

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah ialah jaringan cair di tubuh manusia yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebesar 55% dan korpuskuler atau sel darah (bagian padat darah) sebesar 45%. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Darah membawa oksigen dan nutrisi ke seluruh sel dalam tubuh serta membawa hasil – hasil produk metabolisme tubuh. Darah merupakan media angkut untuk sirkulasi, distribusi, dan transportasi bahan kimia dalam tubuh, seperti hormone, mineral, enzim, vitamin, dan bahan kimia lainnya. Selain itu, darah juga berfungsi untuk pembekuan darah dan melindungi pendarahan yang terjadi.

Sebanyak 7-8% berat tubuh manusia ditentukan oleh volume darah (Carter, 2018) yang mengalir setiap waktu melalui pembuluh arteri dan vena yang dipompa oleh jantung. Darah memiliki temperatur normal pada suhu 38°C, dengan pH yang berkisar antara 7.35 hingga 7.45. Peranan pH sangat penting karena berperan sebagai sistem buffer untuk menjaga asam-basa kondisi darah yang berpengaruh pada fisiologis manusia. Darah yang memiliki kandungan oksigen tinggi akan memiliki warna merah yang lebih terang. Namun, sebaliknya pada darah yang rendah kadar oksigennya akan memiliki warna merah yang lebih gelap.

Volume darah pada manusia berbeda dikarenakan perbedaan pada jenis kelamin, yang menentukan proporsi ukuran tubuh. Laki-laki dewasa memiliki kisaran volume darah 5-6 L, sedangkan pada wanita dewasa berkisar antara 4-5 L (Tortora & Derrickson, 2017). Darah sendiri memiliki dua komponen utama yang terdiri dari komponen cair dan komponen padat. Komponen cair yaitu plasma darah, dan komponen padat terdiri dari sel darah merah atau yang disebut sebagai eritrosit, sel darah putih atau leukosit, dan keping darah atau trombosit yang berperan dalam proses pembekuan darah (*American Society of Hematology*, 2018). Keseluruhan komponen darah yang mengalir pada tubuh 2 Hematologi Dasar manusia dikenal sebagai whole blood, yang tersusun atas sebagian besar 55% adalah plasma darah, dan sisanya sebanyak 45% adalah sel-sel darah.

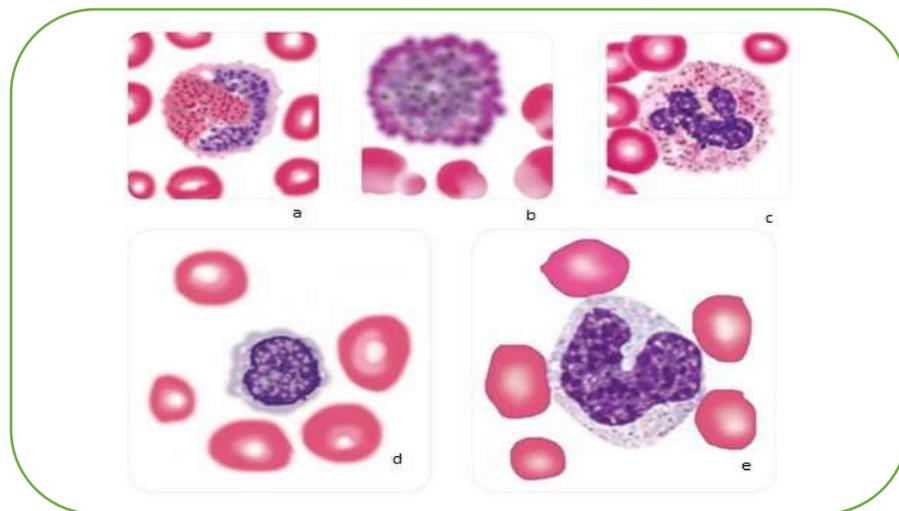
2. Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah putih (leukosit) merupakan sel darah yang memiliki inti sel. Leukosit juga tidak mempunyai hemoglobin maupun kemampuan untuk membawa oksigen (Tortora et al., 2010). Selain itu, sel darah putih (leukosit) adalah sel yang tidak memiliki warna. Leukosit dibedakan menjadi 5 jenis, yaitu limfosit, basofil, eosinofil, monosit, dan neutrophil. Jenis leukosit tersebut memiliki karakteristik dan fungsinya masing – masing.

