung EDTA 3 cc, lalu homogenkan 8-10 kali dan beri label (Suryatama *et al.*, 2023).

### 5. Pembuatan Preparat SADT Tipis

Pembuatan SADT tipis pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Wuan (2020), sebagai berikut:

- a. Menggunakan kaca objek yang bertepi rata sebagai pendorong kaca objek
- b. Menggunakan alkohol 70% untuk membersihkan kaca objek agar tidak terdapat lipid pada permukaan kaca objek
- c. Membakar kedua kaca objek dengan api spiritus tiga kali untuk membunuh bakteri yang menempel
- d. Meneteskan 7-10 $\mu$ l darah vena dengan antikoagulan EDTA pada kaca objek, berjarak 2-3 mm diujung objek glass
- e. Menempatkan kaca pendorong didepan tetesan darah dengan sudut 30-45°
- f. Menarik kaca pendorong ke belakang hingga tetes darah menyebar di ujungnya kaca objek
- g. Menarik kaca pendorong dengan cepat hingga terbentuk apusan darah pada kaca objek sepanjang 3-4 cm
- h. Menghasilkan apusan darah yang sempurna menyerupai lidah dengan ekor yang menipis dan tidak melebar sampai tepi kaca.

- i. Setelah itu, apusan darah tipis dikeringkan pada suhu ruang untuk dilakukan pewarnaan.

#### **6. Pewarnaan SADT Menggunakan Pewarnaan Giemsa**

Pewarnaan SADT dengan giemsa pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Wuan (2020), sebagai berikut:

- a. Meletakkan kaca preparat diatas rak pewarnaan.
- b. Meneteskan metanol pada kaca preparat selama 2-3 menit untuk fiksasi
- c. Menggenangi preparat dengan larutan giemsa (*ready to use*) selama 20-30 menit
- d. Membilas dengan air mengalir secara perlahan dan hati-hati.
- e. Meletakkan preparat tegak diatas rak pengering dan tunggu hingga kering.
- f. Mengamati sediaan preparat dibawah mikroskop perbesaran 100× objektif.

#### **7. Pewarnaan SADT Tipis Menggunakan Pewarnaan Ekstrak Bunga Senduduk**

Pewarnaan SADT tipis menggunakan ekstrak bunga senduduk pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Salnus & Arwie (2020), sebagai berikut:

- a. Meletakkan kaca preparat pada rak pewarnaan
- b. Melakukan fiksasi dengan metanol selama 2-3 menit
- c. Menggenangi dengan ekstrak bunga senduduk masing-masing selama 20-30 menit.
- d. Perlahan membilas dengan air mengalir secara perlahan dan hati-hati
- e. Menunggu preparat kering dalam suhu ruang
- f. Mengamati preparat di mikroskop dengan perbesaran 100× objektif.

#### **4.9 Pengumpulan Data dan Pengolahan Data**

Data dikumpulkan dari hasil pengamatan morfologi sel darah yang diwarnai menggunakan ekstrak bunga senduduk serta pengukuran pH pada variasi konsentrasi ekstrak bunga senduduk. Data yang diperoleh disajikan



dalam bentuk kualitatif deskriptif, di mana morfologi sel darah digambarkan secara subjektif antara konsentrasi dan kontrol yang digunakan berdasarkan pengamatan dibawah mikroskop.

