

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Darah

2.1.1. Darah

Sistem hematologi tersusun atas darah dan tempat darah diproduksi, termasuk sumsum tulang dan nodus limpa. Darah adalah organ khusus yang berbeda dengan organ yang lain karena berbentuk cairan. Dalam keadaan fisiologik, darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen (*oxygen carrier*), mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan mekanisme hemostasis (Handayani, 2008).

2.1.2. Komponen Darah

Setiap orang rata-rata mempunyai kira-kira 70 mL darah setiap kilogram berat badan, atau kira-kira 3,5 L untuk orang dengan berat badan 50 kg. Sebanyak 50%-60% darah terdiri dari cairan, sisanya berupa sel-sel darah. Komponen cairan darah disebut plasma, yang mengandung 90% air, dan 10% sisanya adalah bahan-bahan yang terlarut, misalnya ion-ion, glukosa, asam amino, hormon, dan berbagai macam protein. Serum pada dasarnya juga sama dengan plasma, tetapi tidak mengandung fibrinogen (yang merupakan faktor koagulasi/ pembekuan darah). Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) yang terdiri dari beberapa jenis, dan trombosit (platelet) (Kiswari, 2014).

2.1.3. Fungsi Darah

Fungsi darah secara umum adalah:

- a. Mengangkut sari-sari makanan dari usus ke jaringan tubuh. Darah bekerja sebagai sistem pengangkutan (sirkulasi, distribusi dan transportasi) dari tubuh dan mengantarkan semua bahan kimia (mineral, vitamin, hormon, enzim, dll.), oksigen, dan zat makanan, nutrisi atau gizi yang dibutuhkan sel dan jaringan untuk melakukan aktivitas fisiologis serta membuang karbondioksida serta hasil pembuangan sisa metabolisme dan lainnya ke luar tubuh.
- b. Sel darah merah (eritrosit) mengantarkan oksigen (O_2) dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida (CO_2) dari jaringan tubuh menuju ke paru-paru.
- c. Sel darah putih (leukosit) menyediakan banyak tipe sebagai pelindung, misalnya beberapa tipe yang fagositik untuk melindungi tubuh terhadap serangan kuman dengan cara memangsa, melawan infeksi dengan antibodi, dsb.
- d. Pengantar energi panas dari tempat aktif ke tempat yang tidak aktif untuk menjaga suhu tubuh atau sebagai respons pengaktifan sistem imunitas.
- e. Mengedarkan air ke seluruh tubuh dan menjaga stabilitasnya.
- f. Mengedarkan hormon (dari kelenjar endokrin), enzim dan zat aktif ke seluruh tubuh.
- g. Trombosit berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari pendarahan masif yang diakibatkan luka atau trauma (D'Hiru, 2013).

2.2. Eritrosit

Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbon dioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke paru. Eritrosit tidak mempunyai inti sel, tetapi mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen. Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 8-9 μ . Bentuk bikonkaf tersebut menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil dengan lebih baik. Melalui mikroskop, eritrosit tampak bulat, berwarna merah, dan bagian tengahnya tampak lebih pucat, disebut *central pallour* yang diameternya kira-kira sepertiga dari keseluruhan diameter eritrosit.

Eritrosit berjumlah paling banyak dibanding 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 dalam satuan gram per desiliter (g/dL), mengukur perbandingan volume eritrosit dengan volume darah (hematokrit), dan menghitung jumlah eritrosit. Untuk mengetahui ukuran eritrosit diperoleh dengan cara menghitung volume eritrosit rata-rata (*mean corpuscular volume*, MCV) atau yang merupakan hasil dari hematokrit dibagi dengan jumlah eritrosit, satuannya adalah femtoliter (fL), nilai normalnya adalah 80-100 fL. Bila nilai MCV kurang dari 80 fL disebut mikrositik, sebaliknya bila lebih dari 100 fL disebut makrositik. Umur eritrosit kira-kira 120 hari, sehingga kira-kira setiap hari, 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru (Kiswari, 2014).

2.2.1. Tahapan Perkembangan Eritrosit

Perkembangan eritrosit terdiri dari enam tahap, yaitu:

a. Rubriblast (Pronormoblast)

Rubriblast atau pronormoblast memiliki diameter keseluruhan 12-17 μm . Perbandingan antara inti : sitoplasma (N : C) adalah 4 : 1. Inti mungkin berisi 2 anak inti atau tidak ada, biasanya lebih gelap dan memiliki pola kromatin yang jelas. Sitoplasma berwarna biru khas (basofilik), warna biru menunjukkan aktivitas RNA yang dibutuhkan untuk menghasilkan protein dalam sintesis hemoglobin.

b. Prorubrisit (Normoblast Basofilik)

Tahap kedua, prorubrisit atau normoblast basofilik, memiliki diameter sel keseluruhan 12-17 μm dan hanya sedikit lebih kecil dari rubriblast. Perbandingan N : C tetap tinggi (4 : 1), namun tahap ini menunjukkan meningkatnya bukti kematangan morfologi. Kromatin inti menjadi lebih padat. Anak inti biasanya kurang jelas. Sitoplasma semakin basofilik dengan pewarnaan Wright. Adanya pewarnaan merah muda menunjukkan bukti sel ini mulai membentuk hemoglobin.

c. Rubrisit (Normoblast Polikromatik)

Hemoglobin terdeteksi untuk pertama kali dalam tahap rubrisit atau normoblast polikromatik. Pada tahap ini, ukuran sel secara keseluruhan menurun menjadi 11-15 μm , lebih kecil dari tahap prorubrisit. Pematangan juga ditunjukkan oleh menurunnya perbandingan N : C menjadi 1 : 1. Kromatin terus menjadi

semakin padat. Sitoplasma sel pada tahap ini menunjukkan jumlah bervariasi dari warna merah muda bercampur biru.

d. Metarubrisit (Normoblast Ortokromik)

Rubrisit berkembang menjadi metarubrisit atau normoblast ortokromik. Sel secara keseluruhan menjadi lebih kecil (8-12 μ l). Pola kromatin digambarkan sebagai piknotik (padat atau kompak). Pada periode selanjutnya dari tahap ini, inti akan mengalami detruksi sel. Sitoplasma metarubrisit berwarna merah muda (asidofilik). Warna ini menunjukkan adanya hemoglobin dalam jumlah lebih banyak.

e. Retikulosit

Bagian dari tahapan ini terjadi di sumsum tulang, dan bagian akhir berlangsung di dalam sirkulasi darah. Sel ini menunjukkan penampilan karakteristik retikular yang disebabkan oleh sisa RNA dengan pewarnaan supravital, misalnya *new methylene blue*. Dengan pewarnaan Wright, retikulosit muda dengan jumlah memiliki sisa RNA yang tinggi akan tampak berwarna biru, yang disebut sebagai polikromatofilia. Diameter retikulosit berkisar 7-10 μ m. Sel ini tidak berinti.

f. Eritrosit dewasa

Setelah tahap retikulosit, terbentuklah eritrosit matang. Sel ini memiliki diameter rata-rata 6-8 μ m. Umur eritrosit dapat ditentukan dengan menggunakan radioaktif kromium (^{51}Cr). Umur eritrosit yang memendek terjadi pada anemia hemolitik (Kiswari, 2014).

2.2.2. Penurunan dan Peningkatan Jumlah Eritrosit

a. Penurunan Jumlah Eritrosit

Penurunan jumlah eritrosit dapat dijumpai pada anemia, peningkatan hemolisis, kehilangan darah (pendarahan), trauma, leukemia, infeksi kronis, myeloma multiple, cairan per intra vena berlebih, gagal ginjal kronis, kehamilan, dehidrasi berlebihan, defisiensi vitamin, malnutrisi, infeksi parasit, penyakit sistem endokrin, intoksikasi.

b. Peningkatan Jumlah Eritrosit

Peningkatan jumlah eritrosit dijumpai pada polisitemia vera, hemokonsentrasi/dehidrasi, dataran tinggi, penyakit kardiovaskuler (Riswanto, 2013).

