

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan cairan tubuh yang sangat penting bagi kehidupan manusia, yang bersirkulasi dari dalam jantung menuju pembuluh darah arteri maupun vena. Di dalam darah terkandung berbagai komponen cair berupa plasma darah dan komponen padat berupa sel-sel darah. Darah membawa oksigen dari jantung dan nutrisi ke seluruh sel dalam tubuh serta mengangkut produk-produk hasil metabolisme sel tubuh (Firani, 2018).

Darah berfungsi sebagai alat pengangkut (sirkulasi, distribusi dan transportasi) yaitu mengambil oksigen dari paru-paru untuk diedarkan ke seluruh jaringan tubuh, mengangkut karbondioksida dari jaringan untuk dikeluarkan melalui paru-paru, mengambil zat makanan dari usus halus untuk diedarkan dan dibagikan ke seluruh jaringan tubuh, mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna bagi tubuh untuk dikeluarkan melalui kulit dan ginjal, sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan penyakit, dan menyebarkan panas ke seluruh tubuh (Amalia dan Widuri, 2020). Darah juga berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari pendarahan massif yang diakibatkan luka atau trauma (D'Hiru, 2013).

Manusia umumnya mempunyai volume darah sekitar 70 mL setiap kilogram berat badan. Sebanyak 50-60% darah terdiri atas komponen cair, sisanya komponen padat berupa sel-sel darah. Komponen cairan darah disebut dengan plasma, yang mengandung 90% air dan 10% sisanya adalah bahan-bahan yang terlarut, seperti ion-ion, glukosa, asam amino, hormon dan berbagai macam protein. Serum juga sama dengan plasma, akan tetapi tidak mengandung fibrinogen yang merupakan faktor koagulasi/pembekuan darah. Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah) , leukosit (sel darah putih), dan trombosit (keping darah) (Kiswari, 2014)

a. Eritrosit (Sel Darah Merah)

Eritrosit tidak memiliki nukleus sel ataupun organela, sehingga tidak dianggap sebagai sel dari segi biologi, tetapi eritrosit mengandung hemoglobin yang berfungsi mengangkut oksigen dan karbondioksida. Jumlah eritrosit pada pria dewasa sekitar 5 juta sel/cc darah dan pada wanita sekitar 4 juta sel/cc darah. Orang yang kekurangan eritrosit akan menderita penyakit anemia dan kadar hemoglobin dijadikan patokan dalam menentukan penyakit anemia. Sel darah merah diatur produksinya oleh hormon eritropoitin yang berasal dari ginjal. Sel darah merah yang sedang berkembang dalam suusum tulang disebut eritroblas yang memiliki inti, kemudian maturasi dan inti dikeluarkan sebelum sel darah masuk kedalam sirkulasi darah (Amalia dan Widuri, 2020).

Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 7-8 μ , dan memiliki jumlah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Dalam satu milimeter darah, terdapat kira-kira 4,5-6 juta eritrosit, sehingga menyebabkan darah berwarna merah. Umur eritrosit kira-kira 120 hari, sehingga setiap hari, 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru (Kiswari, 2014).

b. Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit merupakan sel berinti satu dengan bentuk inti dan ukuran sitoplasma bermacam-macam sehingga leukosit bersifat amuboid atau tidak memiliki bentuk yang tetap. Leukosit berwarna bening, bentuknya lebih besar dibanding eritrosit, akan tetapi jumlahnya lebih sedikit, bertanggungjawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda-benda yang dianggap asing serta berbahaya oleh tubuh, misal virus atau bakteri. Kelebihan leukosit akan menyebabkan penyakit leukimia, sedangkan kekurangan leukosit akan menyebabkan penyakit leukopenia. Jumlah sel leukosit pada orang dewasa berkisar antara 6000-9000 sel/cc darah. Sel darah putih berfungsi untuk melindungi tubuh dari infeksi. Leukosit bekerja sama dengan protein respon imun, imunoglobulin dan komplemen sebagai sistem pertahanan serta kekebalan tubuh. Sel darah putih terdiri dari eosinofil, basofil, neutrofil, limfosit dan monosit (Amalia dan Widuri, 2020).

