

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Darah

2.1.1. Definisi darah

Darah adalah selular yang berperan untuk membantu proses fisiologis. Volume darah yang beredar didalam tubuh manusia 8% dari berat badan atau sekitar 56000 cc, sekitar 55% adalah plasma dan sekitar 45% adalah sel-sel darah (Aryulina diah,2004).

Darah merupakan suatu suspensi sel dan fragmen sitoplasma didalam cairan yang disebut plasma. Secara keseluruhan darah dapat dianggap sebagai jaringan pengikat, karena pada dasarnya terdiri atas unsur-unsur sel dan substansi intraseluler yang berbentuk plasma secara fungsional darah merupakan jaringan pengikat untuk menghubungkan seluruh bagian-bagian dalam tubuh sehingga merupakan suatu integritas. Darah dikeluarkan dari tubuh maka segera terjadi bekuan yang berbentuk cairan kuning jernih yang disebut serum (subowo, 2002).

2.1.2. Komposisi Darah

Darah terdapat komponen cair yang disebut plasma dan unsur dari sel darah merah (eritrosit), beberapa jenis sel darah putih (leukosit) dan pecahan sel yang disebut trombosit.

Serum atau plasma terdiri atas:

Air : 91,0 persen.

Protein : 8,0 persen (albumin, Globullin, protombin, fibrinogen).

Mineral : 0,9 persen (Natrium klorida, Natrium bikarbonat, garam dari kalsium, fosfor, magnesium dan besi).

Sisanya diisi sejumlah bahan organik , yaitu glukosa, lemak, urea, asam urat, kreatinin, kolesterol dan asam amin. Plasma juga memberi gas oksigen dan karbondioksida, hormon-hormon, enzim dan antigen (Pearce, 2006).

Sel darah merah dideskripsikan secara klinis menurut ukuran dan jumlah hemoglobin didalam sel menggambarkan ukuran dan menggambarkan konsentrasi hemoglobin dalam sel (J. Corwin, 2008).

Sel darah putih dalam sirkulasi mengandung sekitar 4000 – 11000 per mikroliter. Sel darah putih mempunyai sistem utama dalam sistem pertahanan, Untuk mengungkapkan keadaan keseluruhan tubuh melalui sel-sel leukosit perlu diperhatikan mengenai jumlah dan morfologinya dibedakan menjadi granulosit (Neutrofil, eosinofil, basofil) dan leukosit arganulosit (Limfosit, monosit) (A. M Richard, 2002).

Laju eritropoesis diatur oleh hormon eritropoetin yang diproduksi ginjal dan ada yang berpendapat juga diproduksi hati. Produksi eritropoetin sendiri dirangsang oleh keadaan hipoksia. Kekurangan oksigen akan menyebabkan sensor oksigen pada sel tertentu ginjal meningkatkan produksi hormon eritroprotein yang akan bekerja pada sel induk (Waspadji, 2001).

2.2. Eritrosit

Eritrosit adalah krospekukel-krospekukel kecil yang berwarna merah pada darah (sel darah merah). Eritrosit berkembang dalam sumsum tulang sebagai sel sejati. Jumlah normal eritrosit kira-kira 5,4 juta per milimeter kubik darah pada

pria dan 4,8 juta pada wanita. Bentuk eritrosit memberi luas permukaan 20-30% lebih besar dibanding dengan isinya yang berbentuk bulat (Kresno, SB, 2001).

Proses pembentukan pada masa janin, yaitu pada 0-2 bulan didalam kantung kuning telur, 2-7 bulan didalam hati, limpa, 5-9 bulan didalam sumsum tulang, pada masa bayi semua sumsum tulang bersifat hematopoietik, kemudian masa dewasa hanya vertebra, tulang iga, sternum, tulang tengkorak, sakrum, pelvis, dan ujung proksimal femur yang aktif dalam proses hematopoiesis.

Selama pematangan sel-sel eritrosit terjadi perubahan morfologi dan histologi berikut : volume sel berkurang, anak inti ukurannya berkurang sampai mereka tidak terlihat dibawah mikroskop cahaya, kromatin inti bertambah pada sampai ini tampak pigmenik dan akhirnya dikeluarkan dari sel, terdapat pengurangan jumlah poliribosom (basofilia) dan peningkatan jumlah hemoglobin (asiodofilia) dalam sitoplasma dan jumlah mitokondria berkurang (Kresno, SB, 2001).

2.3. Retikulosit

Retikulosit merupakan sel darah merah imature yang tidak berinti dan mengandung sisa RNA dalam sitoplasmanya. Dalam keadaan normal jumlah retikulosit didalam darah perifer hanya 1-2%. Sediaan hapus darah perifer dengan perwarnaan supravital yang memberi warna biru pada setiap RNA dalam sel darah merah yang imatur. Sel-sel ini seperti kelihatan memiliki jala-jala atau retikulum didalamnya, oleh karena itu dinamakan retikulosit. Sisa RNA menghilang setelah satu atau dua hari pertama setelah sel berada diluar sumsum tulang dan sel itu menjadi sel darah merah (Moore, 2003).

Proses maturasi eritrosit sel yang mengandung hemoglobin masih memerlukan beberapa hari untuk melepaskan sisa-sisa asam ribonukleat (RNA) setelah inti dikeluarkan. Sebagian dari proses ini berlangsung dalam sumsum tulang sebagian lagi dalam darah tepi. Pada saat proses terakhir maturasi ini, sel yang masih mengandung berbagai pecahan mitokondria organel lain disamping RNA ribosom. Sel ini disebut retikulosit yang sering dapat dibedakan dari eritrosit matang dengan pewarnaan wright karena berukuran lebih besar dan berwarna lebih biru daripada eritrosit. Retikulum yang terdapat didalam sel ini hanya dapat dilihat dengan pewarnaan supravital, tetapi sebenarnya retikulum ini dapat juga terlihat sebagai bintik-bintik abnormal dalam eritrosit pada sediaan apus biasa (Hardojono, 2003).

Retikulosit merupakan eritrosit muda, jumlah retikulosit dalam darah menunjukkan peningkatan eritrosit selama jumlah retikulosit dalam sumsum tulang tidak berkurang. Hitung retikulosit yang tinggi dalam darah yang diikuti oleh penurunan jumlah retikulosit dalam sumsum tulang menunjukkan pengeluaran sel-sel tersebut yang lebih cepat kedalam sirkulasi tanpa peningkatan pembentukan retikulosit dalam sumsum tulang (Carneiro, 2001).

Retikulosit adalah sel darah merah yang belum masak, umumnya lebih besar dari sel darah merah masak. Retikulosit didalam darah 0,5-2% dari jumlah sel darah merah total. Bayi yang baru lahir, normal hitung retikulosit berkisar 2-6% pada saat kelahiran dan menurunnya kadar dewasa dalam 1-2 minggu.

Orang dewasa sekitar 2 juta sel darah merah baru diproduksi setiap detik. Seiring dengan pematangan diperlukan waktu beberapa hari untuk sel berisi

hemoglobin ini menyingkirkan RNA sitoplasma setelah nucleus dikeluarkan. Selama fase terakhir pematangan retikulosit yang berisi RNA berukuran sedikit lebih besar dari sel matang (Sacher & Mcpherson, 2004).

2.3.1. Hitung retikulosit.

Jumlah retikulosit merupakan data dasar rutin. Sel normal muncul 1-2 hari 120 hari beredar dalam bentuk matang, sekitar 0,5% sampai 25% dari sel darah merah yang beredar. Hitung retikulosit biasanya dilaporkan sebagai presentase dari eritrosit yang beredar (A.M Richard, 2002).

Keadaan apabila sehat dan memiliki simpanan besi dan prekursor lain yang memadai, derajat retikulosit sejajar dengan derajat kehilangan darah atau detruksi sel darah merah. Pasien dengan gangguan pematangan sel atau produksi hemoglobin kadang-kadang memperlihatkan eritropoesis yang tidak efektif karena keadaan ini produksi eritroid sangat meningkat, tetapi hitung retikulosit rendah karena banyak sel yang belum cukup matang untuk masuk ke sirkulasi perifer. Anemia perniosa dan talasemia adalah contoh utama eritropoesis yang tidak efektif (Moore, 2003).

Terapi efektif anemia tertentu misalnya anemia defisiensi besi peningkatan jumlah retikulosit menunjukkan bahwa sumsum tulang berespon dengan membuat lebih banyak eritrosit, Pada defisiensi besi, dan terutama pada anemia akibat pengeluaran darah berkepanjangan, pemberian terapi besi menghasilkan retikulosit dalam 4-7 hari. Hitung retikulosit tetap meninggi sampai tercapai kadar hemoglobin normal (Moore,2003).

