

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah adalah suatu cairan kental yang terdiri dari sel-sel dan plasma (Guyton, 2012). Setiap orang rata-rata mempunyai kira-kira 70 ml darah setiap kilogram berat badan. Sebanyak 50-60% darah terdiri atas cairan, sisanya berupa sel-sel darah.

Komposisi dalam darah diantaranya yaitu plasma, serum dan sel-sel darah. Plasma adalah komponen cairan darah. Plasma mengandung 90% air dan 10% sisanya adalah bahan-bahan yang terlarut, misalnya ion-ion, glukosa, asam amino, hormone dan berbagai macam protein (Kiswari, 2014). Volume plasma normal adalah sekitar 5% berat badan. Plasma menggumpal bila didiamkan dan tetap bersifat cair bila ditambahkan antikoagulan. (Ganong, 2012)

Serum adalah sisa cairan yang terbentuk apabila darah lengkap dibiarkan menggumpal dan gumpalannya diambil. Serum pada dasarnya memiliki komposisi yang sama dengan plasma kecuali bahwa kandungan fibrinogen dan faktor pembekuan II, V dan VIII-nya telah dihilangkan (Ganong, 2012).

2. Sel-sel darah

a. Eritrosit

Eritrosit adalah sel yang bulat atau agak oval, tampak seperti cakram bikonkaf dan tidak berinti dengan ukuran 7-8 μm . Eritrosit dibentuk di sum-sum tulang (*bone marrow*). Produksi eritrosit diatur oleh eritropoetin, suatu hormon yang terutama dihasilkan oleh sel-sel interstisium peritubulus ginjal (Riswanto, 2013).

Membran eritrosit terdiri atas lipid dua lapis (*lipid bilayer*), protein membran integral, dan suatu rangka membran. Sekitar 50% membran adalah protein, 40% lemak dan 10% karbohidrat. Rangka membran terbentuk oleh protein-protein structural yang mencakup spektrin α dan β , ankirin, protein 4.1 dan aktin. Protein-protein tersebut membentuk jaringan horisontal pada sisi dalam membran eritrosit dan penting untuk mempertahankan bentuk bikonkaf (Hoffbrand dkk, 2005).

Eritrosit yang matang tidak mempunyai organel tetapi terisi penuh dengan hemoglobin atau Hb. Eritrosit juga mengandung enzim yang larut dan berperan untuk glikolisis, jalur heksosa monofosfat dan menghasilkan adenosin trifosfat atau ATP (Gartner dkk, 2012).

Eritrosit berjumlah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Dalam satu milliliter darah, terdapat kira-kira 4,5-6 juta eritrosit, itu sebabnya darah berwarna merah. Parameter untuk mengukur keadaan eritrosit biasanya dilakukan dengan mengukur

kadar hemoglobin di dalam darah dengan satuan gram per desiliter (g/dL), mengukur perbandingan volume eritrosit dengan volume darah (hematokrit) dan menghitung jumlah eritrosit (Kiswari, 2014).

Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mentransfer hemoglobin yang selanjutnya membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan. Pada setiap gram hemoglobin dapat mengikat kira-kira 1,39 ml oksigen. Oleh karena itu, pada orang normal lebih dari 20 ml oksigen dapat diangkut dalam ikatan dengan hemoglobin (Guyton, 2012).

Masa hidup eritrosit adalah 120 hari, sel yang sudah tua didestruksi dan dibuang di sistem retikuloendotelial (RES), terutama di *spleen*. dalam keadaan normal, produksi dan destruksi eritrosit berada dalam suatu keadaan yang equilibrium atau seimbang (Riswanto, 2013).

b. Leukosit

Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang bulat berinti dengan ukuran 9-20 μm , jumlahnya sekitar 4-11 ribu/ mm^3 darah. Tempat pembentukannya di sumsum tulang belakang dan jaringan limfatik. Leukosit berasal dari satu sel bakal (stem cell) kemudian diferensiasi (mengalami pematangan). Leukosit diangkut oleh darah ke berbagai jaringan tubuh tempat sel-sel tersebut melakukan fungsi fisiologiknya (Riswanto, 2013).

Leukosit pada umumnya dibagi menjadi dua yaitu granulosit, yang mempunyai granula khas dan agranulosit yang tidak mempunyai granula khas. Granulosit terdiri dari neutrophil, eosinophil dan basophil. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit (Kiswari, 2014).