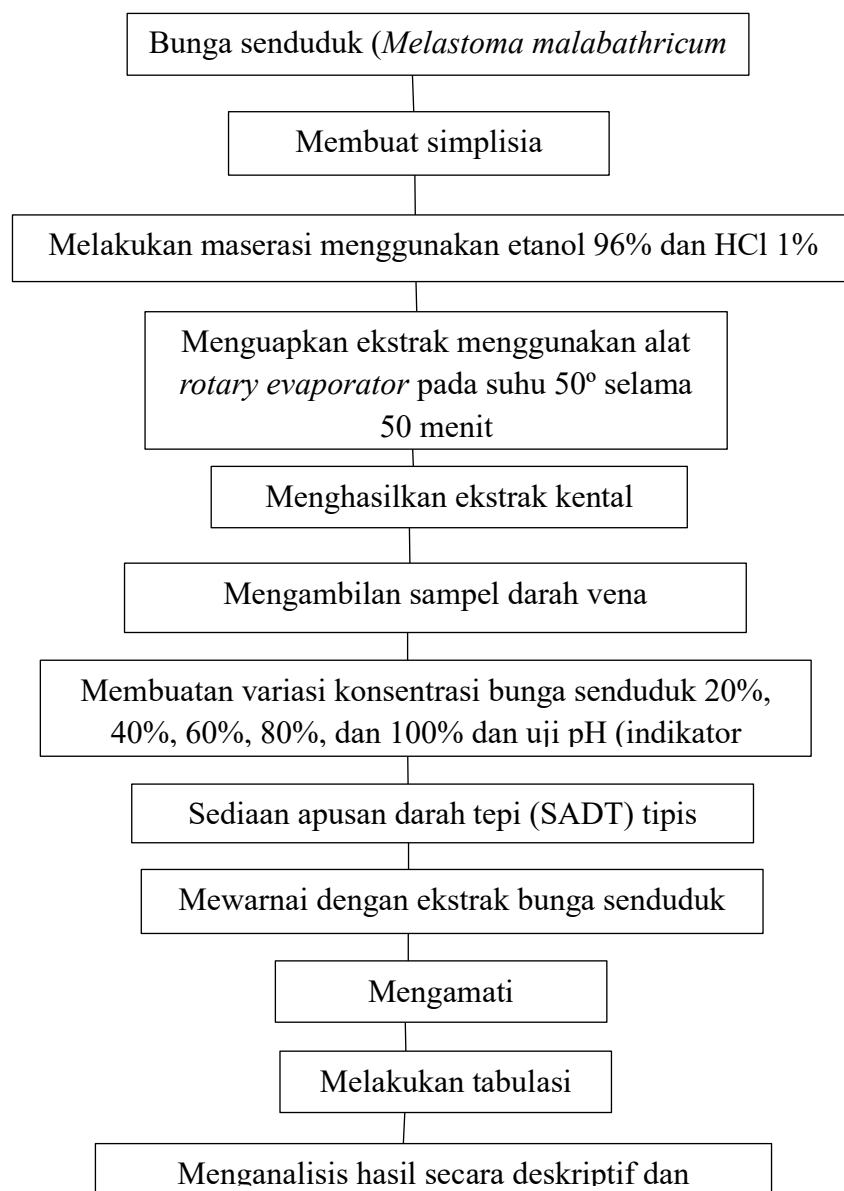
Beberapa kriteria dibutuhkan untuk memilih pewarnaan yang paling cocok. Kriteria penilaian SADT tipis yang baik secara mikroskopis diukur melalui gambaran bentuk sediaan yang terlihat jernih. Warna sediaan darah berwarna merah, ungu, dan biru, latar belakang sediaan jernih berwarna biru pucat kemerah-merahan, dan sel-sel eritrosit jelas dan kontras. Trombosit dan leukosit juga terlihat bebas dari partikel zat pewarna (Putri, 2019). Hasil penelitian menggunakan ekstrak bunga senduduk dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% ditunjukkan dalam contoh Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Tabulasi Pemeriksaan SADT Tipis

Konsentrasi Ekstrak dan Kontrol	Gambar	Eritrosit	Trombosit	Leukosit			Keterangan lainnya
				Sitoplasma	Lobus	Granula	
20%	Gambar 1						
	Gambar 2						
	Gambar 3						
	Gambar 4						
40%	Gambar 1						
	Gambar 2						
	Gambar 3						
	Gambar 4						
60%	Gambar 1						
	Gambar 2						
	Gambar 3						
	Gambar 4						
80%	Gambar 1						
	Gambar 2						
	Gambar 3						
	Gambar 4						
100%	Gambar 1						
	Gambar 2						
	Gambar 3						
	Gambar 4						
Giemsa (Kontrol Positif)							
Tidak Diwarnai (Kontrol Negatif)							

#### 4.10 Kerangka Kerja

Alur penelitian ini dapat dilihat pada kerangka kerja pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1** Kerangka Kerja

## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Gambaran Umum Penelitian

Ekstrak bunga senduduk dalam penelitian ini dihasilkan dari tanaman senduduk yang diambil di lokasi Pangkalan Bun dan Kumai. Ekstrak bunga senduduk didapatkan melalui tiga tahapan yaitu pembuatan simplisia, maserasi dan penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator*. Pertama-tama proses simplisia bunga senduduk yang sudah mekar sempurna diambil mahkotanya kemudian dilayukan selama dua hingga tiga hari di suhu ruang dan dihaluskan untuk mendapatkan serbuk sebanyak 200 gram yang digunakan pada tahap selanjutnya yaitu maserasi. Maserasi (ekstraksi dingin) dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan penambahan HCl 1% (perbandingan 9:1) serta perbandingan antara bunga dan pelarut sebesar 1:5. Volume yang didapat dari hasil maserasi sebanyak 570 ml yang kemudian akan dibuat ekstrak kental dan menghilangkan pelarutnya. Hasil ekstrak kental yang diperoleh dari penguapan pelarut berjumlah 66 ml dengan warna menunjukkan merah keunguan yang berbau seperti bunga ketika dilayukan dan tidak tercium bau pelarut etanol (Gambar 5.1).



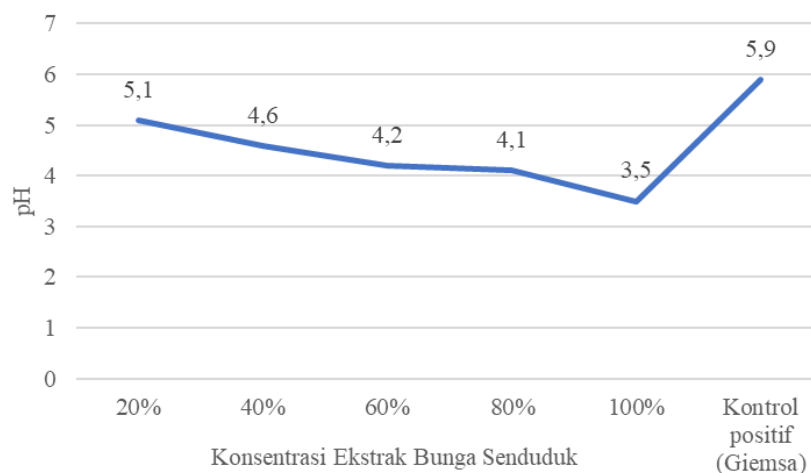
**Gambar 5.1** Hasil Warna Ekstrak Pekat (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Ekstrak pekat bunga senduduk yang diperoleh pada tahap sebelumnya dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% yang digunakan sebagai pengganti giemsa dan diaplikasikan untuk melihat

morfologi sel darah dengan menggunakan metode SADT Tipis sebanyak 27 sediaan yang terdiri dari kontrol positif (Giemsa), kontrol negatif (tidak diwarnai) dan 25 sediaan apusan darah.

### 5.1.1 Hasil Pengukuran pH Ekstrak Bunga Senduduk

Pengukuran pH pada ekstrak bunga senduduk didapatkan hasil pada masing-masing konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dapat dilihat pada Gambar 5.2.



**Gambar 5.2** Hasil Uji pH Ekstrak Bunga Senduduk

Hasil uji pH menunjukkan bahwa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% bersifat asam dengan nilai rentang pH 3,5-5,1, semakin tinggi konsentrasi semakin asam pH yang dihasilkan. Pada kontrol positif (giemsa) didapatkan asam pada pH 5,9, sedangkan di literatur pH giemsa 6,8-7,2 (Depkes RI, 1993).

### 5.1.2 Hasil Pengamatan Morfologi

Berdasarkan penelitian pengamatan morfologi sel darah dengan metode SADT tipis yang telah dilakukan menggunakan pewarna alternatif ekstrak bunga senduduk hasil dapat dilihat pada Tabel 5.1. Rincian pengamatan secara lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

**Tabel 5.1** Hasil Pengamatan Morfologi Sel Darah pada Sediaan Apusan Darah Tepi Tipis

Konsentrasi Ekstrak dan Kontrol	Gambar	Eritrosit	Trombosit	Leukosit			Keterangan lainnya
				Sitoplasma	Lobus	Granula	
20%		Terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih
40%		Terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih
60%		Terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih
80%		Terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih
100%		Terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih
Giemsa (Kontrol Positif)		Terlihat, terwarnai sangat jelas	Terlihat, terwarnai sangat jelas	Terlihat, terwarnai sangat jelas	Terlihat, terwarnai sangat jelas	Terlihat, terwarnai sangat jelas	Latar belakang bersih
Tidak Diwarnai (Kontrol Negatif)		Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Tidak terlihat, tidak terwarnai	Latar belakang bersih

