

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Darah**

Cairan yang bersentuhan dengan hampir seluruh jaringan tubuh lain, terdiri dari dua komponen yaitu sel-sel dan plasma darah, didalam tubuh manusia volume darah kurang lebih sepertiga belas berat badan, pada orang dewasa sehat 4-5 liter, berfungsi sebagai sistem transportasi yang utama untuk mengangkut zat-zat yang diperlukan tubuh, membunuh kuman penyakit, pembekuan darah, menjaga suhu tubuh, serta mengatur keseimbangan asam dan basa untuk menghindari jaringan tubuh mengalami kerusakan, terdiri dari dua komponen yaitu plasma darah dan sel-sel darah (sel darah merah, sel darah putih, dan keping-keping darah) (Rupaka.I, 2008).

##### 2.1.1 Sel Darah Merah (eritrosit)

Berasal dari sel induk *pluripotensial*, dibentuk melalui proses pematangan yang terdiri atas beberapa tahap yaitu pembelahan dan perubahan mulai dari proeritroblas, sampai ortokromatik eritroblas, kemudian pembentukan eritrosit tidak berinti yang disebut retikulosit, fungsi utama dari sel ini adalah membawa oksigen dari paru-paru menuju jaringan tubuh dan transfer karbondioksida dari jaringan tubuh ke paru-paru. (Nurrachmat.H, 2005).

##### 2.1.2. Sel darah putih (leukosit)

Sel yang memiliki inti pada darah tepi dan sangat penting peranan utamanya untuk mempertahankan sistem kekebalan tubuh, secara khusus dibawa menuju ke daerah tubuh yang mengalami peradangan berat yang mengalami invasi dari

benda asing yang masuk kedalam tubuh dengan cara mengeliminasi, sehingga kelangsungan hidup suatu individu dapat terjaga karena adanya sel ini.

### 2.1.3. Keping-keping sel (trombosit)

Sel ini memiliki bentuk tidak beratur dan ukurannya yang lebih kecil bila dibandingkan sel darah putih dan merah, fungsi utama sel ini adalah untuk menjaga keutuhan vaskuler jika tubuh mengalami luka berdarah, keping-keping darahlah yang berfungsi membekukannya (Rupaka.I, 2008).

## 2.2 Leukosit

### 2.2.1 Morfologi

Disebut juga sel darah putih, yang mempunyai inti, didalam darah manusia, nilai normal jumlah leukosit berkisar 5000-9000 sel/mm<sup>3</sup>, apabila jumlahnya lebih dari 12000 sel/mm<sup>3</sup>, disebut leukositosis, dan apabila kurang dari 5000 sel/mm<sup>3</sup> disebut leukopenia. Mempunyai granula yang spesifik (*granulosit*), yang dalam keadaan hidup menyerupai tetesan setengah cair, dan juga bentuk inti yang bervariasi, tidak memiliki granula, sitoplasmanya homogen dengan inti bentuk bulat, terdapat dua jenis leukosit agranuler, limfosit sel kecil sitoplasma sedikit sedangkan monosit agak besar mengandung lebih banyak, Granula dianggap spesifik apabila terdapat dalam jenis leukosit tertentu dan pada sebagian besar ada pada pra zat nya, mempunyai peranan dalam pertahanan terhadap organisme atau zat-zat asing. Dalam proses diapedesis, dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel lalu menembus kedalam jaringan penyambung.

Dikelompokkan menjadi 2 yaitu Fagosit (*monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil*) dan non fagosit (*limfosit*), peningkatan yang melebihi batas normal

biasanya terjadi juga karena infeksi bakteri, ulkus atau leukemia, dilakukan agar dapat menunjukkan perkembangan suatu penyakit (Nurrachmat.H, 2005).

## 2.2.2. Jenis leukosit

### 2.2.2.1. Neutrofil

Ada dan berkembang didalam sum-sum tulang, dalam sirkulasi, merupakan 60 -70 % dari leukosit yang beredar, garis tengah sekitar 12 um, dan satu inti 2-5 lobus. Granulnya ada dua :

- 1) Azurofilik, yang didalamnya mengandung enzim lisozom dan peroksidase.
- 2) Spesifik, lebih kecil yang didalamnya mengandung fosfatase alkali dan zat-zat bakterisidal.

