

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah merupakan salah satu cairan tubuh yang sangat penting bagi kehidupan manusia, yang bersirkulasi dari dalam jantung menuju pembuluh darah arteri maupun vena. Darah pada tubuh manusia terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebesar 55% dan korpuskuler / sel darah (bagian padat darah) sebesar 45% . 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).

Volume total darah orang dewasa diperkirakan sekitar 5-6 liter atau 7% - 8% dari berat tubuh seseorang (Maharani E.A dan Ganjar E, 2019). 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)

2. Jenis Spesimen Darah

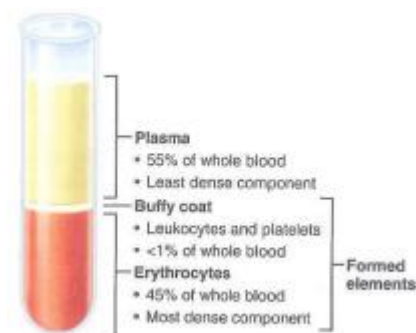
a. Darah utuh (*whole blood*)

Darah utuh (*whole blood*) darah yang sama bentuk/kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah. Darah utuh biasanya digunakan pada pemeriksaan hematologi khususnya pemeriksaan darah lengkap. Darah utuh (*whole blood*) ini diambil dari pembuluh darah 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. Karena 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 adalah bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan. Jika darah ditambah antikoagulan, maka tidak akan terjadi pembekuan darah dan darah 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).



Gambar 1. Komposisi Darah

Sumber : Marieb, 2015

c. Serum

Serum adalah bagian cair dari darah yang tidak diberi antikoagulan. Jika darah di dalam tabung didiamkan selama 5-10 menit, maka darah akan membeku. Darah akan terpisah dua bagian,

yaitu serum berupa cairan berwarna kuning dan bekuan darah berupa massa solid berwarna merah (Riswanto, 2013).

3. Pemeriksaan Darah Lengkap

Pemeriksaan darah lengkap (*Complete Blood Count/CBC*) merupakan pemeriksaan penyaring 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, indek 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 (homogenisasi) dengan zat antikoagulan. Antikoagulan digunakan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah, sehingga darah tetap dalam kondisi cair. Penghomogenan darah harus dilakukan dengan segera. Penghomogenan darah dilakukan sesuai dengan gold standar, cara yang dilakukan untuk menghomogenkan darah dapat menggunakan teknik inversi dan angka delapan. Jika homogenisasi tidak dilakukan akan menyebabkan koagulasi sehingga akan mempengaruhi hasil pemeriksaan darah lengkap (Decie dan Lewis, 1991; Katharyn, dkk 2008).

4. Bahan pemeriksaan EDTA

Ada 3 tahap pemeriksaan laboratorium yaitu pra anaitik, analitik dan pascaanalitik. Tahapan praanalitik pemeriksaan laboratorium di

antaranya meliputi pengambilan bahan pemeriksaan dan penanganan serta pemberian antikoagulan harus diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang baik (Muslim dkk., 2015). Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pengujian hematologi terutama adalah antikoagulan, jeda waktu setelah sampel diperoleh hingga dilakukan pemeriksaan, dan penyimpanan (Cora dkk., 2012). Salah satu jenis antikoagulan yang sering dipakai pada pemeriksaan hematologi adalah antikoagulan EDTA dan CPDA-1.

Antikoagulan EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*) sering digunakan dalam pemeriksaan hematologi karena dapat mempertahankan morfologi sel, dan menghambat agregasi trombosit (Kiswari, 2014). Penggunaan EDTA sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya, untuk memastikan agar hasil pemeriksaan dapat diandalkan. Secara medis, pengujian harus dilakukan dalam waktu 45 menit sampai 1 jam setelah pengumpulan sampel untuk menghindari terjadinya perubahan *in vitro* selama masa penyimpanan. Pada umumnya darah EDTA dapat disimpan 24 jam disuhu 4°C (Kiswari, 2014). Maksimal penyimpanan darah EDTA terhadap jumlah leukosit yaitu 2 jam pada suhu kamar (Permenkes, 2012).

Sedangkan antikoagulan CPDA-1 (*Citrat Phosphat Dextrose Adenin-1*) yang 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. Alasan disimpan pada suhu 2-6°C demi menjaga dextrose agar tidak cepat habis, serta mengurangi pertumbuhan bakteri kontaminan selama proses penyimpanan (Setyati, 2010).

5. Leukosit

Leukosit merupakan sel darah putih dan memiliki satu inti sel 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. Leukosit berperan dalam sistem pertahanan tubuh untuk menahan masuknya benda asing (antigen) penyebab penyakit yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui dua cara, yaitu fagositosis dan mengaktifkan respon imun tubuh. Jumlah normal leukosit adalah 4.000-11.000 sel/ μ L darah. Adanya peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) terjadi bila tubuh mengalami infeksi. Penurunan jumlah leukosit disebut leukopenia. Leukopenia dapat disebabkan oleh stress berkepanjangan, infeksi virus, penyakit atau kerusakan sumsum tulang, radiasi atau kemoterapi, penyakit sistemik parah seperti lupus eritematosus dan penyakit tiroid (Aliviameita A dan Puspitasari, 2019). 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).

