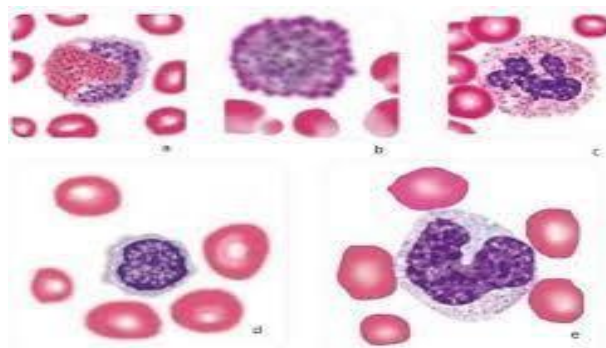


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Leukosit

Sel darah putih atau leukosit adalah komponen pembentuk darah yang berfungsi sebagai pelindung tubuh dari serangan infeksi melalui peranannya dalam sistem imun, lengkap dengan nukleus sel, dan berukuran lebih besar ketimbang eritrosit. Kadar normal leukosit pada manusia berada pada kisaran 5.000-10.000 sel/mm³. Leukositosis didefinisikan ketika jumlahnya melampaui 10.000 sel/mm³, sementara leukopenia mengindikasikan jumlah kurang dari 5.000 sel/mm³. Proses penghitungan leukosit dapat dilaksanakan dengan dua teknik, yaitu manual dengan hemositometer (*Improved Neubauer*) atau otomatis melalui hematology analyzer sebagai alat penghitung sel darah (Kahfi *et al.*, 2022). Sel darah putih terdiri dari beberapa jenis, termasuk limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil. Setiap jenis sel mempunyai fungsi masing-masing dalam sistem imunitas tubuh (Erikardo, 2023).



Gambar 2.1 Jenis-jenis sel leukosit
Sumber : (Rosita *et al.*, 2019)

Berdasarkan bentuk morfologinya, terdiri dari lima jenis utama yaitu limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, serta basofil, di mana setiap jenis memiliki fungsi serta karakteristik yang unik dan berbeda. Leukosit berperan sebagai elemen kunci dalam sistem pertahanan tubuh, dengan fungsi utamanya melindungi dari infeksi serta menghancurkan sel-sel yang mengalami mutasi. Limfosit memainkan peran penting dalam respon imunitas tubuh untuk melawan infeksi virus dan bakteri, sementara monosit berfungsi sebagai lapisan kedua pertahanan tubuh dengan kemampuan fagositosis dan termasuk dalam kelompok makrofag. Fungsi utama neutrofil adalah melawan infeksi bakteri serta mengatasi gangguan radang, sedangkan eosinofil aktif pada tahap akhir inflamasi dengan kemampuan fagositosis, dan basofil berhubungan dengan infeksi akut, reaksi stress, serta terapi steroid jangka panjang (Giyartika dan Keman, 2020).

2.2 Metode Hitung Jumlah Leukosit

Ada dua teknik utama yang digunakan untuk menghitung jumlah sel darah putih yaitu metode flow cytometry dan metode manual. Metode flow cytometry, sel dikenali melalui ciri khasnya, termasuk bagaimana inti sel membelah, komponen internal sel, keberadaan butiran di dalam sel, serta ukuran keseluruhan sel. Teknik ini sering diintegrasikan ke dalam alat analisis darah otomatis yaitu hematologi analyzer. Sementara pemeriksaan sel darah putih secara manual melibatkan penambahan reagen Turk. Setelah itu, sampel diamati di bawah mikroskop dengan bantuan kotak

hitung *Improved Neubauer* (Soleha dan Tiara, 2024).