Kisaran jumlah leukosit darah normal adalah 4.000 – 10.000 sel darah putih. Neutrofil dan limfosit menyusun komposisi leukosit dengan persentase terbesar, secara berturut-turut 45-74% dan 16–45%. Sisanya,

monosit menyusun 4-10%, eosinofil 0–7%, dan basofil 0-2% dari total leukosit. Namun, dapat terjadi variasi baik dalam jumlah maupun persentase di antara individu dan kelompok etnis yang berbeda. Contohnya adalah variasi jumlah leukosit yang lebih rendah untuk kelompok etnis Afrika Amerika tertentu. Selain itu, leukosit bervariasi tergantung pada jenis kelamin, umur, aktivitas, dan waktu. Jumlahnya juga berbeda menurut apakah leukosit bereaksi terhadap stres, atau dihancurkan, dan apakah mereka diproduksi oleh sumsum tulang dalam jumlah yang cukup (Rodak et al., 2016).

Fungsi leukosit secara keseluruhan adalah dalam memediasi kekebalan, baik bawaan (nonspesifik), atau spesifik (adaptif). Respon kekebalan bawaan contohnya adalah fagositosis oleh neutrofil, sedangkan respon kekebalan adaptif seperti dalam produksi antibodi oleh sel plasma (Rodak et al., 2016). Dalam respon kekebalan, beberapa leukosit meninggalkan aliran darah dan mengumpulkan pada titik-titik invasi patogen atau peradangan. Granulosit dan monosit meninggalkan aliran darah untuk melawan cedera atau infeksi, setelah itu mereka tidak pernah kembali lagi ke aliran darah. Pada sisi lain, limfosit tetap berada dalam sistem sirkulasi, dari darah ke ruang interstisial jaringan ke cairan limfatik dan kembali ke darah. Hanya 2% dari populasi limfosit total yang beredar dalam darah pada suatu waktu tertentu; sisanya berada dalam cairan limfatik dan organ-organ seperti kulit, paru-paru, kelenjar getah bening, dan limpa (Tortora et al., 2010).



Gambar 1. Lima jenis leukosit: (a) eosinofil, (b) basofil, (c) neutrofil, (d) limfosit, dan (e) monosit (diadaptasi dari Tortora *et al.*, 2010)

Leukosit diklasifikasikan menjadi granular atau agranular, tergantung pada ada tidaknya granula sitoplasma (vesikel) yang dapat terlihat dengan pewarnaan bila diamati melalui mikroskop cahaya (Tortora & Jenkins, 2013). Polymorphonuclear granulocytes (PNG), atau seringkali disebut granulosit, mengacu pada 3 jenis leukosit dengan ciri khas nukleus berlobus serta granula dengan membran. Ketiga jenis yang termasuk granulosit adalah neutrofil, basofil, dan eosinofil (Vander et al., 2001). Granulosit umumnya berukuran pendek, namun berperan penting dalam respon antimikroba dan antiinflamasi (Rodak et al., 2016). Leukosit

53 Kategori sel mononuklear, yang disebut agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit. Sel-sel tersebut mempunyai nukleus yang berbentuk seperti kacang (monosit) atau bulat (limfosit) dan tidak bersegmen (Rodak et al., 2016).