Meskipun leukosit merupakan sel darah, fungsinya lebih banyak dilakukan di dalam jaringan (Kiswari, 2014). Leukosit berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh. Fungsi utamanya adalah membunuh patogen dengan cara fagositosis (melingkupi dan menelan patogen). Fungsi lainnya adalah memproduksi antibody yang dapat membunuh pathogen secara tidak langsung (indirek) atau melepaskan zat untuk melawan benda asing (Riswanto, 2103).

c. Trombosit

Trombosit adalah sel darah yang berperan penting dalam hemostasis. Trombosit melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang robek (luka) dengan membentuk plug trombosit. Trombosit tidak mempunyai inti sel, berukuran 1-4 μ dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu-kemerahan. Trombosit merupakan derivat dari megakariosit yang berasal dari fragmen-fragmen sitoplasma megakariosit. Jumlah trombosit adalah 150.000-350.000/ ml darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenine difosfat (ADP), adenosine trifosfat (ATP), kalsium, serotonin serta

catekolamin. Sebagian besar diantaranya berperan dalam merangsang mulainya proses pembekuan darah. Umur trombosit adalah sekitar 10 hari (Kiswari, 2014).

3. Pemeriksaan hematologi

Pemeriksaan laboratorium hematologi merupakan pemeriksaan cairan darah yang berhubungan dengan dengan sel-sel darah dan biokimiawi yang berhubungan dengan sel darah. Pemeriksaan laboratorium hematologi bertujuan untuk : mengkonfirmasi suatu dugaan klinis atau menetapkan diagnosis penyakit, misalnya hemoglobin untuk anemia; menentukan terapi atau pengelolaan dan pengendalian penyakit; mengikuti perjalanan penyakit; untuk penapisan suatu penyakit dan menentukan status kesehatan secara umum (Riswanto,2013).

Agar pemeriksaan tersebut dapat bermanfaat untuk kepentingan klinis, maka harus diperhatikan mengenai persiapan, jenis spesimen, antikoagulan (zat anti pembekuan darah) dan pengawasan mutu (Riswanto 2013).

4. Jenis spesimen

a. Darah utuh (*Whole blood*)

Kebanyakan pemeriksaan hematologi menggunakan darah utuh (*whole blood*) yaitu darah yang sama bentuk/kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah. Specimen ini berupa darah vena atau kapiler. Untuk keperluan ini, darah harus ditambah dengan

antikoagulan yaitu zat yang dapat menghambat pembekuan (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).

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).

5. Antikoagulan EDTA

Penambahan antikoagulan berfungsi untuk menghindari terjadinya pembekuan (Gandasoebrata, 2013). Antikoagulan mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat (khemasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium atau dengan cara menghambat pembentukan

trombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013).

Kalium Etilen Diamin Tetraasetat adalah jenis antikoagulan yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi yang mencegah koagulasi karena mempengaruhi fungsi trombosit. Cara kerja EDTA yaitu dengan mengikat ion kalsium sehingga terbentuk garam kalsium yang tidak larut (Kiswari, 2014). Setiap pemakaian antikoagulan 1 mg EDTA digunakan untuk 1 ml darah (Riswanto, 2013). Antikoagulan EDTA semakin banyak digunakan untuk tes bank darah, namun digunakan terutama untuk pengujian darah lengkap karena dapat mempertahankan morfologi sel dan menghambat agregasi trombosit dengan lebih baik dari antikoagulan lainnya. Spesimen EDTA harus dicampur segera setelah pengumpulan untuk mencegah penggumpalan trombosit. Cara pencampuran dengan inversi (dibolak-balik) sebanyak 8-10 kali (Kiswari, 2014).

EDTA yang digunakan dalam laboratorium ada 3 macam, yaitu Na_2EDTA , K_2EDTA dan K_3EDTA . Na_2EDTA dan K_2EDTA digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA digunakan dalam bentuk cair. Dari ketiga jenis tersebut, jenis antikoagulan K_2EDTA adalah yang dianjurkan oleh ICSH atau *International Council for Standardization in Hematology* dan CLSI atau *Clinical and*

Laboratory Standards Institute (Riswanto, 2013). Tabung EDTA tersedia dalam bentuk hampa udara (*vacutainer tube*) dengan tutup lavender atau pink. EDTA mempunyai sifat hiperosmolar yang dapat membuat eritrosit mengerut dan nilai hematokrit lebih rendah. Na_2EDTA dan K_2EDTA bersifat lebih asam daripada K_3EDTA , pH yang asam ini bisa menyebabkan eritrosit membesar (Garini, 2013).

