

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Darah

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup, hewan primitif sampai manusia. Pada keadaan fisiologik, darah selalu berada di dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan perannya sebagai: (a) pembawa oksigen (*oksigen karier*), (b) mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan (c) mekanisme hemostasis (Bakta, 2006).

Darah terdiri dari 2 komponen utama yaitu plasma dan sel darah. Plasma darah adalah bagian cairan darah terdiri dari air, elektrolit, dan protein darah. Sel darah adalah komponen yang terdiri eritrosit, leukosit, dan trombosit (Sitompul, 2001).

2.2 Leukosit

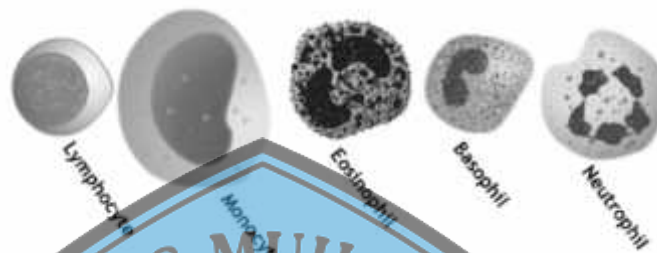
2.2.1. Pengertian leukosit

Sel darah putih mempunyai fungsi sebagai pertahanan tubuh terhadap fagosit atau benda asing yang tidak dikenal dan akan mengakibatkan kerusakan di dalam tubuh berlangsungnya hidup secara individu (Muhammad, 2002).

2.2.2. Jenis Leukosit

Leukosit terdiri dari 2 jenis yaitu agranula dan granular. Leukosit agranular mempunyai sitoplasma yang nampak homogen dan inti berbentuk bulat atau berbentuk ginjal. Leukosit granular mengandung granula spesifik didalam sitoplasma (keadaan hidup seperti tetesan setengah cair) dan memiliki bentuk inti

yang bervariasi. Jenis leukosit agranula terdiri dari limfosit dan monosit. Limfosit yaitu sel-sel kecil yang memiliki sitoplasma sedikit dan monosit terdiri dari sel – sel besar yang mengandung sitoplasma lebih banyak. Terdapat 3 jenis leukosit granular yaitu, basofil, eosinofil dan netrofil (Suparitriono,2003).



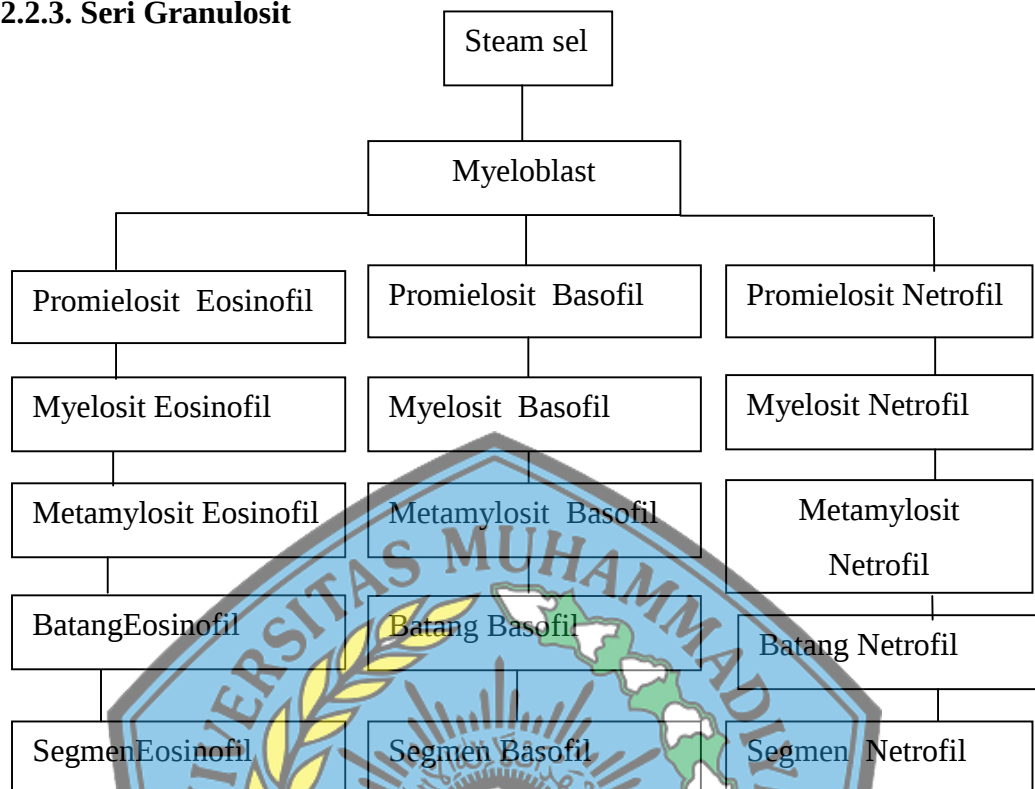
Gambar 2.1 Jenis sel darah putih (Dikutip dari White Blood Cell Function, Kempert P.H., University of California at Los Angeles, Mattel Children's Hospital and UCLA Medical Center Contributor Information and Disclosures.)