Berikut ini adalah jenis – jenis sel darah putih (leukosit) :

a. Neutrofil

Neutrofil adalah sel darah putih yang paling banyak, yaitu sekitar 60%. Ada dua jenis neutrofil yaitu neutrofil batang (stab) dan juga neutrofil segmen. Neutrofil segmen disebut juga neutrofil polimorfonuclear, karena inti selnya terdiri atas beberapa segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam berjumlah 3 – 6 lobus dan dihubungkan dengan benang-benang kromatin. Apabila jumlah lobus pada neutrophil lebih dari 6 lobus, disebut dengan neutrofil hipersegmen. Jumlah neutrofil segmen kurang lebih 50-70% dari keseluruhan leukosit. Sedangkan neutrofil batang merupakan bentuk sel neutrofil muda dan sering disebut juga neutrofil tapal kuda., karena mempunyai inti seperti tapal kuda. Seiring pematangannya sel neutrofil batang ini bentuk intinya akan berubah menjadi bersegmen menjadi neutrofil segmen.

Populasi neutrofil di sepanjang permukaan endotel pembuluh darah akan dengan cepat berubah pada saat terjadi stres atau infeksi.

b. Eosinofil

Eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah –orange (eosinofilik) yang tampak pada apusan darah tepi. Intinya bersegmen (pada umumnya dua lobus). Fungsi eosinofil

juga sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terutama terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Jumlah eosinofil normal adalah 2-4% dari jumlah leukosit dan akan meningkat bila terjadi reaksi alergi atau infeksi parasite

c. Basofil

Basofil mengandung granula kasar berwarna ungu atau biru tua dan seringkali menutupi inti sel yang bersegmen. Merupakan jenis leukosit yang jumlahnya paling sedikit yaitu < 2% dari jumlah keseluruhan leukosit. Granula pada basofil mengandung heparin (antikoagulan) histamin, dan substansi anafilaksis. Basofil berperan dalam reaksi hipersensitivitas yang berhubungan dengan Imunoglobulin F (IgF).

d. Limfosit

Limfosit adalah leukosit yang tidak bergranula yang jumlahnya kedua paling banyak setelah netrofil, yaitu 20-40% dari total leukosit. Jumlah limfosit pada anak-anak relatif lebih banyak dibandingkan dengan jumlahnya pada orang dewasa, dan jumlah limfosit ini meningkat apabila terjadi infeksi virus.

Berdasarkan fungsinya, limfosit dibagi atas sel B dan sel T. Sel B terutama berefek pada sitem imun humoral, yang berkembang ada sumsum tulang dan dapat ditemukan dalam limfonodus, limpa, dan organ lainnya selain berada dalam darah.

Setelah terjadi rangsangan dari antigen, sel B akan berkembang menjadi sel plasma yang dapat memproduksi antibodi.

e. Monosit

Monosit, jumlahnya sekitar 3-8% dari total jumlah leukosit. Setelah 8-14 jam berada dalam darah, monosit menuju ke jaringan dan akan menjadi makrofag (disebut juga histosit). Monosit adalah jenis leukosit yang berukuran paling besar. Inti selnya mempunyai granula kromatin halus yang menekuk menyerupai ginjal / biji kacang. Monosit mempunyai dua fungsi, yaitu sebagai fagosit mikroorganisme (khususnya jamur dan bakteri) dan benda asing lainnya serta berperan dalam reaksi imun.

f. Trombosit (Keping Darah)

Trombosit adalah sel darah yang berperan penting dalam proses hemostasis. Trombosit melekat pada lapisan endotel darah yang robek (luka) dengan membentuk *plug* atau sumbat trombosit. Trombosit tidak mempunyai inti sel, berukuran 1-4 μm dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu kemerahan. Trombosit merupakan derivat dari megakariosit yaitu berasal dari fragmen-fragmen sitoplasma megakariosit. Normalnya dalam darah jumlah trombosit sekitar 150.000 sampai dengan 450.000 sel/mL darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat (ADP)

dan adenosin trifosfat (ATP), kalsium, serotonin, serta katekolamin. Sebagian besar diantaranya berperan dalam merangsang mulainya proses pembekuan darah dan umur trombosit sekitar 10 hari.

3. Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit (HJL)

Hitung jenis leukosit adalah penghitungan jenis leukosit yang ada dalam darah berdasarkan proporsi (%) tiap jenis leukosit dari seluruh jumlah leukosit. Untuk mendapatkan jumlah absolut dari masing-masing jenis sel maka nilai relatif (%) dikalikan jumlah leukosit total (sel/ μ l). Hasil pemeriksaan ini dapat menggambarkan secara spesifik kejadian dan proses penyakit dalam tubuh, terutama penyakit infeksi. Tipe leukosit yang dihitung ada 5 yaitu basofil, eosinofil, neutrofil, monosit, dan limfosit.

Pemeriksaan hitung jenis leukosit dapat membantu pasien yang sedang mengalami gejala dari demam, nyeri pada tubuh, nyeri kepala, dan tanda atau gejala spesifik lainnya tergantung lokasi infeksi. Hitung jenis leukosit dapat membantu diagnosis infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur, inflamasi, alergi atau asma, penyakit autoimun, imuodefisiensi, leukemia, sindrom mielodisplasia, dan keganasan mieloproliferatif.

Spesimen yang digunakan pada pemeriksaan hitung jumlah leukosit, yaitu darah antikoagulan. Metode pemeriksaan hitung jenis leukosit ada dua, yaitu cara manual dengan bilik hitung dan mikroskop serta cara elektronik/otomik dengan *Hematology Analyzer*.

4. Antikoagulan

Antikoagulan ialah zat yang berfungsi sebagai pencegah penggumpalan darah. Antikoagulan berperan mengikat ion kalsium sehingga tidak hendak terjalin proses pembekuan. Antikoagulan yang baik digunakan dalam pengecekan koagulasi merupakan yang mengandung sitrat (Gandasoebrata, 2008). Menurut Kiswari, (2014) *International Committee for Standardization in Hematology (ICSH)* dan *International Society for Thrombosis and Haematology* merekomendasikan Natrium Sitrat 3,2 % merupakan jenis antikoagulan yang dapat digunakan untuk tes koagulasi. Sedangkan, Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid atau EDTA adalah antikoagulan yang digunakan oleh laboratorium hematologi karena dapat mempertahankan komponen selular dan morfologi sel darah. EDTA bekerja dengan mengubah ion kalsium menjadi bentuk bukan ion (Wirawan, 2004).

5. Homogenisasi

Homogenisasi adalah proses pencampuran darah dan antikoagulan dalam suatu wadah yang berfungsi untuk mencegah terjadinya pembekuan darah sebelum dilakukan pemeriksaan (Annisa, 2020). Homogenisasi dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu manual dan otomatis. Homogenisasi manual dengan teknik inversi (bolak-balik) dan angka delapan. Sedangkan homogenisasi otomatis dilakukan dengan alat *blood roller mixer*.

Homogenisasi ada 2, yaitu homogenisasi primer dan homogenisasi sekunder. Homogenisasi primer, yaitu proses pencampuran darah antikoagulan yang dilakukan segera setelah pengambilan sampel darah.

Sedangkan, homogenisasi sekunder adalah pencampuran darah antikoagulan setelah homogenisasi primer dan pendiaman. Pada homogenisasi primer sudah ada kebijakan yang mengatur, yaitu CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) dan Permenkes 2013. Menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*), homogenisasi primer dilakukan 8-10 kali bolak-balik. Sedangkan, menurut Permenkes 2013 homogenisasi dilakukan 10-12 kali bolak-balik. Berdasarkan survei, belum ada penelitian yang dapat menentukan berapa kali homogenisasi sekunder dilakukan agar hasilnya sama dengan alat otomatis *blood roller mixer*.