c. Trombosit (Keping darah)

Trombosit merupakan sel darah yang berperan dalam hemostasis. Trombosit memiliki ukuran sangat kecil, berasal dari sel yang lebih besar dikenal dengan nama platelet serta berperan penting dalam proses pembekuan darah. Trombosit melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang robek atau terjadi luka membentuk plug trombosit dengan reaksi adhesi, sekresi, dan agregasi. Trombosit tidak mempunyai inti sel, memiliki ukuran 1-4 μ , dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan. Trombosit berjumlah 150.000-350.000/mL darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat (ADP) dan adenosin trifosfat (ATP), kalsium, serotonin, serta katekolamin, berperan dalam merangsang mulainya proses pembekuan. Trombosit berumur sekitar 10 hari (Kiswari,2014). Trombosit berasal dari pecahan sitoplasma megakariosit yaitu 1 megakariosit menghasilkan sekitar 4000 sel trombosit. Pembentukan trombosit dirangsang oleh hormon trombopoitin yang dihasilkan oleh hati dan ginjal (Amalia dan Widuri, 2020).

2. Jenis Spesimen

a. Darah utuh (*whole blood*)

Pemeriksaan hematologi biasanya menggunakan darah utuh (*whole blood*), yaitu darah yang sama bentuk/kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah berupa vena atau kapiler. Agar spesimen darah tidak membeku sebelum dilakukan pemeriksaan

maka harus ditambah dengan antikoagulan. Jenis antikoagulan yang digunakan harus disesuaikan dengan jenis pemeriksaan yang akan dilakukan. Setelah ditambah antikoagulan sel-sel darah dapat mengendap jika spesimen didiamkan beberapa saat, maka spesimen harus dicampur atau dihomogenkan minimal 2 menit sebelum dilakukan pemeriksaan (Riswanto, 2013).

b. Plasma

Plasma merupakan bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan dan dilakukan pendiaman. Jika darah ditambah antikoagulan, maka tidak terjadi pembekuan darah melainkan darah akan tetap cair. Darah yang ditambah antikoagulan tersebut setelah didiamkan beberapa menit atau disentrifugasi akan terpisah menjadi tiga bagian yaitu : plasma yang berada dilapisan atas berupa cairan berwarna kuning; *buffycoat* yang berada di lapisan tengah dan tipis, merupakan lapisan sel leukosit dan trombosit; serta eritrosit yang berada di lapisan bawah (Riswanto,2013).

c. Serum

Serum merupakan bagian cair dari darah yang tidak diberi antikoagulan. Jika darah di dalam tabung didiamkan selama 5-10 menit atau dilakukan sentrifugasi, maka darah akan membeku. Darah akan terpisah dua bagian, yaitu serum berupa cairan berwarna kuning dibagian atas dan bekuan darah berupa massa solid berwarna merah dibagian bawah (Riswanto, 2013).

3. Indeks Eritrosit

Indeks eritrosit merupakan nilai rata-rata eritrosit dan banyaknya hemoglobin per-eritrosit. Indeks eritrosit terdiri dari *Mean Corpuscular Volume* (MCV) atau volume rata-rata eritrosit, *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) atau jumlah hemoglobin per-eritrosit, dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) atau konsentrasi hemoglobin yang didapat per-eritrosit (Soebrata, 2009). Indeks eritrosit dapat diukur menggunakan dua metode yaitu manual dan otomatis dengan *Hematology Analyzer*, untuk menghitung indeks eritrosit secara manual diperlukan nilai kadar hemoglobin, hematokrit dan hitung eritrosit (Djasang, dkk., 2018).

a. MCV (*Mean Corpuscular Volume*)

Volume korpuskuler rata – rata atau MCV merupakan indeks untuk menentukan ukuran sel darah merah serta menunjukkan ukuran sel darah merah tunggal apakah tergolong Normositik (ukuran normal), Mikrositik (ukuran kecil < 80 fL), atau Makrositik (ukuran kecil >100 fL). Nilai MCV dinyatakan dalam femtoliter (fL) yang diperoleh dari mengalikan hematokrit 10 kali kemudian membaginya dengan jumlah eritrosit dengan nilai normal MCV adalah 80-96 fL (Kemenkes RI, 2011).