Perhitungan jumlah leukosit dapat dilakukan secara manual dengan alat hemositometer. Hemositometer merupakan rangkaian alat penting untuk penghitungan manual sel darah meliputi eritrosit, leukosit, dan trombosit menggunakan mikroskop, bilik hitung *Improved Neubauer* atau *Fuchs Rosenthal*, cover glass, dan pipet Thoma. Pipet Thoma sendiri dibedakan; pipet eritrosit memiliki batu merah dengan skala 0.5, 1, dan 101, sementara pipet leukosit memiliki batu putih dengan skala 0.5, 1, dan 11. Penting untuk dipahami bahwa skala pada pipet Thoma ini hanya mengindikasikan tingkat pengenceran darah, bukan volume absolut spesimen atau reagen yang digunakan (Atourrohman, 2019).

2.3 Larutan Turk

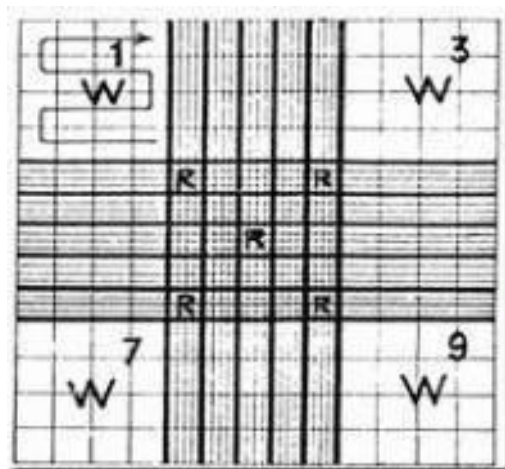
Larutan standar yang digunakan untuk menghitung jumlah leukosit secara manual adalah larutan Turk, yang terdiri dari gentian violet, asam asetat glasial, dan aquadest. Dalam komposisi ini, asam asetat glasial berfungsi krusial untuk melisiskan eritrosit (sel darah merah) karena memiliki kandungan asam dengan . Sementara itu, gentian violet berfungsi sebagai zat pewarna agar leukosit menjadi lebih jelas terlihat di bawah mikroskop, dan pewarna ini tidak memengaruhi jumlah leukosit yang dihitung (Suba'iyah *et al.*, 2020). Larutan Turk isotonis terhadap sitoplasma leukosit, sehingga menjaga keutuhan sel darah putih, sekaligus memiliki kemampuan untuk menghemolisis (melisiskan) eritrosit. Selain itu, larutan Turk juga berfungsi sebagai zat pewarna, memberikan warna

ungu muda pada sel-sel leukosit agar mudah diidentifikasi dan dihitung di bawah mikroskop (Atourrohman, 2019).

Tabel 2. Komposisi Larutan Turk
Sumber: (Suba'iyah *et al.*, 2020)

Komponen Larutan	Volume Standar (Rata-rata)	Persentase (dari 100 ml)	Fungsi Utama
Larutan Gentian Violet 1%	1 ml	1.00%	Pewarna Inti Leukosit
Asam Asetat Glasial (Murni)	2 ml	2.00%	Melisiskan (menghancurkan) eritrosit dan trombosit
Aquadest Suling)	97 ml	97.00%	Pelarut dan pengencer utama
Total	100 ml	100%	

Penghitungan jumlah leukosit secara manual dilakukan menggunakan mikroskop dan kamar hitung. Proses ini diawali dengan mengencerkan sampel darah menggunakan larutan Turk, yang berfungsi ganda yaitu asam asetat glasial melisiskan membran sel darah, menyisakan hanya inti sel, sementara gentian violet mewarnai inti sel tersebut agar mudah dikenali sebagai leukosit. Pengenceran standar yang umum digunakan adalah 1:20, namun rasionya dapat diubah sesuai kondisi klinis pasien (Erikardo, 2023).



Gambar 2 (kamar hitung *improved neubauer* leukosit)
Sumber: (Puspita dan Alivameita, 2023)

2.4 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)

Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) adalah varietas jeruk yang berasal dari kawasan Asia Tenggara dan India. Tanaman ini tidak terikat musim, sehingga buahnya tersedia melimpah sepanjang tahun dan dapat dibudidayakan secara fleksibel, baik di dataran tinggi maupun dataran rendah. Secara morfologi, pohonnya berukuran kecil, menghasilkan buah dengan bentuk agak bulat, berujung meruncing, dan berdiameter 3-6 cm. Kulit buahnya tebal, memiliki aroma khas (aromatik), rasa pahit dan kesat, serta berkhasiat sebagai stimulan. Buah muda berwarna hijau, dan saat matang menjadi semakin hijau atau kekuningan, dengan bagian dalam buah yang terasa asam. Sementara itu, bijinya berwarna putih kehijauan, berbentuk pipih dan bulat telur, didukung oleh akar tunggang berwarna putih kekuningan yang berbentuk bulat (Bawekes *et al.*, 2023). Dalam penelitian Rima iftita tahun 2017, menjelaskan semua kandungan senyawa pada buah jeruk nipis adalah asam sitrat dengan kandungan 7 hingga 7,6%, mineral, damar lemak, minyak atsiri, sitrat limonen, lemon kamfer, vitamin B1, vitamin C, fosfor, kalsium, geranil asetat, cadinen, felandren, linalin asetat, vitamin C, kalsium, dan fosfor (Hurrohmah *et al.*, 2017).

Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) merupakan sumber alami yang memiliki nilai *pH* sangat rendah, berkisar 2,0 didominasi oleh kandungan asam sitrat yang tinggi. Secara khusus, sifat asam lemah dari air perasan jeruk nipis ini sangat relevan dalam aplikasi diagnostik laboratorium, terutama untuk perhitungan jumlah leukosit secara manual.

Asam sitrat dalam jeruk nipis dapat berfungsi sebagai agen hemolisis selektif, meniru peran asam asetat glasial dalam

larutan Turk standar. Prinsipnya adalah bahwa sifat asam ini mampu melisis sel darah merah (eritrosit) dan trombosit, namun meninggalkan sel darah putih (leukosit) relatif utuh. (Merizka dan Harun, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Kahfi *et al.* (2022) mengonfirmasi bahwa variasi konsentrasi air perasan jeruk nipis dapat digunakan sebagai alternatif reagen pengganti komposisi larutan Turk, yang efektif dalam menjernihkan latar belakang sediaan apus darah. Kemampuan pelisisan ini sangat penting untuk menghasilkan sediaan yang hanya menyisakan leukosit, sehingga mempermudah penghitungan akurat menggunakan bilik hitung, menunjukkan potensi jeruk nipis sebagai bahan yang efisien dan ekonomis dalam metodologi hematologi klinis (Kahfi *et al.*, 2022).

2.5 Umbi Bit (*Betavulgaris*L)

Umbi bit, dikenal tinggi antioksidan karena pigmen *Betalain* yang merupakan kombinasi pigmen ungu *Betacyanin* dan pigmen kuning *Betaxanthin* serta berfungsi sebagai pewarna alami, menunjukkan potensi besar sebagai pewarna sel leukosit dalam pemeriksaan hitung jumlah leukosit. Perhitungan jumlah leukosit, terutama menggunakan metode manual dengan kamar hitung, diperlukan reagen yang berfungsi mewarnai inti leukosit agar mudah diidentifikasi. Secara tradisional, digunakan larutan Turk. Namun, penelitian ilmiah saat ini terus mencari alternatif reagen alami yang lebih aman, murah, dan mudah diperoleh. Beberapa studi

telah meneliti seperti dalam penelitian Dani dkk. (2024) hasil penggunaan perasan umbi bit sebagai larutan pengencer modifikasi dalam prosedur hitung leukosit. Konsentrasi efektif umbi bit (*Beta vulgaris L*)

sebagai pewarna sel leukosit pada perhitungan jumlah leukosit metode *hemocytometer* adalah 1%. Pigmen *Betalain* dari bit diyakini mampu mengambil alih fungsi pewarna, memberikan warna pada inti leukosit sehingga kontrasnya jelas di bawah mikroskop, sementara kandungan lainnya mungkin membantu dalam proses pelisisan sel darah merah, menjadikannya kandidat dengan potensi besar untuk menggantikan pewarna sintesis dalam pemeriksaan hematologi (Hanifan *et al.*, 2016).

Umbi bit (*Beta vulgaris L.*) mengandung zat warna utama berupa pigmen *Betalain*, khususnya *Betasianin*, yang secara spesifik telah diidentifikasi sebagai zat warna yang bersifat basa dan berfungsi efektif sebagai pewarna inti (nukleus) dari sel leukosit yang memiliki sifat asam.

Zat warna basa (seperti yang terdapat pada bit) cenderung tertarik dan mengikat komponen seluler yang bersifat asam (asam nukleat pada inti sel). Oleh karena inti leukosit kaya akan asam nukleat, zat warna basa dari umbi bit ini mampu berinteraksi secara kuat, menghasilkan kontras warna yang jelas sehingga memudahkan identifikasi morfologi inti sel di bawah mikroskop, menjadikannya alternatif pewarna alami yang potensial dalam pemeriksaan hematologi (Dani *et al.*, 2024). Reaksi ini juga terdapat dalam hasil penelitian Yulianti., dkk (2008) yang menyatakan kondisi *Betacyanin* pada *pH* asam sebesar 2,5 warna pigmen *Betasianin* menjadi ungu. Bit

Merah memiliki kandungan *Betasianin* dan mendekati *pH* gentian violet dan memiliki jumlah pigmen *Betalain* yang lebih besar yaitu dapat mencapai 200 mg dalam 100 g umbi bit merah (Silalahi *et al.*, 2022).

Kondisi sangat asam, seperti yang ditimbulkan oleh asam asetat glasial, mempercepat deglikolisasi pada pigmen ungu *Betacyanin*. Deglikolisasi adalah proses hidrolisis di mana terjadi pemutusan ikatan glikosida yang melepaskan unit gula. Akibatnya, *Betacyanin* berubah menjadi *Betanidin* (bentuk aglikonnya), yang secara kimiawi kurang stabil dan menyebabkan degradasi, ditandai dengan perubahan atau hilangnya warna ungu-merah yang seharusnya berfungsi sebagai pewarna inti leukosit (Yulianti *et al.*, 2008).

2.6 Larutan Modifikasi

Modifikasi larutan merupakan upaya ilmiah untuk menjangkau keterbatasan yang terjadi, efisiensi, dan biaya yang lebih rendah terhadap penggunaan reagen konvensional. Larutan Turk dapat dimodifikasi menggunakan bahan alami jeruk nipis (*Citrus auratifolia Swingle*) dan umbi bit (*Beta vulgaris L.*). Konsentrasi air perasan jeruk nipis (*Citrus auratifolia Swingle*) efektif melisis eritrosit yang digunakan adalah 2%. Asam lemah dengan *pH* 2,5 yang terkandung pada jeruk nipis (*Citrus auratifolia Swingle*) mampu menghancurkan sel darah eritrosit yang tidak tahan pada keadaan asam tersebut. Oleh karena itu, air perasan jeruk nipis (*C. auratifolia S.*) dinilai sangat sesuai untuk menjadi alternatif pengganti komponen asam dalam larutan Turk tersebut mampu

menyediakan tingkat keasaman yang dibutuhkan (Kahfi *et al.*, 2022).

Pemanfaatan umbi bit (*Beta Vulgaris L*) pada konsentrasi 1% dalam larutan modifikasi untuk hitung jumlah leukosit dinilai efektif karena konsentrasi ini mencapai titik kritis optimal dalam prosedur lisis dan pewarnaan. Secara fundamental, efektivitas ini terletak pada kandungan *Betasianin* (pigmen merah)

yang berfungsi sebagai pewarna inti leukosit, dan kandungan asam alami yang berfungsi melisiskan eritrosit (lisis eritrosit) tanpa merusak leukosit, serupa dengan fungsi larutan Turk konvensional. Konsentrasi 1% dipilih setelah melalui optimasi untuk memastikan latar belakang preparat bebas dari residu eritrosit, menghasilkan kontras pewarnaan yang cukup kuat pada inti leukosit agar mudah divisualisasikan dan dihitung di bawah mikroskop (Dani *et al.*, 2024).