Hitung retikulosit sering digunakan sebagai ukuran produksi eritroid oleh sumsum tulang. Hitung retikulosit sampai saat ini masih didasarkan pada penilaian visual terhadap sel yang diwarnai oleh atau dengan perwarna supravital yang memperlihatkan serat-serat retikulum. Hitung ini adalah penilaian semikuantitatif jumlah retikulosit (Sacher & Mcpherson, 2004).

Ada dua macam cara pemeriksaan retikulosit yang dapat digunakan yaitu :

- a. Incubation metode atau sediaan kering
- b. Cover slip metode atau sediaan basah

2.3.2. Pemeriksaan Laboratorium Hitung Jumlah Retikulosit

menghitung retikulosit dapat menggunakan pengecatan supravital dengan menggunakan Brilliant Cresyl blue (BCB) atau New Methylene Blue (NMB) dapat dibuat sediaan basah dan sediaan kering dengan cara sebagai berikut :

- a. Sediaan basah menaruh satu tetes BCB kedalam metanol ditengah objek glass, taruh satu tetes darah dicampurkan dalam BCB metanol tersebut. Teteskan darah tersebut ditutup dengan kaca penutup, dan sediaan basah harus tipis benar, Dibiarkan beberapa menit. Setelah kering lihat di mikroskop perbesaran 1000x memakai minyak imersi & hitung retikulosit.
- b. Sediaan kering mencampurkan darah EDTA dengan larutan pewarna BCB perbandingan 1:1 kedalam tabung reaksi, Tambahkan 3 tetes darah dengan larutan tersebut diambil 1 tetes untuk membuat sediaan apus. Setelah kering lihat dengan mikroskop 100x dan menghitung retikulosit dalam 1000 eritrosit.

2.3.3. Sumber kesalahan hitung retikulosit

a. Pra analitik

1. Hemolisis (Kerusakan atau penghancuran sel darah merah)
2. Perbandingan antikoagulan dan darah EDTA yang dicampurkan
3. Waktu penundaan

b. Analitik

1. Volume darah yang dipakai tidak sesuai dengan volume zat warna, bila eritrosit sedikit diperlukan darah yang lebih banyak daripada zat warna demikian pula sebaliknya.
2. Zat warna yang tidak disaring mungkin mengendap di eritrosit sehingga tampak seperti retikulosit.
3. Sebelum membuat sediaan campuran darah dan zat warna tidak dicampur sampai homogen, Retikulosit mempunyai Bj yang lebih rendah dari eritrosit sehingga berada dibagian atas campuran maka campuran harus dicampur baik-baik sebelum dihapus.
4. Menghitung didaerah yang terlalu padat.
5. Jumlah eritrosit yang dihitung tidak mencapai seribu.
6. Ada badan inklusi lain yang terdapat pada eritrosit yang juga terwarnai oleh zat warna NMB atau BCB (Heinz bodies dan Hb H)
(Balai lab Kes, 2000).

c. Paska analitik

1. Pencatatan hasil dan pelaporan hasil.

Sekarang mulai digunakan mesin penghitung otomatis yaitu flow cytometry atau berkas laser yang dibuyarkan oleh RNA residual, tetapi metode ini perlu distandarisasi. Keunggulan metode ini adalah lebih banyak sel yang dihitung sehingga pengukuran kuantitatif retikulosit lebih akurat (Sacher, 2004).

Pemeriksaan hitung retikulosit dengan inkubasi didapat hasil yang lebih banyak karena pada proses inkubasi ini didapat membantu proses pewarnaan supravital sehingga retikulosit terlihat jelas dan mudah dihitung. Perbandingan jumlah darah dan pewarna dapat diubah sesuai dengan warna retikulosit yang dikehendaki, tetapi waktu pewarnaan tidak boleh kurang dari 15 menit. Inkubasi dapat membantu dalam proses pewarnaan supravital sehingga retikulosit terutama benang-benang retikulurnya akan terlihat jelas dan mudah dihitung (FK Undip, 1999).

Hitung retikulosit dilakukan untuk mendeteksi adanya anemia, membedakan berbagai tipe anemia, membantu penaksiran hilangnya darah atau respon sumsum tulang terhadap anemia. Untuk mengetahui efektifitas eritropoesis dan memonitor pengobatan anemia (FK Undip, 1999).