Jarang mengandung retikulum endoplasma granuler, sedikit mitokondria, apparatus Golgi rudimenter dan sedikit granula glikogen, merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi jasad renik, memfagosit partikel kecil secara aktif, adanya asam amino D oksidase dalam azurofilik penting dalam pencernaan dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Selama proses fagositosis dibentuk peroksidase. Mempunyai metabolisme yang sangat aktif sehingga mampu melakukan glikolisis, secara aerob maupun anaerob. Sangat menguntungkan apabila hidup dalam lingkungan anaerob, karena dapat membunuh bakteri dan membantu membersihkan debris pada jaringan nekrotik (Efendi.Z, 2003).

Leukosit merupakan sel terbanyak dalam sirkulasi darah, yang berperan sebagai penghancur patogen-patogen yang mengancam, melalui mekanisme oksidatif dan non oksidatif (Fitriyana.N, 2012).

#### 2.2.2.2. Eosinofil

Mempunyai garis tengah 9 um, intinya berlobus dua, apparatus golgi dan retikulum endoplasma kurang berkembang. bergerak secara amuboid, mampu melakukan fagositosis, dengan cara memfagositosis kompleks antigen dan antibodi, yang berfungsi proses selektif terhadap kompleks antigen dan antibodi, kandungan didalamnya yaitu profibrinolisin yang berguna untuk mencegah pembekuan darah, jumlah eosinofil didalam darah 1-4%.

#### 2.2.2.3. Basofil

Garis tengah 12 um, memiliki inti satu dan berbentuk besar yang memiliki bentuk seperti huruf S, punya sitoplasma besar yang berisi granul sehingga terkadang menutupi, jumlah basofil didalam darah 0-1% (Efendi.Z, 2003).

#### 2.2.2.4. Limfosit

Dalam sirkulasi darah yang normal dapat berukuran 10-12 um, mempunyai garis tengah 6-8 um, jumlah dalam keadaan normal sendiri berkisar 20-30%, memiliki sitoplasma akan tetapi jumlahnya sedikit, tanda-tanda molekuler pada permukaan membran sel nya. Terkadang terdapat yang berukuran besar hal itu mengindikasikan kelenjar getah bening, sehingga tampak darah dalam keadaan patologis, dalam darah normal jumlah limfosit 20-30%. Pembentukan terjadi didalam kelenjar limfa, dikelompokkan menjadi 2 jenis yaitu limfosit T dan B yang berperan sebagai antibodi, mampu bergerak seperti amoeba dan sifatnya fagosit.

#### 2.2.2.5. Monosit

Salah satu sel leukosit yang memiliki jumlah yang besar 3-8%, berdiameter 9-10 um, tergolong fagositik mononuklear, memiliki membran pada permukaan serta tempat reseptor yang berguna untuk komplemen dan imunoglobulin, beredar didalam aliran darah masuk kedalam dinding kapiler dan jaringan penyambung, memegang peranan penting dalam mengenalkan sel-sel *immunocompetent* dengan antigen (D'hiru, 2013).

#### 2.2.3. Metode Pemeriksaan Jumlah Leukosit

2.2.3.1. Manual (*microscopic*), lebih kepada pemeriksaan jumlah leukosit secara sederhana, dengan menggunakan pipet dan kamar hitung, dan menggunakan larutan turk sebagai pengencer, langkah-langkahnya meliputi :

Darah dihisap dengan menggunakan pipet garis tanda 0,5 tepat, tanda lebih darah pada ujung pipet dilakukan penghapusan kemudian ujung pipet dimasukan kedalam larutan turk, dipegang dengan sudut 45 derajat, larutan turk dihisap secara perlahan sampai tanda 11 diangkat kemudian ditutup ujung nya dengan jari lalu karet penghisap dilepaskan, dikocok selama 14-30 detik, lalu diletakkan dalam sikap horisontal dan bilik hitung ditaruh dengan kaca penutup terpasang mendatar diatas meja, pipet yang sudah diisi tadi dikocok selama 3 menit buang cairan di dalam pipet sebanyak 3-4 tetes, lalu sentuhkan ujung pipet secara cepat dengan menyinggung permukaanya, akan terisi cairan perlahan dengan gaya kapilaritas, biarkan sebentar agar leukosit mengendap. Penghitungan dengan perbesaran 10 x pada mikroskop (Gandosoebrata.R,2010).