2.3. Pemeriksaan Jumlah Eritrosit

Menghitung jumlah eritrosit dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu manual dan elektronik (otomatis). Cara manual dilakukan seperti hitung leukosit, yaitu menggunakan bilik hitung dan mikroskop. Namun hitung eritrosit lebih sukar daripada hitung leukosit. Orang yang telah berpengalaman saja memiliki kesalahan yang cukup besar dalam menghitung, eritrosit yaitu 11-30% (rata-rata sekitar 20%), apalagi orang yang belum berpengalaman atau kerjanya kurang teliti. Menghitung jumlah eritrosit secara manual sangat jarang dilakukan karena ketelitiannya rendah (Riswanto, 2013).

2.3.1. Metode Manual

Cara menghitung sel darah merah secara manual dilakukan dengan memakai pipet dan kamar hitung yang disebut dengan haemositometer. Prinsip pemeriksaan metode manual dengan bilik hitung yaitu darah diencerkan dalam pipet eritrosit,

kemudian dimasukkan kedalam kamar hitung. Jumlah eritrosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi jumlah eritrosit per μL darah dapat diperhitungkan. Sebagai larutan pengencer dipakai larutan Hayem.

Cara menghitungnya, pengenceran dalam pipet eritrosit ialah 200 kali. Luas tiap bidang kecil $1/400 \text{ mm}^2$, tinggi kamar hitung $1/10 \text{ mm}^2$, sedangkan eritrosit dihitung dalam 5×16 bidang kecil = 80 bidang kecil, yang jumlah luasnya $1/5 \text{ mm}^2$. Faktor untuk mendapat jumlah eritrosit per μL darah menjadi $5 \times 10 \times 200 = 10.000$ (Gandasoebrata, 2013).

2.3.2. Metode Automatik

Pemeriksaan nilai Hitung Jumlah Eritrosit metode otomatis menggunakan alat *Hematology Analyzer*. Prinsip dari alat ini adalah pengukuran dan penyerapan sinar akibat interaksi sinar yang mempunyai panjang gelombang tertentu dengan larutan atau sampel yang dilewatinya. Alat ini bekerja berdasarkan prinsip *flow cytometer*, yaitu metode pengukuran jumlah dan sifat-sifat sel yang dibungkus oleh aliran cairan melalui celah sempit. Ribuan sel dialirkan melalui celah tersebut sedemikian rupa sehingga sel dapat lewat satu per satu, kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel dan ukurannya.

Prinsip impedansi listrik berdasarkan pada variasi impedansi yang dihasilkan oleh sel-sel darah di dalam *mikrooperture* (celah chamber mikro). Yang mana sampel darah yang diencerkan akan melalui *mikrooperture* yang dipasang dua elektroda pada dua sisinya (sisi sekum dan konstan) yang pada masing-masing arus listrik berjalan secara *continue* maka akan terjadi peningkatan resistensi listrik (impedansi) pada kedua elektroda sesuai dengan volume sel (ukuran sel)

yang melewati impuls / voltage yang dihasilkan oleh *amplifier circuit* ditingkatkan dan dianalisa oleh *elektronik system* (Sandika, 2014).

2.3.3. Nilai Normal Hitung Jumlah Eritrosit

Nilai normal: Dewasa pria	: 4,50-6,50 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)
Dewasa wanita	: 3,80-4,80 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)
Bayi baru lahir	: 4,30-6,30 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)
Anak usia 1-3 tahun	: 3,60-5,20 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)
Anak usia 4-5 tahun	: 3,70-5,70 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)
Anak usia 6-10 tahun	: 3,80-5,80 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)

2.4. Peralatan Pengambilan Darah

2.4.1. Alat Suntik (*Syringe*)

Alat suntik adalah sebuah pompa piston sederhana yang terdiri dari sebuah tabung silinder (*graduated barrel*) berskala dalam milimeter (ml) atau *cubic centimeters* (cc), pendorong (*plugger*) dan jarum.

Jarum yang digunakan adalah jarum hipodermik dengan berbagai ukuran, mulai dari ukuran terbesar sampai dengan ukuran terkecil, yaitu 20G, 21G, 22G, 23G, 24G dan 25G.

Pengambilan darah dengan suntikan ini baik dilakukan pada pasien usia lanjut dan pasien dengan vena yang tidak dapat diandalkan (rapuh atau kecil). Pengambilan dengan *syringe* masih banyak digunakan dalam praktek pelayanan kesehatan dan pelayanan laboratorium di Indonesia.

2.4.2. Jarum

Jarum yang digunakan untuk pengambilan sampel darah vena ada tiga macam, yaitu jarum hipodermik (*hypodermic needles*), jarum multisample (*multisample needles*) dan jarum bersayap/ jarum kupu-kupu (*winged infusion/ butterfly needles*).

Ukuran jarum (gauge) adalah angka yang berhubungan dengan diameter lumen (ruang internal) atau “lubang” jarum. Meskipun darah biasanya mengalir lebih cepat melalui jarum berdiameter besar, ukuran jarum dipilih sesuai dengan ukuran dan kondisi vena pasien, jenis prosedur dan peralatan yang digunakan. Jarum yang tepat untuk pengumpulan spesimen darah yang paling sering digunakan untuk pengujian laboratorium adalah ukuran 20 sampai 23, namun jarum ukuran 21 dianggap standar untuk situasi yang paling rutin proses pengambilan darah orang dewasa. Jarum berukuran 24 atau 25 digunakan untuk pasien anak-anak.

Penting untuk pemilihan ukuran jarum yang sesuai dengan kondisi vena. Sebuah jarum yang terlalu besar dapat merusak pembuluh darah dan jarum yang terlalu kecil mungkin menimbulkan hemolisis (kerusakan eritrosit, menyebabkan pelepasan hemoglobin ke dalam serum atau plasma) spesimen.

2.4.3. Tabung Vacutainer K3EDTA

Vacutainer adalah tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik, apabila dilekatkan pada jarum, darah akan mengalir masuk ke dalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai. Tabung *vacutainer* yang berisi antikoagulan K3EDTA telah direkomendasi oleh

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) untuk pemeriksaan hematologi, karena mempunyai stabilitas yang lebih baik dari EDTA lain dan mempunyai pH mendekati pH darah. Tabung ini pertama kali diciptakan oleh Joseph Kleiner pada tahun 1947, kemudian diproduksi secara masal oleh perusahaan Becton Dickinson (Charles, 2003).

Warna tutup tabung *vacutainer* digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium

1. Tabung tutup merah, tanpa penambahan antikoagulan, darah akan menjadi beku dan serum dipisahkan dengan pemusingan. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, serologi dan bank darah (*crossmatching test*).
2. Tabung tutup kuning, berisi gel separator (*serum separator tube/SST*) yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi.
3. Tabung tutup hijau terang, berisi gel separator (*plasma separator tube/PST*) dengan antikoagulan lithium heparin. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah.
4. Tabung tutup ungu atau lavender, berisi EDTA. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (*crossmatch*).
5. Tabung tutup biru, berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi (misal PPT, APTT).
6. Tabung tutup hijau, berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit, kimia darah.

7. Tabung tutup biru gelap, berisi EDTA yang bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan trace element (*zink, copper, mercury*) dan toksikologi.
8. Tabung tutup abu-abu terang, berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa.
9. Tabung tutup hitam, berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan LED (ESR).
10. Tabung tutup pink, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi.
11. Tabung tutup putih, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan molekuler/ PCR dan DNA.
12. Tabung tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas, berisi media biakan, digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi-aerob, anaerob dan jamur (Riswanto, 2013).

Penggunaan *vacutainer* lebih menguntungkan karena tidak perlu membagi sampel darah ke dalam beberapa tabung, cukup dengan sekali penusukan dapat digunakan untuk beberapa tabung secara bergantian sesuai jenis pemeriksaan yang akan dilakukan. Untuk uji biakan kuman, cara ini lebih baik untuk mencegah kontaminasi karena darah langsung mengalir ke media biakan.

Vacutainer EDTA digunakan untuk pengujian parameter dalam hematologi. Permukaan Tabung bagian dalam tabung dilapisi *Spray Dried K2EDTA* (dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid) atau *K3EDTA* (tripotassium ethylene diamine tetra acetic acid). Tabung *vacutainer* *K3EDTA* menunjukkan

secara substansial setara dengan kinerja tabung *vacutainer* K2EDTA dan tidak ada perbedaan yang signifikan secara klinis antara keduanya (Gruber,2005).

2.4.4. Tourniquet

Tali pembendung (*tourniquet*) adalah tali yang terbuat dari bahan latex/ karet atau vynil yang elastic dan digunakan sebagai pembendung aliran darah vena. *Tourniquet* ini dipasang di lengan sebelum dilakukan pengambilan sampel darah. Pemasangan *tourniquet* yang tepat memungkinkan aliran darah arteri ke daerah bawah *tourniquet* tetap berlangsung, tetapi menghalangi aliran darah vena di daerah tersebut. Hal ini menyebabkan pembuluh darah membesar sehingga lebih mempermudah untuk menemukan vena dan menusuknya dengan jarum.

Obstruksi aliran darah dapat mengubah komponen darah jika *tourniquet* dibiarkan di tempat selama lebih dari 1 menit. Pembebatan yang lama dapat menyebabkan perpindahan cairan dari pembuluh darah ke jaringan, dampaknya adalah hemokonsentrasi serta mengakibatkan hasil uji yang salah. Untuk itu *tourniquet* harus mudah dipasang, dikencangkan, dan mudah dilepaskan dengan satu tangan selama prosedur pengambilan darah atau dalam situasi darurat seperti ketika pasien mulai pingsan atau jarum tanpa sengaja mengenai punggung lengan selama pengambilan darah (Riswanto, 2013).

2.5. Pengaruh Bahan Pemeriksaan, Alat, Reagen dan Pemeriksa Terhadap Pemeriksaan Jumlah Eritrosit

2.5.1. Bahan Pemeriksaan

Pemeriksaan jumlah eritrosit dapat menggunakan darah vena maupun darah kapiler. Pemeriksian dengan darah kapiler memberikan hasil lebih rendah

dibandingkan darah vena. Pemeriksaan jumlah eritrosit dengan darah kapiler menggunakan alat automatic diperlukan darah kapiler sebanyak 180 μ l.

2.5.2. Alat

Alat pemeriksaa bila tidak dilakukan perawatan secara rutin dengan melakukan perawatan secara rutin maupun kalibrasi maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit menjadi lebih tinggi atau rendah. Kalibrasi hendaknya diperiksa secara teratur dengan menggunakan program pemantapan mutu yang biasa dilakukan setiap laboratorium, sesuai dengan persyaratan laboratorium yang baik, verifikasi yang mencakup *quality control* harian pada setiap *shift* dan juga pada perubahan nomor lot reagen.

2.5.3. Antikoagulan

Dalam pemakaian antikoagulan perbandingan antara antikoagulan dan volume darah tidak boleh kurang maupun lebih karena kekurangan antikoagulan yang berlebihan akan menyebabkan darah membeku dan pemakaian antikoagulan yang berlebihan akan menyebabkan eritrosit mengerut.