1. Basofil adalah granulosit memiliki jumlah paling sedikit, sekitar 0-1% dari jumlah leukosit. Basofil mengandung banyak granula kasar dengan 2 lobus berwarna ungu atau biru tua, dan menutupi inti. Granula basofil mengandung heparin, dan histamin. Basofil berfungsi sebagai reaksi sensitivitas yang berkaitan dengan IgE (Kiswari, 2010).
2. Eosinofil sistem kekebalan tubuh berperan melawan parasit multiseluler. Eosinofil mengandung granula kasar berwarna merah- orange, jumlah eosinofil 2-4% dari jumlah leukosit. Eosinofil dapat meningkat ketika terjadi reaksi alergi atau infeksi parasit. Eosinofil berukuran 12-17 mikrometer (Benedicta, 2014; Kiswari, 2010). Eosinofil dapat bertahan selama 8-12jam dan bisa bertahan >8-12 hari apabila tidak terjadi stimulasi. (Kiswari, 2010).

3. Netrofil adalah jenis lekosit paling banyak dari jenis lekosit lain, dikelompokkan menjadi 2 jenis, yaitu netrofil segmen dan netrofil batang.

- a. Netrofil segmen disebut juga netrofil polimorfonuklear, karena intinya memiliki beberapa lobus dan setiap lobus dihubungkan oleh benang kromatin (Kiswari, 2010). Netrofil segmen memiliki jumlah segmen sekitar 3-6 lobus dan >6 lobus disebut hipersegmen. Nilai netrofil segmen 50-70% dari jumlah lekosit. Didalam sumsum tulang nilai normal orang dewasa memproduksi sekitar 100 milyar netrofil setiap hari dan dapat meningkat 10x lipat saat terjadi proses inflamasi akut (Kiswari, 2010).
- b. Netrofil batang memiliki inti seperti tapal kuda, berukuran 14-30 mikron, mempunyai nukleus berbentuk seperti batang, berlekuk dengan kromatin kasar, mengandung banyak sitoplasma, berwarna merah dan terdapat granula halus berwarna lembayung muda. Netrofil batang sekitar 6-7% dari jumlah lekosit. Netrofil bersirkulasi didalam darah sekitar 10 jam dan dapat bertahan hidup 1-4 hari di dalam jaringan (Kiswari, 2010)

2.2.3. Seri Granulosit



Terbentuknya netrofil segmen dimulai dari stem sel kemudian Myeloblast

- Promielosit - Myelosit - Metamylosit - Netrofil Batang - Netrofil Segmen.