Pemeriksaan hitung jumlah leukosit merupakan pemeriksaan darah rutin yang sering diminta untuk penegakan diagnosis. Karena seringnya permintaan pemeriksaan hitung jumlah leukosit, perhitungan secara manual akan memakan waktu yang cukup lama, maka dilakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit secara otomatis yang mana alat ini menggunakan aliran listrik dengan prinsip impedansi. Walaupun harga mesin otomatis cukup mahal, namun alat ini mampu memeriksa dengan cepat, tepat dan mudah (Katrina dkk. 2015), (Carraro dkk. 2015).

6. Homogenisasi

Salah satu hal yang harus diperhatikan dalam pemeriksaan darah lengkap pada tahap praanalitik adalah homogenisasi sampel darah. Homogenisasi adalah suatu proses pencampuran antara darah dengan antikoagulan. homogenisasi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara manual atau otomatis. Menurut Dacie dan Lewis, proses homogenisasi secara manual harus dilakukan dengan gold standar yaitu teknik inversi 8-10 kali. Sedangkan homogenisasi secara otomatis dilakukan dengan bantuan *blood roller mixer* selama 2 menit (Bain et al, 2012).

Homogenisasi primer merupakan pencampuran darah setelah sampel darah pasein dimasukkan ke dalam tabung EDTA.

Homogenisasi primer harus dilakukan dengan segera. Darah yang telah dihomogenisasi primer biasanya tidak langsung diperiksa tetapi didiamkan dahulu karena penundaan. Darah dengan antikoagulan yang dibiarkan dalam waktu tertentu akan mengalami pemisahan menjadi dua, lapisan atas berupa plasma sedangkan lapisan bawah berupa sel darah (Rosidah dan Wibowo, 2018).

Darah dengan antikoagulan yang didiamkan cukup lama harus dilakukan homogenisasi sekunder jika akan diperiksa karena sel-sel telah mengendap. Jika sampel diperiksa tanpa dilakukan homogenisasi sekunder maka hasilnya menjadi kurang akurat, di karenakan jika darah dan antikoagulan tidak dilakukan pencampuran dengan baik maka menyebabkan bekuan yang memberikan hasil rendah palsu, sedangkan jika pencampuran dilakukan berlebihan akan menyebabkan hemolisis. Oleh karena itu homogenisasi harus dilakukan dengan baik agar darah terdistribusi normal (Lestari, 2019).

Proses homogenisasi manual dengan teknik inversi lebih disarankan karena dapat memberikan hasil yang lebih akurat sesuai dengan kondisi pasien yang sesungguhnya (Hartina dkk, 2019). Teknik homogenisasi secara inversi dilakukan dengan cara membolak-balikkan tabung 180°. Proses homogenisasi manual menggunakan teknik inversi harus dilakukan dengan benar yaitu ketika membolak-balikkan tabung 180°, eritrosit harus sampai ke dasar tabung agar darah dapat tercampur dengan sempurna.

7. *Blood Roller Mixer*

Blood Roller Mixer berasal dari kata *blood* yang berarti darah, *roller* berarti gulungan berputar dan *mixer* berarti pengocok, maka dapat disimpulkan bahwa *blood roller mixer* merupakan alat pengocok darah dengan gulungan atau rol yang berputar. Alat ini berfungsi untuk menghomogenkan darah atau mengocok sampel darah dalam sebuah venoject (tabung hampa udara steril) (Yudistira Ardy Nugraha, 2010). Terdapat beberapa tempat pada *blood roller mixer* yang digunakan untuk meletakkan tabung berisi darah dan antikoagulan yang akan dicampur selama 15-20 menit.

Berdasarkan prinsip kerjanya, alat *blood roller mixer* ini memiliki nilai RPM (*Rotate Per Minute*) sebagai kecepatan putaran dari pada rol tersebut dengan pilihan kecepatan 33 dan 40 RPM, kecepatan ini dipilih berdasarkan buku *District Laboratory Practise In Tropical Countries* (Cheesbrough, 2005). 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.