6. *Blood Roller Mixer*

Blood roller mixer adalah suatu alat yang digunakan untuk mencampur darah agar tercapainya keadaan homogen sehingga dapat menghindari terjadinya darah lysis, gelembung udara, bekuan darah yang dapat menyumbat alat *hematology analyzer*. Terdapat beberapa kuvet yang berisi darah dan antikoagulan yang akan dicampur selama 15-20 menit. Alat ini menggunakan dua sumber tegangan selain dari PLN juga menggunakan aki sebagai sumber tegangan sebagai pengganti jika listrik padam untuk menghindari darah agar tidak mengering. Cara pengoperasian alat ini ketika ditekan *on* maka LCD akan melakukan inisialisasi lalu pilih pengaturan waktu dan pemilihan kecepatan. Setelah itu tekan tombol *enter* dan motor akan berputar. Jika proses telah selesai maka motor akan berhenti berputar dan *buzzer* berbunyi.

7. *Hematology Analyzer*

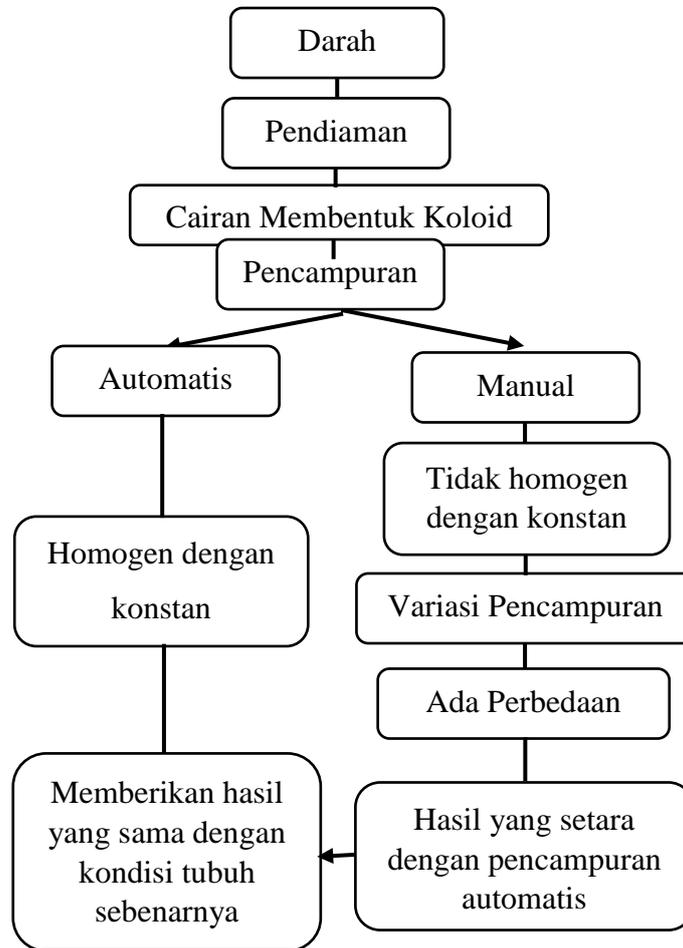
Hematology Analyzer merupakan alat untuk mengukur sampel berupa darah. Alat ini biasa digunakan dalam bidang Kesehatan. Alat ini dapat membantu mendiagnosis penyakit yang diderita seorang pasien seperti kanker, diabetes, dan lain-lain. Alat yang digunakan untuk memeriksa darah lengkap dengan cara menghitung dan mengukur sel darah secara otomatis.

Hematology Analyzer merupakan alat untuk pemeriksaan darah lengkap yang memiliki kecepatan dan tingkat keakuratan yang cukup baik. Alat ini dapat mengurangi waktu pemeriksaan dari 30 menit menggunakan metode manual menjadi 15 detik dan dapat mengurangi kesalahan (Maciel et al., 2014).