a. Mieloblast

Mieloblast adalah sel muda diantara seri granulosit. Memiliki inti bulat berwarna biru kemerah-merahan, terdapat anak inti satu atau lebih, kromatin inti halus dan tidak menggumpal. Sitoplasma berwarna biru dan sekitar inti berwarna lebih muda. Mieloblast lebih kecil dari pada rubriblast dan sitoplasmanya kurang biru dibandingkan rubriblast. Jumlah didalam sumsum tulang normal < 1% dari jumlah sel berinti (Puji R, 2013).

b. Promielosit

Promielosit merupakan fase dari seri granulosit yang memiliki granula berwarna biru tua atau biru kemerah-merahan, bentuk bulat, tidak teratur, granula menutupi inti dan didalam granula terdiri dari lisozom mengandung mieloperoksidase, fosfatase asam, protease dan lisozim. Inti promielosit bulat dan besardengan struktur kromatin kasar. Mempunyai anak inti tetapi tidak jelas. Jumlah sel didalam sumsum tulang normal 1-5 % (Puji R, 2013).

c. Mielosit

Mielosit granula mengalami diferensiasi yang mengandung laktoferin, lisozim peroksidase dan fosfatase lindi. Inti sel bulat, lonjong atau mendatar pada satu sisi, anak inti tidak tampak, kromatin menebal dan sitoplasma sel lebih banyak dibandingkan dengan promielosit. Jumlah sel mielosit normal 2-10 % (Puji R, 2013).

d. Metamielosit

Metamielosit adalah proses pematangan inti sel membentuk lekukan seperti kacang merah, kromatin menggumpal dan tidak terlalu padat. Sitoplasma mengandung granula kecil berwarna kemerah-merahan. Jumlah sel didalam sumsum tulang keadaan normal 5-15 % (Puji R, 2013).

e. Neutrofil Batang dan Segmen

Metamielosit menjadi batang apabila lekukan melebihi setengah ukuran inti seperti berbentuk menyerupai batang melengkung. Inti sel menunjukkan

proses degeneratif, kadang tampak piknotik pada kedua ujung inti. Sitoplasma mengandung granula halus berwarna kemerah-merahan (Puji R, 2013).

Penurunan jumlah netrofil dalam darah terjadi pada penyakit leukemia, anemia aplastik, anemia defisiensi zat besi, penyakit – penyakit virus dan agranulositosis. Peningkatan jumlah netrofil dalam darah terjadi pada infeksi – infeksi akut, inflamasi, apendikistis akut, kerusakan jaringan, pankreatitis akut dan penyakit hemolitik pada bayi lahir (Joyce, 1997).

2.3. Masa Hidup Sel Lekosit

Masa hidup granulosit sekitar 12 jam, apabila mengalami terjadi infeksi masa hidup lekosit akan bertahan sekitar 2 jam. Sel lekosit bersirkulasi didalam darah keadaan masa yang lain sekitar 4-5 hari didalam jaringan. Masa hidup granulosit ketika mengalami infeksi berat akan mengalami penurunan selama beberapa jam karena sel-sel granulosit menuju daerah terjadinya infeksi, kemudian menyerang mikroorganisme atau sel asing yang masuk dalam tubuh (Benedicta, 2014).

2.4. Antikoagulan

Pemeriksaan hematologi hal yang perlu diperhatikan yaitu pemberian antikoagulan. Antikoagulan adalah suatu zat berfungsi untuk menghambat dan mencegah darah dari proses pembekuan. Antikoagulan *Ethylene diaminetetra-aceti acid* (EDTA) merupakan antikoagulan yang direkomendasikan oleh World Health Organization (WHO) untuk pemeriksaan hematologi (WHO, 2002). Ada beberapa macam EDTA namun jenis EDTA yang direkomendasikan oleh *World*

Health Organization (WHO), International Council for Standardization in Hematology (ICSH) dan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) pada pemeriksaan hematologi yaitu tabung vacutainer K2EDTA (WHO, 2002; Patel, 2009).

2.5. Hematology Analyzer

Metode otomatis merupakan metode yang menggunakan alat Hematology Analyzer berdasarkan suatu peningkatan tahanan ketika sel darah merah melewati suatu medan listrik pada celah sempit. Jumlah pulsa sesuai dengan jumlah sel dan amplitude pulsa sesuai dengan volume sel (Swelab, 2001).

Prinsip pengukuran sel darah dengan menggunakan suatu mesin otomatis dapat berbeda tergantung tipe suatu alat satu dengan alat lainnya. Beberapa metode yang sering menggunakan dalam pemeriksaan hematologi yaitu :

a. Metode impedansi elektrik

Metode impedansi elektrik adalah salah satu metode yang digunakan untuk menghitung jumlah dan mengukur sel darah, dimana sebelum melakukan pemeriksaan sampel diencerkan dengan menggunakan larutan konduktivitas tertentu dan merupakan konduktor listrik yang kurang baik kemudian sel darah dialirkan melalui lubang kecil (*orifice*) mempunyai ukuran tertentu. Arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang disisi luar dan dalam orifice, karena sel darah merupakan penghantar listrik yang buruk, jika sel darah masuk melalui orifice maka arus listrik yang mengalir akan terganggu, gangguan ini

menimbulkan terjadi pulsa listrik. Jumlah pulsa listrik akan terukur persatuan waktu (frekuensi pulsa) akan mendekteksi sebagai jumlah sel yang melalui celah tersebut. Besarnya perubahan tegangan listrik (*amplitudo*) yang terjadi merupakan ukuran volume dari masing – masing sel darah. Besarnya pulsa akan sesuai dengan besarnya jumlah dan besarnya sel darah akan akan lewat. Jika sel darah kecil maka pulsa juga kecil. Mengenali jenis-jenis sel berdasarkan ukuran dan menghitung jumlah (Mengko,R, 2013) .

b. Metode flowcytometry

Metode pengukuran (*metri*) jumlah dan sifat – sifat sel (*cyto*) yang terbungkus oleh aliran cairan (*flow*) melalui celah sempit. Ribuan sel dialirkan melalui celah tersebut sehingga sel dapat masuk satu per satu, kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel dan ukuran. Alat ini dapat memberikan informasi intraseluler, termasuk inti sel. Secara umum, metode *flowcytometry* merupakan pemeriksaan dimana sel – sel dari suatu sampel masuk dalam *flow chamber* dan dibungkus oleh cairan pembungkus. Kemudian dialirkan suatu celah atau lubang dengan ukuran kecil memungkinkan sel masuk demi satu, dilakukan pengukuran. Aliran yang keluar sel tersebut akan melewati medan listrik dan dipisahkan menjadi tetesan – tetesan sesuai dengan muatan. Kemudian ditampung ke dalam beberapa saluran pengumpul terpisah disebut cell sorting (Koeswardani R, et al, 2001).

Prinsip metode ini merupakan hamburan cahaya (*light scattering*) terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokuskan ke sensing area pada aperture. Apabila cahaya mengenai sel, maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan, atau dibiaskan ke semua arah. Hamburan cahaya yang mengenai sel ditangkap oleh detektor yang ada pada sudut – sudut tertentu sehingga menimbulkan pulsa. Pulsa cahaya berasal dari hamburan cahaya, intensitas warna, atau fluorensi akan mengubah menjadi pulsa listrik. Pulsa digunakan untuk menghitung jumlah, ukuran dan inti sel yang merupakan ciri – ciri dari jenis sel. Hamburan cahaya dengan arah lurus (*forward scattered light*) mendeteksi volume dan ukuran sel. Sedangkan cahaya yang dihamburkan dengan sudut 90° menunjukkan informasi dari isi granula sitoplasma. Metode flowcytometry dilakukan pewarna dengan cara penambahan warna dan reagen. Sel yang telah diberi warna memberi pancaran cahaya yang berbeda – beda, untuk mengetahui dan mendeteksi berbagai jenis sel (Mengko, R, 2013).

