BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Leukemia

2.1.1 Pengertian Leukemia

Leukemia merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan proliferasi dini yang berlebihan dari sel darah putih. Leukemia juga biasa didefinisikan sebagai keganasan hematologis akibat proses neoplastik yang disertai gangguan diferensiasi pada berbagai tingkatan sel induk hematopoietik (Handayani & Haribowo. 2008). Leukemia (kanker darah) suatu jenis penyakit kanker yang menyerang sel-sel darah putih yang diproduksi oleh sumsum tulang. Pada tubuh manusia terdapat sumsum tulang yang memproduksi tiga tipe sel darah diantaranya sel darah putih (lekosit), sel darah merah (eritrosit),dan platelet atau keping darah (Sihombing & Ayub. 2015).

2.1.2 Klasifikasi Leukemia

Penggolongan utama di bagi menjadi empat tipe leukemia akut dan kronik, yang lebih lanjut dibagi menjadi limfoid dan mieloid. Leukemia akut biasanya merupakan penyakit yang bersifat agresif, dengan transformasi ganas yang menyebabkan terjadinya akumulasi progenitor hemopoetik sumsum tulang dini, disebut sel blas. Gambaran klinis dominan dari penyakit ini biasanya adalah kegagalan sumsum tulang yang disebabkan akumulasi sel blas walaupun juga terjadi infiltrasi jaringan. Apabila tidak di obati, penyakit ini biasanya cepat bersifat fatal, tetapi secara paradoks, lebih mudah diobati dibandingkan leukemia kronik (Hoffbrand & Pettit. 2006).

repository.unimus.ac.id

Menurut klasifikasi FAB (*French-American-British*) AML dibagi menjadi enam jenis yaitu :

M1 : Leukemia mieloblastik tampa pematangan.

M2 : Leukemia mieloblastik dengan berbagai derajat pematangan.

M3 : Leukemia promielositik hipergranula.

M4 : Leukemia mielomonositik.

M5 : Leukemia monoblastik.

M6 : Eritroleukemia (Handayani.,& Haribowo. 2008).

2.2 Diagnosis Laboratorium Leukemia

Diagnosis leukemia akut harus dibuat berdasarkan hasil pemeriksaan sumsum tulang. Pemeriksaan darah tepi yang normal tidak dapat menyingkirkan kemungkinan diagnosis, terutama pada leukemia. Tahapan diagnosis leukemia akut :

1. Tentukan adanya leukemia akut

a. Klinis

i. Adanya gejala gagal sumsum tulang : anemia, perdarahan, dan infeksi, sering disertai tanda-tanda hiperkatabolik.

ii. Sering dijumpai organomegali : limfeadenopati, hepatomegali, atau splenomegali.

2. Darah tepi dan sumsum tulang

i. Blast dalam darah tepi lebih dari 5%

ii. Blast dalam sumsum tulang lebih dari 30%

repository.unimus.ac.id

Dari kedua pemeriksaan di atas kita dapat membuat diagnosis klinis leukemia akut.

3. Tentukan jenisnya dengan pengecatan sitokimia ditentukan klasifikasi FAB. Jika terdapat fasilitas, dilakukan.
   i. Immunophenotyping
   ii. Pemeriksaan sitogenetika (kromosom)

Dengan langkah-langkah di atas akan ditegakkan diagnosis leukemia akut serta klasifikasi morfologi maupun imunologiknya dan ditentukan status prognostiknya (Bakta. 2013).

2.3 Pengecatan Sitokimia

Dengan menggunakan prinsif reaksi biokimia maka raegensia/pereaksi tertentu yang dipergunakan dalam teknik pengecatan sel darah ini dapat mendeteksi adanya enzim spesifik atau bahan produk intraseluler yang terdapat dalam eritrosit, lekosit dan trombosit. Hasil reaksi biokimia yang berupa endapan berwarna : difus, granuler atau merupakan benda inklusi berbeda secara kualitatif (khas) dalam masing-masing individu sel darah dan dapat secara kuantitatif (gradual) sesuai tingkat maturasinya dalam satu sistim/seri sel darah tertentu.

