

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

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

###### **a. Pengertian darah**

Darah adalah jaringan penghubung yang memungkinkan adanya komunikasi antar sel dalam tubuh dengan lingkungan seperti membawa oksigen, zat-zat gizi, sekresi hormon, dan lain-lain. Darah juga mengatur suhu tubuh dan membantu dalam pengaturan osmotik dan keseimbangan asam basa. Volume total darah orang dewasa diperkirakan sekitar 5-6 liter atau 7%-8% dari berat tubuh seseorang (Maharani dan Noviar, 2018).

###### **b. Komposisi darah**

Komposisi darah terdiri atas dua bagian, yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebesar 55% dan korpuskuler atau sel darah (bagian padat darah) sebesar 45%. Komponen cairan darah mengandung antikoagulan disebut plasma, yang merupakan cairan jernih berwarna kekuningan. Komponen plasma terdiri dari 90% air, 9% zat-zat organik seperti protein (albumin, globulin, protein pembekuan, protein komplemen), asam amino dan hormon serta 1% garam-garam organik dan gas yang larut dalam *nutrient*. Komponen padat darah mengandung sel darah yang terdiri dari tiga jenis, yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit (Maharani dan Noviar, 2018).

### c. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah merupakan salah satu komponen darah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Satu mm<sup>3</sup> darah terdapat kira-kira 5 juta eritrosit, sehingga menyebabkan darah berwarna merah (Hiru, 2013). Eritrosit beredar dalam sirkulasi darah rata-rata 120 hari. Eritrosit yang mengalami proses penuaan atau proses *senescense* akan rusak dan dihancurkan dalam sistem *reticulum endothelium* terutama dalam limpa dan hati, kemudian diganti retikulosit. Retikulosit akan mengalami maturasi setelah 1-2 hari beredar dalam sirkulasi darah (Kierszenbaum dan Tres, 2012). Eritrosit berbentuk bikonkaf dengan diameter 7-8 µm. Eritrosit memiliki membran plasma yang kuat dan fleksibel sehingga dapat berubah bentuk dan tidak pecah ketika melewati pembuluh darah yang sempit. Membran plasma eritrosit juga terdapat antigen sebagai penentu golongan darah ABO dan Rh.

### d. Hemoglobin

Hemoglobin merupakan zat protein yang terdapat dalam eritrosit dan memberi warna merah pada darah. Hemoglobin terdiri dari hem yaitu pigmen yang mengandung zat besi dan globin yang merupakan protein. Hemoglobin berfungsi membawa oksigen (O<sub>2</sub>) dan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dalam jaringan tubuh. Darah yang mengalir melalui paru-paru menyebabkan oksigen berdifusi dari paru-paru ke dalam darah dan berikatan dengan hemoglobin membentuk oksihemoglobin untuk membentuk warna merah terang pada darah. Pelepasan oksigen dari

oksihemoglobin ke sel-sel tubuh membentuk deoksihemoglobin yang membawa sejumlah kecil karbon dioksida dari sel-sel tubuh ke paru-paru (Gunstream, 2014).

## 2. Serum

### a. Pengertian Serum

Serum adalah bagian cair darah yang tidak mengandung sel-sel darah dan faktor-faktor pembekuan darah. Protein-protein koagulasi lainnya dan protein yang tidak terkait dengan hemostasis, tetap berada dalam serum dengan kadar serupa dalam plasma. Apabila proses koagulasi berlangsung secara abnormal, serum mungkin mengandung sisa fibrinogen dan produk pemecahan fibrinogen atau protrombin yang belum di *konevensi* (Sacher dan McPerson, 2012).

Serum diperoleh dari spesimen darah yang tidak ditambahkan antikoagulan dengan cara memisahkan darah menjadi 2 bagian dengan menggunakan sentrifus, setelah darah didiamkan hingga membeku kurang lebih 30 menit (Nugraha, 2015). Setelah disentrifugasi akan tampak gumpalan darah yang bentuknya tidak beraturan dan bila penggumpalan berlangsung sempurna, gumpalan darah tersebut akan terlepas atau dengan mudah dapat dilepaskan dari dinding tabung. Selain itu akan tampak pula bagian cair dari darah. Bagian ini, karena sudah terpisah dari gumpalan darah maka tidak lagi berwarna merah keruh akan tetapi berwarna kuning jernih. Gumpalan darah tersebut terdiri atas seluruh unsur figuratif darah yang telah mengalami proses penggumpalan

atau koagulasi spontan, sehingga terpisah dari unsur larutan yang berwarna kuning jernih (Sadikin, 2014).

