

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

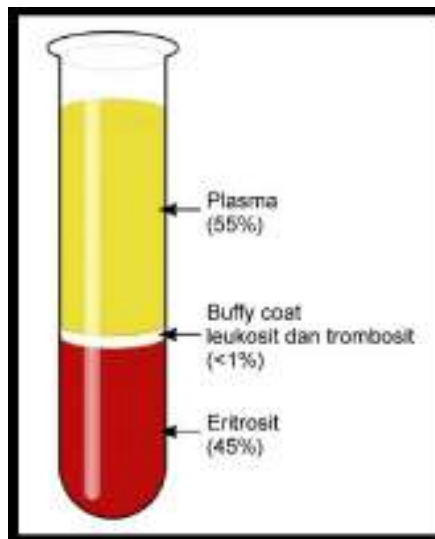
1. Spesimen darah

a. Pengertian darah

Darah merupakan jaringan ikat khusus yang terdiri dari bagian cair yaitu plasma dan bagian padat yaitu sel-sel darah. Volume darah secara keseluruhan kira-kira satu per dua belas bagian dari berat badan atau kira-kira 5 liter. Darah beredar dalam suatu sistem pembuluh dan membawa nutrisi, hasil sisa metabolisme, hormon, protein, ion, oksigen, karbon dioksida dan unsur lain yang terbentuk. Darah juga mengatur suhu tubuh dan membantu dalam pengaturan osmotik dan keseimbangan asam basa (Gartner dkk., 2011).

b. Komposisi darah

Komposisi darah terdiri dari 55% bagian cair dan 45% bagian padat. Bagian padat darah berupa sel-sel darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). 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 (Gartner dkk., 2011). Komposisi darah ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Komposisi Darah.
Sumber: Kiswari, 2014.

c. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah merupakan salah satu komponen darah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Satu mm^3 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 *retikulum endothelium* terutama dalam limfa 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. Eritrosit tidak mempunyai nukleus atau inti sel dan mengandung molekul hemoglobin (Tortora dkk., 2016).

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_2) dan karbon dioksida (CO_2) 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).

Kadar hemoglobin dalam darah ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan hemoglobin yang berwarna pada panjang gelombang 540 nm. Kadar normal hemoglobin untuk laki-laki dewasa adalah 13,5-18 g/dL sedangkan untuk wanita dewasa 12-16 g/dL (Sacher dan McPherson, 2004).

2. Serum

a. Pengertian serum

Serum merupakan supernatan yang diperoleh setelah darah dibiarkan membeku selama 30-45 menit. Selama proses pembekuan, darah fibrinogen diubah menjadi fibrin (Baynes dan Dominiczak, 2014). Darah yang membeku akan terpisah menjadi dua bagian, yaitu cairan yang berwarna kuning disebut serum dan bekuan darah berupa massa solid berwarna merah (Riswanto, 2013).

Menurut Kierszenbaum dan Tres (2012) serum disebut juga plasma tanpa antikoagulan. Perbedaan serum dan plasma adalah plasma mengandung fibrinogen sedangkan serum tidak mengandung fibrinogen namun mengandung albumin, immunoglobulin dan komponen lainnya. Serum darah ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Serum Darah.
Sumber : Kierszenbaum dan Tres, 2012.

b. Macam-macam serum tidak normal

1) Serum hemolisis

Serum hemolisis merupakan serum yang berwarna kemerahan yang disebabkan karena lepasnya hemoglobin dari eritrosit yang rusak (Lieseke dan Zeibig, 2017).

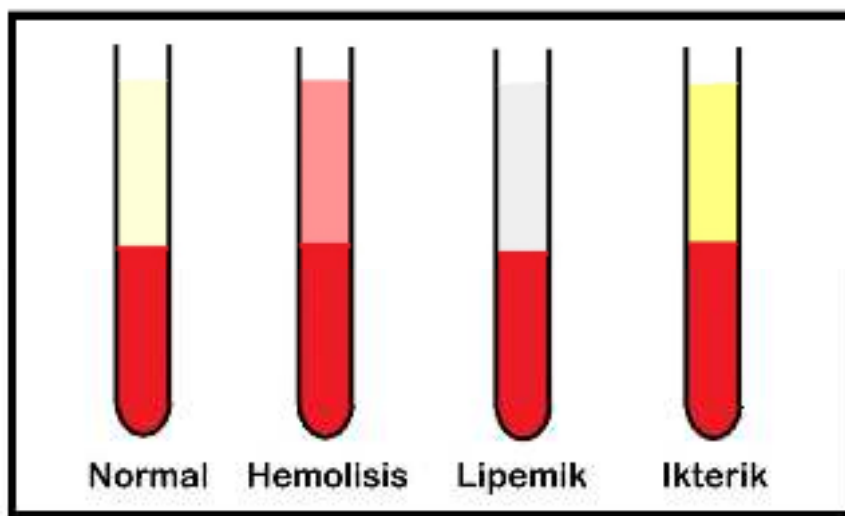
2) Serum lipemik

Serum lipemik merupakan serum yang berwarna putih keruh atau seperti susu yang disebabkan adanya partikel besar lipoprotein seperti