2.3.1 Macam-Macam Pengecatan Sitokimia

Seperti telah dijelaskan diatas, pengecatan sitokimia dapat dilakukan baik terhadap eritrosit, lekosit maupun trombosit. Pengecatan terhadap eritrosit dilakukan untuk membantu membedakan serta menentukan berbagai jenis anemi, sedangkan terhadap lekosit terutama untuk kepentingan diagnosis lekemi akut dan

repository.unimus.ac.id

terhadap trombosit bila diperlukan pada kasus khusus yang mengenai megakariosit.

Untuk keperluan diagnostik lekemi akut serta berdasarkan apa yang dapat ditentukannya, pengecatan sitokimia untuk leukosit dibagi menjadi dua bagian besar yaitu :

1. Enzimatik :
   - Peroksidase
   - Esterase
   - Phosphatase
   - Beta-glucuronidase
   - Aryl sulfatase
2. Non enzimatik :
   - Sudan black B
   - Periodic acid schiff (PAS)
   - Oil red O
   - Methyl green pyronine.

Pengecatan sitokimia untuk eritrosit dipakai untuk mendeteksi adanya *free iron,* derivat hemoglobin dan enzim metabolik/sitoplasmik tertentu didalam eritrosit, sedangkan terhadap trombosit pengecatan sitokimia dipakai untuk mendeteksi platelet peroxidase reaction yang terdapat didalam retikulum endoplasmik dan membran inti megakariosit muda atau yang sudah matur (Hariman. 1998).

repository.unimus.ac.id

2.3.2 Pengecatan Giemsa

Zat pulas giemsa biasanya dibeli dalam keadaan larut. Jika hendak membuatnya sendiri, digunakan reagensia yang khusus dibuat untuk hematologi dan bahan – bahan lain yang murni.

Susunan larutan giemza ialah azur II – eosin 3,0 g, azur II 0,8 g, glycerin 250 ml, metil alkohol 250 ml. Sebelum dipakai, larutan pokok ini harus diencerkan 20 kali dengan penyanggah pH 6,0 (atau dengan aquadest pH 6,4) : 1 tetes giemsa pokok untuk tiap 1 ml penyanggah. Zat pulas giemsa yang telah diencerkan tidak tahan lebih lama dari satu hari (Gandasoebrata.2013).

2.3.3 Pengecatan Peroxidasa

Adakalanya membedakan jenis leukosit menemui kesukaran, terutama jika menghadapi sel muda atau yang abnormal. Dalam keadaan itu dapat dikatakan granula dalam sel jajaran granulosit dan monosit mengandung peroxidasa, sedangkan sel jajaran limfosit tidak. Salah satu yang sering dipakai untuk membedakan sel jajaran granulosit dan monosit dari jajaran limfosit atas dasar ada atau tidaknya peroxidasa ialah pulasan menurut sato dan sekiya. Pengecatan itu diperlukan tiga macam larutan : larutan kuprisulfat, benzidine, safranin (Gandasoebrata.2013).

2.3.4 Pengecatan PAS

Pulasan ini sangat berguna untuk mengenali sel-sel dalam jajaran limfosit yang mengandung glikogen. Reaksi yang terjadi adalah oksidasi glikogen oleh asam periodat (*periodic acid)* menjadi aldehida, kemudian aldehida bereaksi dengan reagen schiff dengan menyusun warna merah. Singkatan PAS umum

repository.unimus.ac.id

dipakai sebagai singkatan *periodic acid-schiff*. Larutan yang diggunakan dalam pewarnaan ini adalah larutan asam periodat, reagen schiff, dan hematoxylin sebagai larutan tanding (Gandasoebrata. 2013).

2.3.5 Pengecatan LAP

Adanya enzim ini dalam granula dan sitoplasma sel-sel jajaran granulosit dapat dipergunakan untuk membedakan dari leukosit-leukosit jajaran lain. Hasil pulasan ini juga dapat memberi petunjuk dalam membedakan leukositosis oleh leukemia granulositik kronik dari leukositosis oleh sebab-sebab lain.