### 2.2.3.2. Otomatis (*cell dyn 2600*)

Meliputi suatu penganalisis spesimen yang berisi perangkat keras untuk aspirasidilusi dan menganalisis setiap spesimen darah secara keseluruhan serta bagian modul data yang meliputi komputer, monitor, keyboard, printer dan disk drives. Menggunakan mode sampel terbuka untuk menghisap sampel darah dari tabung berisi antikoagulan yang kemudian dilarutkan dan dicampurkan sebelum pengukuran masing-masing parameter dilakukan. Merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter untuk pemeriksaan kuantitatif salah satunya WBC (*White Blood Cell* atau *leukosit*), sel tengah (*monosit, basofil, eosinofil*) (Dwi.D, 2013).

Alat ini diperlukan perawatan seperti membersihkan auto clean untuk membersihkan fibrin dan kotoran, jarum sampler, shear valve, dan fan filter, mengganti pompa peristaltik aspirasi, melakukan kalibrasi dengan menggunakan kalibrator komersial atau darah segar sesuai program penetapan mutu laboratorium, apabila tidak dilakukan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (Nurrachmat.H, 2005).

### 2.3. Antikoagulan

Zat atau larutan yang sering digunakan klinisi untuk pemeriksaan di laboratorium hematologi untuk mencegah pembekuan darah, dan berfungsi mempertahankan komponen selular dan morfologi sel darah agar tetap utuh sesuai bentuk dan jumlahnya (Nurrachmat.H, 2005).

#### 2.3.1. EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetat*)

Antikoagulan yang sering digunakan pada pemeriksaan hematologi, tergantung dari jenis garam, konsentrasi garam EDTA, dan lamanya penundaan pemeriksaan, sampai saat sekarang ini yang sering digunakan adalah Na<sub>2</sub> EDTA dalam bentuk serbuk (*konvensional*), pada pembuatan Na<sub>2</sub> EDTA menggunakan pipet pasteur, perlu ketepatan antara takaran volume EDTA dengan volume darah, apabila tidak tepat dapat mempengaruhi morfologi neutrofil, yang juga dapat mempengaruhi yaitu konsentrasi garam EDTA dan sediaan apus darah yang telah dibuat. (Diodoran Malau.E, 2006).

Keuntungan menggunakan EDTA yaitu berpengaruh terhadap besar dan bentuk eritrosit ,leukosit, mencegah trombosit menggumpal, lalu dapat digunakan pada berbagai macam pemeriksaan hematologi. Kerugian menggunakan EDTA adalah lambat larut karena sering dalam bentuk kering sehingga harus menggoncangkan dulu yang berisi EDTA dan darah selama 1-2 menit.

#### 2.3.2. Natrium Sitrat

Antikoagulan yang memiliki nilai konsentrasi 0.105-0.109 M (biasanya 3,2%), dengan rasio volume darah dengan antikoagulan 9:1, sitrat dalam kandungan larutan ini berfungsi menyingkirkan kalsium sehingga tidak terjadi proses

pembekuan darah, isotonis dengan darah artinya osmostis tekanannya sama dengan cairan pembanding, sehingga tidak berpengaruh dalam pengendapan erisosit. Keuntungan menggunakan Natrium Sitrat yaitu bersifat tidak toksis, sehingga sering digunakan dalam *unit transfuse* darah ACD (*Acid Citric Dextrose*), namun kerugiannya yaitu terbatas dalam pemeriksaan hematologi dan tidak bisa digunakan lagi apabila mengalami kekeruhan (Liswanti.Y, 2014).

Dewasa ini, sangat di rekomendasikan penggunaan tabung vacutainer oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Karena didalamnya sudah terisi antikoagulan yang stabilitasnya mendekati PH darah, sehingga perbandingan keduanya dapat dipertanggungjawabkan. Ada beberapa jenis, dibedakan berdasar warna tutup dan kegunaannya salah satunya vacutainer biru yang berisi antikoagulan (Natrium Sitrat) dan tabung vacutainer ungu yang berisi antikoagulan (EDTA) (King Wijaya.C, 2006).

#### 2.3.3. Tabung Vacutainer Biru, dilapisi oleh *double cover* yaitu :

Bagian luar mampu mampu mengurangi identifikasi platelet agar bagian dalam tidak menguap dan terjaga kevakumannya,.dirancang untuk tes koagulasi dan agregasi trombosit, berisi *sodium citrat (Biffer, 3,2%)* sesuai standar dengan rasio darah (Kurnianingsih.U, 2011).

#### 2.3.4. Tabung Vacutainer Ungu

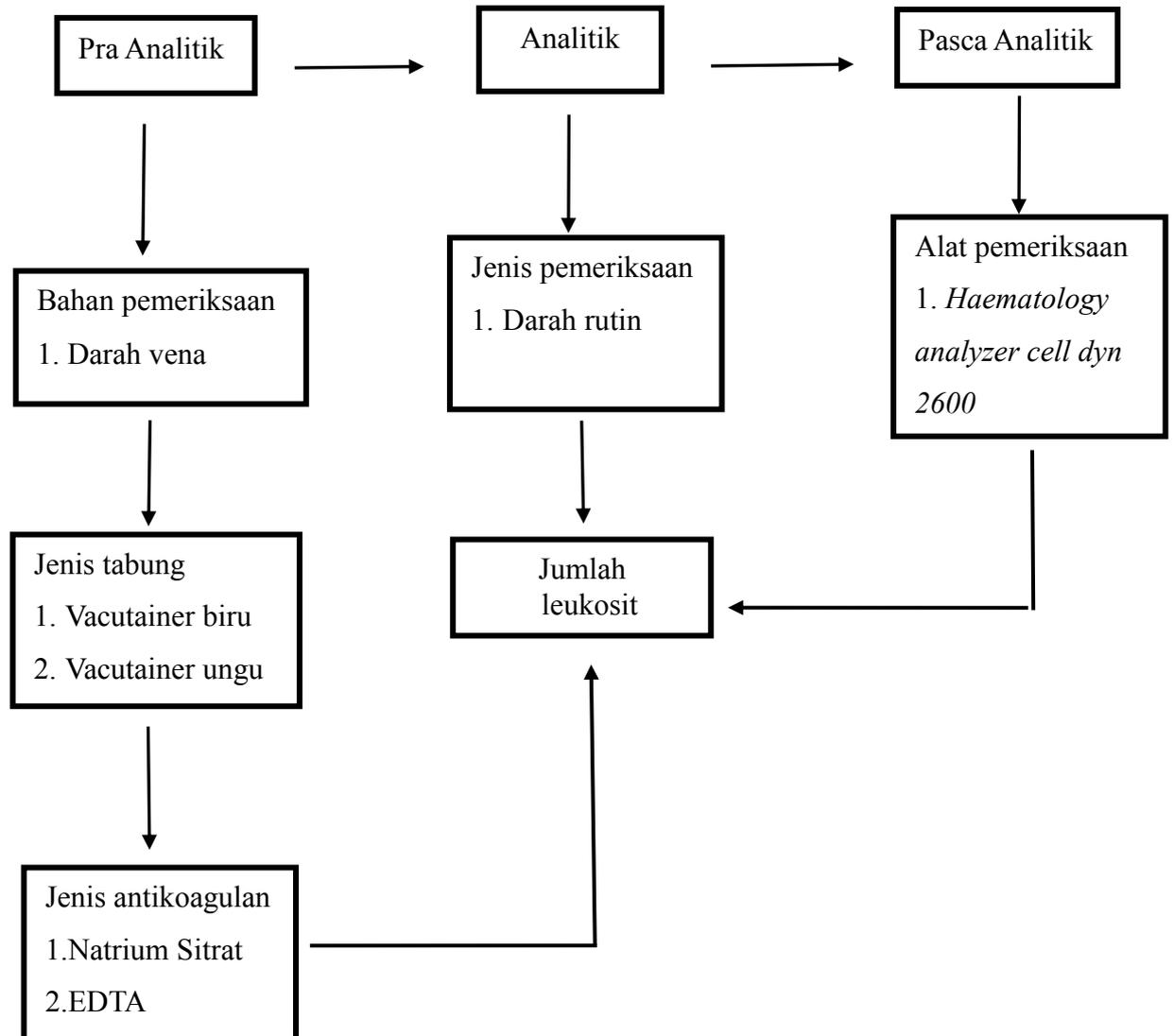
Bagian dalam mengandung antikoagulan EDTA dalam bentuk kalium  $K_3EDTA$  dengan 1,5 mg/ml, stabilitas darah lebih baik dari garam EDTA yang lain, karena mendekati PH darah dan di lapisi penguat sehingga memperpanjang waktu hidup dan metabolisme sel darah, dan tidak mempengaruhi besar bentuk

eritrosit dan leukosit, namun apabila melebihi dalam penggunaannya dapat menimbulkan jumlah trombosit rendah (Liswanti.Y, 2014).

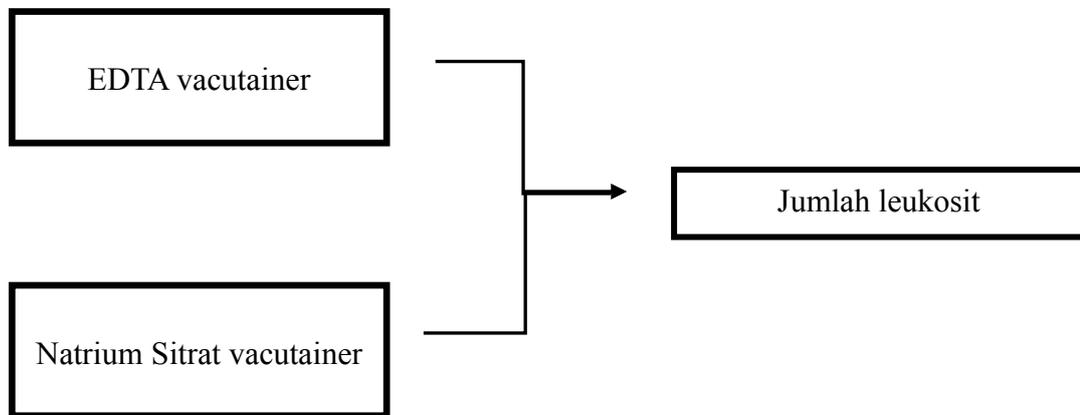
#### **2.4. Pengaruh Antikoagulan terhadap jumlah leukosit**

Penggunaan antikoagulan khususnya pada tabung vacutainer jika terjadi kekeruhan, atau bahkan keadaan tabung yang sudah rusak dapat mengakibatkan terjadinya aglutinasi (pembekuan darah), agregasi (perlekatan dengan sel darah lain), perubahan morfologi neutrofil seperti pembengkakan, hilangnya lobus neutrofil dan sel akan mengalami disintegrasi sehingga menyebabkan jumlah leukosit berbeda dengan jumlah yang seharusnya, hal ini dapat mengakibatkan saat identifikasi dengan alat analyzer menunjukkan hasil tinggi atau rendah palsu (Kurniawan.L 2014).

## 2.5. Kerangka Teori



## 2.6. Kerangka Konsep



## 2.7. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan jumlah leukosit pada tabung vacutainer biru (Natrium Sitrat) dan vacutainer ungu (EDTA) dengan metode analyzer.