trigliserida. Molekul lipid tersebut mengganggu metode uji pemeriksaan (Lieseke dan Zeibig, 2017).

3) Serum ikterik

Serum ikterik merupakan serum yang berwarna kuning coklat yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi bilirubin dalam darah (Lieseke dan Zeibig, 2017). Jenis-jenis serum ditunjukkan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Macam-macam Serum.
Sumber : Giri, 2019.

3. Hemolisis

a. Pengertian hemolisis

Menurut Lippi dkk. (2011) hemolisis merupakan kerusakan membran sel darah merah (eritrosit) yang menyebabkan lepasnya hemoglobin dan komponen intraseluler lainnya ke dalam cairan di sekitarnya. Hemolisis dideteksi secara visual setelah spesimen darah disentrifugasi yang ditunjukkan adanya warna kemerahan pada serum atau plasma. Tingkat hemolisis ditentukan berdasarkan kadar hemoglobin yang terkandung dalam serum (Adiga dan Yogish, 2016). Derajat hemolisis ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Derajat Hemolisis berdasarkan kadar Hemoglobin

Hemoglobin	Derajat hemolisis
< 20 mg/dl	Tidak hemolisis
20-100 mg/dl	Hemolisis ringan
100-300 mg/dl	Hemolisis sedang
>300 mg/dl	Hemolisis berat

Sumber: Adiga dan Yogish, 2016.

b. Penyebab Hemolisis

Hemolisis dapat terjadi secara *in vivo* dan *in vitro*. Menurut Simundic dkk. (2019) hemolisis *in vivo* terjadi akibat kondisi patologis seperti penyakit autoimun, anemia hemolitik, hemoglobinopati, infeksi, kanker darah, obat-obatan, katup jantung prostetik dan vena rapuh.

Menurut Jonge dkk. (2018) penyebab hemolisis secara *in vitro* antara lain:

- 1). Transfer residu alkohol dari kulit ke spesimen darah
- 2). Kesulitan menemukan akses vena, vena kecil atau rapuh
- 3). Pemasangan tourniquet terlalu lama
- 4). Penggunaan jarum yang terlalu kecil
- 5). Tekanan negatif yang berlebihan pada darah di jarum suntik
- 6). Inversi tabung secara berlebihan (dikocok)
- 7). Sentrifugasi dilakukan berkali-kali dengan kecepatan terlalu tinggi untuk periode waktu yang lama

c. Pengaruh Hemolisis

Sel darah merah (eritrosit) yang pecah menyebabkan hemoglobin bebas masuk ke serum sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan warna serum yang menyebabkan gangguan penyerapan warna pada analisa fotometri.

Gangguan penyerapan warna analisa fotometri berpengaruh pada hasil pemeriksaan kimia darah, dimana akan menyebabkan nilai tinggi palsu atau rendah palsu (Lippi dkk., 2008).

Hemolisis mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium terutama pada pemeriksaan bilirubin total mengalami penurunan dan *Aspartat Aminotransferase* (AST), *Laktat Dehidrogenase* (LDH), kalium akan mengalami peningkatan. Parameter lain seperti *Alanine Aminotransferase* (ALT), amylase, *Creatine Kinase* (CK), kolesterol, protein total, glukosa, trigliserida, albumin, natrium dan asam urat juga menunjukkan adanya perubahan (Koseoglu dkk., 2011).