Masalah Klinis :

- 1) Penurunan nilai disebabkan karena anemia mikrositik

2) Peningkatan nilai disebabkan karena anemia makrositik

b. MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*)

Hemoglobin Korpuskuler rata-rata atau MCH merupakan nilai yang menunjukkan jumlah rata – rata hemoglobin di dalam eritrosit tanpa memperhatikan ukurannya. MCH dinyatakan dalam satuan pikogram (pg) dan diperoleh dengan mengalikan kadar Hb 10 kali, lalu membaginya dengan jumlah eritrosit dengan nilai normal MCH adalah 27-32 pg (Kemenkes RI, 2011).

Masalah klinis :

- 1) Peningkatan MCH mengindikasikan anemia makrositik
- 2) Penurunan MCH mengindikasikan anemia mikrositik

c. MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

Konsentrasi Hemoglobin Korpuskuler rata – rata atau MCHC merupakan perhitungan rata-rata konsentrasi hemoglobin di dalam eritrosit per unit volume eritrosit. Nilai MCHC dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dari nilai MCH dan MCV atau dari hemoglobin dan hematocrit dengan nilai normal MCHC adalah 32-36% (Kemenkes RI, 2011).

Masalah klinis :

- 1) Penurunan MCHC terjadi pada anemia hipokromik dan talasemia
- 2) Peningkatan MCHC terjadi pada penderita defisiensi zat besi

4. Pemeriksaan Darah Lengkap

Salah satu pemeriksaan laboratorium yang biasa dilakukan adalah pemeriksaan darah lengkap (Norsiah, 2015). Pemeriksaan darah lengkap (*Complete Blood Count/CBC*) adalah pemeriksaan penyanggah untuk menunjang diagnosa suatu penyakit serta melihat bagaimana respon tubuh terhadap suatu penyakit tersebut. Pemeriksaan darah lengkap terdiri dari beberapa parameter pemeriksaan yaitu hemoglobin, hematokrit, leukosit, trombosit, eritrosit, indeks eritrosit, laju endap darah, hitung jenis leukosit, *platelet distribution* dan *redcell distribution* (Desmawati, 2013).

Dalam pemeriksaan darah lengkap digunakan spesimen darah utuh (*whole blood*) yang dicampur dengan antikoagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah, sehingga darah tetap dalam kondisi cair. Penghomogenan darah harus dilakukan dengan segera setelah dicampur dengan antikoagulan. Penghomogenan darah dilakukan sesuai dengan gold standar menggunakan teknik inversi dan angka delapan, jika homogenisasi tidak dilakukan dapat menyebabkan koagulasi sehingga mengganggu hasil pemeriksaan darah lengkap (Decie dan Lewis, 1991).

5. Antikoagulan

Antikoagulan merupakan zat yang berfungsi untuk mencegah terjadinya penggumpalan darah dengan cara mengikat kalsium atau

menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin pada pembekuan darah. Spesimen darah yang akan diperiksa harus segera dicampur dengan antikoagulan sesuai dengan jenis pemeriksaan untuk mencegah pembekuan (Riswanto,2013).