Darah untuk membuat sediaan apus sebaiknya darah kapiler, darah vena dengan antikoagulasi heparin atau oxalat seimbang dapat dipakai juga, asal saja sediaan apus dibuat segera setelah venapungsi. Darah EDTA tidak boleh dipakai karena EDTA mengganggu pulasan terhadap fosfatasa alkalis (Gandasoebrata. 2007).

2.3.6 Lepehne

Lepehne akan memberikan warna hijau terang pada sitoplasma seri eritrosit, reagen lepehne yang terdiri dari larutan benzidine 0,6% dalam ethanol 96% sebanyak 2 ml. Kemudian 0,5 ml perhidrol 30% dalam 4,5 ml ethanol 70%, metanol, giemsa sebagai larutan kerja.

2.3.7 Pengecatan Sudan Black B

Dasar pewarnaan sudan *black* B adalah pewarnaan lemak. Pewarnaan ini dipakai untuk mewarnai granula neutrofil karena membran granula neutrofil mengandung fosfolipid. Ada korelasi antara sudanofilia dengan aktivitas mieloperoksidase, mungkin hal ini disebabkan oleh pewarnaan lemak pada

repository.unimus.ac.id

granula oleh *sudan black B* sedangkan mieloperoksidase terdapat di dalam granula, atau zat warna itu bereaksi melalui aktivitas enzim.

Kedua reaksi positif pada seri mieloid matang dan muda. Jadi dapat dipakai untuk diagnosis banding leukemia. Reaksi positif terdapat pada leukemia mielositik akut, pada sel monosit dan monoblast leukemia tipe M4 dan M5 (Kresno. 1988).

2.3.7.1 Pra-Analitik

1. Persiapan pasien tidak ada persiapan khusus

2. Persiapan sampel sediaan yang sudah dikeringkan sebaiknya segera diperiksa

3. Prinsif zat warna sbb secara fisik dan enzimatik (melalui enzim MPO) memberikan warna hitam pada membran granula leukosit yang mengandung lipid.

4. Alat dan bahan :

A. Sediaan apus darah tepi dan aspirasi sumsum tulang

B. Untuk fiksasi menggunkan uap formaldehida

C. Larutan sudan *black* b

D. Larutan buffer.

2.3.7.2 Analitik

1. Cara kerja

A. Sediaan apus difiksasi selama 10 menit dalam cawan petri tertutup

B. Genangi dengan pereaksi selama 30 menit

C. Bilas dengan etanol absolut selama 2 – 3 menit

D. Bilas dengan air mengalir selama 2 menit

E. Counter stain selama 5 menit.

repository.unimus.ac.id

2. Nilai rujukan

Reaksi positif jika terdapat warna hitam pada granula yang mengandung lipid dalam sitoplasma sel (Hardjoeno. 2003).

2.4 Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Pewarnaan Sudan Black B

a. Waktu pewarnaan dan fiksasi

b. Konsentrasi zat warna dan kebersihan sediaan

c. Perbandingan pembuatan reagen yang tidak tepat

d. Kualitas reagen.

2.5 Fiksasi

Dalam pembuatan sediaan apus darah tepi harus dilakukan fiksasi, fiksasi merupakan langkah yang sangat penting untuk mendapatkan sediaan yang baik. Fiksasi berfungsi untuk melekatkan sel darah supaya mudah diwarnai. Tujuan fiksasi yaitu menghentikan proses metabolisme secara cepat, mencegah kerusakan jaringan, mempertahankan keadaan yang sebenarnya (Rudyatmi. 2011).

Fiksasi yang sering dilakukan dalam pembuatan sediaan darah apus yaitu dengan fiksasi basah menggenangi preparat dengan larutan metanol. Metanol dalam pewarnaan digunakan untuk melisiskan dinding sel sehingga zat warna bisa masuk kedalam sel darah. Preparat sediaan apus darah setelah dikering anginkan secepatnya dilakukan fiksasi dengan metanol selama lima menit.