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis yang terdapat pada Tabel 5.1 menunjukkan bahwa keseluruhan objek penelitian pewarnaan SADT dengan ekstrak bunga senduduk dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% tidak terwarnai pada trombosit, tidak terwarnai

pada setiap bagian sel leukosit (sitoplasma, lobus, granula) dan eritrosit terlihat jelas namun tidak menyerap warna senyawa antosianin secara optimal. Pada pewarnaan SADT tipis menggunakan giemsa sebagai kontrol positif menunjukkan morfologi eritrosit, trombosit, sitoplasma leukosit, inti sel leukosit, dan granula yang sangat jelas dan terwarnai. Sebaliknya, hasil pewarnaan SADT tipis tanpa pewarnaan sebagai kontrol negatif menunjukkan morfologi eritrosit, trombosit, dan sitoplasma leukosit yang tidak terlihat dan tidak terwarnai.

### 5.1.3 Pembahasan

Bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa antosianin (Julita *et al.*, 2014). Antosianin termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang terdiri dari senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar juga. Selain itu, antosianin dapat digunakan sebagai pewarna alami karena dapat menghasilkan warna merah, ungu dan biru, yang dapat digunakan sebagai indikator pewarnaan (Priska *et al.*, 2018). Oleh karena itu, ekstraksi dengan metode maserasi dapat digunakan untuk mendapatkan senyawa antosianin.

Metode maserasi merupakan metode yang dilakukan dengan cara perendaman dengan bahan dan pelarut dalam jangka waktu  $1 \times 24$  jam, sehingga membuat pelarut mudah mengikat senyawa yang terdapat pada sampel. Maserasi merupakan metode sederhana, murah dan aman digunakan karena tidak melakukan pemanasan sehingga menghindari kerusakan senyawa yang tidak tahan panas (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Pelarut yang digunakan dalam ekstrak antosianin bunga senduduk menggunakan pelarut etanol 96% dengan penambahan HCl 1% (9:1) dan perbandingan antara bunga dan pelarut sebesar 1:5 yang mengaju pada penelitian (Wibowo & Rahayu, 2017; Putri *et al.*, 2015). Menurut Rifki (2021), pelarut etanol digunakan dalam proses ekstraksi antosianin karena memiliki kepolaran yang hampir sama dengan antosianin,

sehingga menghasilkan lebih banyak antosianin yang diekstrak. Penggunaan etanol 96% dapat menghasilkan ekstrak murni karena etanol 96% memiliki kandungan air yang sedikit sehingga lebih mudah menguap dan tidak membutuhkan suhu yang terlalu tinggi (Ananta *et al.*, 2021).

Penambahan HCl 1% pada penelitian ini digunakan untuk mempermudah penyerapan senyawa antosianin dalam larutan dengan suasana asam selama proses maserasi karena senyawa antosianin lebih stabil dalam suasana asam pada pH 3-5, HCl 1% merupakan asam kuat yang bersifat polar mampu mendegradasi dinding sel tumbuhan dengan lebih cepat sehingga memungkinkan ekstraksi antosianin dengan lebih baik (Ocviana, 2010; Putri *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Julita *et al* (2014), pada ekstrak bunga senduduk menunjukkan bahwa penambahan etanol 3% + asam tartart 1% saat proses maserasi mampu mengekstrak senyawa antosianin dan menghasilkan warna paling pekat.

Ekstrak senyawa antosianin diperoleh dari proses maserasi belum dapat digunakan sebagai alternatif perwarnaan pengganti giemsa karena masih mengandung pelarut etanol 96% dan HCl 1%, sehingga perlu dilakukan penghilangan pelarut dengan cara penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Pada suhu ini senyawa antosianin masih dapat mempertahankan intensitas pigmen warna pada ekstrak, namun pada suhu yang lebih tinggi, pigmen antosianin akan mengalami perubahan pigmen warna menjadi ungu-kecoklatan yang menunjukkan bahwa senyawa antosianin mulai rusak (Nasrulla *et al.*, 2020).