Prinsip kerja *Hematology Analyzer*, yaitu *Impedance Flowcytometry* adalah pengukuran simultan beberapa karakteristik fisik dari sebuah sel tunggal yang telah tersuspensi dan dialirkan melalui suatu celah yang disebut *Aperture*. Pengukuran sel yang dapat digunakan pada *Impedance Flowcytometry* dengan menggunakan impedansi listrik dari sebuah sel. Prinsip Teknologi *Laser – Based (optical) Flowcytometry* adalah prinsip dengan pendaran cahaya scattering ketika sel melewati celah dan berkas cahaya. Apabila cahaya mengenai sel maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan dan dibiaskan ke semua arah dan beberapa detektor yang diletakkan pada sudut tertentu akan menangkap berkas sinar yang terpengaruh sel tersebut (Mengko.R, 2013). Prinsip ketiga, yaitu Teknologi

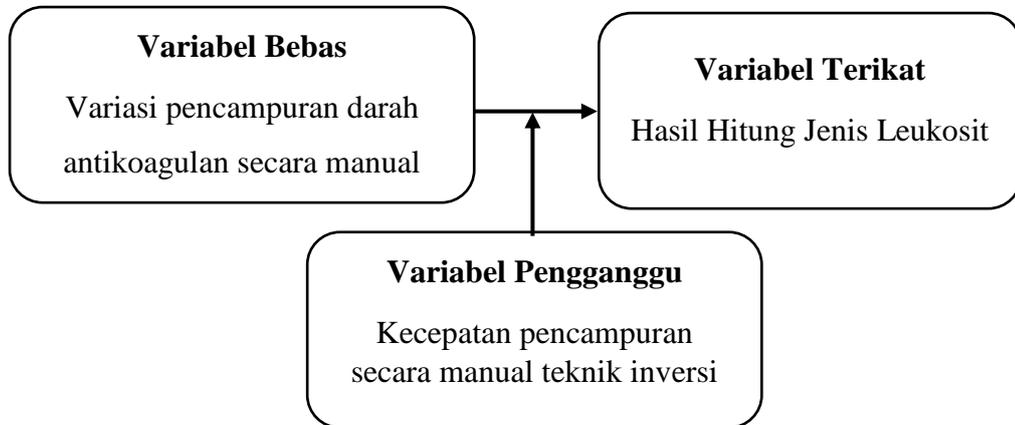
Deteksi RF/DC dengan sel darah yang telah tersuspensi dilewatkan melalui *aperture*, sehingga mengubah resistansi arus searah (DC) dan resistansi sinyal frekuensi radio (RF) antara kedua elektroda. Ukuran sel dideteksi oleh perubahan resistensi pada arus searah dan kepadatan interior sel darah diukur oleh perubahan resistensi pada sinyal frekuensi radio. Menggunakan data ini ukuran dan kepadatan dari dalam sel dapat diketahui dan dianalisis distribusinya (Mengko.R, 2013). Prinsip keempat, yaitu Teknologi Hidrofokus Dinamis dengan detektor yang digunakan berupa nosel sampel yang berada di depan *aperture* pada posisi garis lurus dengan titik pusat. Ketika sel darah akan masuk *aperture* sel diselubungi oleh larutan pereaksi. Sehingga dapat mencegah pembentukan pulsa palsu dan berguna meningkatkan akurasi serta kecepatan dalam perhitungan sel darah (Mengko.R, 2013). Prinsip kelima, yaitu Teknologi VCS (*Volume, Conductivity, and Light Scatter*) dengan mengukur volume, konduktivitas dan hamburan cahaya laser digunakan secara bersamaan pada setiap sel yang melewati *aperture*. Volume (V) diperoleh dari pengukuran impedansi listrik atau dengan Direct Current, Konduktivitas (C) mengukur ukuran inti dan kepadatan setiap sel dengan menggunakan radio frekuensi, sedangkan hamburan cahaya laser (S) mendeteksi struktur internal, granularitas dan karakteristik permukaan sel serta memberikan informasi mengenai bentuk dan struktur sel (Mengko.R, 2013).

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Adanya pengaruh variasi pada pencampuran darah dengan antikoagulan terhadap hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit.