

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### 1. Darah dan Susunan Sel Darah

Darah adalah cairan yang berada dalam pembuluh darah yang mempunyai fungsi transportasi oksigen, karbohidrat dan metabolit, mengatur keseimbangan asam dan basa, mengatur suhu tubuh dengan cara konduksi (hantaran), membawa panas tubuh dari pusat produksi panas (hepar dan otot) untuk didistribusikan ke seluruh tubuh, pengaturan hormon dengan membawa dan menghantarkan dari kelenjar ke sasaran (Syaifuddin, 2016).

Menurut Bakta (2007), darah terdiri atas 2 komponen utama, yaitu :

- a. Plasma darah. Merupakan bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah
- b. Butir-butir darah (*blood corpuscles*) yang terdiri atas:
  - 1) Eritrosit atau sel darah
  - 2) Leukosit atau sel darah putih
  - 3) Trombosit atau butir pembeku (*platelet*)

Darah adalah jaringan yang terdiri atas dua bagian. Bagian interseluler adalah cairan yang disebut plasma dan di dalamnya terdapat unsur-unsur padat, yaitu sel darah. Volume secara keseluruhan kurang lebih satu per dua belas berat badan atau kira-kira 5 liter (Pearce, 2010).

a. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit atau sel darah merah merupakan sel darah yang berbentuk seperti cakram bikonkaf, tidak berinti, berwarna kuning kemerah-merahan, berukuran 0,007 mm, berjumlah 4,5-5 juta/mm<sup>3</sup>, bersifat kenyal sehingga dapat berubah bentuk sesuai dengan pembuluh darah yang dilalui. Sel darah merah dibentuk di sumsum tulang. Dalam proses pembentukannya diperlukan zat besi, vitamin B12, asam folat dan rantai globin yang merupakan senyawa protein yang berasal dari hemositoblas. Sel darah merah berada di dalam sistem peredaran selama 105-120 hari, kemudian eritrosit dihancurkan di organ limpa (Syaifuddin, 2016).

b. Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit atau sel darah putih merupakan sel darah yang tidak berwarna, lebih besar dari eritrosit, dapat berubah dan bergerak dengan perantara kaki palsu (pseudopodia), mempunyai bermacam-macam inti sel, berjumlah 6000-9000 sel/mm<sup>3</sup>. Memiliki fungsi utama sebagai pertahanan tubuh dengan cara menghancurkan antigen kuman, virus dan toksin (Syaifuddin, 2016).

Berdasarkan bentuk intinya, leukosit terbagi menjadi dua kelompok, yaitu granulosit yang terdiri atas basophil, eosinophil dan neutrophil serta agranulosit yang terdiri atas monosit dan limfosit (Sofro, 2012). Seri granulosit dan monosit normalnya dibentuk hanya dalam sumsum tulang. Sebaliknya limfosit dan sel plasma dihasilkan

dalam berbagai organ limfogen termasuk kelenjar limfe, limpa, kelenjar timus, tonsil, dan sisa-sisa limfoid yang terletak dalam usus dan di tempat lain (Syaiyuddin, 2016).

c. Keping Darah (Trombosit)

Trombosit atau butir pembeku (*platelet*) merupakan sel kecil yang berinti, berbentuk discoïd dengan diameter rata-rata 1-4 mikron. Trombosit dihasilkan dan dilepas dari megakariosit yang ada pada sumsum tulang dengan waktu maturasi 4-5 hari dan masa hidup dalam sirkulasi 9-10 hari. Jumlah trombosit dalam darah orang dewasa normal rata-rata 200.000 – 500.000 sel/mm<sup>3</sup> darah (Bakta, 2007)

d. Plasma

Plasma adalah bagian cair dari darah yang diberi antikoagulan (anti pembekuan darah). Jika darah ditambah antikoagulan, maka tidak akan terjadi pembekuan dan darah tetap cair. Darah yang ditambah antikoagulan, setelah didiamkan atau setelah disentrifugasi akan terpisah menjadi 3 bagian, yaitu plasma yang berada di bagian atas berupa cairan berwarna kuning, *buffycoat* yang berada di lapisan tengah yang tipis merupakan lapisan sel leukosit dan trombosit serta eritrosit yang berada pada lapisan bawah (Riswanto, 2013).

Plasma darah merupakan bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah (Bakta, 2007). Plasma darah berbentuk cairan berwarna kuning yang dalam reaksi bersifat sedikit alkali. Plasma berfungsi sebagai perantara untuk penyaluran makanan,

mineral, lemak, glukosa dan asam amino ke jaringan. Juga merupakan medium untuk mengangkut bahan buangan seperti urea, asam urat dan sebagian karbon dioksida (Pearce, 2010).

## 2. Fungsi Darah

Menurut D'Hiru (2013), darah di dalam tubuh memiliki fungsi secara umum sebagai berikut :

- a. Mengangkut sari-sari makanan dari usus ke jaringan tubuh
- b. Eritrosit mengantarkan oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida dari jaringan tubuh menuju ke paru-paru
- c. Leukosit menyediakan banyak tipe sebagai pelindung, misalnya beberapa tipe yang fagositik untuk melindungi tubuh terhadap serangan kuman dengan cara memangsa, melawan infeksi dengan antibody
- d. Menghantarkan energy panas dari tempat aktif ke tempat yang tidak aktif untuk menjaga suhu tubuh atau sebagai respon pengaktifan sistem imunitas
- e. Trombosit berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari perdarahan massif yang terjadi akibat luka atau trauma

### 3. Trombosit

#### a. Pengertian

Trombosit adalah fragmen atau kepingan-kepingan tidak berinti dari sitoplasma megakariosit yang berukuran 1-4 mikron dan beredar dalam sirkulasi darah selama 10 hari. Gambaran mikroskopik dengan pewarnaan Wright-Giemsa, trombosit tampak sebagai sel kecil, tidak berinti, bulat dengan sitoplasma berwarna biru keabu-abuan pucat yang berisi granula merah-ungu yang tersebar merata. Jumlah trombosit normal adalah 150.000-450.000 per mikroliter darah (Riswanto, 2013).

Trombosit juga disebut platelet atau keping darah. Trombosit bukan merupakan sel utuh karena berasal dari sel raksasa yang berada pada sumsum tulang yang disebut megakariosit. Dalam pematangannya, megakariosit dapat pecah menjadi 3000-40.000 seripihan sel yang disebut sebagai platelet atau trombosit. Trombosit masih dapat melakukan sintesis protein meskipun sangat terbatas, karena di dalam sitoplasmanya masih terdapat sejumlah RNA. Trombosit masih memiliki mitokondria yang merupakan bulir glikogen yang dapat berfungsi sebagai cadangan energy dan 2 jenis granula (Sadikin, 2013).

#### b. Produksi Trombosit

Trombosit dihasilkan dalam sumsum tulang dengan fragmentasi sitoplasma pada megakariosit. Prekursor megakariosit yaitu megakarioblast timbul dengan proses diferensiasi dari sel

hematopoietik. Megakariosit matang dengan proses replikasi endomitotik inti secara sinkron, yang memperbesar volume sitoplasma saat jumlah inti bertambah dua kali lipat. Pada tahap perkembangan yang bervariasi, terutama pada tahap nucleus terbanyak pada stadium 8 inti, replikasi inti lebih lanjut berhenti, sitoplasma menjadi granular dan selanjutnya trombosit dibebaskan. Setiap megakariosit menghasilkan sekitar 4000 trombosit. Interval waktu dari diferensiasi sel sampai dihasilkan trombosit sekitar 10 hari (Hoffbrand dan Pettit, 2005).

c. Fungsi trombosit

Trombosit memiliki peran dalam sistem hemostasis, suatu mekanisme faal tubuh untuk melindungi diri terhadap kemungkinan perdarahan atau kehilangan darah. Fungsi utama trombosit adalah melindungi pembuluh darah terhadap kerusakan endotel akibat trauma-trauma kecil yang terjadi sehari-hari dan mengawali penyembuhan luka pada dinding pembuluh darah (Riswanto, 2013).

Fungsi trombosit juga berhubungan dengan usaha tubuh untuk mempertahankan keutuhan jaringan apabila terjadi luka. Trombosit juga berperan dalam penutupan luka, sehingga tubuh tidak mengalami kehilangan darah dan terlindung dari penyusupan benda atau sel asing. Trombosit membentuk agregasi pada luka dan ikut membantu menyumbat luka secara fisik dan sebagian trombosit akan pecah dan mengeluarkan isinya yang berfungsi untuk memanggil trombosit dan

leukosit dari tempat lain. Isi trombosit yang pecah sebagian juga aktif dalam mengkatalis proses penggumpalan darah, sehingga selanjutnya luka disumbat oleh gumpalan yang terbentuk (Sadikin, 2013).