2.6. SADT Sediaan Apusan Darah Tepi

2.6.1 Pengertian Sediaan Apusan Darah Tepi

Sediaan apusan darah tepi adalah pemeriksaan mikroskopis untuk mengetahui morfologi sel darah (Nugroho, 2015), seperti gambaran darah tepi jumlah eritrosit, indeks eritrosit, jumlah retikulosit, dan trombosit. Sediaan apusan darah putih (leukosit) termasuk pemeriksaan rutin dan gambaran sel darah pada parasit, keganasan sel dan lain-lain (Budiwiyono, 2002). Membuat sediaan apusan

darah dipulas dengan baik merupakan syarat mendapatkan hasil apusan yang baik (Mescher,Anthony,2012).

Kriteria preparat darah hapus yang baik yaitu lebar dan panjangnya tidak memenuhi seluruh kaca benda,gradual penebalannya berangsur menipis dari kepala samapi ekor,tidak terlalu tebal,tidak terputus-putus,tidak berlubang,dan pengecatan yang baik. Morfologi preparat darah hapus dikelompokkan menjadi tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor. Terdapat bagian badan yang dikelompokkan menjadi enam zona (daerah baca) dimulai dari zona 1 yang berada dekat kepala sampai zona VI yang dekat denganekor. Hitung jenis lekosit dimulai dari zona VI biasanya terdapat jenis lekosit yang berukuran besar. Zona IV yang terdapat seri limfosit tua (ukuranlebih kecil). Zona VI sudah 100 sel banyak ditemukan sel PMN dan monosit sedangkan limfositnya sedikit (Santosa.B.2010).

2.6.2. Cara pembuatan apusan darah tepi

1. Letakkan satu tetes darah pada objek ukuran 2-3 mm dari ujung kaca
2. Letakan kaca penghapus dengan kemiringan sudut 30° - 45° pada kaca objek didepan tetesan darah
3. Tarik kaca penghapus kebelakang sampai menyentuh tetesan darah hingga menyebar
4. Dorong kaca penghapus kedepan sampai apusan darah dengan panjang 3-4 cm pada objek

Ketebalan yang baik bagian eritrosit bertumpuk pada arah ekor dan eritrosit bersinggungan(Gandasoebrata,2008).

2.6.3. Pewarnaan Giemsa

- a. Meletakkan sediaan hapus pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan.
- b. Fiksasi sediaan hapus dengan metilalkohol selama 2-3 menit.
- c. Menggenangi sediaan hapus dengan zat warna giemsa yang baru diencerkan
- d. Giemsa yang dipakai adalah giemsa 5%, berasal dari giemsa pekat yang diencerkan dulu dengan larutan dapar atau aquadest. Biarkan selama 15-30 menit.
- a. Membilas dengan air ledeng, mula-mula dengan aliran lambat kemudian dengan lebihkuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna. Meletakkan sediaan hapus dalam rak dalam posisi tegak dan biarkan mengering.

(Menurut Dian R,2016) Faktor yang mempengaruhi mutu perwarnaan giemsa:

- a. Kualitas giemsa tidak tercemar air
- b. Waktu perwarnaan dan fiksasi
- c. Ketebalan dan kebersihan apusan

(Menurut Onggowaluyo,2001) kriteria pembuatan dan pewarnaan sedian yang baik :

- a. Inti lekosit bewarna ungu
- b. Trombosit merah muda dan ungu muda
- c. Sisa eritosit muda berwarna biru atau biru muda
- d. Sitoplasma limfosit terlihat biru pucat
- e. Sitoplasma monosit berwarna biru
- f. Granula eosinofil berwarna orenge
- g. Latar belakang sedian bersih dan biru pucat

2.6.4. Penilaian kualitas hapusan darah tepi

Ciri – ciri sediaan yang baik :