Pemeriksaan darah menggunakan sampel darah EDTA, sebaiknya segera diperiksa setelah pengambilan spesimen. Pemeriksaan dilakukan paling lama 2 jam setelah pengambilan sampel. Penundaan pemeriksaan darah dengan antikoagulan EDTA akan menyebabkan perubahan hasil uji karena darah cepat rusak bila dibiarkan dikondisi yang tidak ideal. Penyimpanan darah EDTA yang terlalu lama dapat menyebabkan perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit atau hemolisis. Semakin lama penyimpanan akan menyebabkan semakin banyak sel yang rusak (Utami, 2019).

6. Hematokrit

Hematokrit atau volume eritrosit yang dimampatkan (*Packed cell volume*) adalah proporsi eritrosit dalam darah lengkap (Riswanto, 2013). Hematokrit memiliki efek terhadap viskositas darah yaitu semakin besar persentase sel dalam darah atau makin besar nilai hematokritnya, maka makin banyak pergeseran di antara lapisan-lapisan darah. Pergeseran

tersebut menentukan viskositas. Oleh karena itu, viskositas meningkat secara drastis ketika hematokrit meningkat (Guyton, 2012).

Hematokrit adalah bagian dari pemeriksaan darah lengkap atau *complete blood count* (CBC). Pemeriksaan darah lengkap adalah tes rutin untuk diagnosis dan memantau pasien sehingga perlu diperhatikan tentang penanganan sampel, misalnya durasi penyimpanan dan suhu penyimpanan (Wu, 2017).

Pada pemeriksaan hematokrit, darah yang ditunda lebih dari 2 jam pada suhu 16° C akan menyebabkan eritrosit membengkak karena cairan sekitar sel akan masuk ke dalam sel eritrosit kemudian akan berubah bentuk menjadi bulat/sferik yang menyebabkan sukar membentuk rouleaux sehingga nilai hematokrit meningkat.

a. Metode pemeriksaan hematokrit

1.) Makrohematokrit

Pada metode makro, sebanyak 1 ml sampel darah EDTA atau heparin dimasukkan dalam tabung Wintrobe yang berukuran panjang 110 mm dengan diameter 2,5 – 3,0 mm dan berskala 0-10 mm. Tabung kemudian disentrifuge selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Tinggi kolom eritrosit adalah nilai hematokrit yang dinyatakan dalam persen. Metode makro ini sudah tidak banyak lagi digunakan (Riswanto, 2013).

2.) Mikrohematokrit

Metode mikrohematokrit adalah standar emas atau *gold standard* untuk pemeriksaan hematokrit, namun pemeriksaan dengan metode ini mungkin kurang akurat karena dipengaruhi oleh banyak faktor (Gebretsadkan dkk, 2015). Faktor yang mempengaruhi misalnya adalah volume darah yang kurang dari 2/3 tabung (Nuryati dan Suhardjono, 2016).

Pada metode mikro, sampel darah dimasukkan ke dalam tabung kapiler sekali pakai yang mempunyai ukuran panjang 75 mm dengan diameter 1 mm. Tabung kapiler yang dapat digunakan ada dua macam, yaitu tabung yang dilapisi ammonium heparin dan tabung yang tidak mengandung antikoagulan. Tabung mikrohematokrit dirancang kecil untuk digunakan dengan mikrosentrifus khusus (Riswanto, 2013). Setelah dilakukan sentrifuge panjang kolom eritrosit ditentukan dengan menggunakan skala pembaca (WHO, 2012).

Metode mikrohematokrit lebih banyak digunakan karena waktunya cukup singkat dan sampel yang digunakan juga sedikit serta dapat digunakan untuk sampel tanpa antikoagulan yang dapat diperoleh secara langsung. Teknik ini juga memungkinkan untuk memperkirakan volume secara visual leukosit dan trombosit yang

membentuk *buffycoat* di antara eritrosit dan plasma (Riswanto, 2013).

3.) *Hematology Analyzer*

Nilai hematokrit dapat ditentukan dengan menggunakan metode manual dan metode otomatis. Pada pemeriksaan metode manual sampel diolah berdasarkan prinsip sentrifugal, sedangkan pemeriksaan hematokrit secara otomatis menggunakan alat *hematology analyzer* (Meilanie, 2019).

Hematology Analyzer adalah perangkat yang digunakan untuk melakukan pengukuran komponen-komponen yang ada di dalam darah. Alat ini merupakan instrumen umum yang digunakan di laboratorium klinik (Mengko, 2013).

Pada metode otomatis, pengukuran hitung jumlah sel menggunakan prinsip impedansi. Sel dihitung dan diukur berdasarkan pada pengukuran perubahan hambatan listrik yang dihasilkan oleh sebuah partikel, dalam hal ini adalah sel darah yang disuspensikan dalam pengencer konduktif saat melewati celah dimensi. Sel-sel darah yang melewati celah dengan elektroda di kedua sisinya mengalami perubahan impedansi yang menghasilkan getaran listrik yang terukur sesuai dengan volume atau ukuran sel. Amplitude setiap getaran sebanding dengan

volume setiap partikel. Setiap getaran diperkuat dan dibandingkan dengan saluran tegangan acuan internal, yang hanya menerima getaran dari amplitude tertentu. Jika getaran range RBC, maka dihitung sebagai RBC. Prinsip pengukuran jumlah sel ini tergantung pada ukuran sel, luas permukaan, dan adanya granula-granula di dalam sel (Oktyani dkk, 2017).

Apabila dibandingkan dengan pemeriksaan dengan cara manual, pemeriksaan dengan *hematology analyzer* memiliki kelebihan diantaranya :

- a.) Waktu pemeriksaan lebih cepat
- b.) Alat yang telah terkoneksi dengan Sistem Informasi Laboratorium (SIL) akan mengurangi kemungkinan kesalahan saat identifikasi sampel dan entri data hasil pemeriksaan.
- c.) Berbagai parameter dapat diukur sekaligus.
- d.) Parameter yang secara manual tidak dapat dihitung atau diukur, dengan alat ini menjadi mudah diukur
- e.) Dengan alat yang canggih, sel-sel muda dapat diukur.

Kelemahan alat *hematology analyzer* yaitu :

- a.) Apabila ada sel yang saling menempel melewati *aperture* secara bersamaan akan dihitung sebagai satu sel
- b.) Gelembung udara mikro atau partikel lain juga dapat dihitung sebagai sel (Mengko, 2013).

a. Nilai rujukan hematokrit

Nilai rujukan untuk pemeriksaan hematokrit adalah :

Tabel 1. Nilai Rujukan

Kategori	Nilai Rujukan
Dewasa laki-laki	40-52 %
Dewasa wanita	35-47 %
Bayi baru lahir	44-72 %
Anak usia 1-3 tahun	35-43 %
Anak usia 4-5 tahun	31-43 %
Anak usia 6-10 tahun	33-45 %

Sumber : Riswanto, 2013

b. Masalah klinis

Nilai hematokrit akan meningkat atau menurun apabila terdapat masalah klinis. Masalah klinis yang menyebabkan abnormalitas nilai hematokrit menurut Riswanto (2013) adalah :

1.) Peningkatan nilai

Peningkatan nilai hematokrit dapat disebabkan oleh : dehidrasi/hypovolemia, diare berat, eritrosis, polisitemia, diabetes asidosis, emfisema pulmonary tahap akhir, iskemia serebrum sementara, eclampsia, pembedahan dan luka bakar.

2.) Penurunan nilai

Penurunan nilai hematokrit dapat disebabkan oleh perubahan jumlah dan bentuk eritrosit dapat mempengaruhi nilai hematokrit, misalnya pada keadaan kehilangan darah akut, anemia (aplastic, hemolitik, defisiensi asam folat, perniosa, sideroblastik, sel sabit), penyakit Hodgkin, limfosarkoma, malignasi organ, myeloma multipel, sirosis hati, malnutrisi protein, defisiensi protein, devisiensi vitamin, gagal ginjal kronis serta kehamilan. Keadaan lain yang dapat menurunkan hematokrit adalah pengaruh obat antineoplastik, antibiotic (kloramfenikol, penisilin) dan obat radioaktif.

c. Spesimen pemeriksaan hematokrit

Spesimen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan hematokrit menurut Riswanto (2013) adalah sebagai berikut :

- 1.) Darah kapiler atau darah vena EDTA
- 2.) Tidak terdapat pembatasan asupan makanan atau minuman pada penderita
- 3.) Spesimen tidak diambil dari lengan yang sedang menerima cairan intra vena. Mengambil darah pada lengan yang terpasang cairan intra-vena menyebabkan darah terencerkan
- 4.) Memasang tourniquet terlalu lama (lebih dari satu menit) menyebabkan hemokonsentrasi.

d. Faktor-faktor yang mempengaruhi

Faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematokrit menurut Riswanto (2013) adalah :

1.) Sampel darah vena

- a.) Sampel yang diambil dari lengan yang terpasang cairan intra vena (infus), nilai hematokrit cenderung rendah karena hemodilusi
- b.) Pemasangan tourniquet terlalu lama berpotensi menyebabkan hemokonsentrasi sehingga nilai hematokrit bisa meningkat.