2.5.4. Pemeriksa

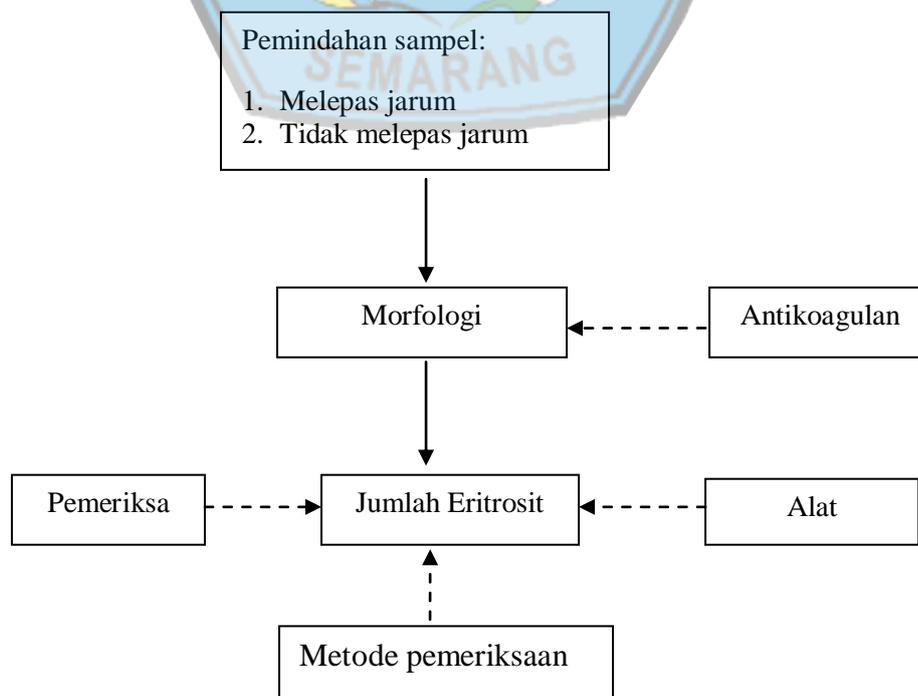
Faktor pemeriksa juga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, bila sampel tidak dicampur/dikocok dengan benar sebeum sampel diperiksa atau pada saat sampel sampel dihisap oleh penghisap sampel tidak sampai dasar tabung sampel atau hanya pada permukaan tabung sampel, maka hasil pemeriksaan jumlah eritrosit menjadi rendah. Hal ini memerlukan pemeriksa yang berpengalaman dan terlatih (ABBOTT Diagnostic).

2.6. Hubungan Jumlah Eritrosit Terhadap Pemindahan Darah dengan Melepas Jarum dan Tidak

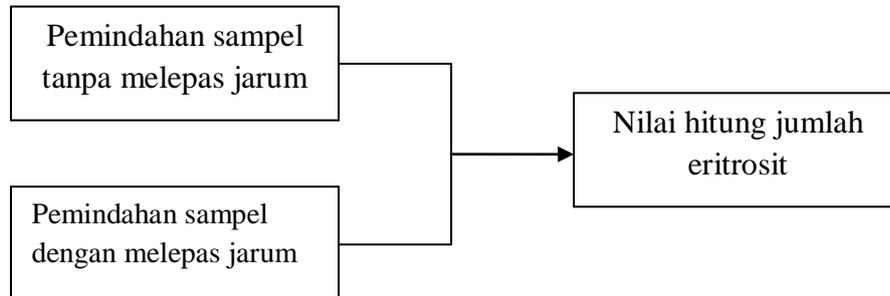
Darah dari spuit/ *syringe* dimasukkan ke dalam tabung dengan cara melepas jarum lalu mengalirkan darah perlahan-lahan melalui dinding tabung. Memasukkan darah dengan cara disemprotkan, apalagi tanpa melepas jarum, dapat berpotensi menyebabkan hemolisis, karena sel-sel darah melewati jarum yang relatif sempit (Riswanto, 2013).

Sel-sel darah yang mengalami lisis akan mempengaruhi pemeriksaan jumlah eritrosit dengan menggunakan *Hematology Analyzer*. *Hematology Analyzer* menggunakan metode pengukuran sel atau *Volume Impedance* menilai berdasarkan ukuran. Bila eritrosit mengalami perubahan ukuran maka akan terbaca sebagai trombosit, oleh karena itu akan mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit.

2.7. Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



2.9. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ada perbedaan hasil jumlah eritrosit antara pemindahan sampel dengan melepas jarum dan tidak pada tabung *vacutainer* K3EDTA.