4. Bilirubin

a. Pengertian bilirubin

Bilirubin merupakan hasil penguraian hem yang sebagian besar (85-90%) dari penguraian hemoglobin dan sebagian kecil (10-15%) dari penguraian mioglobin dan pemecahan sitokrom jaringan (Sacher dan McPherson, 2004). $1-2 \times 10^8$ eritrosit dihancurkan setiap jam pada kondisi fisiologis orang dewasa sehat, sehingga dalam 1 hari seorang dengan berat badan 70 kg mempertukarkan sekitar 6 gram hemoglobin. Hemoglobin akan terurai menjadi globin dan hem. Globin akan diurai menjadi asam-asam amino pembentuknya yang kemudian dapat digunakan kembali sedangkan hem akan terurai menjadi bilirubin terutama di sel retikuloendotel hati, limpa dan sumsum tulang (Murray dkk., 2009).

b. Jenis-jenis bilirubin

Menurut Sacher dan McPherson (2004) bilirubin dibagi menjadi dua, antara lain:

- 1) Bilirubin direk (bilirubin terkonjugasi) adalah bilirubin yang tidak berikatan dengan protein albumin dan terkonjugasi dengan asam glukoronat di dalam hati. Bilirubin ini dapat larut dalam air sehingga ditemukan dalam urine
- 2) Bilirubin indirek (bilirubin tak terkonjugasi) adalah bilirubin yang berikatan dengan protein albumin dan belum terkonjugasi dengan asam glukoronat di dalam hati. Bilirubin ini tidak larut dalam air dan tidak ditemukan dalam urine

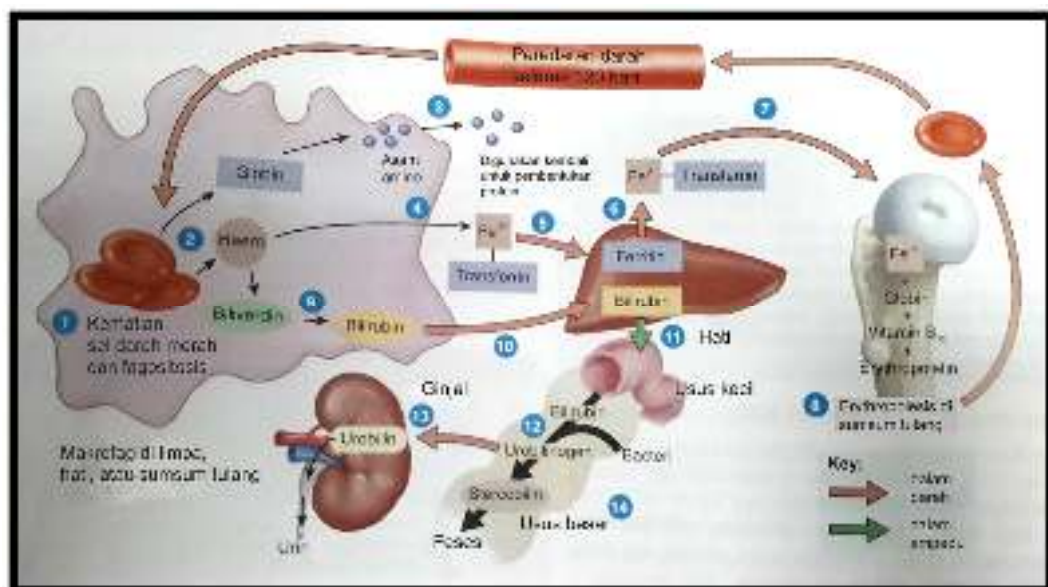
c. Metabolisme bilirubin

Bilirubin adalah metabolit utama hem. Sekitar 250-350 mg bilirubin diproduksi setiap hari pada orang dewasa sehat. Hemoglobin dari sel darah merah tua dipecah menjadi hem dan globin dalam makrofag terutama di limfa, sumsum tulang dan hati. Cincin porfirin hem dioksidasi oleh enzim heme oksigenase membentuk pigmen hijau yaitu biliverdin, melepaskan zat besi dalam bentuk ferri (Fe^3) dan melepaskan karbon monoksida (CO). Biliverdin kemudian direduksi menjadi pigmen kuning yang disebut bilirubin oleh enzim biliverdin reduktase (McPherson dan Pincus, 2011).

Bilirubin yang terbentuk memiliki sifat tidak larut dalam air disebut juga bilirubin tidak terkonjugasi. Bilirubin ini masuk dalam sirkulasi darah berikatan dengan albumin. Bilirubin indirek diangkut dari sel retikuloendotel ke hati kemudian memasuki hepatosit. Hepatosit melepas bilirubin dari albumin. Bilirubin masuk dalam retikulum endoplasma halus kemudian dikonjugasikan

dengan asam glukoronat yang dikatalisis oleh enzim glukoronil transferase menjadi bilirubin glukoronida yang bersifat larut dalam air disebut juga bilirubin terkonjugasi (McPherson dan Pincus, 2011).