2.) Sampel darah kapiler :

- a.) Darah hanya keluar sedikit sehingga volume darah kurang
- b.) Darah diperas-peras menyebabkan cairan jaringan ikut terperas dan tercampur darah sehingga hematokrit rendah palsu
- c.) Kulit yang ditusuk masih basah oleh alkohol sehingga darah terencerkan menyebabkan hasil rendah palsu
- d.) Terjadi bekuan dalam tetes darah karena lambat bekerja.

B. Landasan Teori

Darah adalah suatu cairan kental yang terdiri dari sel-sel dan plasma (Guyton, 2012). Komposisi dalam darah diantaranya yaitu plasma, serum dan sel-sel darah.

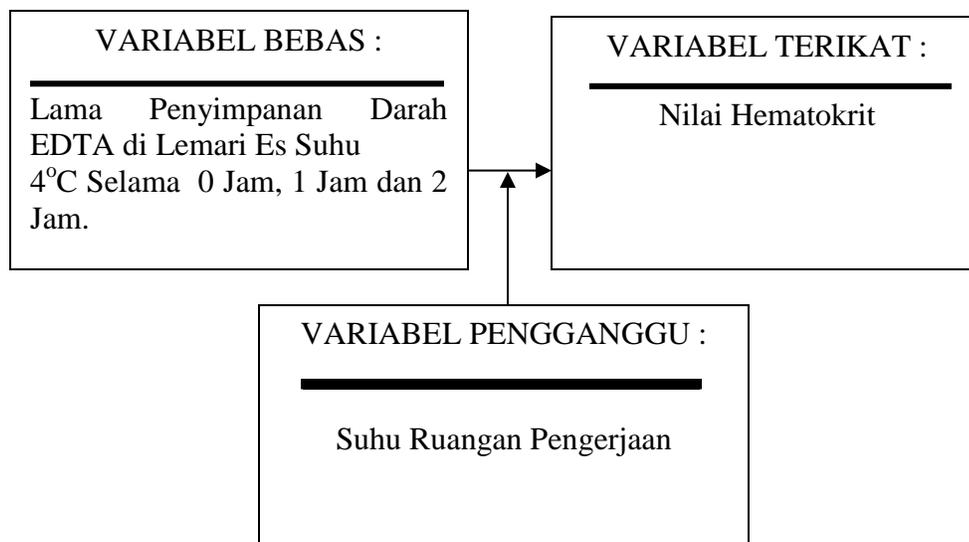
Pemeriksaan laboratorium hematologi merupakan pemeriksaan cairan darah yang berhubungan dengan dengan sel-sel darah dan biokimiawi yang berhubungan dengan sel darah. Agar pemeriksaan tersebut dapat bermanfaat untuk kepentingan klinis, maka harus diperhatikan mengenai persiapan, jenis spesimen, antikoagulan (zat anti pembekuan darah) dan pengawasan mutu (Riswanto 2013).

Penambahan antikoagulan berfungsi untuk menghindari terjadinya pembekuan (Gandasoebrata, 2013). Antikoagulan mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat (kkelasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium atau dengan cara menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013).

Kalium Etilen Diamin Tetraasetat (K_3EDTA) adalah jenis antikoagulan yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi. Cara kerja EDTA yaitu dengan mengikat ion kalsium sehingga terbentuk garam kalsium yang tidak larut (Kiswari, 2014). Takaran pemakaiannya 1 mg EDTA untuk setiap ml darah (Riswanto, 2013)

Hematokrit atau volume eritrosit yang dimampatkan (*Packed cell volume*) adalah proporsi eritrosit dalam darah lengkap (Riswanto, 2013). Hematokrit dapat diperiksa dengan menggunakan metode mikrohematokrit, makrohematokrit dan otomatis dengan menggunakan alat *hematology analyzer*. Pada pemeriksaan hematokrit secara otomatis menggunakan alat *hematology analyzer* (Meilanie, 2019).

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 1. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh lama penyimpanan darah EDTA yang disimpan di lemari es suhu 4°C terhadap nilai hematokrit.