#### b. Serum Tidak Normal

Ada beberapa alasan yang dapat menyebabkan sampel menjadi tidak layak untuk diperiksa. Serum yang tidak normal merupakan alasan yang paling sering menyebabkan ditolaknya sampel pemeriksaan, seperti serum lipemik, ikterik, dan hemolisis (Ghaedi dan Joe, 2016).

##### 1) Serum Lipemik

Serum lipemik adalah serum yang keruh, berwarna putih atau seperti susu karena akumulasi partikel lipoprotein. Lipoprotein merupakan molekul yang mengandung kolesterol dalam bentuk bebas maupun ester, trigliserida, fosfolipid, yang berikatan dengan protein yang disebut apoprotein. Dalam molekul lipoprotein inilah lipid dapat larut dalam sirkulasi darah, sehingga bisa diangkut dari tempat sintesis menuju tempat penggunaannya, serta dapat didistribusikan ke jaringan tubuh. Pada *whole blood*, lipemik akan terlihat jika konsentrasi trigliserida di atas 1000 mg/dL dan pada serum, lipemik akan terlihat secara visual apabila konsentrasi trigliserida di atas 300 mg/dL (Ghaedi dan Joe, 2016).

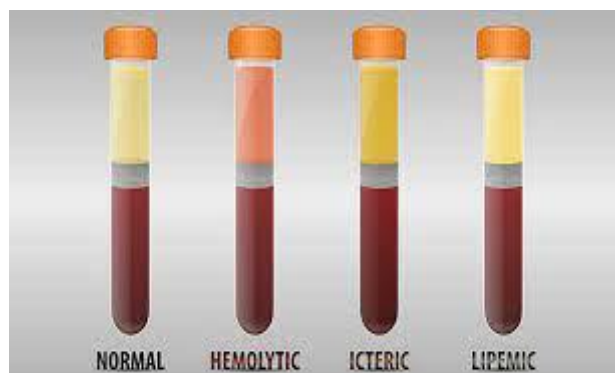
##### 2) Serum Ikterik

Serum ikterik adalah serum yang berwarna kuning kecoklatan yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi bilirubin. Serum ikterik juga dapat mengganggu beberapa hasil pemeriksaan kimia

klinik. Tingkat ikterik yang dapat mengganggu pemeriksaan kimia adalah saat kadar bilirubin dalam serum  $\geq 6$  mg/dL (Ecllinpath, 2013).

### 3) Serum Hemolisis

Serum hemolisis adalah serum yang berwarna kemerahan yang disebabkan karena lepasnya hemoglobin dari eritrosit yang rusak atau pecahnya membran eritrosit selama proses pengambilan spesimen atau selama pemrosesan. Hemolisis dapat mengganggu banyak metode pemeriksaan dan dapat meningkatkan kadar analit tertentu dalam plasma (misalnya kalium atau zat besi) yang normalnya tidak dalam konsentrasi tinggi. Tingkat hemolisis dibagi menjadi 3, yaitu hemolisis ringan, sedang, dan berat. Hemolisis dapat diketahui dari konsentrasi hemoglobin. Hemolisis ringan memiliki konsentrasi hemoglobin 20-100 mg/dL, hemolisis sedang memiliki konsentrasi hemoglobin 100-300 mg/dL, hemolisis berat memiliki konsentrasi hemoglobin lebih dari 300 mg/dL (Adiga dan Yogish, 2016).



Gambar 1. Jenis-Jenis Serum Abnormal

Sumber: Giri, 2019.

### 3. Hemolisis

#### a. Pengertian hemolisis

Hemolisis adalah kerusakan membran sel darah merah yang menyebabkan pelepasan hemoglobin dan komponen intraseluler lainnya ke dalam cairan di sekitarnya. Hemolisis terlihat sebagai warna kemerahan pada serum atau plasma. Hemolisis dapat digolongkan menjadi hemolisis ringan, sedang dan berat (Lippi, dkk., 2018).