Jumlah trombosit yang kurang memadai dalam kualitas maupun jumlah dapat mengganggu fungsi trombosit. Apabila jumlah trombosit memadai kemampuan adhesi dan agregasi trombosit akan baik dan pembentukan sumbat hemostatik akan berlangsung normal (Riswanto, 2013).

d. Adhesi

Adhesi merupakan pelekatan trombosit pada benda selain trombosit seperti jaringan ikat subendotelial setelah terjadi luka pada pembuluh darah. Adhesi trombosit berkaitan dengan peningkatan daya lekat sehingga trombosit saling berikatan dan menempel pada jaringan endotel. Peningkatan adhesi trombosit menyebabkan trombosit melekat pada kolagen yang dipengaruhi oleh ADP dan menghasilkan massa trombosit yang meningkat dengan cepat dan membentuk trombosit plug (Kiswari, 2014).

e. Agregasi

Agregasi trombosit adalah perlekatan antar sesama trombosit. Agregasi pada pembuluh darah yang terluka dapat terjadi karena adanya pelepasan ADP dan tromboksan A<sub>2</sub>. ADP menyebabkan trombosit membengkak dan mempermudah membran trombosit yang berdekatan saling melekat satu sama lain. Setelah terjadi reaksi

pelepasan, tambahan ADP dan tromboksan A<sub>2</sub> akan menyebabkan terjadinya agregasi trombosit sekunder (Sotianingsih, 2001).

#### 4. Antikoagulan EDTA

Antikoagulan adalah zat yang dapat mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat (khelasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium, atau dengan menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013).

Antikoagulan EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetat*) umumnya tersedia dalam bentuk garam sodium atau potassium dan berfungsi untuk mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium dalam darah. EDTA memiliki keunggulan dibanding dengan antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah sehingga ideal untuk pengujian hematologi termasuk hitung jumlah trombosit. EDTA yang digunakan dalam praktek laboratorium yaitu dinatrium EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA), dikalium EDTA (K<sub>2</sub>EDTA) dan trikalium EDTA (K<sub>3</sub>EDTA) (Riswanto, 2013).

Tri-kalium EDTA (K<sub>3</sub>EDTA) adalah jenis antikoagulan yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi, yang mencegah koagulasi dengan mengikat kalsium. EDTA digunakan terutama untuk pengujian darah lengkap atau tes hematologi lainnya karena dapat mempertahankan morfologi sel dan menghambat agregasi trombosit dengan lebih baik. Spesimen darah EDTA harus segera dicampur setelah



pengumpulan untuk mencegah penggumpalan trombosit dan pembentukan bekuan mikro. Cara pencampuran dengan inversi (dibolak-balik) sebanyak 8-10 kali (Kiswari, 2014).

#### 5. Pengaruh Suhu dan Penyimpanan terhadap Jumlah Trombosit

Darah EDTA yang ditunda selama 1-3 jam akan mengakibatkan pembengkakan pada inti leukosit, perubahan kromatin serta disintegrasi sel. Sedangkan trombosit yang dibiarkan 1 jam akan mudah sekali menempel antara trombosit dengan trombosit (agregasi) atau menempel pada benda asing (adhesi) (Wirawan, 2011).

Sampel darah yang digunakan untuk hitung jumlah trombosit sebaiknya darah kapiler atau darah vena yang ditambahkan antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan. Pemeriksaan jumlah trombosit dengan darah EDTA sebaiknya segera dilakukan, tetapi jika masih diperlukan dapat disimpan dalam lemari es suhu 4°C. Batas kritis pemeriksaan EDTA yang disimpan pada lemari es suhu 4°C untuk jumlah trombosit adalah 1 jam (Gandasoebrata, 2013).

#### 6. Pemeriksaan Trombosit

##### a. Hitung trombosit manual dengan Metode *Rees-Ecker*

Darah diencerkan dalam larutan yang mengandung *Brilliant Cresyl Blue* sehingga trombosit terwarnai biru muda. Secara mikroskopis trombosit tampak refraktil dan mengkilat berwarna biru muda, lebih kecil dari eritrosit, serta berbentuk bulat, lonjong atau koma tersebar atau bergerombol. (Riswanto, 2013).

b. Hitung trombosit manual dengan Metode fase kontras

Pemeriksaan menggunakan metode fase kontras, darah diencerkan dalam larutan ammonium oksalat 1% sehingga semua eritrosit dihemolisis. Secara mikroskopis, sel-sel leukosit dan trombosit tampak bersinar dengan latar belakang gelap. Trombosit tampak bulat telur dan berwarna biru muda terang. Apabila fokus dinaik-turunkan terlihat perubahan kontras, mudah dibedakan dengan kotoran karena sifat refraktilnya (Riswanto, 2013).

c. Hitung trombosit manual secara tidak langsung

Metode hitung trombosit secara tidak langsung merupakan penghitungan jumlah trombosit menggunakan apusan darah tepi yang telah diwarnai dengan pengecatan Wright, Giemsa atau May Grunwald. Keunggulan metode ini adalah dalam mengungkapkan ukuran dan morfologi trombosit, sedangkan kekurangannya adalah apabila perlekatan ke kaca objek atau distribusi tidak merata pada apusan dapat menyebabkan perbedaan yang mencolok dalam perhitungan konsentrasi trombosit sebagai petunjuk praktis hitung trombosit adekuat yaitu, apabila apusan mengandung satu trombosit per duapuluh eritrosit atau dua sampai tiga trombosit per lapang pandang besar (perbesaran objektif 100x) (Riswanto, 2013).

d. Metode *Automatic* dengan *Hematology Analyzer*

*Hematology analyzer* merupakan alat penghitung sel darah lengkap yang dapat mengukur beberapa parameter secara bersamaan dari

berbagai macam sel darah secara otomatis (Vis &Huisman, 2016; Ayuningtyas, 2018).

Prinsip utama dari pengoperasian alat *hematology analyzer* adalah impedansi elektronik dan *optical scatter* yang digunakan oleh sebagian besar *automatic hematology analyzer*. Terkadang, *radio frequency* (RF) digunakan bersama dengan impedansi elektronik. Metode impedansi elektronik mendeteksi dan mengukur perubahan hambatan listrik antara dua elektroda saat sel melewati sensor. Perubahan voltase yang terukur diplot pada grafik distribusi frekuensi atau histogram yang memungkinkan evaluasi populasi sel berdasarkan volume sel (Koehane, dkk., 2016).

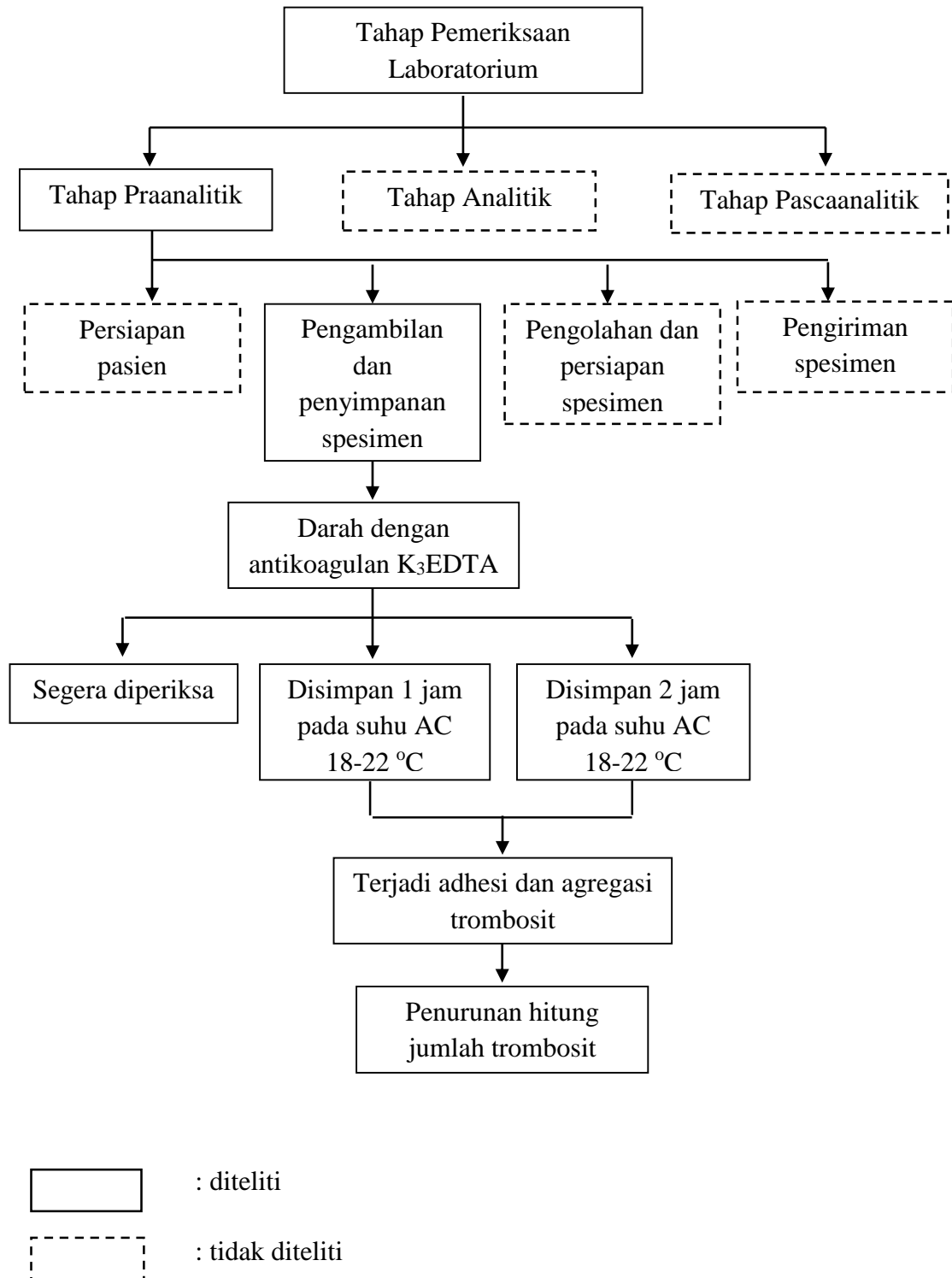
Sistem *optical scatter (flow cytometer)* menggunakan deteksi interferensi dalam sinar laser atau sumber cahaya untuk membedakan dan menghitung jenis sel. *Flow cytometer* menggunakan metode pengukuran dari jumlah dan sifat-sifat dari sel yang dapat dibungkus oleh aliran cairan yang kemudian dilewatkan bersamaan melalui celah, sel dapat lewat satu per satu kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel dan ukurannya (Koehane, dkk., 2016).

Penghitungan sel secara otomatis mampu mengukur secara langsung hitung eritrosit, hitung leukosit dan hitung trombosit. Sebagian besar dari alat ini menghitung eritrosit dan trombosit secara bersama-sama, keduanya dibedakan berdasarkan ukuran. Sel yang berukuran lebih kecil terhitung sebagai trombosit dan sel yang lebih

besar terhitung sebagai eritrosit. Akan tetapi metode ini masih terdapat kelemahan, yaitu sel-sel yang besar (*giant thrombocyte*) tidak ikut terhitung, sehingga jumlah trombosit yang dihitung menjadi lebih rendah, selain itu juga dipengaruhi oleh debu yang ikut terhitung (Kiswari, 2014).

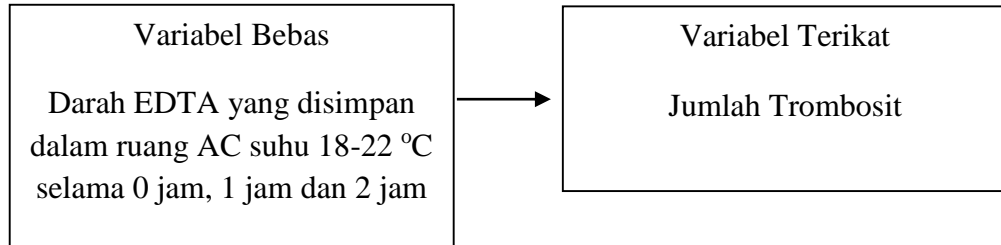
Alat *hematology analyzer* merk Beckman Coulter DhX 500 menggunakan prinsip kerja VCS (*Volume, Conductivity and Light Scattering*). Volume (V) diperoleh dari pengukuran impedansi listrik, konduktivitas (C) menghitung ukuran dan kepadatan setiap sel sedangkan hamburan cahaya laser (S) mendeteksi struktur internal, granularitas dan karakteristik permukaan sel serta memberikan informasi mengenai bentuk dan struktur sel (Mengko, 2013).

## B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Terdapat perbedaan hitung jumlah trombosit pada sampel darah dengan antikoagulan K<sub>3</sub>EDTA yang segera diperiksa dan disimpan di dalam ruang AC suhu 18-22°C selama 1 jam dan 2 jam.