Antikoagulan yang sering digunakan dalam mencegah terjadinya penggumpalan darah adalah EDTA dan CPDA-1. Antikoagulan EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*) sering digunakan dalam pemeriksaan hematologi karena fungsi EDTA selain mencegah koagulasi, dapat mempertahankan morfologi sel, serta menghambat agregasi atau penggumpalan trombosit (Kiswari, 2014). Penggunaan antikoagulan EDTA harus dengan konsentrasi yang tepat karena memiliki sifat hipertonic terhadap sel-sel darah. Untuk memastikan agar hasil pemeriksaan tepat dan dapat diandalkan, sebaiknya penggunaan EDTA harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya, Secara medis, pengujian harus dilakukan dalam waktu 45 menit sampai 1 jam setelah pengumpulan sampel untuk menghindari terjadinya perubahan in vitro selama masa penyimpanan termasuk absorpsi tabung kaca atau plastik, denaturasi protein, penguapan senyawa, dan pergerakan air ke dalam sel. Pergerakan air ke dalam sel ini dapat mengakibatkan hemokonsentrasi. Pada umumnya darah EDTA dapat disimpan 24 jam disuhu 4°C (Kiswari, 2014), serta maksimal penyimpanan darah EDTA

yaitu 2 jam pada suhu kamar karena akan berpengaruh terhadap beberapa parameter (Permenkes, 2012).

Sedangkan antikoagulan CPDA-1 (*Citrat Phosphat Dextrose Adenin-1*) disimpan pada suhu 2-6°C dapat disimpan hingga 35 hari. Sitrat berguna untuk mengikat kalsium sehingga tidak terjadi koagulasi, dextrose menyediakan sumber energi untuk sel darah merah, fosfat anorganik berfungsi meningkatkan viabilitas eritrosit, adenin eksogen oleh eritrosit untuk membentuk ATP. Dextrose dan adenin dapat mempertahankan ATP selama penyimpanan. Antikoagulan ini harus disimpan pada suhu 2-6°C untuk menjaga dextrose agar tidak cepat habis, serta mengurangi pertumbuhan bakteri kontaminan selama proses penyimpanan (Setyati dan Soemantri, 2010).

6. Homogenisasi

Homogen adalah kondisi dimana seluruh bagian dari cairan tersebut memiliki nilai yang sama. Homogenisasi darah dibagi menjadi dua yaitu homogenisasi primer dan homogenisasi sekunder. Homogenisasi primer merupakan suatu proses pencampuran antara darah dengan antikoagulan yang bertujuan agar darah tidak mengalami pembekuan, proses penghomogenan antara darah dan antikoagulan harus dilaksanakan sesegera mungkin (Gandaseobrata, 2010). Sedangkan homogenisasi sekunder adalah proses pencampuran darah yang dilakukan setelah darah dicampur dengan antikoagulan dan mengalami pendiaman atau penundaan pemeriksaan dalam waktu tertentu sehingga darah akan

mengalami pemisahan menjadi dua, lapisan atas berupa plasma sedangkan lapisan bawah berupa sel darah.

Homogenisasi dapat dilakukan dengan metode manual ataupun menggunakan alat otomatis. Menurut Dacie dan Lewis, proses homogenisasi secara manual harus dilakukan dengan gold standar yaitu menggunakan teknik inversi 8 sampai 10 kali. Sedangkan homogenisasi secara otomatis dilakukan dengan bantuan *mechanical mixer* selama 2 menit (Bain, dkk., 2012).

Homogenisasi primer dengan metode manual secara teknis sudah ditetapkan oleh lembaga seperti CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) 2017 dan Permenkes No 43 tahun 2013. Homogenisasi primer yang dapat dilakukan adalah sebanyak 8 – 12 kali dibolak-balik atau inversi (Ramadhani, dkk., 2019). Sedangkan homogenisasi sekunder sampai saat ini belum ada standar berapa kali perlakuan homogenisasi sekunder harus dilakukan (Sebayang, dkk., 2021).

Proses homogenisasi manual dapat dilakukan menggunakan dua metode yaitu dengan membentuk angka delapan secara horizontal dan dengan teknik membolak-balik tabung 180° atau teknik inversi. Homogenisasi manual dengan teknik inversi lebih disarankan karena dapat memberikan hasil yang lebih akurat sesuai dengan kondisi pasien yang sesungguhnya (Hartina, dkk., 2019). Proses homogenisasi manual menggunakan teknik inversi harus dilakukan dengan benar yaitu ketika

membolak-balikan tabung 180°, eritrosit harus sampai ke dasar tabung agar darah dapat tercampur dengan sempurna.

7. *Automatic Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter*

Hematology analyzer adalah perangkat yang digunakan untuk melakukan pengukuran komponen-komponen yang ada didalam darah. *DxH 500* merupakan *hematology analyzer* otomatis kuantitatif multi parameter yang digunakan untuk diagnostik in vitro di laboratorium klinis (Beckman Coulter, 2018). *Automatic Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter* merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter untuk pemeriksaan kuantitatif yang meliputi WBC (*White Blood Count*), limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, basofil, persentase limfosit, persentase monosit, persentase neutrofil, persentase eosinofil, persentase basofil, RBC (*Red Blood Count*), HGB (Hemoglobin), HCT (Hematokrit), MCV (*Mean Corpuscular Volume*), MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*), MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*), RDW-CV, RDW-SD, PLT (Platelet), MPV (*Mean Platelet Volume*), WBC histogram, RBC histogram dan PLT histogram (Beckman Coulter, 2018).

Spesimen yang digunakan pada *Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter* adalah *whole blood* (vena dan kapiler) dengan antikoagulan K2EDTA dan K3EDTA. Volume *whole blood* yang disedot adalah 12 µL. Selain itu, pemeriksaan juga dapat dilakukan dengan metode *prediluted whole blood* (20 µL darah dalam 300 µL

larutan pengencer). Volume *prediluted whole blood* yang disedot adalah 180 μ L (Beckman Coulter, 2018).

Reagen yang digunakan adalah diluent, lyse dan cleaner. Diluent adalah larutan buffer isotonik penghasil formaldehida rendah yang disempurnakan. Diluent berfungsi untuk mengencerkan spesimen dan digunakan untuk membilas komponen modul analisis sampel. Reagen lyse adalah reagen bebas sianida yang melisiskan sel darah merah untuk pemeriksaan jumlah leukosit, klasifikasi subpopulasi leukosit dan pengukuran hemoglobin. Reagen cleaner adalah pembersih bebas azida, bebas formaldehida, biodegradable yang mengandung enzim proteolitik yang membantu menghilangkan penumpukan protein (Beckman Coulter, 2018).

Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter memenuhi spesifikasi kinerja saat dioperasikan pada suhu 18-32°C (64,4-89,6°F). Jika suhu ruangan rata-rata berubah lebih dari 10°F atau 6°C ketika instrumen sudah dikalibrasi, maka verifikasi kalibrasi dan jika perlu kalibrasi ulang untuk memastikan kinerja yang optimal. Alat ini dapat disimpan pada suhu -10°C sampai 50°C (Beckman Coulter, 2018).

Prinsip kerja *Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter* meliputi:

a. *Impedance Flowcytometry*

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.

b. Prinsip Teknologi Laser – Based (*optical*) *Flowcytometry*

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).

c. Teknologi Deteksi RF/DC

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).

d. Teknologi Hidrofokus Dinamis

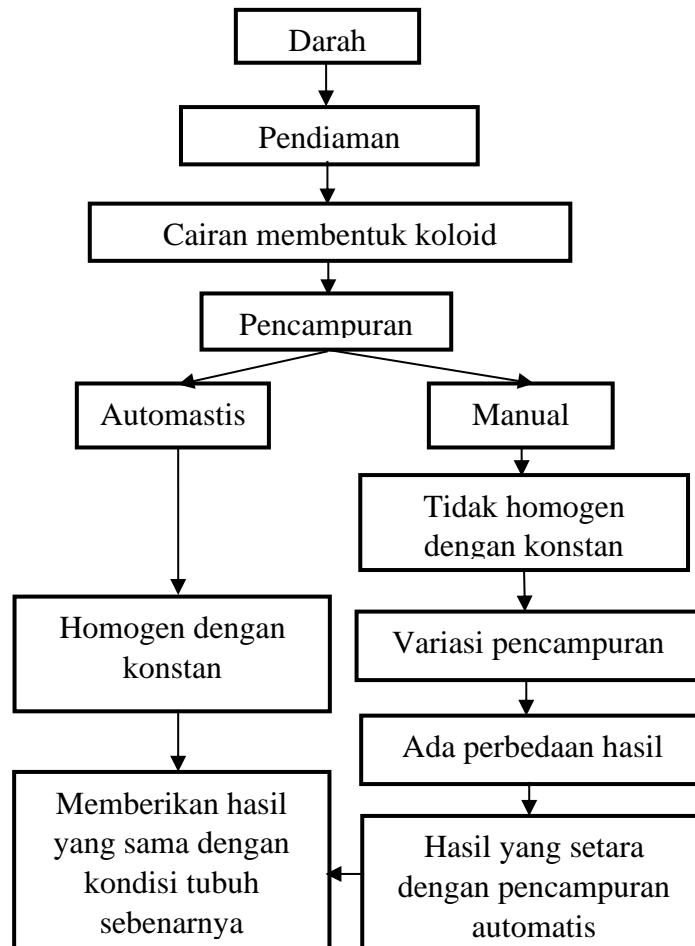
Detektor yang digunakan berupa nosel sampel yang berada di depan aperture pada posisi garis lurus dengan titik pusat. Ketika sel darah

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).

e. Teknologi VCS (Volume, Conductivity, and Light Scatter)

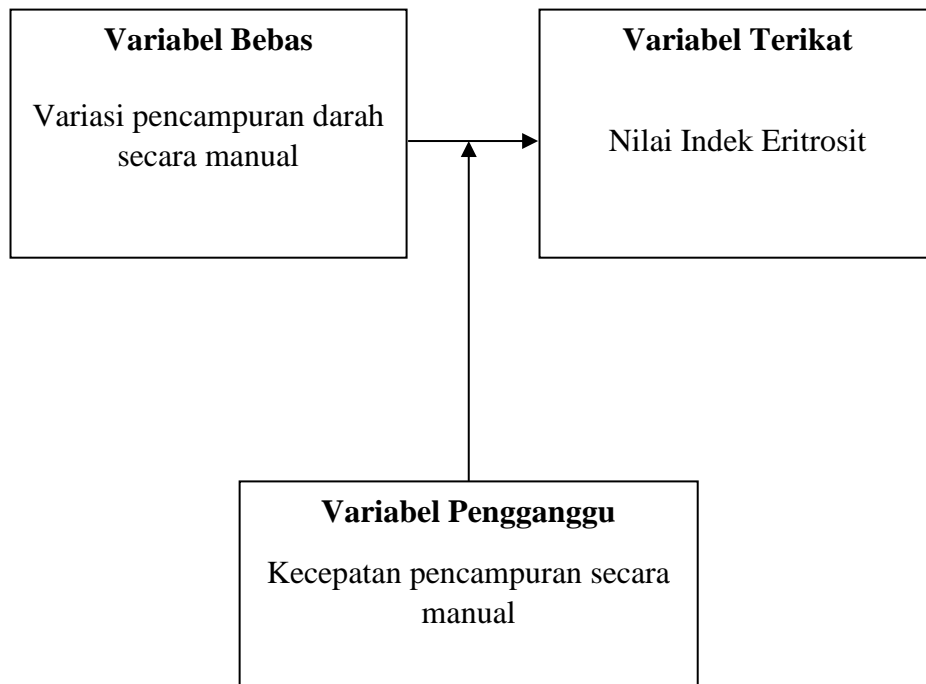
Mengukur volume, konduktivitas dan hamburan cahaya laser digunakan secara bersamaan pada setiap sel yang melewati aperture. Volume (V) diperoleh dari pengukuran impedansi listrik atau dengan Direct Current, Konduktivitas (C) mengukur ukuran inti dan kepadatan setiap sel dengan menggunakan radio frekuensi, 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 1. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh variasi pencampuran darah dengan antikoagulan secara manual terhadap hasil pemeriksaan indeks eritrosit