

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Darah

a. Deskripsi

Darah adalah suatu jaringan tubuh yang terdapat didalam pembuluh darah yang berbentuk cair dan berwarna merah. Pada orang dewasa muda yang sehat memiliki darah sekitar 7% dari berat badan atau kira-kira sekita 4-5 liter. Jumlah tersebut berbeda-beda untuk setiap orang tergantung pada umur, pekerjaan, keadaan jantung atau pembuluh darah. Darah merupakan kendaraan atau medium untuk transportasi berbagai nutrisi ke seluruh tubuh. Darah berfungsi dalam mengangkut oksigen, zat gizi dan sisa hasil metabolisme dari jantung keseluruhan tubuh dan kembali lagi ke jantung (Winarto, 2014).

Darah utuh (*whole blood*), yaitu darah yang sama bentuk atau kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah (Riswanto, 2013). Darah lengkap (*whole blood*) mengandung semua komponen darah secara utuh, baik plasma maupun sel darahnya. *Prediluted* adalah darah yang telah diencerkan dengan larutan isoton sel – sel akan terpisahkan sehingga mereka dapat ditarik melalui *aperture* satu per satu serta membuat

konduktifitas antara dua *probe* dan dapat dilakukan penghitungan dengan metode impedansi untuk analisis darah.

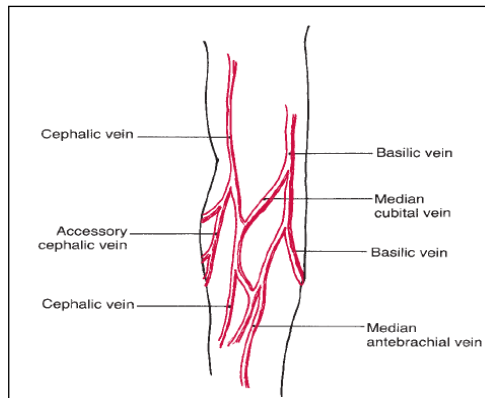
b. Darah Vena

Darah vena adalah darah yang berada di pembuluh darah vena, membawa darah miskin akan oksigen menuju ke jantung. Pembuluh darah vena juga berdinding tiga lapis seperti arteri, tetapi lapisan tengah berotot lebih tipis, kurang kuat, lebih mudah kempes, dan kurang elastis dari pada arteri. Untuk mendapatkan sampel darah vena dilakukan *venipuncture* yaitu cara pengumpulan darah dengan melakukan tusukan kedalam pembuluh darah vena. Pada umumnya semua pembuluh vena cukup besar yang letaknya *superficial* dapat dipergunakan untuk pengambilan darah, namun vena *mediana cubital*, pada anterior lengan (sisi dalam lipatan siku) terletak dekat dengan permukaan kulit, cukup besar, dan tidak terdapat saraf besar sehingga vena ini dijadikan pilihan utama karena minimal rasa sakitnya. Apabila tidak memungkinkan, vena *cephalica* atau vena *basilica* bisa menjadi pilihan berikutnya. Pengambilan darah pada vena *basilica* harus dilakukan dengan hati-hati karena letaknya berdekatan dengan arteri *brachialis* dan syaraf median. Terdapat dua cara pengambilan sampel darah vena, yaitu cara terbuka (menggunakan jarum *sput*) dan cara tertutup (jarum dan tabung *vacum/ vacutainer*). Pada penelitian ini menggunakan cara terbuka.

Langkah – langkah pada prosedur *Venipuncture* :

- 1) Identifikasi pasien; setidaknya dua pengenal (nama lengkap, alamat, tanggal lahir) jangan melanjutkan prosedur jika ada ketidaksesuaian identifikasi, Formulir Permintaan pemeriksaan harus tertulis jelas nama pasien, alamat, tanggal lahir, no identitas, tanggal pengambilan sampel, jenis pemeriksaan yang diperlukan
- 2) Phlebotomis memperkenalkan diri dan menyampaikan prosedur yang akan dilakukan
- 3) Verifikasi puasa untuk keperluan pemeriksaan tertentu (kapan terakhir makan, minum)
- 4) Lakukan *hand hygiene*, kenakan sarung tangan; disarankan untuk tidak menyentuh pasien tanpa sarung tangan
- 5) Posisikan pasien supaya nyaman, letakkan lengan pasien lurus diatas meja dengan telapak tangan menghadap keatas
- 6) Ikat lengan dengan cukup erat menggunakan *tourniquet* untuk membendung aliran darah, kemudian pasien disuruh mengempal dan membuka tangannya beberapa kali untuk mengisi pembuluh darah
- 7) Dalam keadaan tangan pasien masih mengempal, ujung telunjuk pemeriksa mencari lokasi pembuluh darah yang akan ditusuk
- 8) Bersihkan lokasi tersebut dengan kapas alkohol dan biarkan kering

- 9) Peganglah *sput* dengan tangan kanan dan ujung telunjuk pada pangkal jarum
- 10) Tegangkan kulit dengan jari telunjuk dan ibu jari kiri diatas pembuluh darah supaya pembuluh darah tidak bergerak, kemudian tusukkan jarum dengan sisi miring menghadap keatas dan membentuk sudut $\pm 30^\circ$
- 11) Jarum dimasukkan sepanjang pembuluh darah $\pm 1 - 1\frac{1}{2}$ cm
- 12) Dengan tangan kiri, pengisap *sput* ditarik perlahan-lahan sehingga darah masuk kedalam *sput*, sementara itu kepalan tangan dibuka dan ikatan pembendung diregangkan atau dilepas sampai didapat sejumlah darah yang dikehendaki
- 13) Letakkan kapas pada tempat tusukan, jarum ditarik kembali
- 14) Pasangkan plester untuk menutup bekas tusukan pada lengan pasien
- 15) Alirkan darah yang terambil ke dalam tabung *vacutainer* EDTA
- 16) Segera bolak- balikkan *vacutainer* sesuai rekomendasi produsen tabung. (H. Maxwell, 2010)



Gambar 1. Lokasi *venipuncture*
 Sumber : *Dilorenzo, Strasinger, 2010*

c. Susunan Darah

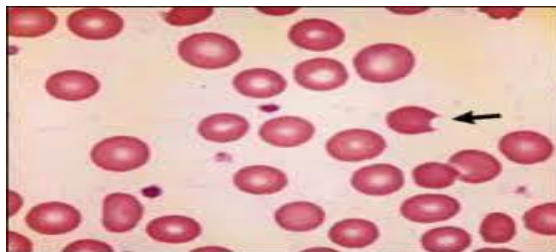
Darah terbentuk dari 2 bagian, yaitu cairan (plasma darah) dan padat. Pada bagian padat terbagi lagi menjadi beberapa komponen yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan trombosit (platelet). Setiap sel darah memiliki fungsi dan peran masing masing:

1) Sel darah merah (Eritrosit)

Sel darah merah merupakan sel terbanyak, yaitu sekitar 5 juta/mm³ darah. Bentuknya dalam sirkulasi darah berbentuk *biconcave* (cekung pada kedua sisinya), tidak mempunyai inti sel. Inti sel darah ini menghilang saat lahir sebagai suatu proses pematangan sel yang terjadi pada sumsum tulang merah. Bentuk yang *biconcave* ini memungkinkan rasio volume permukaan sel yang paling besar, yang penting untuk mengikat oksigen (O₂) atau CO₂ lebih banyak. Oksigen

dan CO₂ dalam sel darah merah ini terikat pada Hemoglobin (Hb) yang terdapat dalam sel darah merah. Fungsi utama sel darah merah yaitu mengangkut O₂ ke jaringan/organ yang membawa kembali CO₂ dari jaringan ke paru-paru untuk dikeluarkan lewat pernafasan.

Eritrosit diproduksi oleh sumsum tulang merah. Dalam sehari diproduksi sekitar 3,5 juta sel/kg berat badan. Sel darah merah ini tetap bertahan dan berfungsi selama 90 – 120 hari, dan kemudian dihancurkan oleh makrofag pada limfa dan hati (Saprini, 2014).



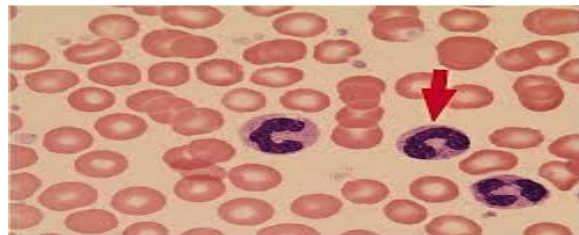
Gambar 2. Eritrosit, 100x
Sumber : Hanggara, 2012

2) Sel darah putih (leukosit)

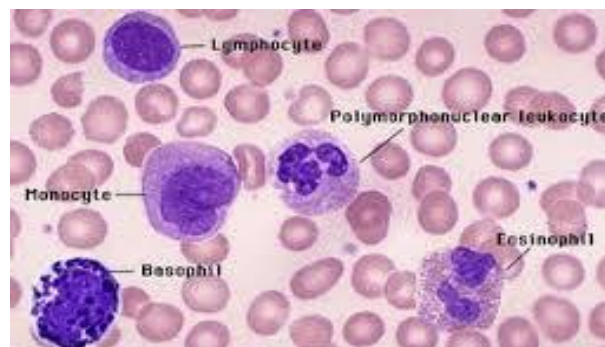
Sel darah putih atau disebut juga leukosit merupakan unit sistem pertahanan tubuh yang bergerak aktif. Leukosit sebagian dibentuk di sumsum tulang dan sebagian lagi di jaringan *limfe*. Setelah dibentuk sel-sel ini diangkut dalam darah menuju bagian tubuh yang membutuhkannya.

Fungsi utama dari leukosit yaitu secara khusus dikirim menuju daerah yang mengalami infeksi dan mengalami peradangan, dengan demikian leukosit dapat melindungi tubuh dari benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Leukosit jumlahnya lebih sedikit dibanding eritrosit dan trombosit. Pada orang dewasa normal jumlah leukosit sekitar 4.500 – 10.000/mm³.

Berdasarkan bentuk intinya, leukosit terbagi dalam dua kelompok yaitu granulosit yaitu terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil dan agranulosit yang terdiri dari limfosit dan monosit (Sofro, 2012).



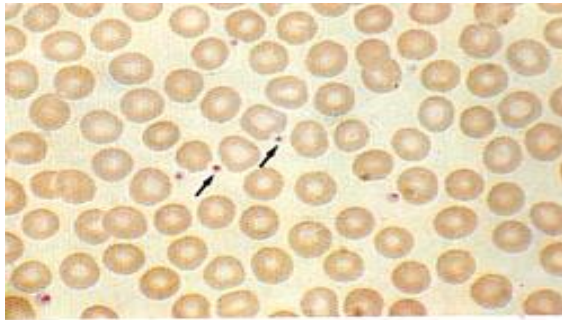
Gambar 3. Leukosit, 100x
Sumber : Hanggara, 2012



Gambar 4. Jenis Leukosit (a) Neutrofil batang (b) Neutrofil segmen
(c) Eosinofil (d) Basofi (e) Monosit (f) Limfosit, 100x
Sumber : Hanggara, 2012

3) Sel Trombosit (Platelet)

Trombosit memiliki peranan untuk menghentikan perdarahan yang terjadi pada saat tubuh terluka. Trombosit dapat di temukan dalam darah dan limpha. Sel darah ini bening dan tidak berwarna dan memiliki siklus hidup hanya 10 hari. Pada kondisi normal tubuh akan akan memperbaharui persediaan trombosit baru yang di produksi di sumsum tulang. Saat terjadi luka trombosit memiliki peranan membantu menyembuhkan luka dalam arti trombosit akan menghentikan perdarahan yang atau menutup luka agar darah tidak keluar lagi. Bila seseorang tidak memiliki cukup trombosit di dalam darah, maka tubuh akan kesulitan menggumpalkan dan menghentikan perdarahan saat terluka, sehingga proses perdarahan menjadi lama. Pemeriksaan Trombosit biasanya merupakan bagian dari pemeriksaan darah lengkap. Umumnya jumlah trombosit Normal dalam darah adalah sekitar 150.000 hingga 400.000 per milimeter kubik. Rentang jumlah trombosit normal pada setiap orang bisa berbeda. Seseorang dikatakan memiliki jumlah trombosit yang tidak normal jika kadar trombosit mereka diluar rentang nilai tersebut secara signifikan (Adang Durachim,2019).



Gambar 5. Trombosit, 100x
Sumber : Hanggara, 2012

Hitung jumlah trombosit merupakan pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk mengetahui jumlah trombosit permikroliter darah. Penelitian ini menggunakan alat *Hematology Analyzer* untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit.

Pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan jumlah trombosit sebisa mungkin dilakukan dengan benar dan sampel harus segera diperiksa dalam waktu kurang dari 1 jam setelah pengambilan darah. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan penurunan jumlah trombosit (Sujud, 2015)

Penghitungan sel otomatis mampu mengukur secara langsung hitung trombosit selain hitung eritrosit dan hitung leukosit. Sebagian besar alat hitung trombosit dan eritrosit bersama - sama, namun keduanya dibedakan berdasarkan ukuran. Partikel yang lebih kecil dihitung sebagai trombosit dan partikel yang lebih besar dihitung sebagai sel eritrosit. Teknik ini dapat mengalami kesalahan bila terjadi

fragmentasi sel eritrosit yang berat, apabila partikel pengencer berisi partikel eksogen, apabila sampel sudah terlalu lama didiamkan atau apabila trombosit saling melekat (Sacher dan McPherson,2004).

Penggunaan cara otomatis mempunyai dampak besar terhadap efisiensi operasional laboratorium. Meskipun demikian, tetap diperlukan upaya untuk mempertahankan akurasi dengan jalan mencegah atau memprediksi penyimpangan selama pemakaian rutin (NCCLS, 1996).

Upaya ini sekarang semakin mudah dilakukan dengan tersedianya berbagai strategi dan perangkat statistik untuk membantu pelaksanaan program penjaminan mutu (*quality assurance/ QA*) dan kontrol kualitas (*quality control/ QC*) hematologi, yang bila diterapkan secara teliti diharapkan tes yang reliabel akan dapat dicapai (Setyawati,2010).

2. Antikoagulan EDTA (*Etylendiamine Tetraacetic Acid*)

Pemeriksaan hematologi pada umumnya memerlukan sampel darah yang ditambah antikoagulan. Antikoagulan adalah bahan yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah. EDTA pada umumnya tersedia dalam bentuk garam sodium/natrium (*sequestrene Na₂*) atau potassium/kalium (*dipotassiumethylenediamine tetraacetic*), mencegah koagulasi dengan cara mengikat kalsium. EDTA mempunyai keunggulan dibandingkan

antikoagulan lainnya, yaitu tidak mempengaruhi sel sel darah, sehingga ideal untuk uji hematologi. EDTA ada tiga macam yaitu, dinatrium EDTA (Na_2EDTA), dipotassium EDTA (K_2EDTA) dan tripotassium EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering sedangkan K_3EDTA dalam bentuk cair. Dari ketiga EDTA ini K_2EDTA yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (*International Council for Standardization in Hematology*). Perbandingan volume darah dengan antikoagulan tidak sesuai dapat menyebabkan kesalahan pada hasil.

EDTA kurang dari yang dibutuhkan menyebabkan hitung trombosit menurun karena terjadi mikrotrombi di dalam penampung yang dapat menyumbat alat, sedangkan bila berlebihan akan menyebabkan sel membengkak kemudian disintegrasi, membentuk fragmen dalam ukuran yang sama dengan trombosit sehingga terhitung oleh alat penghitung elektronik, berakibat peningkatan palsu hitung jumlah trombosit, bila disintegrasi ini membentuk fragmen dalam ukuran yang berbeda dengan ukuran trombosit akan menyebabkan penurunan palsu hitung jumlah trombosit (Harun Nurrachmat, 2005).

3. Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit

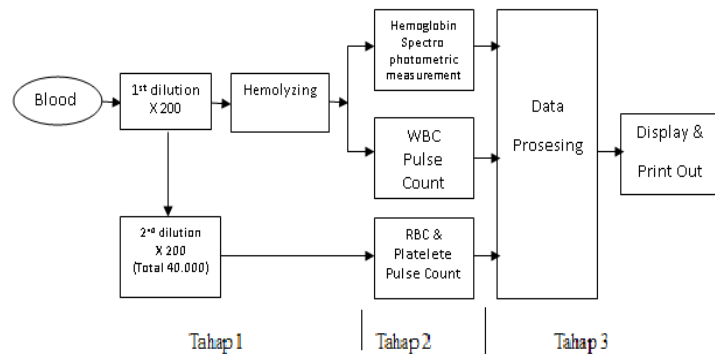
a. Metode pemeriksaan jumlah trombosit

Pemeriksaan hitung trombosit dapat dilakukan dengan metode langsung dan tidak langsung. Metode langsung dapat dilakukan dengan metode *Rees*

Ecker, metode *Brecher Cronkite*, dan metode otomatis. Metode Rees Ecker dapat dilakukan dengan cara darah diencerkan dengan larutan BCB (*Brilliant Cresyl Blue*), sehingga trombosit akan tercatat terang kebiruan. Trombosit dihitung dengan bilik hitung dibawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metode *Rees Ecker* 16-25% (Gandasoebrata, 2013). Metode *Brecher Cronkite* dapat dilakukan dengan cara darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisiskan eritrosit, trombosit dihitung pada bilik hitung menggunakan mikroskop fase kontras. Kemungkinan kesalahan *Brecher Cronkite* 8-10% (Dacie, 2010). Hitung trombosit cara tak langsung dilakukan dengan metode *Fonio* dan estimasi jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi (SADT). Metode *Fonio* dilakukan menggunakan darah kapiler dicampur dengan larutan magnesium sulfat 14% kemudian dibuat SADT dan dilakukan pengecatan giemsa. Jumlah trombosit dihitung dalam 1000 eritrosit, jumlah mutlak trombosit dapat diperhitungkan dari jumlah mutlak eritrosit. Cara *Fonio* lebih kasar daripada cara langsung. Cara estimasi jumlah trombosit pada SADT, semua hasil hitung trombosit baik normal maupun abnormal yang diperiksa secara langsung harus dilakukan cross check dengan SADT yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hitung trombosit secara langsung dan estimasi (Gandasoebrata, 2013).

b. Metode otomatis *hematology analyzer*

Metode otomatis menggunakan *hematology analyzer* yang berfungsi untuk pengukuran dan pemeriksaan sel darah dalam sampel darah. Alat *hematology analyzer* memiliki beberapa kelebihan yaitu efisiensi waktu, volume sampel, dan ketepatan hasil. Pemeriksaan dengan *hematology analyzer* dapat dilakukan dengan cepat hanya memerlukan waktu sekitar 45 detik. Sampel darah yang digunakan dapat menggunakan darah perifer dengan jumlah darah yang lebih sedikit. Hasil yang dikeluarkan alat ini biasanya sudah melalui *quality control* yang dilakukan oleh intern laboratorium (Medonic, 2016). Beberapa kekurangan *hematology analyzer* antara lain tidak dapat menghitung sel abnormal, misalnya sel-sel yang belum matang pada leukemia, infeksi bakterial, sepsis dan sebagainya, dan tidak mampu menghitung ketika jumlah sel sangat tinggi. *Cross check* menggunakan sediaan apus darah tepi sangat berarti. Penggunaan alat *hematology analyzer* perlu mendapatkan perhatian khusus dalam hal perawatan. Suhu ruangan harus dilakukan kontrol secara berkala, reagen harus dalam penyimpanan yang baik, dan sampel dijaga supaya tidak terjadi aglutinasi. Sampel darah yang digunakan adalah sampel darah yang sudah ditambahkan antikoagulan. Apabila sampel yang digunakan terdapat darah yang menggumpal, maka apabila terhisap alat akan merusak alat tersebut (Medonic, 2016).



Gambar 6. Blok diagram *Hematology Analyzer* (Infolabmed, 2017).

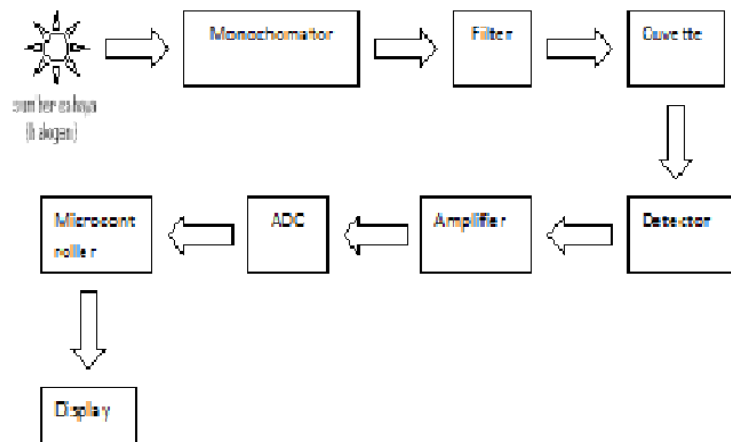
Prinsip kerja *hematology analyzer* adalah sampel darah yang sudah dicampur dengan reagen dilusi sebanyak 200x proses *hemolyzing* untuk mengukur jumlah leukosit. Selanjutnya sampel dilakukan dilusi lanjutan sebanyak 200x (jadi 40.000x) untuk mengukur eritrosit dan trombosit. Sampel diproses pada blok data *processing* dan hasilnya akan ditampilkan pada monitor dan dicetak dengan mesin print (Infolabmed, 2017).



Gambar 7. Sysmex XP 100
Sumber: Sysmex,2020.

c. Pengukuran Jumlah Trombosit dengan *Hematology Analyzer*

Metode pengukuran *hematology analyzer* untuk menghitung jumlah trombosit adalah dengan metode pengukuran sel atau disebut *volumetric impedance*. Metode *volumetric impedance* menggunakan larutan elektrolit (*diluent*) yang dicampur dengan sel-sel darah dihisap melalui *aperture*. Bilik pengukuran terdapat dua *electrode* yang terdiri dari internal *electrode* dan eksternal, *electrode* yang terletak dekat dengan *aperture*. Kedua elektroda tersebut dilewati arus listrik yang konstan (Infolabmed, 2017).



Gambar 8. Metode *Volumetric Impedance* (Infolabmed, 2017)

Apabila sel-sel darah melalui aperture maka hambatan antara kedua elektroda tersebut akan naik dan terjadi tegangan yang sangat kecil sesuai dengan nilai tahanannya. Tegangan tersebut diterima oleh

detection circuit, kemudian sinyal tegangan tersebut dikuatkan atau diperbesar pada rangkaian *amplifier* dan dikirim ke 12 rangkaian elektronik. Rangkaian elektronik terdapat rangkaian *Threshold Circuit* yang berfungsi untuk menghilangkan sinyal *noise* yang diakibatkan oleh elektrik *noise* (gangguan listrik), debu, sisa-sisa cairan, dan partikel yang lebih kecil atau lebih besar dari sel darah yang diukur (Infolabmed, 2017). Nilai puncak diperoleh dengan sinyal dikirim ke *A/D converter*, kemudian data yang diperlukan disimpan pada memori untuk setiap nilai maksimum. Data tersebut akan dikoreksi oleh CPU dan akan ditampilkan pada layar LCD. Jumlah sinyal untuk setiap ukuran sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. Eritrosit dan trombosit yang dihitung memiliki ukuran yang berbeda sehingga CPU dapat membedakan penghitungan untuk setiap jenis sel. Sedangkan ketiga jenis sel leukosit yang dihitung memiliki ukuran sel yang hampir sama sehingga CPU menggunakan histogram untuk membedakan populasi ketiga jenis sel WBC. Terkadang terdapat dua sel atau lebih yang melewati aperture secara bersamaan, peristiwa tersebut disebut *coincidence*. Apabila larutan sampel sudah cukup diencerkan dan dicampur, *coincidence* dapat diprediksi secara statistik dengan tingkat keakuratan yang tinggi (Infolabmed, 2017).

4. Pemeriksaan Angka Trombosit dengan *Hematology Analyzer Sysmex*

a. Pra Analitik

- 1) Persiapan pasien: tidak memerlukan persiapan khusus
- 2) Persiapan sample: vena antikoagulan EDTA
- 3) Prinsip: Alat otomatisasi impedansi, menghitung sel berdasarkan ukuran sel. Sel dalam darah akan melewati celah, dimana sel akan melewati celah satu persatu dan mengganggu aliran listrik ketika melewati celah. Besar kecilnya gangguan aliran listrik sebanding dengan ukuran sel.

4) Alat dan Bahan

a) Alat:

- i. Tabung EDTA
- ii. Mikropipet 20 U1 dan mikropipet 500 U1
- iii. Tabung reaksi yang bersih

b) Bahan:

- i. Darah
- ii. Larutan *cellpack*

b. Analitik

Sumber Kesalahan

1) Pra Analitik.

Persiapan sampel :

- a) Perbandingan antara darah dengan antikoagulan tidak sesuai
- b) Tidak menghomogenkan dengan benar antara darah dengan antikoagulan
- c) Pembendungan yang terlalu lama
- d) Tertukar sampel karena identitas sampel tidak jelas

Persiapan alat :

- a) Volume yang tidak tepat karena pipet tidak dikalibrasi
- b) Tabung yang kurang bersih

2) Analitik.

Kesalahan Teknik :

- a) Volume darah, volume reagensia tidak tepat
- b) Tidak terjadi percampuran yang homogen waktu darah diencerkan dengan larutan pengencer.
- c) *Probe* yang tidak terendam dalam darah sehingga ada udara yang terhisap.

Kesalahan lain:

Kondisi klinis pasien seperti pseudotrombositopenia, agregasi trombosit dan trombosit megalositik dapat menurunkan jumlah trombosit, sedangkan banyaknya sel mikrotosis dapat meningkatkan jumlah trombosit

3) Pasca Analitik

Kesalahan pada tahap ini sifatnya kesalahan administrasi.

5. Reagen *Cellpack*

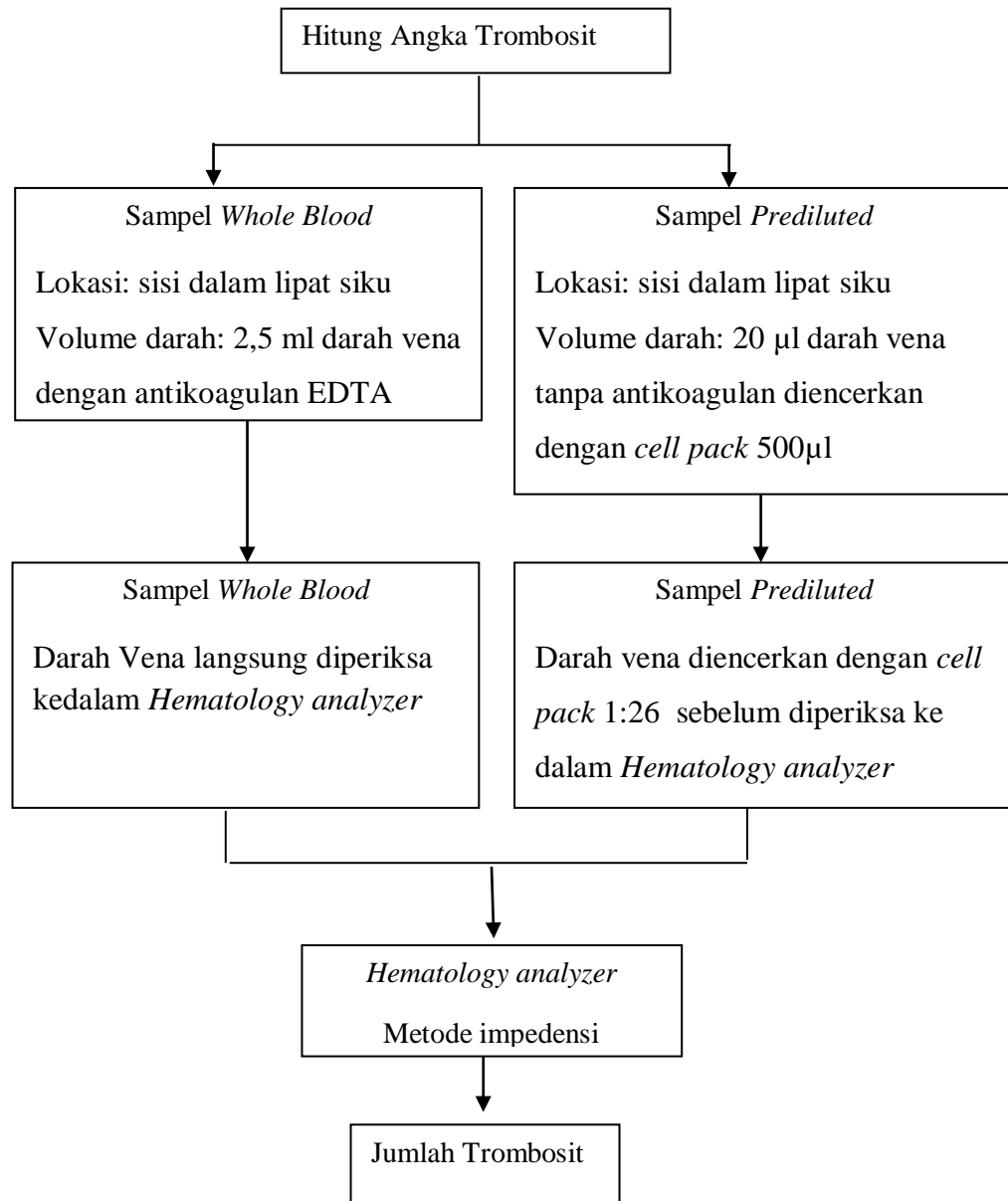
Cellpack adalah larutan pengencer darah utuh yang digunakan untuk menentukan kadar hemoglobin, penghitungan impedansi dan ukuran sel darah. Sysmex *cellpack* juga membentuk aliran selubung laminar di sekitar sampel yang diencerkan untuk menghitung RBC dan PLT.

Penyimpanan : Simpan pada suhu yang terkontrol 5-30° C, Jika beku, cairkan, aduk hingga tercampur rata, dan biarkan gelembung hilang sebelum digunakan, Sysmex *cellpack* tidak berwarna. Jika ada tanda-tanda kontaminasi, ketidakstabilan atau perubahan warna, jangan gunakan.

Sysmex *cellpack* Stabilitas : Belum dibuka, stabil hingga tanggal kedaluwarsa yang ditunjukkan pada wadah, dibuka, Sysmex *cellpack* stabil selama 60 hari. Rekam tanggal diterima, tanggal dibuka dan tanggal kedaluwarsa pada wadah. Catat nomor lot, tanggal kedaluwarsa dan tanggal dibuka pada log reagen.

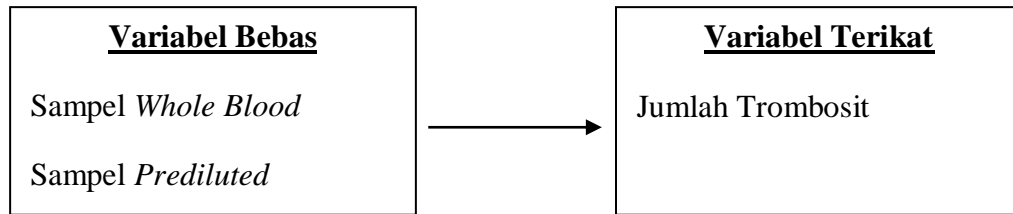
B. Kerangka Teori

Kerangka teori pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 9. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit menggunakan sampel *whole blood* dan sampel *Prediluted*?