2.4. Antikoagulan EDTA

Sampel darah yang digunakan untuk menghitung retikulosit sebaiknya darah kapiler segar atau darah vena yang ditambahkan antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan (Gandrasoebrata, 2013). Darah EDTA dibuat dengan cara mengalirkan 2ml darah vena pada tabung atau botol yang telah berisi 2 mg EDTA kemudian botol / tabung ditutup dan segera darah dicampur dengan antikoagulan EDTA selama 60 detik atau lebih. (Nurrachmat, 2005).

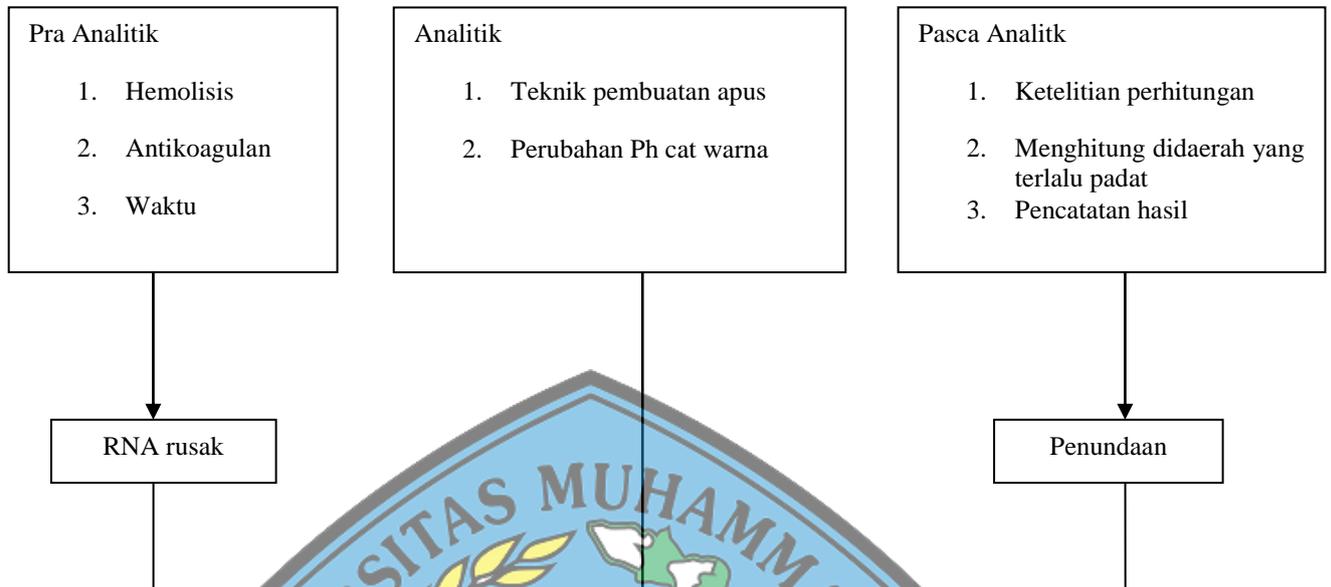
Pemeriksaan dengan memakai darah EDTA sebaiknya dilakukan segera namun jika terjadi penundaan dapat disimpan pada lemari (4°C) selama 24 jam dan pada suhu ruang (20 – 25 °C) jika ditunda lebih 2 jam. Sebaiknya seluruh pemeriksaan dikerjakan secepatnya dan jangan ditunda. Dalam keadaan dimana harus dilakukan penundaan pemeriksaan, harus diperhatikan batas waktu penundaan.

Tabel 2 : Batas waktu penyimpanan darah EDTA (Etilin Diamin Tetra Acetat) pada suhu kamar seperti tabel berikut :

jenis pemeriksaan	Harus diperiksa dalam waktu dari
kadar hemoglobin	Stabil
Hitung lekosit	2 jam
Hitung eritrosit	6 jam
Nilai hematokrit	6 jam
Laju endap darah	2 jam
Hitung trombosit	1 jam
Hitung retikulosit	6 jam
Sediaan hapus	1 jam
Uji hemostasis	2 jam

(Sumber Witono S, 1989).

2.5. Kerangka Teori Penelitian



2.6. Kerangka konsep



2.7. Hipotesis

Ada perbedaan antara hitung retikulosit langsung diperiksa dan ditunda 7 jam.