#### **BAB II**

#### TINJAUAN PUSTAKA

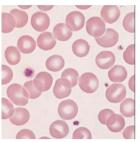
#### A. Telaah Pustaka

1. Pengertian Darah

Darah merupakan cairan yang ada pada manusia sebagai alat transportasi yang berfungsi untuk mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme, serta sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Darah juga berfungsi untuk mengangkut sisa metabolisme, obat-obatan dan bahan kimia asing ke hati untuk diuraikan di ginjal untuk dibuang sebagai air seni (urine) (Yayuningsih, 2018).

Volume darah di dalam tubuh manusia kurang lebih ¼ atau 6-8% dari berat badan. Darah memiliki temperatur normal pada suhu 38°C, dengan pH yang berkisar antara 7,35 hingga 7,45. Peranan pH sangat penting karena berperan sebagai sistem buffer untuk menjaga asambasa kondisi darah yang berpengaruh terhadap fisiologis manusia. Darah terdiri dari dua komponen utama, yaitu komponen cair dan komponen padat. Komponen cair, yaitu plasma darah dan komponen padat, yaitu sel darah merah(eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (Trombosit) (Rosita dkk, 2019).

- 2. Macam-Macam Sel Darah
- a. Eritrosit



Gambar 1. Eritrosit

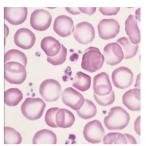
Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Eritrosit merupakan komponen sel yang membentuk sekitar 40-45% volume darah dalam tubuh manusia dan memberi warna khas pada darah. Eritrosit diproduksi oleh sumsum tulang di mana memiliki usia sekitar 120 hari sebelum digantikan dengan sel yang baru. Jumlah eritrosit pada laki-laki dewasa yang sehat sekitar 5,4 juta sel per mikroliter darah, sedangkan pada Wanita dewasa berjumlah sekitar 4,8 juta sel per mikroliter darah. Fungsi utama dari eritrosit adalah membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan lain di tubuh, serta membawa karbon dioksida hasil pembuangan tubuh kita kembali ke paru-paru untuk dikeluarkan ketika kita mengeluarkan nafas (Asmarinah et al., 2023; Rosita et al., 2019).

Eritrosit berbentuk seperti cakram bikonkaf dengan diameter sekitar 7,5 μm, ketebalan sekitar 2,6 μm di tepi dan 0,75 μm ditengah. Struktur bikonkaf yang dimiliki eritrosit membuat nilai rasio luas permukaan berbanding volume menjadi besar dan memaksimalkan proses pertukaran gas. Karena ukuran dan bentuknya yang relatif seragam dan hamper terdapat pada seluruh

jaringan tubuh, maka pakar histologi biasa menggunakan eritrosit sebagai standar untuk memperkirakan ukuran sel-sel lain yang berdekatan (Mescher dalam Rosita dkk., 2019).

#### b. Trombosit



Gambar 2. Trombosit

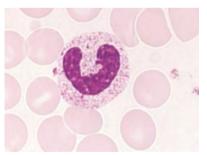
Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Trombosit merupakan bagian sel dalam darah yang berbentuk keping, seperti cakram serta tidak memiliki inti. Sitoplasma trombosit berwarna biru bergranula ungu dan berukuran paling kecil. Trombosit berasal dari pecahan sitoplasma sel megakariosit dan mengandung beberapa faktor pembekuan. Trombosit diproduksi pada sumsum tulang dan jumlahnya pada peredaran darah orang dewasa sekitar 150.000 – 500.000 sel/µm darah. Trombosit berusia antara 3-10 hari (Yayuningsih, 2018). Trombosit berfungsi dalam penyembuhan luka dengan cara melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang robek atau luka kemudian membentuk *plug* (sumbatan) (Mehta, A. B. dan Hoffbrand, 2008).

## c. Leukosit

Leukosit adalah sel darah yang berwarna putih kelabu, berbentuk bulat, berongga dan memiliki inti sel. Leukosit berfungsi untuk melindungi tubuh dari infeksi. Leukosit diproduksi di sumsum tulang, limpa dan kelenjar limfe. Usia leukosit dalam peredaran darah manusia adalah 2 minggu, setelah itu akan bermigrasi ke jaringan atau dihancurkan dalam limpa. Jumlah sel leukosit pada orang dewasa berkisar antara 4000-11.000 sel/µm darah. Pada umumnya leukosit dibedakan menjadi 5 kelompok, yaitu neutrofil, basofil, eosinofil, monosit dan limfosit. Kelima jenis leukosit ini memiliki karakteristik dan fungsi yang berbedabeda.