- a. Sediaan tidak melebar sampai pinggir kaca obyek, panjangnya setengah sampaidua pertiga panjang kaca.
- b. Harus ada bagian yang cukup tipis untuk di periksa.
- c. Pinggir sediaan itu rata dan sediaan tidak boleh berlubang – lubang atau bergaris– garis.
- d. Jika diperiksa di bawah mikroskop eritrosit – eritrosit harus sama rata tersebar pada bagian yang akan di periksa,tidak menyusun gumpalan atau rouleux
- e. Penyebaran lekosit tidak boleh buruk,lekosit – lekosit itu tidak boleh berhimpunan pada pinggir – pinggir atau ujung – ujung sediaan.

f. Ujung ekornya tidak berbentuk bendera robek.

g. Pengecatan yang baik.(Depkes,1991).

2.6.5.Morfologi preparat hapus darah tepi

Pada preparat hapus terdapat tiga bagian,yaitu :

1. Kepala : bagian dimana darah di letakkkan sebelum di hapus.
2. Ekor : bagian ujung preparat atau akhir apusan.
3. Badan : bagian tengah antara ekor dan kepala.



Gambar .Skema Diagram Preparat Apus Darah Tepi Metode Longitudinal
dengan arah pergerakan yang ditunjukkan dengan Tanda Anak Panah.(Workshop

Diagnosa hematologi, 1987)

Seluruh badan preparat dapat di bagi menjadi enam zona berdasarkan susunan populasi sel darah merah, berturut – turut mulai dari kepala ke arah ekor sebagai berikut :

a. Zona I : disebut zona irreguler

Distribusi didaerah ini sel darah merah tidak teratur, ada yang padat, bergerombol sedikit atau banyak dan tidak selalu sama pada preparasi. Zona I meliputi lebih kurang 3 % dari seluruh badan preparat.

b. Zona II : disebut zona tipis.

Sel – sel darah merah distribusinya tidak merata, saling bertumpuk (overlapping) dan berdesakan, zona ini meliputi lebih kurang 14 %.

c. Zona III : Disebut zona tebal

Sel – sel di daerah ini bergerombol padat, saling bertumpukan dan berdesakan. Zona III adalah zona terluas meliputi hampir separuh luas seluruh preparat lebih kurang 45 %.

d. Zona IV : disebut zona tipis

Gambaran zona IV sama dengan zona II, hanya saja luasnya lebih besar sedikit dari pada luas zona II, lebih kurang 18 %.

e. Zona V : disebut zona “ eve “ atau zona reguler

Sel – sel tersebar rata tidak saling bertumpukan atau berdesakan, sehingga bentuknya terlihat masih asli atau utuh tidak mengalami perubahan invitro. Zona V meliputi daerah seluas lebih kurang 11 %.

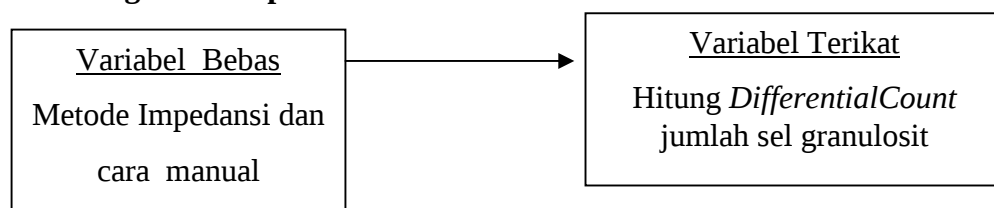
f. Zona VI : disebut zona sangat tipis

Terletak di ujung preparat sebelum menjadi ekor. Sel tidak padat dan lebih longgar dibanding sel darah merah di zona II atau IV. Pada umumnya membentuk seperti gerombolan sel – sel yang tersusun berderet. Zona VI meliputi daerah seluas lebih kurang 9 %. (FK.Undip,2001).

2.7. Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



2.9 . Hipotesa

Ada perbedaan hasil hitung (Differential Count) jumlah sel granulosit dengan metode impedansi dan cara manual .