Hemolisis dapat dideteksi secara visual dan penting untuk memperkirakannya dengan analisis langsung. Tingkatan hemolisis juga ditentukan berdasarkan visual yaitu berdasarkan kepekatan warna yang timbul. Hemolisis dapat ditentukan berdasarkan kadar hemoglobin yang terkandung dalam serum (Adiga dan Yogist, 2016).

Tabel 1. Tingkat Hemolisis Berdasarkan Kadar Hemoglobin

<b>Hemoglobin</b>	<b>Tingkat Hemolisis</b>
< 20 mg/dL (< 0,02 g/dL)	Tidak hemolisis
20-100 mg/dL (0,02-0,1 g/dL)	Hemolisis ringan
100-300 mg/dL (0,1-0,3 g/dL)	Hemolisis sedang
> 300 mg/dL (> 0,3 g/dL)	Hemolisis berat

Sumber: Adiga dan Yogish, 2016.

#### b. Penyebab hemolisis

Penyebab hemolisis terbagi menjadi dua, yaitu secara *in vivo* dan *in vitro*. Secara *in vivo* disebabkan oleh berbagai kondisi dan gangguan di dalam tubuh, adanya infeksi, zat beracun, reaksi transfusi, dan anemia

hemolitik (Elrouf, dkk., 2013). Secara *in vitro*, yang disebabkan oleh prosedur yang tidak tepat pada saat pengumpulan atau penanganan spesimen biologis (Lippi, dkk., 2011). Hemolisis secara *in vitro* dapat disebabkan oleh:

- 1) Pengambilan darah pada daerah yang hematoma
- 2) Pemasangan *torniquet* terlalu lama
- 3) Penarikan *syringe plunger* terlalu cepat
- 4) Penggunaan jarum yang terlalu kecil
- 5) Pemindahan darah dari spuit ke tabung dilakukan dengan tekanan
- 6) Pengambilan darah menggunakan spuit yang tidak lancar dikarenakan pembuluh darah tidak tertusuk sempurna
- 7) Intervensi tabung secara berlebihan (dikocok)
- 8) Darah terguncang-guncang
- 9) Langsung memusingkan spesimen tanpa didiamkan sesuai waktu yang disarankan

c. Pengaruh hemolisis

Hemolisis dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium yang menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk. Apabila terdapat hemolisis pada sampel maka warna yang diserap akan

dipengaruhi oleh warna hemoglobin sehingga hasil pada pemeriksaan menggunakan spektrofotometer akan berubah (Hasibuan, 2015).

Permasalahan yang sering terjadi adalah sampel hemolisis yang mengganggu hasil dari pemeriksaan laboratorium. Apabila eritrosit pecah maka akan menyebabkan isi sel keluar, misalnya: enzim, elektrolit dan hemoglobin sehingga tampak merah muda sampai merah dan hal tersebut akan mengganggu pemeriksaan laboratorium. Hemolisis mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium, beberapa pemeriksaan akan mengalami peningkatan seperti *Aspartat Aminotransferase* (AST), *Lactat Dehidrogenase* (LDH) dan kalium. Parameter lain seperti *Alanine Aminotransferase* (ALT), amilase, *Creatine Kinase* (CK), kolesterol, protein total, glukosa, trigliserida, albumin, natrium dan asam urat juga menunjukkan adanya perubahan (Koseoglu, dkk., 2011).

Pada dasarnya hemoglobin tidak boleh ada di dalam serum atau plasma karena dapat menyebabkan hasil pemeriksaan yang salah, yaitu dapat menyebabkan kenaikan atau penurunan palsu pada pemeriksaan. Hemoglobin merupakan salah satu gangguan kromogen pada metode kolorimetrik sehingga hemoglobin dikaitkan dengan *absorbansi optik* yang kuat pada panjang gelombang 400-600 nm. Gangguan kromogen inilah yang menyebabkan peningkatan intensitas warna dimana akan terjadi peningkatan absorbansi yang dibaca oleh fotometer (Lippi, dkk., 2008).