Fiksasi tidak segera dilakukan < 1 jam maka menyebabkan preparat berwarna kebiruan. Larutan fiksasi yang tidak baik dapat menyebabkan perubahan morfologi, warna dan perlekatan yang tidak baik. Ini dapat terjadi apabila larutan fiksasi yang digunakan metanol yang tidak absolute, metanol mempunyai

repository.unimus.ac.id

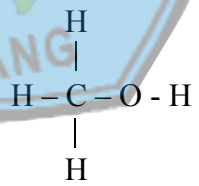
kandungan air < 3%, karena telah menguap dan dapat mengubah konsentrasi dari metanol tersebut yang dapat menyebabkan fiksasi yang tidak sempurna (Houwen. 2000).

2.5.1 Metanol

Metanol dikenal juga sebagai metil alkohol dengan rumus kimia CH_3OH. Merupakan alkohol sederhana, bercahaya, volatil, tidak berwarna, dan beracun (Kodin. 2006).

2.5.2 Sifat Fisika Kimia Metanol

Bahan metanol berbentuk cairan bening tidak berwarna, berbau khas; Rumus molekul CH_3OH, berat molekul 32,0, titik didih 65, titik lebur -98^{0}C, berat jenis (air =1) 0,79 g/mL, tekanan uap 160 mmHg pada 30^{0}C, titik nyala 12^{0}C (pada wadah tertutup), larut dalam air, benzen, etanol, eter, keton, dan pelarut organik, mudah larut dalam air dingin dan air panas.



Rumus kimia metanol

repository.unimus.ac.id

Gambar 2.1 metanol

(http://trade.indiamart.com/search.mp?search=methanol, 2017).

2.6 Formaldehid

2.6.1 Pengertian Formaldehid

Formaldehid yaitu suatu senyawa kimia yang berbentuk gas dan baunya sangat menusuk. Formalin mengandung 37% formaldehid dalam air. Formaldehid berbentuk serbuk atau padatan disebut dengan paraformaldehid. Formalin dan paraformaldehid dapat melepaskan gas formaldehid.

2.6.2 Sifat Fisikokimia Formaldehid

Rumus Molekul : CH_2O

Nama Kimia : Formaldehyde

Nama lain : *Formol, Morbicid, Methanal, Formic Aldehyde, Methyl Oxide, Oxymethylene, Methylene, Aldehyde, Oxomethane, Formoform, Formalith, Karsan, Methylene Glycol, Paraforin, Polyxymethylene Glycols, Superlysoform, Tetraoxymethylene, Trioxane*.

Massa molar : 30.03 g/mol

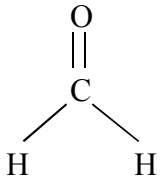
repository.unimus.ac.id

Titik leleh : -92^{0}C

Titik didih : -21^{0}C

Kelarutan dalam air (g/100 ml): bercampur sempurna

Rumus struktur :