Bilirubin terkonjugasi masuk ke saluran empedu dan diekskresikan ke dalam usus. Bilirubin di dalam usus diuraikan oleh flora usus menjadi urobilinogen yang tidak berwarna, larut air dan mudah teroksidasi menjadi urobilin yang memberi warna pada urin. Sebagian besar urobilinogen dapat diubah menjadi sterkobilin yang diekskresikan melalui feses dan menyebabkan warna coklat tua pada feses. Sebagian kecil dari urobilinogen direabsorpsi dari usus melalui jalur enterohepatik yang kemudian oleh darah vena porta dibawa kembali ke hati. Urobilinogen yang mengalami daur ulang diekskresikan ke dalam empedu dan sebagian dibawa oleh sirkulasi sistemik ke ginjal untuk diekskresikan bersama urin (Sacher dan McPherson, 2004).



Gambar 4. Metabolisme Bilirubin.
Sumber : Larson, 2017.

d. Pemeriksaan bilirubin total

Pemeriksaan kadar bilirubin total bertujuan untuk memantau kadar bilirubin yang dikaitkan dengan ikterik dan memastikan adanya gangguan fungsi hati (Kee, 2007). Pemeriksaan bilirubin total menggunakan metode Jendrassik-Grof secara fotometri dengan bahan pemeriksaan berupa serum (Diasys, 2015).

Prinsip pemeriksaan bilirubin total adalah menggabungkannya dengan diazotasi asam sulfanilat setelah penambahan kafein, natrium benzoat dan natrium asetat. Azobilirubin yang berwarna biru terbentuk dalam larutan Fehling II yang bersifat basa. Senyawa biru ini dapat juga ditentukan secara selektif dengan timbulnya warna kuning menggunakan fotometri pada panjang gelombang 578 nm. Bilirubin direk diukur sebagai warna merah azo pada panjang gelombang 546 nm menggunakan metode *Schellong* dan *Wande* tanpa penambahan alkali. Bilirubin indirek dihitung dari kadar bilirubin total dikurangi kadar bilirubin direk (Diasys, 2015).

e. Nilai rujukan bilirubin total

Tabel 2. Nilai Rujukan Bilirubin Total

Kategori	Keterangan	Nilai Rujukan	
		Konvensional	Satuan Internasional
Dewasa	-	0,1-1,2 mg/dL	1,7-21 μ mol/L
Anak-anak	>1 bulan	0,2-1,0 mg/dL	3,4-17 μ mol/L
	24 jam	<8,8 mg/dL	<150 μ mol/L
Bayi baru lahir	2 hari	1,3-11,3 mg/dL	22-193 μ mol/L
	3 hari	0,7-12,7 mg/dL	12-217 μ mol/L
	4-6 hari	0,1-12,6 mg/dL	1,7-216 μ mol/L

Sumber : Diasys, 2015

f. Kelainan kadar bilirubin total

Kadar bilirubin total lebih besar dari 2 mg/dl (34 μ mol/L) menyebabkan diskolorasi kuning pada kulit, sklera dan membran mukosa yang disebut ikterus atau *jaundice* (Ganong, 2008). Hiperbilirubinemia terjadi karena produksi bilirubin berlebih dan tidak dapat diekskresikan atau disebabkan kerusakan hati sehingga tidak dapat mengekskresikan bilirubin yang diproduksi dalam jumlah normal. Obstruksi saluran ekskresi hati dengan menghambat ekskresi bilirubin tanpa adanya kerusakan hati juga menyebabkan hiperbilirubinemia (Murray dkk., 2009).

1) Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi

Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi dibagi menjadi dua yaitu hiperbilirubinemia tak terkonjugasi prahepatik dan hiperbilirubinemia hepatic. Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi prahepatik terjadi akibat peningkatan produksi bilirubin pada keadaan hemolisis, sedangkan hiperbilirubinemia tak terkonjugasi hepatic terjadi akibat konjugasi bilirubin terganggu akibat kelainan hati dan defisiensi enzim glukoronil transferase (Murray dkk., 2009). Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi terjadi pada penyakit anemia hemolitik, sindrom crigler-najjar tipe I dan II, sindrom gilbert dan ikterus fisiologis neonatus (Burtis dkk., 2012).

2) Hiperbilirubinemia terkonjugasi

Hiperbilirubinemia terkonjugasi dibagi menjadi dua yaitu hiperbilirubinemia terkonjugasi hepatic dan hiperbilirubinemia terkonjugasi posthepatik. Hiperbilirubinemia terkonjugasi hepatic terjadi akibat obstruksi

intrahepatik pada penyakit hepatitis dan sirosis hati. Hiperbilirubinemia terkonjugasi posthepatik disebabkan oleh obstruksi duktus empedu ekstrahepatik, karsinoma kandung empedu dan batu empedu (Sacher dan McPherson, 2004).

g. Faktor yang mempengaruhi kadar bilirubin total

Menurut Kee (2007) faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan bilirubin antara lain :

1) Hemolisis pada spesimen darah

Spesimen hemolisis yang disebabkan karena adanya penyakit anemia hemolitik, infeksi, sepsis, meningitis, asidosis dan sferositesis herediter dapat mengakibatkan peningkatan kadar bilirubin total. Hemolisis *in vitro* dapat menyebabkan pembentukan warna azo terhambat akibat aktivitas pseudoperoxidase dari hemoglobin, sehingga kadar bilirubin menurun (Koseoglu dkk., 2011).

2) Spesimen yang lipemik dapat menyebabkan penyerapan cahaya terganggu saat melewati sampel pada tes spektrofotometri, apabila terdapat serum lipemik maka blanko pemeriksaan menggunakan sampel.

3) Suhu penyimpanan spesimen

Suhu penyimpanan spesimen dapat mempengaruhi pemeriksaan kadar bilirubin dalam serum. Berdasarkan reagen Diasys Diagnostic suhu penyimpanan 25-25⁰C serum stabil selama 1 hari dan pada suhu 4-8⁰C serum stabil selama 7 hari.

4) Spesimen darah yang terpapar cahaya matahari.

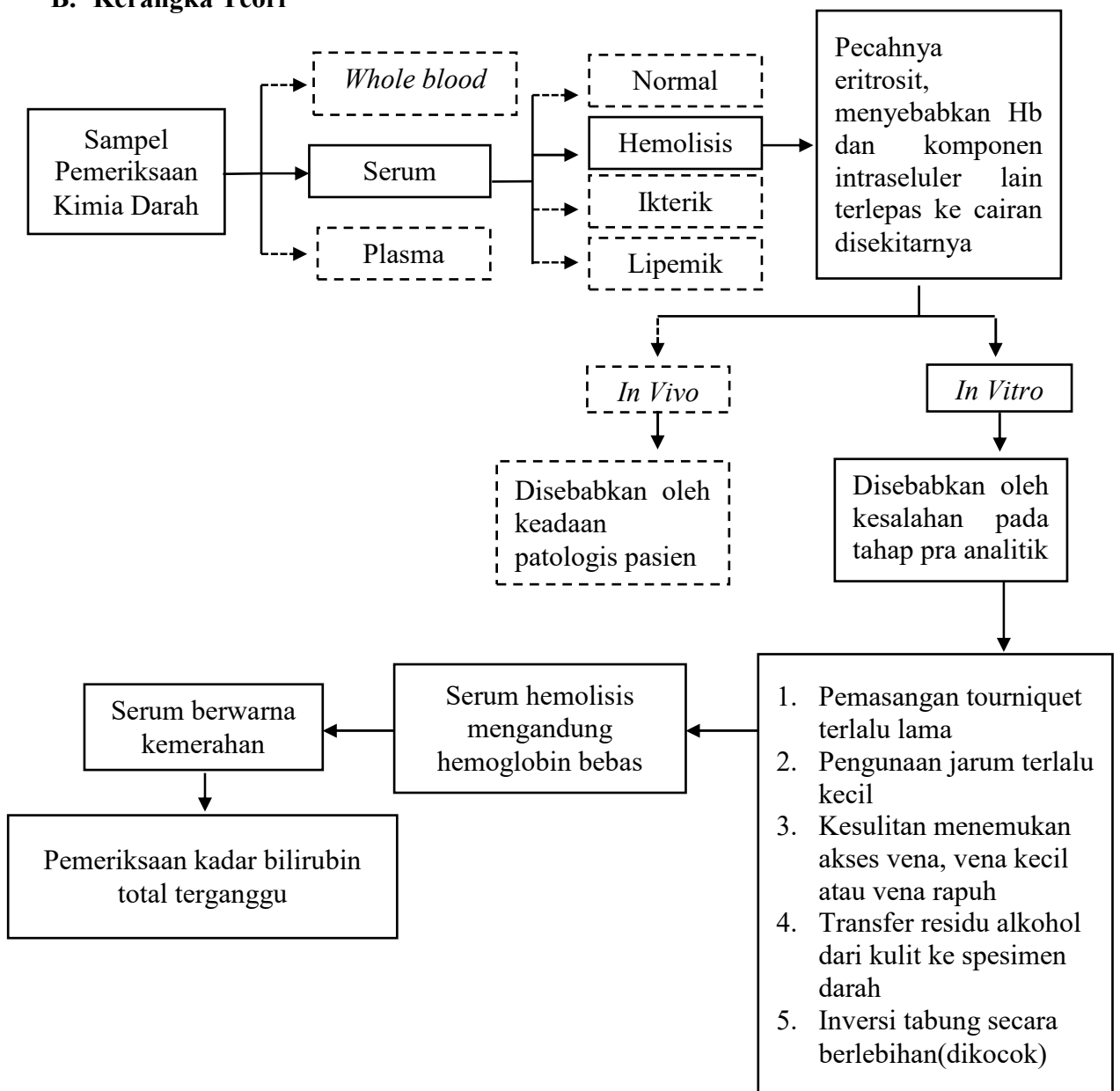
Paparan cahaya matahari terhadap spesimen dapat menyebabkan bilirubin teroksidasi menjadi biliverdin, sehingga menyebabkan kadar bilirubin dalam serum mengalami penurunan. Pemeriksaan bilirubin dapat dilakukan ditempat gelap pada suhu rendah dan menggunakan tabung atau botol yang dibungkus kertas gelap atau aluminium foil supaya proses *denaturasi* protein terhambat dan kadar bilirubin total tetap stabil.

5) Pengaruh penggunaan obat tertentu seperti antibiotik, diuretik, isoniazid (INH), sulfonilamid, steroid, vitamin A, C, K dapat meningkatkan kadar bilirubin total serta penggunaan aspirin, penisilin dan kafein dapat menurunkan kadar bilirubin total.

h. Hasil penelitian yang berhubungan

Menurut Koseoglu dkk. (2011) hemolisis dalam serum yang terjadi akibat kesalahan pada tahap pra analitik dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan kimia darah. Hemoglobin dalam serum akan mengalami autoksidasi bersama dengan sodium nitrit yang berada dalam reagen pemeriksaan bilirubin total. Proses tersebut menyebabkan pembentukan warna azo menjadi terhambat, sehingga reaksi diazotasi asam sulfanilat menjadi rusak. Hemoglobin juga dapat bereaksi dengan larutan fehling II yang memiliki sifat oksidator lemah (Shull dkk., 1980).

B. Kerangka Teori



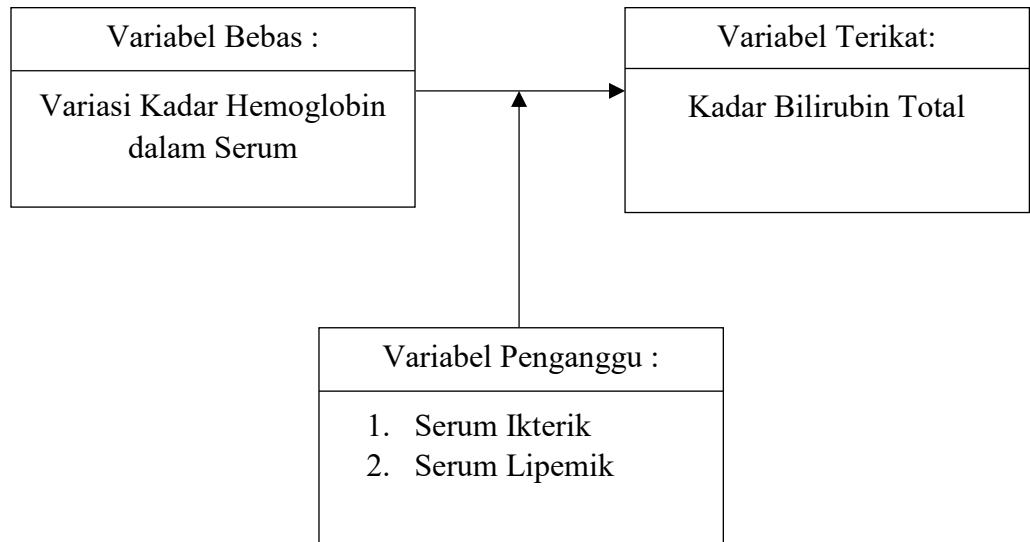
Keterangan :

———— = diteliti

----- = tidak diteliti

Gambar 5. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 6. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan kadar bilirubin total