8. *Automatic Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter*

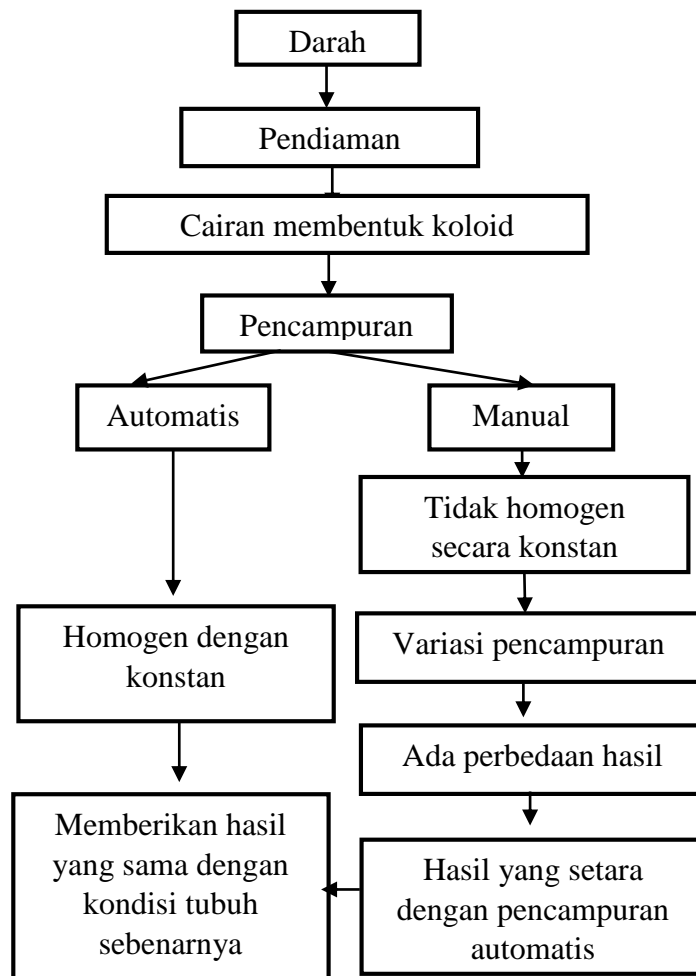
Hematology Analyzer merupakan alat untuk mengukur komponen yang ada di dalam darah. DxH 500 merupakan hematology analyzer otomatis kuantitatif multi parameter yang digunakan untuk diagnostik in vitro di laboratorium klinis (Beckman Coulter, 2018). *Automatic Hematology Analyzer DxH 500 Beckman Coulter* merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter untuk pemeriksaan kuantitatif yang meliputi WBC (*White Blood Cell* atau leukosit), limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, basofil, persentase limfosit, persentase monosit, persentase neutrofil, persentase eosinofil, persentase basofil, RBC (*Red Blood Cell*), 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* 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 μL (Beckman Coulter, 2018).

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

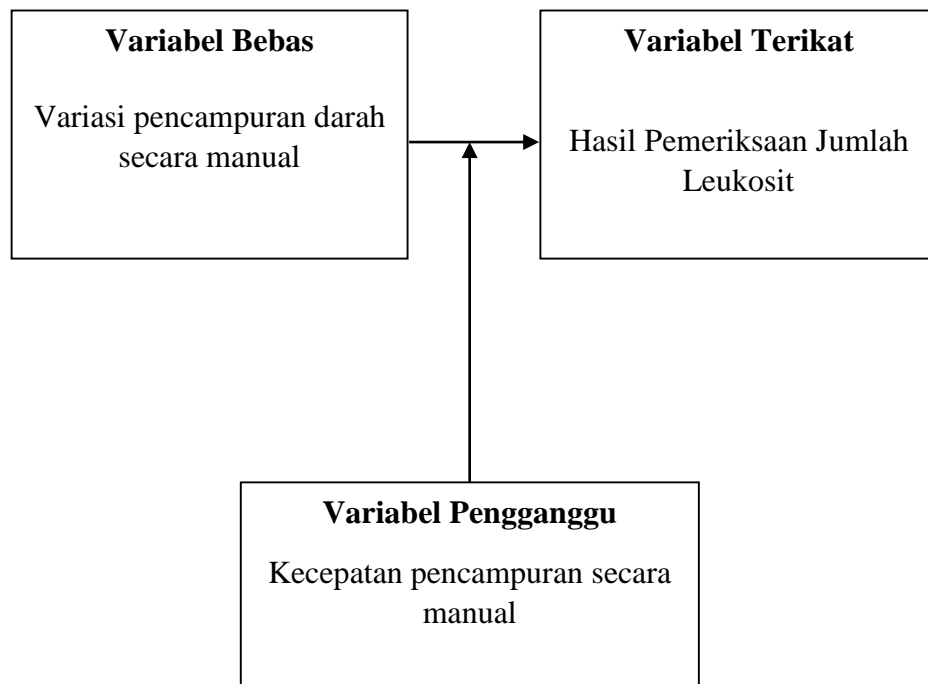
pembentukan pulsa palsu dan berguna meningkatkan akurasi serta kecepatan dalam perhitungan sel darah (Mengko.R, 2013). Prinsip kelima, yaitu Teknologi VCS (Volume, Conductivity, and Light Scatter) dengan mengukur volume, konduktivitas dan hamburan cahaya laser digunakan secara bersamaan pada setiap sel 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 Penelitian

Ada pengaruh variasi pencampuran darah dengan antikoagulan terhadap hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit.