

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

a. Definisi Darah

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang terdapat di dalam pembuluh darah yang berfungsi mengatur keseimbangan asam dan basa, mentransportasikan O₂, karbohidrat dan metabolit, mengatur suhu tubuh dengan cara konduksi atau hantaran, membawa panas tubuh dari pusat produksi panas (hepar dan otot) untuk didistribusikan ke seluruh tubuh dan pengaturan hormon sebagai pembawa dan pengantar dari kelenjar ke sasaran, sebagai pembawa oksigen dan mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan hemostasis. Volume darah dalam tubuh bervariasi, tergantung dari berat badan seseorang, pada orang dewasa, 1/13 berat badan atau kira-kira 4,5-5 liter. 45% merupakan sel darah dan 55% sisanya merupakan cairan. Faktor lain yang menentukan banyaknya darah adalah usia, pekerjaan, keadaan jantung, dan pembuluh darah (Pearce, 2010).

Darah terdiri dari dua komponen yaitu plasma darah dan sel-sel darah. Plasma darah merupakan cairan darah yang terdiri dari air, elektrolit dan protein darah. Sedangkan sel-sel darah terdiri atas tiga elemen, yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit (Handayani, dan Haribowo, 2008).

b. Fungsi Darah

Darah memiliki peranan yang sangat penting bagi tubuh karena darah merupakan komponen yang esensial di dalam tubuh. Fungsi darah secara garis besar atau secara spesifiknya yaitu sebagai berikut :

- 1) Alat atau sarana transportasi
- 2) Alata atau sarana hemostasis (keseimbangan dinamis)
- 3) Alat pertahanan

Fungsi darah secara umum antara lain sebagai berikut :

- 1) Alat transportasi makanan, yang diserap dan didistribusikan keseluruh tubuh.
- 2) Alat transportasi oksigen.
- 3) Alat transportasi hasil ekskresi di dalam tubuh.
- 4) Alat transportasi bahan-bahan yang diperlukan anatar jaringan
- 5) Alat pertahanan hemostatis didalam tubuh.
- 6) Alat pertahanan tubuh terhadap benda asing atau senyawa asing yang menimbulkan ancaman (sadikin, 2013).

2. Tabung Vacutainer

Tabung vacutainer merupakan tabung reaksi steril yang hampa udara, berbahan baku kaca atau plastic yang direkomendasikan oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) untuk

parameter hematologi, karena mempunyai pH yang dekat dengan pH darah (Wijaya, 2006).

Tabung vacutainer terdiri dari beberapa warna tutupnya, sesuai kebutuhan atau fungsi yang akan digunakan pemeriksaan masing-masing yaitu :

- a. Tutup merah : kimia klinik darah, imunoserologi.
- b. Tutup hijau : khusus kimia klinik darah.
- c. Tutup ungu : darah lengkap (hematologi).
- d. Tutup biru : pemeriksaan koagulasi (PPT, APTT).
- e. Tutup hijau : fragilitas osmotik eritrosit, kimia klinik darah.
- f. Tutup biru gelap : trace element (zink, copper, mercury) dan toksikologi.
- g. Tutup abu-abu : glukosa darah.
- h. Tutup hitam : LED (ESR).
- i. Tutup pink : pemeriksaan imunoematologi.
- j. Tutup putih : PCR dan DNA.
- k. Tutup kuning sedikit hitam diatas : mikrobiologi (aerob, anaerob) dan mikologi.

3. Antikoagulan

a. Pengertian antikoagulan

Antikoagulan merupakan bahan yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat ion kalsium sehingga dapat

menghambat pembentukan thrombin dari protombin. Salah satu antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan hematologi adalah *Ethylen Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA). Antikoagulan EDTA yang digunakan adalah *Dispotasium Ethylen Diamine Tetraacetic Acid* (K_2EDTA) dalam bentuk kering dan *Tripotassium Ethylen Diamine Tetraacetic Acid* (K_3EDTA) dalam bentuk cair. Antikoagulan EDTA berupa garam yang dapat mengubah ion calcium dari darah menjadi bentuk bukan ion (Pratama, 2017).

EDTA tidak digunakan untuk koagulasi, karena dapat mempengaruhi fungsi trombosit. EDTA dalam bentuk kering lebih direkomendasikan, karena EDTA cair akan menyebabkan nilai hemoglobin rendah, hitung eritrosit, leukosit dan trombosit rendah, demikian pula nilai hematokrit. Cara kerja EDTA yaitu dengan mengikat ion kalsium sehingga terbentuk garam kalsium yang tidak larut. Takaran pemakaian 1-1,5 mg EDTA untuk setiap mL darah (Kiswari, 2014).

EDTA serbuk biasanya digunakan 1 mg dalam 1 ml darah, sedangkan EDTA cair dengan konsentrasi 10% digunakan dengan menambahkan 10 uL EDTA ke dalam 1 ml darah. Bila jumlah EDTA yang diberikan kurang dari takaran, darah akan mengalami koagulasi. Konsentrasi EDTA yang berlebih menyebabkan penyusutan eritrosit (Nugraha, 2015)

EDTA merupakan zat adiktif dalam tabung pada tutup warna lavender (ungu). Tabung EDTA semakin banyak yang digunakan untuk

tes bank darah, lebih digunakan terutama untuk pengujian darah lengkap atau tes hematologi lainnya karena dapat mempertahankan morfologi sel dan hambatan agregasi trombosit dengan lebih baik daripada antikoagulan lainnya. Specimen EDTA harus dicampur segera setelah pengumpulan untuk mencegah penggumpalan trombosit dan pembentukan mikro. Cara pencampuran dengan inversi (dibolak-balik) sebanyak 8-10 kali (Kiswari, 2014).

b. Antikoagulan K₂EDTA

Antikoagulan *Dispotasium Ethylen Diamine Tetraacetic Acid* (K₂EDTA) merupakan antikoagulan yang digunakan dalam bentuk kering, K₂EDTA adalah antikoagulan yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (*International Council for Standardization in Hematologi*) dan NCCL (*National Comitte for Clinical Laboratory Standard*) karena perbandingan antar dosis antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggung jawabkan (Riswanto, 2010).

c. Antikoagulan K₃EDTA

Antikoagulan *Tripotassium Etilen Diamin Tetraasetat* (K₃EDTA) merupakan jenis antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi, fungsi pemberian K₃EDTA dapat mencegah koagulasi dengan cara mengikat kalsium (Kiswari, 2014). Kelebihan penggunaan K₃EDTA sebagai antikoagulan karena mempunyai zat adiktif yang tidak mengubah morfologi sel dan menghambat agregasi trombosit dengan lebih baik dari antikoagulan lainnya. K₃EDTA lebih

sering digunakan karena kelarutannya tinggi, sehingga dapat menghasilkan specimen yang memiliki gumpalan lebih sedikit. K₃EDTA harus segera dicampurkan dengan sampel darah untuk menghindari pembentukan bekuan pada sel trombosit (Nugraha, 2015).

4. Pemeriksaan Trombosit

a. Definisi trombosit

Trombosit merupakan sel darah tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1-4 mikrometer dan memiliki volume 7-8 fl. Trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit, suatu sel muda besar yang berada dalam sumsum tulang. Megakariosit matang ditandai oleh proses replikasi endomitotik inti dan makin besarnya volume plasma, pada akhirnya sitoplasma menjadi granular dan terjadi pelepasan trombosit. Setiap megakariosit mampu menghasilkan 3000-4000 trombosit, waktu dari diferensiasi stem cell sampai dihasilkan trombosit memerlukan waktu sekitar 10 hari. Trombosit dapat dibagi menjadi 3 daerah (zona), yaitu :

- 1) Daerah tepi, berperan sebagai adhesi dan agregasi.
- 2) Zona sol gel menunjukan struktur dan mekanisme interaksi trombosit.
- 3) Zona organel yang berperan dalam pengeluaran isi trombosit (Kiswari, 2014).

b. Morfologi trombosit

Morfologi trombosit dengan keadaan inaktif berbentuk seperti cakram bikonvek berdiameter 2-4 mikrometer. Dilihat menggunakan mikroskop electron, trombosit dibagi menjadi 4 zona dengan masing-masing zona mempunyai fungsi tersendiri. Keempat zona adalah zona perifer yang berguna untuk adhesi dan agregasi, zona sol gel untuk menunjang struktur dan mekanisme kontraksi, zona organel yang berperan dalam pengeluaran isi trombosit serta zona membrane yang keluar dari isi granula saat pelepasan (nugraha, 2015).

c. Struktur trombosit

Struktur trombosit yaitu dimana glikoprotein menyelubungi permukaan trombosit. Dalam sitoplasma trombosit ada mengandung tiga jenis granula, yaitu granula, granula α dan granula lisosom. Granula α banyak mengandung faktor pembekuan. Granula yang padat sangat jarang mengandung adenosine difosfat (ADP), adenosine trifosfat (ATP), serotonin dan kalsium. Granula lisosom banyak mengandung enzim hidrolitik (nugraha, 2015).

d. Fungsi trombosit

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis sebagai respon hemostatic normal terhadap luka vaskuler melalui reaksi adhesi, pelepasan, agregasi dan fusi, serta aktivitas prokoagulannya (Hoffbrand, dkk, 2005).

1) Adhesi trombosit

Setelah cedera pembuluh darah, trombosit melekat pada jaringan ikat subendotel yang terbuka. Trombosit menjadi aktif apabila terpajan ke kolagen subendotel dan bagian jaringan yang cedera. Adhesi trombosit melibatkan suatu interaksi antar glikoprotein membrane trombosit dan jaringan yang terpajan atau cedera. Adhesi trombosit tergantung pada faktor protein plasma yang disebut faktor von Willebrand, yang memiliki hubungan integral dan kompleks dengan faktor koagulasi antihemofilia VIII plasma dan reseptor trombosit yang disebut glikoprotein Ib membrane trombosit. Adhesi trombosit berhubungan dengan peningkatan daya lekat trombosit sehingga trombosit berlekatan satu sama lain serta dengan endotel atau jaringan yang cedera. Dengan demikian, terbentuk sumbatan hemostatik primer atau inisial. Pengaktifan permukaan trombosit dan rekrutmen trombosit lain menghasilkan suatu massa trombosit lengket dan dipermudah oleh proses agregasi trombosit (Kiswari, 2014).

2) Agregasi trombosit

Agregasi merupakan kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk suatu sumbatan. Agregasi terjadi akibat kontak permukaan dan pembebasan ADP dari trombosit lain yang melekat ke permukaan endotel. Hal ini disebut gelombang agregasi primer. Maka makin banyaknya trombosit yang terlibat makin

banyak ADP yang dibebaskan sehingga terjadi gelombang agregasi sekunder disertai rekrutmen trombosit yang lebih banyak. Agregasi berkaitan dengan perubahan bentuk trombosit dari discoid menjadi bulat. Gelombang agregasi sekunder merupakan suatu fenomena irreversible, sedangkan perubahan bentuk awal dan agregasi primer masih reversible.

Peningkatan ADP yang disebabkan dari trombosit aktif ke membran trombosit akan mengaktifkan enzim fosfolipase, yang menghidrolisis fosfolipid di membrane trombosit untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat adalah precursor mediator kimiawi yang sangat kuat, baik pada agregasi maupun inhibisi agregasi yang terlibat dalam jalur prostaglandin. Tromboksan A₂ adalah senyawa yang sangat aktif, tetapi tidak stabil yang mengalami penguraian menjadi tromboksan B₂ yang stabil dan inaktif. Tromboksan A₂ juga merupakan vasokonstriktor kuat yang akan mencegah pengeluaran darah lebih lanjut dari pembuluh yang rusak (Kiswari, 2014).

3) Reaksi Pelepasan

Reaksi pelepasan adalah terjadi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat. Akibat dari perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya yang memerlukan adanya energi. Zat agregator lain seperti thrombin, kolagen, epinefrin dan tromboxan A₂ dapat

menyebabkan reaksi pelepasan. Tergantung zat yang merangsang, akan dilepaskan bermacam-macam substansi biologik yang terdapat di dalam granula padat dan granula alfa. Trombin dan kolagen menyebabkan pelepasan isi granula padat, alfa dan lisosom. Dari granula padat dilepaskan ADP, ATP, ion kalsium, serotonin, epinefrin dan nor epinefrin. Dari granula alfa dilepaskan fibrinogen, faktor Willebrand's, faktor V, faktor 4, beta tromboglobulin. Sedangkan dari lisosom dilepaskan bermacam-macam enzim hidrolase asam (Setiabudy, 2009).

e. Kelainan trombosit

1) Trombositopenia

Merupakan berkurangnya jumlah trombosit dibawah normal, yaitu $150.000/\text{mm}^3$.

2) Trombositosis

Merupakan meningkatnya jumlah trombosit diatas normal pada peredaran darah, yaitu lebih dari $400.000/\text{mm}^3$.

3) Trombositemia

Merupakan meningkatnya jumlah trombosit oleh proses yang ganas. Misal pada leukemia mielositik kronis. Jumlah trombosit pada trombositemia dapat melebihi $1.000.000/\text{mm}^3$ (Kiswari, 2014).

5. Pemeriksaan Automatic

Metode automatic memiliki keunggulan lebih praktis dan hasil lebih akurat, tetapi biaya masih cukup mahal dibandingkan dengan metode manual, dimana biaya metode manual cenderung lebih murah. Menghitung sel secara automatic mampu mengukur secara langsung hitung trombosit, selain hitung leukosit dan hitung eritrosit. Sebagian besar alat ini menghitung trombosit dan eritrosit secara bersama sama, namun keduanya dibedakan berdasarkan ukuran. Partikel yang lebih kecil dihitung sebagai trombosit dan partikel yang lebih besar dihitung sebagai eritrosit. Akan tetapi cara ini masih mempunyai kelemahan, yaitu sel-sel yang besar (giant thrombocyte) tidak ikut terhitung, sehingga jumlah trombosit yang dihitung menjadi lebih rendah dan pada cara ini juga diperlukan control (Rukman, 2014).

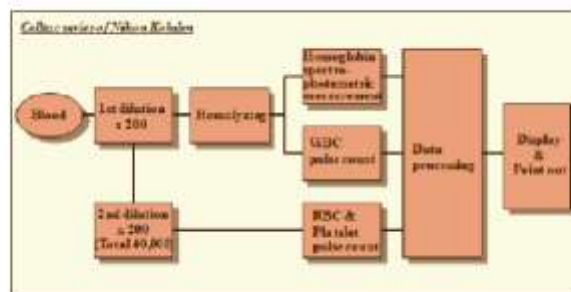
6. Hematology Analyzer

a. Pengertian hematology analyzer

Hematology analyzer merupakan alat yang digunakan untuk menganalisis specimen darah. Hematology analyzer berisi perangkat keras untuk aspirasi dilusi dan menganalisa setiap specimen darah secara keseluruhan meliputi computer, monitor, keyboard, printer dan drive. Hematology analyzer dapat menghemat waktu pemeriksaan, memiliki ketetapan hasil dan ketelitian yang baik, reproduksibilitas yang tinggi

sehingga beban kerja menjadi lebih efisien. Kalibrasi juga harus dilakukan pada instrument, metode pemeriksaan dan reagen. Proses kalibrasi harus dikerjakan secara simultan dalam satu kesatuan dan kondisi juga dilakukan pencegahan terhadap arus listrik, pembuangan limbah dan tanggal kadaluarsa reagen (Nasri, 2017).

b. Prinsip Kerja :



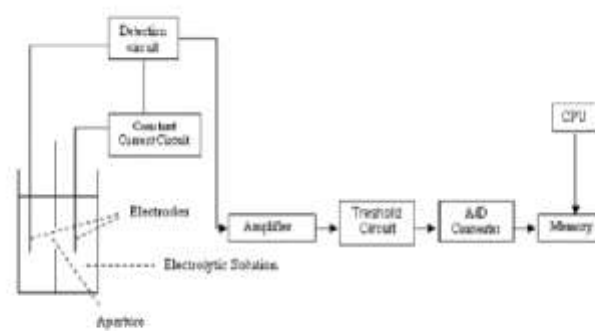
Gambar 1. Blok Diagram Hematology Analyzer (Infolabmed, 2017)

Sampel darah yang sudah dicampur dengan reagent didilusi sebanyak 200x dan melalui proses *hemolyzing* untuk mengukur kadar jumlah hemoglobin dengan cara fotometri dan mengukur kadar jumlah sel darah putih, serta didilusi lagi sebanyak 200x (jadi 40.000x) untuk mengukur kadar jumlah sel darah putih dan platelet. Kemudian diproses pada blok data processing dan hasilnya akan ditampilkan pada display dan print out (Infolabmed, 2017).

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 2. 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 dikiri rangkaian elektronik. Rangkaian elektronik terdapat rangkaian Treshold 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).

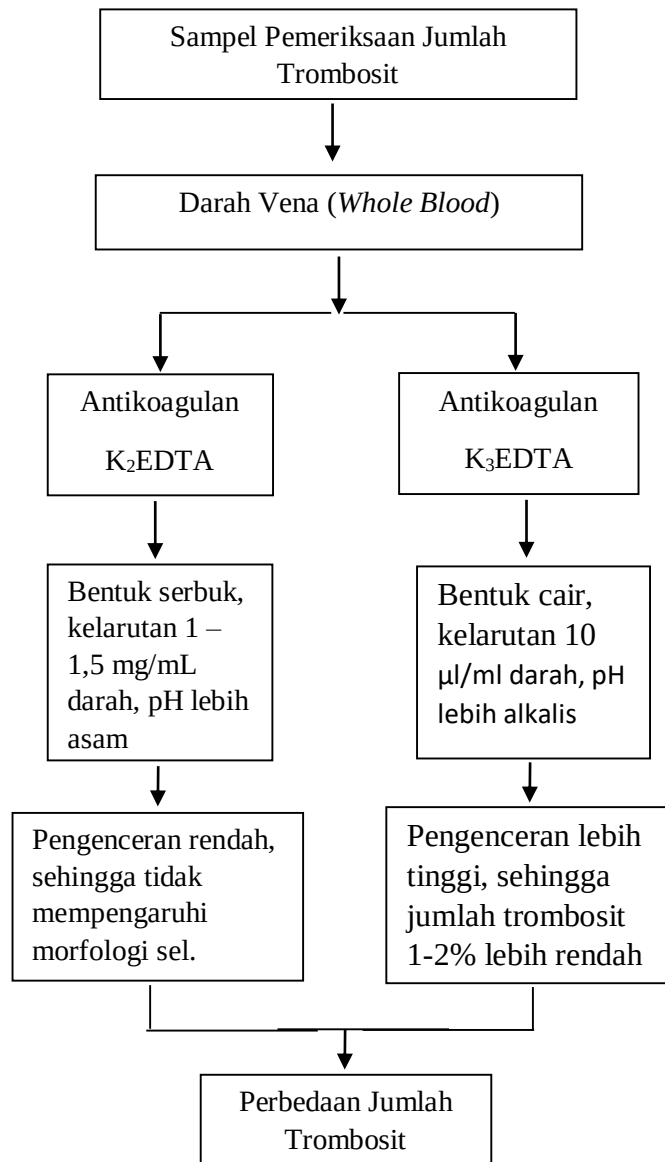
Nilai puncak diperoleh dengan sinyal dikirim ke A/D converter, kemudian data yang diperlukan disimpan pada memori untuk setiap nilai maksimum. Data tersebut akan dikoreksi oleh CPU dan akan ditampilkan pada layar LCD. Jumlah sinyal untuk setiap ukuran sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. 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).

d. *Hematology Analyzer* merek *Beckman Coulter DxH 500*

Hematology Analyzer merek *Beckman Coulter DxH 500* menggunakan teknologi VCS (*Volume, Conductivity and laser light Scattering* atau volume, konduktivitas dan hamburan cahaya laser), teknologi ini digunakan secara bersamaan pada setiap sel yang melewati *aperture*. Volume (V) diperoleh dari pengukuran impedansi listrik, konduktor (C) mengukur ukuran intidan kepadatan setiap sel, sedangkan hambatan (S) cahaya laser untuk mendeteksi struktur internal,

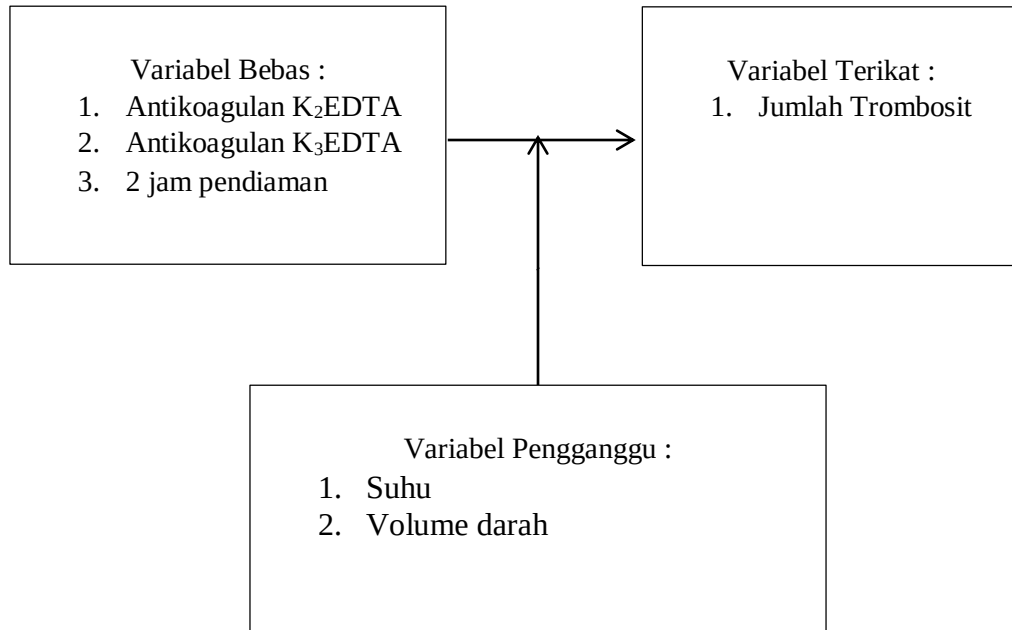
granularitas dan karakteristik permukaan sel serta memberikan informasi mengenai bentuk dan struktur sel.

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 4. Hubungan antar variable

D. Hipotesis

Ada perbedaan jumlah sel trombosit pada *whole blood* dengan menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA setelah pendiaman 2 jam pada suhu ruang.