#### 4. *Cholinesterase*

##### a. Pengertian *Cholinesterase*

*Cholinesterase* adalah suatu enzim yang terdapat pada cairan seluler, yang fungsinya menghentikan aksi *acetylcholin* dengan jalan terhidrolisis menjadi *cholin* dan asam asetat. *Acetylcholin* adalah suatu neuro hormon yang terdapat antara ujung-ujung saraf dan otot, sebagai media kimia yang fungsinya meneruskan rangsangan saraf atau impuls ke reseptor sel-sel otot dan kelenjar. Apabila rangsangan ini berlangsung terus-menerus akan menyebabkan gangguan pada tubuh. Untuk itu perlu dihentikan rangsangan yang ditimbulkan oleh *acetylcholin* dengan jalan hidrolisis menjadi *cholin* dan asam asetat. *Cholinesterase* dalam darah akan mengikat pestisida golongan organofosfat tersebut (Irawati, 2021).

Reaksi antara organofosfat dan *cholinesterase* disebut fosforilase. Fosforilase menghasilkan senyawa *Phosphorylated Cholinesterase*, pengikatan antara organofosfat dan *cholinesterase* yang hampir *irreversible*. Hal ini merupakan penyebab organofosfat sangat berbahaya, karena *phosphorylated* tidak mampu lagi menghidrolisir *acetylcholin*, yang mengakibatkan *acetylcholin* tertimbun pada tempat-tempat reseptor (Irawati, 2021).

Aktivitas *cholinesterase* darah adalah jumlah enzim *cholinesterase* aktif dalam plasma darah dan sel darah merah yang berperan dalam menjaga keseimbangan sistem saraf. Aktivitas

*cholinesterase* darah ini dapat digunakan sebagai indikator keracunan pestisida golongan organofosfat (Rahayu dan Solihat, 2012).

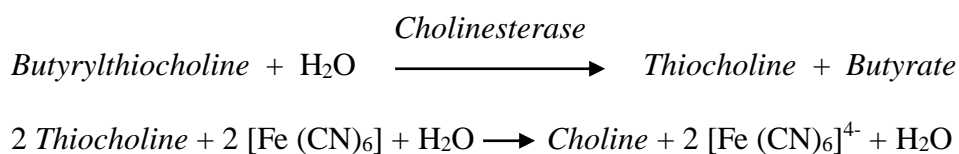
b. Pemeriksaan *Cholinesterase*

Pemeriksaan *cholinesterase* biasa digunakan untuk mengetahui kadar enzim *cholinesterase* dalam darah sebagai indikator keracunan pestisida golongan organofosfat. Pemeriksaan *cholinesterase* dapat dilakukan dengan metode tintometri dan spektrofotometri. Pemeriksaan *cholinesterase* metode tintometri dilakukan dengan menggunakan alat tintometer kit. Prinsip pemeriksaan tintometri yaitu *acetylcholin* oleh enzim *cholinesterase* dirubah menjadi *cholin* dan asam asetat. Asam asetat akan merubah pH dan perubahan ini dapat dilihat dengan indikator. Perubahan pH dapat dilihat dari warna yang ditimbulkan, warna yang timbul dibandingkan dengan warna pada *comparator disc* setelah reaksi dibiarkan selama waktu tertentu. Aktifitas enzim *cholinesterase* dapat langsung dibaca pada *comparator disc* (Irawati, 2021)

Metode pemeriksaan *cholinesterase* yang banyak digunakan saat ini adalah metode spektrofotometri. Kelebihan penggunaan metode ini dibandingkan dengan metode yang lain yaitu memiliki sensitifitas yang tinggi, mempunyai tingkat ketelitian yang baik, dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil, kinerja lebih cepat dan mudah, angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital. Metode spektrofotometri terdiri dari 2

macam yaitu metode kolorimetrik substrat butiriltiokolin (BTC) dan metode kinetik kolorimetri DGKC (Permenkes, 2010).

Prinsip kerja metode kinetik kolorimetrik DGKC yaitu *Cholinesterase* menghidrolisis *butyrylthiocholine* ditandai dengan pelepasan asam butirat dan *thiocholine*. *Thiocholine* menurunkan kalium kuning *hexacyanoferrate (III)* menjadi *potassium hexacyanoferrate (II)* yang tak berwarna. Penurunan nilai absorbansi yang dibaca pada  $\lambda$  405 nm sebanding dengan aktivitas enzim dalam sampel. Prinsip reaksi enzim *cholinesterase* adalah:



Prosedur pemeriksaan *cholinesterase* menggunakan spektrofotometer otomatis, data aplikasi untuk instrumen otomatis sudah tersedia sesuai permintaan. Sedangkan untuk pemeriksaan *cholinesterase* menggunakan spektrofotometer manual sebagai berikut:

Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan *Cholinesterase* Spektrofotometri Manual

	Blangko	Sampel
Sampel/ kalibrator	-	20 $\mu\text{L}$
Blangko air	20 $\mu\text{L}$	-
Reagen 1	1000 $\mu\text{L}$	1000 $\mu\text{L}$
Campurkan, inkubasi 3 menit, kemudian tambahkan:		
Reagen 2	250 $\mu\text{L}$	250 $\mu\text{L}$
Campurkan dan baca absorbansi setelah 2 menit dan nyalakan stopwatch, Baca kembali absorbansi setelah 1, 2 dan 3 menit		

Sumber: Proline, 2022.

b. Nilai rujukan *Cholinesterase*Tabel 3. Nilai Rujukan *Cholinesterase*

Metode	Jenis kelamin	Konvensional (U/ L)	Faktor konversi	Satuan internasional ( $\mu$ Kat/ L)
Kinetik Kolorimetrik	Wanita	3,93 – 10,8	1,0	65,5 – 180
	Pria	4,62 – 11,5		

Sumber: Proline, 2022.

c. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim *cholinesterase*

Aktifitas enzim *cholinesterase* dalam tubuh dapat dipengaruhi faktor internal maupun faktor eksternal. Faktor internal yang mempengaruhi aktifitas enzim *cholinesterase* antara lain:

## 1) Umur

Umur merupakan fenomena alam, semakin lama seseorang hidup maka usia pun akan bertambah. Seiring dengan pertambahan umur maka fungsi metabolisme tubuh juga menurun. Semakin tua umur maka rata-rata aktivitas *cholinesterase* darah semakin rendah (Sartono, 2002).

## 2) Status gizi

Semakin buruk status gizi seseorang akan semakin mudah terjadi keracunan, dengan kata lain seseorang yang mempunyai status gizi yang baik cenderung memiliki aktifitas *cholinesterase* yang lebih baik. Buruknya keadaan gizi seseorang juga akan berakibat menurunnya daya tahan tubuh dan meningkatnya kepekaan terhadap infeksi. Kondisi gizi yang buruk menyebabkan protein yang ada dalam

tubuh sangat terbatas sehingga mengganggu pembentukan enzim *cholinesterase* (Sartono, 2002).

### 3) Jenis kelamin

Jenis kelamin sangat mempengaruhi aktivitas enzim *cholinesterase*. Jenis kelamin laki-laki memiliki enzim *cholinesterase* lebih rendah dibandingkan jenis kelamin perempuan karena pada perempuan lebih banyak kandungan enzim *cholinesterase*, tetapi pada saat kehamilan kadar rata-rata *cholinesterase* perempuan cenderung turun (Rahmawati dan Martiana, 2014).

### 4) Tingkat pendidikan

Semakin tinggi tingkat pendidikan seseorang maka akan semakin kecil peluang terjadinya keracunan pada dirinya karena pengetahuannya mengenai racun termasuk cara penggunaan dan penanganan racun secara aman dan tepat sasaran akan semakin tinggi sehingga kejadian keracunan pun akan dapat dihindari (Rahmawati dan Martiana, 2014).

Faktor eksternal yang mempengaruhi aktivitas enzim *cholinesterase* antara lain:

#### 1) Dosis penggunaan pestisida

Semua jenis pestisida adalah racun, dosis semakin besar semakin mempermudah terjadinya keracunan pada petani pengguna pestisida. Dosis pestisida berpengaruh langsung terhadap bahaya keracunan pestisida, hal ini ditentukan dengan lama pajanan. Untuk dosis

penyemprotan di lapangan khususnya golongan organofosfat, dosis yang dianjurkan 0,5 – 1,5 kg/ha (Sartono, 2002).

#### 2) Lama kerja

Semakin lama bekerja sebagai petani maka semakin sering kontak dengan pestisida sehingga risiko terjadinya keracunan pestisida semakin tinggi. Penurunan aktivitas cholinesterase dalam plasma darah karena keracunan pestisida akan berlangsung mulai seseorang terpapar hingga 2 minggu setelah melakukan penyemprotan (Sartono, 2002).

#### 3) Frekuensi penyemprotan

Semakin sering melakukan penyemprotan, maka semakin tinggi pula risiko keracunannya. Penyemprotan sebaiknya dilakukan sesuai dengan ketentuan. Waktu yang dibutuhkan untuk dapat kontak dengan pestisida maksimal 5 jam perhari (Sartono, 2002).

#### 4) Pemakaian alat pelindung diri

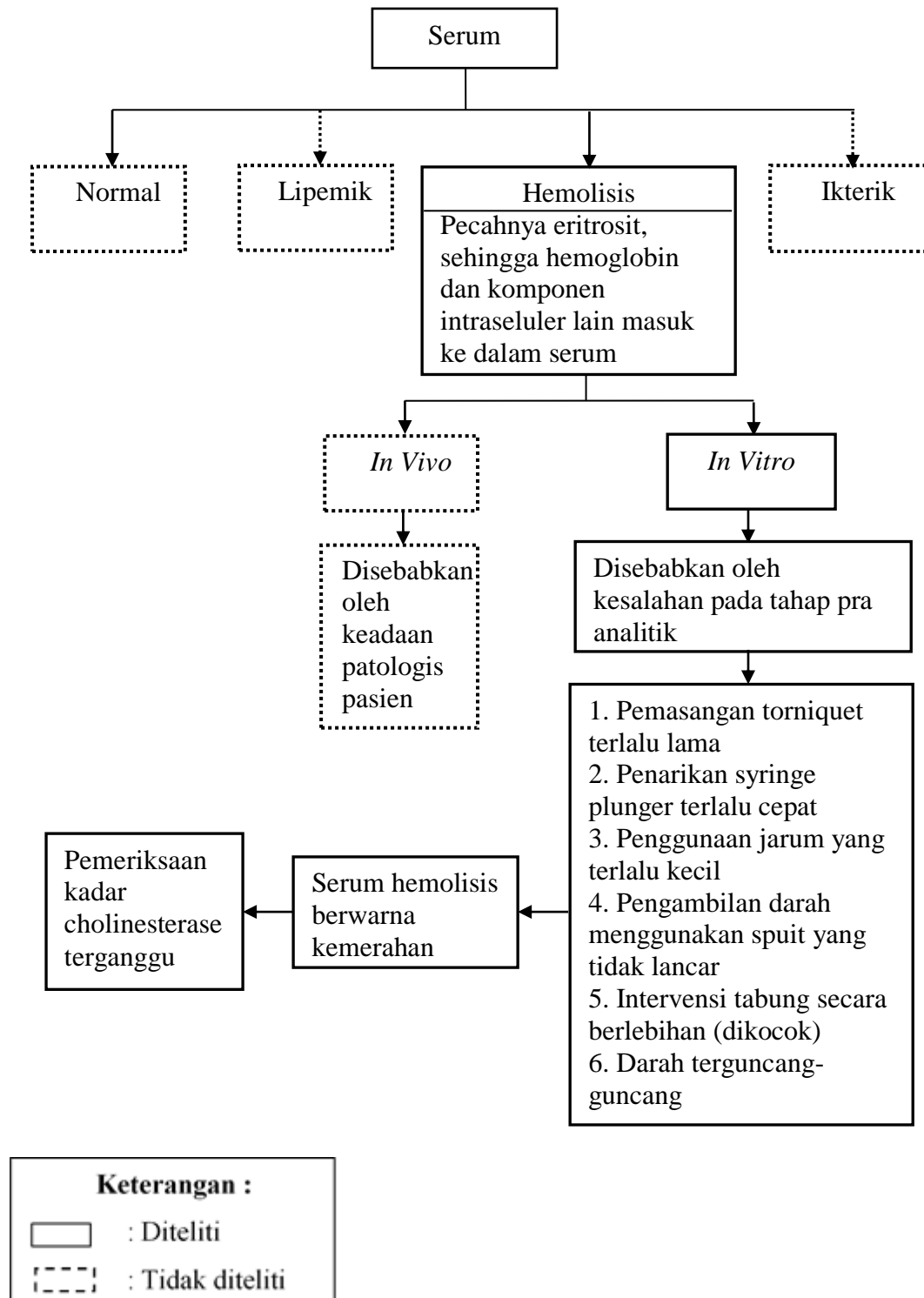
Pestisida masuk kedalam tubuh dapat melalui berbagai cara, antara lain melalui pernafasan atau penetrasi kulit. Oleh karena itu cara-cara yang paling baik untuk mencegah terjadinya keracunan adalah memberikan perlindungan pada bagian-bagian tersebut. Peralatan untuk melindungi bagian tubuh dari pemaparan pestisida pada saat melakukan penyemprotan disebut alat pelindung diri, atau biasa juga disebut alat proteksi (Sartono, 2002).

d. Faktor yang mempengaruhi pemeriksaan *cholinesterase*

Spesimen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan *cholinesterase* adalah serum, plasma heparin atau plasma EDTA. Spesimen tersebut akan stabil selama 1 hari pada suhu 20-25<sup>0</sup>C, 7 hari pada suhu 2-8<sup>0</sup>C dan 2 bulan sampai 1 tahun pada suhu -20<sup>0</sup>C (Permenkes, 2010).

Nilai *cholinesterase* yang sangat menurun dapat mengindikasikan keracunan oleh pestisida. Kondisi klinis yang dapat memicu kenaikan kadar *cholinesterase* antara lain hipertensi, gangguan emosional, schizophrenia, gangguan tiroid berupa *tyrotoxicosis* dan *nefrotic syndrom* atau gangguan pada ginjal. Pengukuran *cholinesterase* juga merupakan bagian dari pra-operasi diagnostik karena *cholinesterase* diperlukan untuk *inaktivasi* otot relaksan sering digunakan dalam operasi (Proline, 2022).

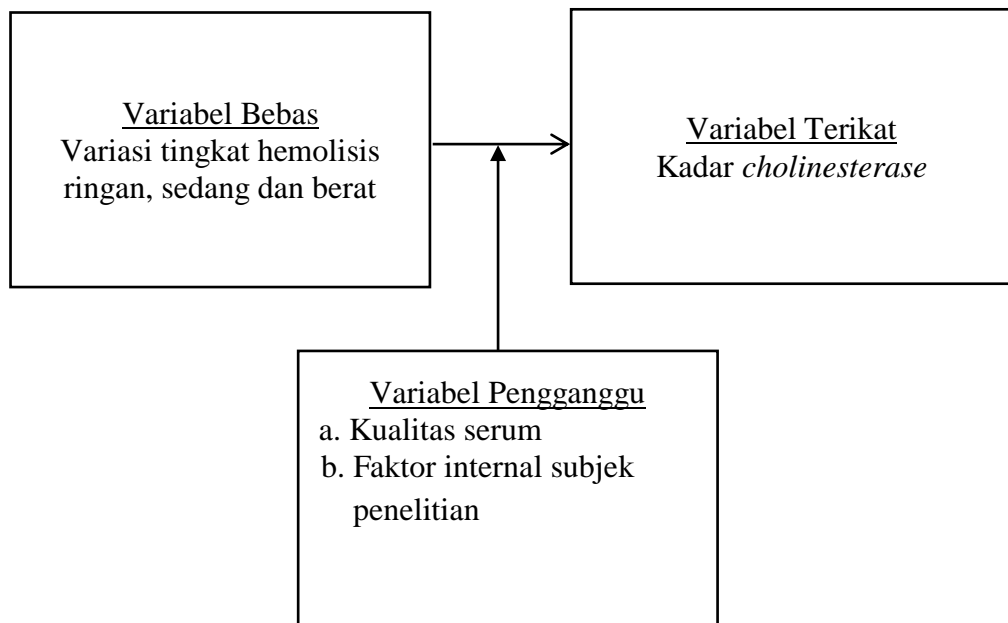
## B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori



### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh tingkat hemolisis ringan, sedang dan berat pada serum terhadap kadar *cholinesterase*.