Berdasarkan Gambar 5.2. menunjukkan bahwa konsentrasi 20% (pH 5,1), 40% (pH 4,6), 60% (pH 4,2), 80% (pH 4,1) dan 100% (pH 3,5) bersifat asam. Perubahan sifat nilai pH pada konsentrasi ekstrak bunga senduduk ini mempengaruhi konsentrasi dan warna pada senyawa antosianin. Peningkatan pH menghidrasi ion secara perlahan ke warna kuinoidal/pseudobase akan menyebabkan pigmen warna menjadi lebih

ringan dan memudar. Reaksi hidrasi terjadi pada struktur senyawa antosianin pada posisi dua kation flavylum dan reaksi transfer proton yang berhubungan dengan sifat asam gugus hidroksil. Hal ini menunjukkan bahwa antosianin menjalani beberapa reaksi kimia selama proses degradasi pigmen yang mempengaruhi warna (Janna *et al.*, 2006).

Sediaan apusan darah tepi (SADT) tipis adalah pemeriksaan yang dilakukan dengan teknik mikroskopis untuk mengamati morfologi sel darah, menggunakan prinsip pewarnaan *Romanowsky* dengan zat warna giemsa. Larutan giemsa merupakan campuran dari *eosin* yang berwarna merah, *methylene blue* yang berwarna biru, dan *methylene azure* yang berwarna ungu. Zat-zat ini memiliki sifat pewarna *kation* dan *anion* yang dapat mengikat eritrosit, leukosit, dan trombosit. Pewarnaan giemsa *eosin* berfungsi untuk memberi warna pada eritrosit, sedangkan *methylen blue* dan *methylen azure* berfungsi untuk mewarnai leukosit (sitoplasma, lobus, granula) dan trombosit. Sifat pewarna kation (basa) azure B dapat mewarnai trombosit dan memberikan warna biru-ungu pada nukleoprotein, granula basofil dan granula neutrophil (Sari & Masrillah, 2021).

Berdasarkan Tabel 5.1, ekstrak bunga senduduk pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan bahwa sel trombosit dan leukosit (sitoplasma, lobus, granula) tidak terlihat dan tidak terwarnai oleh pigmen antosianin, sedangkan yang terlihat hanya sel eritrosit saja tetapi tidak terwarnai dengan pengulangan 5 kali pada masing-masing konsentrasi. Pada kontrol positif (giemsa) menunjukkan bahwa eritrosit, leukosit (sitoplasma, lobus, granula) dan trombosit terlihat dan terwarnai dengan jelas sedangkan pada kontrol negatif didapatkan hasil eritrosit, leukosit (sitoplasma, lobus, granula) dan trombosit tidak terlihat dan tidak terwarnai.

Pada kontrol positif dengan pewarnaan gimesa mampu mewarnai eritrosit, leukosit (sitoplasma, lobus, granula) dan trombosit dengan sangat jelas. Sesuai dengan prinsip pewarna giemsa dimana pelarut *eosin*



bersifat asam dapat mewarnai sel eritrosit yang bersifat basa, pelarut *methylen blue* dan *methylen azure* yang bersifat basa dapat mewarnai sel leukosit yang bersifat asam. Sedangkan, pada kontrol negatif tidak terwarnai dan tidak terlihat karena pada kontrol negatif tidak dilakukan pewarnaan dengan menggunakan ekstrak bunga senduduk maupun dengan giemsa sehingga tidak memiliki kandungan *eosin*, *methylen azure* dan *methylen blue*.

Morfologi sel darah pada sediaan apusan darah tipis terlihat trombosit dan leukosit tidak terlihat dan tidak terwarnai pada penelitian ini dikarenakan ekstrak bunga senduduk dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% bersifat asam dengan rentang 3,5-5,1. Ekstrak bunga senduduk tidak memiliki kandungan *methylen blue* dan *methylen azure* (*azure B*) yang bersifat basa, sehingga leukosit dan trombosit tidak terlihat dan tidak terwarnai dikarenakan senyawa antosianin yang terkandung di dalam bunga senduduk tidak memiliki komponen *azure B* seperti pada larutan giemsa. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ardila (2021), menunjukkan bahwa sel leukosit dan trombosit tidak terlihat dan tidak terwarnai dengan menggunakan ekstrak kulit buah jambang. Hal ini dikarenakan pigmen senyawa antosianin dalam kulit buah jambang bersifat asam, sehingga tidak dapat mewarnai trombosit dan leukosit.

Penelitian ini didukung oleh Sari (2018), yang menunjukkan bahwa pada ekstrak kulit manggis, sel leukosit tidak terwarnai karena inti sel leukosit bersifat asam, sehingga pigmen antosianin yang juga bersifat asam tidak dapat berikatan dengan inti sel dan tidak menghasilkan warna. Prinsip pewarnaan menjelaskan bahwa pelarut asam akan memberikan warna pada sel eritrosit yang bersifat basa, sementara pelarut basa akan memberikan warna pada sel leukosit dan trombosit yang bersifat asam. Hal ini sejalan dengan penelitian tentang ekstrak ubi ungu yang dilakukan oleh Salnus & Alwie (2020), di mana ekstrak antosianin dengan pH asam dapat mendegradasi membran sel trombosit dan

leukosit, sehingga mengakibatkan kerusakan pada leukosit dan membuatnya tidak terwarnai. Pada penelitian ini, eritrosit terlihat dengan jelas karena senyawa antosianin dapat mengatur pergerakan osmotik zat terlarut dan dapat menyesuaikannya dengan keadaan disekitarnya sehingga eritrosit tidak mengalami hemolisis atau terdegradasi (Priska *et al.*, 2018). Jika larutan memiliki tekanan osmosis yang berbeda dengan eritrosit maka dapat menyebabkan cairan eritrosit keluar menuju plasma sehingga mengakibatkan terjadinya pengerutan. Larutan yang memiliki tekanan lebih rendah daripada eritrosit disebut larutan hipotonik, sedangkan larutan yang memiliki tekanan lebih tinggi dari eritrosit disebut hipertonik, dan larutan yang memiliki tekanan yang sama dengan eritrosit disebut isotonik (Siswanto, 2017).

Pada penelitian ini eritrosit tidak terwarnai pada seluruh konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% karena pigmen senyawa antosianin ekstrak bunga senduduk tidak dapat masuk ke dalam dinding sel eritrosit. Hal ini dapat disebabkan sel darah tidak dapat mengikat senyawa antosianin pada gugus hidroksil atau hidrogen pada cincin A dan ikatan glikosida dalam cairan seluler pada cincin A dan B tidak larut dalam cairan seluler sehingga tidak dapat memberi warna pada sel darah (Liliani, 2017).

Berdasarkan beberapa penelitian dari Octaviani, (2010), Amperawati *et al* (2019), Fendri *et al* (2018), menjelaskan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pewarnaan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) Tipis dengan ekstrak bunga senduduk yaitu faktor cahaya. Faktor cahaya dapat mempengaruhi keberadaan antosianin dalam proses ekstraksi dan penggunaannya. Antosianin merupakan pigmen alami yang sangat sensitif terhadap faktor lingkungan seperti suhu dan cahaya. Suhu dan paparan cahaya dapat menyebabkan degradasi (penurunan kualitas atau perubahan struktur kimia) antosianin, sehingga proses ekstraksi harus dilakukan secara hati-hati agar kualitasnya tetap terjaga. Sejalan dengan penelitian Raihani & Wahab (2024), pada warna ekstrak buah

mangsan eritrosit tidak terwarnai karena dipengaruhi oleh suhu pemanasan. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan antosianin terdegradasi dari bentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna), dan akhirnya menjadi alfa diketon. Selain itu lama pemanasan juga mempengaruhi hasil pewarnaan. Semakin lama waktu pemanasan, maka semakin besar kemungkinan terjadinya dekomposisi antosianin (proses molekul antosianin mengalami pemecahan atau perubahan struktur kimia), yang dapat mengurangi efektivitas pewarnaan pada sediaan apus darah.