#### 1) Neutrofil



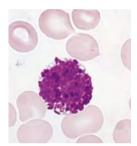
Gambar 3.Neutrofil

Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Neutrofil merupakan komponen penyusun leukosit dengan persentase terbesar, yaitu 45-74% dari total leukosit. Neutrofil memiliki granula yang berukuran lebih kecil dibandingkan dengan leukosit granuler yang lain, berwarna lilac pucat dan terdistribusi merata. Sel neutrofil memiliki masa hidup singkat, sekitar 10 jam dalam sirkulasi peredaran darah. Neutrofil

merespon inflamasi atau sisi cedera lebih lebih dibandingkan dengan sel yang lain, sel ini juga berperan paling banyak dalam membantu tubuh untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur (Yayuningsih, 2018).

## 2) Basofil



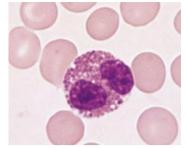
Gambar 4. Basofil

Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Basofil merupakan sel leukosit yang berperan penting dalam reaksi alergi jangka panjang, seperti asma, alergi kulit dan lain-lain. Basofil juga berperan pada respon kekebalan tubuh dalam reaksi hipersensitivitas. Basofil meningkat selama proses penyembuhan (Yayuningsih, 2018).

Basofil mempunyai granula bulat dengan ukuran bervariasi. Sel ini memiliki sifat basofilik atau tertarik terhadap basa. Pengecatan dengan pewarna dasar menyebabkan basofilik terlihat biru keunguan. Granula biasanya mengaburkan nucleus yang memiliki dua lobus (Tortora dan Derrickson dalan Rosita dkk, 2019).

# 3) Eosinofil

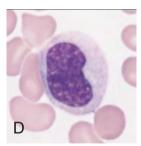


Gambar 5. Eosinofil

Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Eosinofil memiliki granula berukuran besar dan seragam. Eosinofil mempunyai ketertarikan kuat pada eosin atau bersifat eosinofilik (menyukai eosin). Eosin berwarna merah-oranye dan bersifat asam sehingga eosinofil akan terlihat kemerahan. Granula eosinofil biasanya tidak menutupi nukleus, sehingga nukleus tetap akan tampak. Eosinofil paling sering memiliki dua atau tiga lobus yang dihubungkan oleh untaian tipis material nukleus. Eosinofil berfungsi untuk pertahanan tubuh melawan infeksi parasit (Bain, 2019; Rosita, dkk., 2019)

#### 4) Monosit



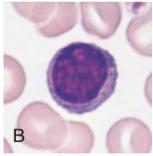
Gambar 6. Monosit

Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Monosit adalah sel leukosit yang memiliki ukuran paling besar jika dibandingkan dengan sel leukosit lain. Sel ini memiliki nukleus yang berlobus dan sitoplasma yang banyak. Monosit berada di sirkulasi darah selama 20-40 hari, kemudian masuk ke jaringan sebagai makrofag. Kemudian makrofag melakukan fagositosis dan membunuh mikroorganisme serta dapat memecah dan membersihkan sisa-sisa sel (Bain, 2019).

Monosit mempunyai nukleus berbentuk ginjal atau berbentuk tapal kuda disertai sitoplasma berwarna biru keabuabuan. Ukuran monosit rata-rata lebih besar dari sel leukosit lainnya, dua kali lebih besar dari eritrosit. Monosit mempunyai granula azurofilik (mengandung enzim lisozim dan peroksidase) yang sangat halus, granula ini sebenarnya adalah lisosom (Tortora dan Jenkins dalan Rosita dkk, 2019).

#### 5) Limfosit



Gambar 7. Limfosit

Sumber: (Koehane, E. M., 2020)

Limfosit merupakan sel leukosit yang memiliki nukleus berwarna biru tua keunguan dan berbentuk bulat. Sitoplasma nukleus berwarna biru langit dan membentuk lingkaran di sekitar nukleus. Semakin besar sel limfosit makan semakin banyak juga sitoplasma yang terlihat. Ukuran limfosit terbilang kecil jika dibandingkan dengan sel leukosit yang lain, yaitu limfosit kecil berdiameter 6-9  $\mu$ m dan limfosit besar berdiameter 10-14  $\mu$ m (Tortora dan Jenkins dalan Rosita dkk, 2019).

Limfosit adalah salah satu leukosit yang berperan dalam proses kekebalan dan pembentukan antibodi pada manusia. Limfosit secara umum dibedakan menjadi limfosit B dan limfosit T. Limfosit B merupakan limfosit yang mengalami maturasi dalam sumsum tulang, sedangkan limfosit T mengalami maturasi dalam timus. Peningkatan jumlah limfosit (limfositosis) terjadi pada infeksi kronis dan virus (Yayuningsih, 2018).

#### 3. Sediaan Apus Darah Tepi

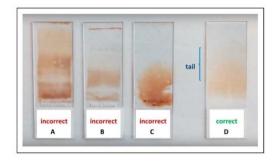
Sediaan apus darah tepi (SADT) merupakan pemeriksaan dengan teknik pemaparan sel-sel darah pada kaca objek sehingga menghasilkan sel-sel terpisah untuk digunakan dalam pengamatan mikroskop. Sediaan apus darah tepi menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan EDTA yang belum lama (kurang dari 1 jam) (Yayuningsih, 2018).

Sediaan apus darah tepi bertujuan untuk memudahkan pengamatan morfologi darah dan komponen lain dalam darah di bawah mikroskop. Melalui teknik ini masing-masing sel darah dapat dibedakan secara jelas, abnormalitas bentuk dan ukuran dapat teramati secara jelas

sehingga dapat dilaporkan kondisi masing-masing sel darah. Sediaan apus darah yang baik memiliki 3 bagian, yaitu kepala (tebal/sel menumpuk), badan (menipis dengan distribusi sel yang merata) dan ekor (semakin menipis dengan membentuk lidah). Sehingga, untuk mendapatkan mendapatkan SADT yang baik dibutuhkan kaca objek yang bersih, kering, jernih tanpa adanya lemak ataupun cairan yang lain (Maulidiyanti, 2024)

Menurut Yayuningsih (2018), terdapat beberapa kriteria yang harus dipenuhi agar mendapatkan preparat sediaan apus darah tepi yang baik, yaitu:

- a. Apusan memiliki ketebalan yang cukup (tidak terlalu tipis dan tidak terlalu tebal)
- Pada pengamatan mikroskopik, sel eritrosit tersebar secara merata dan tidak bertumpuk-tumpuk
- c. Panjang apusan 1/2 1/3 panjang kaca objek
- d. Tidak melebar sampai tepi kaca objek
- e. Membentuk seperti lidah api dengan bagian ekor yang menipis
- f. Bagian ekor tidak berbentuk "bendera robek"
- g. Apusan tidak berlubang-lubang dan tidak bergerigi (terputusputus)
- h. Terwarnai secara merata di seluruh bagian apusan.



Gambar 8. Kriteria SADT Baik dan Tidak Baik

Sumber: Zaninetti dan Greinacher, 2020.

Salah satu contoh sediaan apus darah tepi yang baik dan tidak baik dapat dilihat pada gambar 8. Preparat incorrect menandakan bahwa preparat SADT tersebut tidak sesuai kriteria (tidak baik). Preparat dengan keterangan correct menandakan bahwa preparat tersebut sesuai dengan kriteria preparate yang baik. Oleh karena itu, peneliti harus memiliki batasan-batasan yang memenuhi kriteria dalam pembuatan SADT yang baik.

## 4. Pewarnaan Giemsa

Pewarnaan Romanowsky dibedakan menjadi 4 metode, yaitu Leishman, May Grunwald, Wright dan Giemsa. Prinsip pewarnaan ini adalah mewarnai inti menjadi biru dan sitoplasma merah berdasarkan interaksi antara pewarna Eosin Y yang memiliki sifat asam dan Azure B yang memiliki sifat basa. Kedua pewarna tersebut saling bereaksi dan intensitas pewarnaan yang dihasilkan bergantung pada kandungan Azure B dan rasio Azure B: Eosin Y. Selanjutnya, pewarnaan yang dihasilkan dapat bervariasi tergantung pada pengaruh fiksasi, waktu pewarnaan dan pH larutan (Bain, 2015; Victoria et al., 2019).

Giemsa merupakan zat warna yang terdiri atas eosin, metilen azur yang memberi warna merah muda pada sitoplasma dan metilen biru yang memberikan warna biru pada inti sel leukosit. Ketiga zat warna ini dilarutkan dengan metil alkohol dan gliserin, campuran larutan ini dikenal sebagai larutan Giemsa stok dengan pH 6,8. Giemsa stok harus diencerkan terlebih dahulu sebelum dipakai untuk mewarnai sediaan.

Pengenceran Giemsa idealnya mempunyai pH sekitar 6,8 agar pewarnaan morfologi sel darah tidak terpengaruh. Larutan pengencer yang terlalu asam atau terlalu basa akan menimbulkan masalah pada pewarnaan morfologi sel darah. Larutan buffer berfungsi untuk mempertahankan keadaan pH saat sejumlah kecil basa atau asam ditambahkan ke dalam larutan. Giemsa dapat diencerkan dengan buffer dan aquadest yang dibuat dengan derajat keasaman 6,8 (Maulidiyanti, 2024).

## 5. Chamber Stain



Gambar 9. Chamber Stain

Sumber: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, 2024

Chamber stain merupakan alat bantu yang digunakan untuk mempermudah proses pewarnaan preparat sediaan apus darah.

Chamber stain terbuat dari plastic 3D printing dengan ukuran 10,5 x 8 x 10,5 cm, alat ini dapat menampung 46 preparat sekaligus dalam satu kali pewarnaan. Chamber stain terdiri dari 2 bagian, yaitu bagian atas sebagai penutup yang terdiri dari rak pengecatan dan bagian bawah sebagai wadah atau penampung pewarnaan.

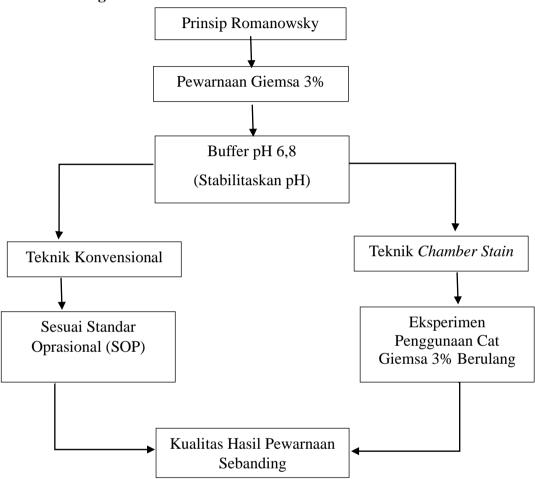
Keunggulan penggunaan *chamber stain* adalah kemampuan untuk mengurangi pemborosan pewarnaan dan mempersingkat waktu pewarnaan dibandingkan dengan metode konvensional yang cara kerjanya dengan menggenangi sediaan dengan zat warna satu per satu. *chamber stain* juga membantu menghasilkan preparat dengan hasil pewarnaan yang lebih merata. Keunggulan lain dari alat *chamber stain* adalah posisi preparat vertikal saat pewarnaan sehingga tidak ada endapan pewarna Giemsa. Oleh karena itu, Penggunaan *chamber stain* diharapkan dapat meningkatkan efisiensi volume pewarna yang digunakan serta proses pewarnaan menjadi lebih praktis dan singkat.

## 6. Efsiensi dan efektivitas

Efisiensi dan efektivitas adalah dua aspek penting untuk meningkatkan produktivitas dan memastikan kualitas hasil pemeriksaan. Efisiensi pada penelitian ini berkaitan dengan optimalisasi waktu, tenaga, dan sumber daya yang digunakan, sedangkan efektivitas merujuk pada pencapaian hasil yang sesuai dengan tujuan, seperti menghasilkan sediaan apus yang terwarnai dengan baik dan dapat diinterpretasi secara akurat. Oleh karena itu,

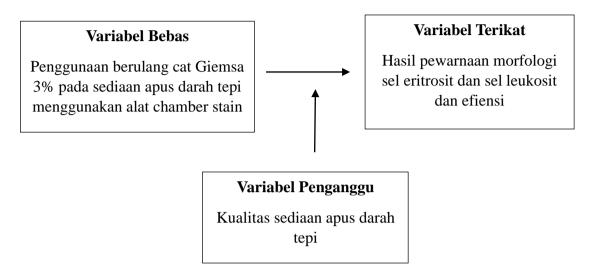
untuk mendapatkan hasil yang optimal maka digunakan alat pewarnaan yaitu *chamber stain*.

# B. Kerangka Teori



Gambar 10. Kerangka teori

# C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 11. Hubungan antar variabel

## D. Hipotesis Penelitian

Pewarnaan dengan *chamber stain* dapat meningkatkan efisiensi dan kualitas pewarnaan Giemsa 3% pada sediaan apus darah tepi dibandingkan metode konvensional.