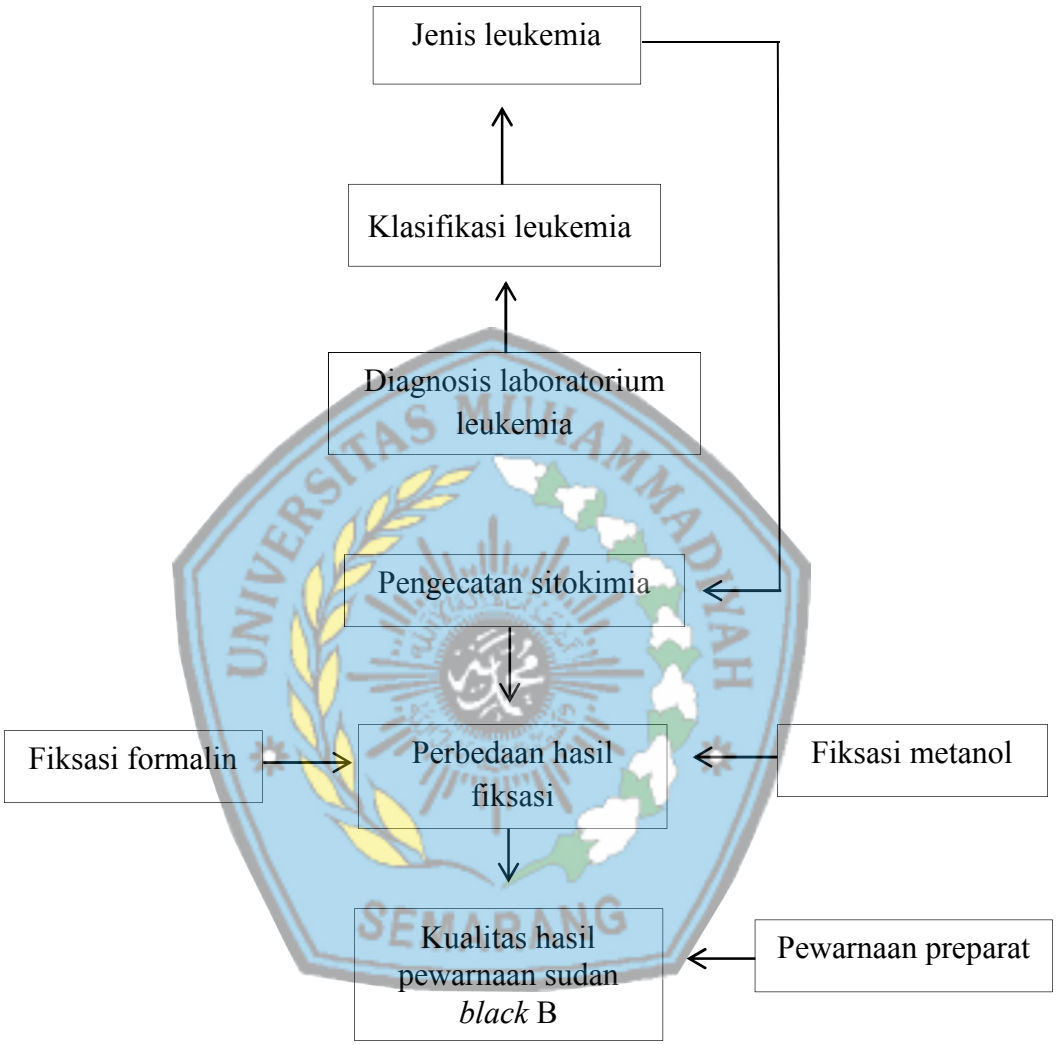
Rumus kimia formalin

Gambar 2.2 formalin

Formaldehid gas pada suhu ambien mudah terbakar dan meledak jika dicampur dengan udara pada konsentrasi 7-73% reaktif pada suhu ambien, dapat berpolimerisasi pada suhu di bawah 80% formalin adalah larutan formaldehid 37% Ambang bau formaldehid 0,1-1 ppm (Susanti. 2010).

repository.unimus.ac.id

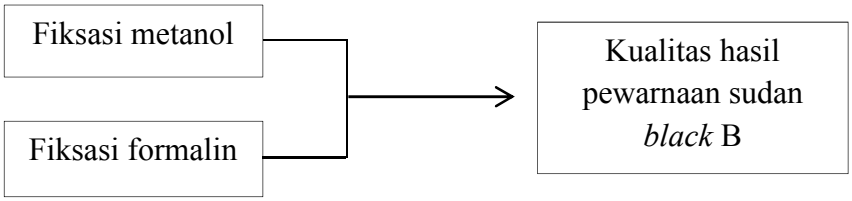
2.7 Kerangka Teori



Skema 2.1 kerangka teori

repository.unimus.ac.id

2.8 Kerangka Konsep



Skema 2.2 kerangka konsep

2.9 Hipotesis

Tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan sudan *black* B yang difiksasi dengan metanol dan formalin pada sumsum tulang penderita leukemia.

repository.unimus.ac.id