Studi literatur menunjukkan bahwa konsentrasi dan stabilitas warna antosianin menurun pada suhu, dan penurunan ini dapat terjadi lebih cepat pada suhu penyimpanan yang lebih tinggi (Shao-qian *et al.*, 2011; Reyes & Cisneros-Zevallos, 2007; Casati *et al.*, 2015; Moldovan *et al.*, 2012; Prommakool & Phattayakorn, 2016; dan Sipahli *et al.*, 2017). Selain itu, Markakis (1982) mengemukakan bahwa suhu selama proses pembuatan ekstrak dan penyimpanan dapat merusak pigmen antosianin, meskipun degradasinya tidak terlalu dipengaruhi oleh oksigen, tetapi sangat dipengaruhi oleh akumulasi panas.

Penelitian yang berbeda pada buah senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) menunjukkan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% mampu mewarnai eritrosit dengan baik serta konsentrasi 80% dan konsentrasi 100% pada sediaan apusan darah tepi mampu mewarnai eritrosit dan inti leukosit dengan jelas. Namun, tidak mampu mewarnai granula dari leukosit dan trombosit secara optimal (Romaidha *et al.*, 2024). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antosianin pada bunga dan buah dari tanaman senduduk memiliki kemampuan yang berbeda dalam mewarnai SADT tipis untuk melihat morfologi sel darah. Buah memiliki kandungan senyawa antosianin lebih tinggi dibandingkan dengan bunga. Faktor yang mempengaruhi perbedaan senyawa antosianin pada buah dan bunga yaitu faktor cahaya yang dapat mempengaruhi biosintesis antosianin sehingga saat bunga kelopaknya

mengembang dan menerima cahaya maka dapat menyebabkan antosianin terdegradasi, sehingga mengakibatkan penurunan senyawa antosianin secara signifikan pada berbagai bunga (Mekapogu *et al.*, 2020; Khoo *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan dari penggunaan ekstrak antosianin untuk melihat morfologi dari telur cacing dan bakteri. Penelitian dari Nurmalasari *et al* (2023), menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga sebagai pengganti *eosin* yang menggunakan metode maserasi dengan pelarut asam sitrat 2%. Hasil maserat ditambahkan NaOH dari pH 3,4 hingga mencapai 6,3. Terhadap konsentrasi 2%, 5%, 10% dan 20% menunjukkan hasil ekstrak kulit buah naga tidak dapat menembus dinding sel telur cacing *Ascaris lumbricoides*, *Trichiuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* sehingga telur cacing tidak dapat terwarnai.

Penelitian berbeda juga terdapat pada penelitian Indrawati *et al* (2022), ekstrak buah senduduk sebagai alternatif pewarna gram yaitu safranin dan kristal violet. Ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol 70% dan ditambahkan asam sitrat 14% sebagai pengganti safranin dan NH<sub>4</sub>Cl 25% sebagai pengganti kristal violet untuk melihat bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian pada sediaan bakteri *E. coli* (gram negatif) yang diwarnai dengan ekstrak buah senduduk dengan penambahan asam sitrat 14% sebagai pengganti safranin menunjukkan pewarnaan optimal. Morfologi bakteri *E. coli* dapat dilihat dibawah mikroskop karena sediaan yang diwarnai dengan pewarna ekstrak buah senduduk dan pemanasan selama 30 detik bertujuan untuk melarutkan lapisan lilin dan lemak pada dinding sel bakteri. Sehingga pewarna dapat menyerap kedalam dinding sel bakteri. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang diwarnai ekstrak buah senduduk dengan penambahan NH<sub>4</sub>Cl 25% sebagai pengganti pewarna kristal violet. Hasil menunjukkan pewarnaan tidak optimal karena setelah penambahan NH<sub>4</sub>Cl 25% tidak stabil sehingga terjadi perubahan warna dari biru menjadi abu-abu yang menyebabkan hasil pewarnaan kurang baik.

Berdasarkan beberapa penelitian dari studi literatur dapat disimpulkan bahwa pengaplikasian dari suatu pewarnaan mempunyai kemampuan dalam menembus dinding sel bakteri, telur cacing dan sel darah merah. Penggunaan ekstrak antosianin untuk pewarnaan menunjukkan bahwa faktor keasam-basaan dapat mempengaruhi kemampuan dalam menembus dinding sel bakteri, telur cacing maupun sel darah untuk dapat mengikat struktur morfologi sehingga dapat terwarnai dengan optimal.