

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

2.1.1 Pengertian Darah

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, beredar dalam suatu sistem tertutup yang dinamakan sebagai pembuluh darah dan menjalankan fungsi transpor sebagai bahan serta fungsi homeostatis (Sadikin M, 2002). Penanganan sampel darah menentukan hasil pemeriksaan hematologi, meliputi pH, suhu, tonisitas, dan lain-lain. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam pengujian hematologi terutama adalah antikoagulan, jeda waktu setelah sampel diperoleh hingga dilakukan pemeriksaan, dan penyimpanan (Cora *et al.*, 2012).

2.1.2 Fungsi Darah

Darah merupakan jaringan ikat khusus yang berperan dalam pengangkutan gas-gas pernafasan, hasil pencernaan, komponen-komponen yang fungsional seperti enzim, hormon, dan berbagai molekul lainnya, serta sebagai pembuangan limbah metabolisme. Darah tersusun dari komponen sel dan cairan yang disebut dengan plasma. Sel-sel darah terdiri atas leukosit, eritrosit dan trombosit, masing-masing sel memiliki peran yang penting untuk menunjang aktivitas tubuh (Keohane *et al.*, 2015).

2.2 Sel Darah Putih

2.2.1 Pengertian Sel Darah Putih

Sel darah putih adalah sel yang berfungsi untuk membantu tubuh melawan berbagai infeksi sebagai bagian dari sistem kekebalan tubuh. Sel darah putih tidak berwarna, mempunyai inti, dapat bergerak secara amoboid, dan dapat menembus dinding kapiler. Leukosit berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh yaitu membunuh dan memakan bibit penyakit atau bakteri yang masuk dalam jaringan. Leukosit juga berfungsi sebagai pengangkut zat lemak dari dinding usus melalui limpa ke pembuluh darah (Benedicta, 2014).

2.2.2 Hitung Jenis Leukosit

Perhitungan jenis leukosit memberi makna klinis yang signifikan terhadap beberapa kelainan di dalam tubuh. Leukosit memiliki peranan sebagai pertahanan tubuh terhadap berbagai agen toksik dan infeksi. Mekanismenya antara lain dengan menghancurkan agen invasif melalui proses fagositosis dan membentuk antibodi dan limfosit yang disensitifkan. Kenaikan titer salah satu atau beberapa jenis leukosit ternyata memberikan indikasi penyakit tertentu, misalnya apendisitis, terjadi kenaikan leukosit dan netrofil yang cukup signifikan dan berperan dalam proses inflamasi. Bahkan derajat inflamasi apendisitis dapat diketahui dengan jumlah leukosit dan netrofil PMN pasien (Wibowo Fredy, 2009).

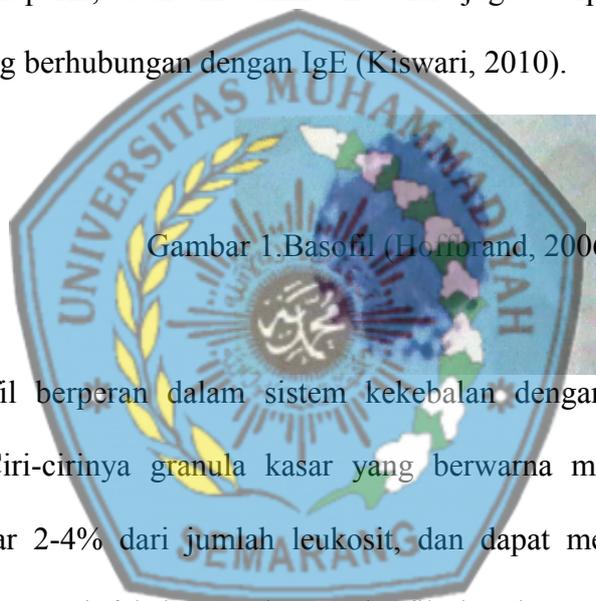
2.2.3 Jenis-jenis sel darah putih

2.2.3.1 Granulosit

Leukosit adalah sub kelompok sel darah putih yang mempunyai granula dalam sitoplasmanya. Leukosit granulosit dibagi menjadi 3 yaitu : basofil, eosinofil, netrofil.

1. Basofil

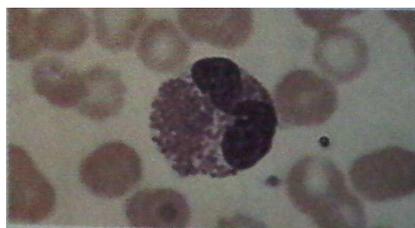
Basofil adalah granulosit dengan populasi paling sedikit, sekitar 0-1% dari jumlah leukosit. Basofil mengandung banyak granula kasar dengan 2 lobus yang berwarna ungu atau biru tua, dan seringkali menutupi inti. Granula basofil mengandung heparin, dan histamin. Basofil juga berperan dalam reaksi sensitivitas yang berhubungan dengan IgE (Kiswari, 2010).



Gambar 1. Basofil (Hoffbrand, 2006)

2. Eosinofil

Eosinofil berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasit multiseluler. Ciri-cirinya granula kasar yang berwarna merah-orange, jumlah eosinofil sekitar 2-4% dari jumlah leukosit, dan dapat meningkat bila terjadi reaksi alergi atau infeksi parasit. Eosinofil berukuran 12-17 mikrometer (Benedicta, 2014). Eosinofil dapat bertahan dalam sirkulasi selama 8-12 hari dalam sirkulasi apabila tidak terdapat stimulasi (Kiswari, 2010).



Gambar 2. Eosinofil (Hoffbrand, 2006)

3. Neutrofil

Neutrofil adalah jenis leukosit yang paling banyak diantara jenis leukosit lain, terbagi menjadi 2 jenis, yaitu neutrofil segmen dan neutrofil batang. Neutrofil segmen sering disebut neutrofil polimorfonuklear, karena intinya terdiri dari beberapa lobus dan masing-masing lobus dihubungkan oleh benang kromatin. Jumlah segmen antara 3-6 lobus, bila lebih dari 6 lobus disebut hipersegmen. Neutrofil segmen mempunyai jumlah paling banyak sekitar 50-70% dari jumlah leukosit. Fungsi utama dari neutrofil adalah fagosit terutama terhadap bakteri. Neutrofil bersirkulasi di dalam darah kira-kira 10 jam dan dapat hidup selama 1- 4 hari saat ada di jaringan (Kiswari, 2010).



Gambar 3. Neutrofil (Hoffbrand, 2006)

2.2.3.2 Agranulosit

Agranulosit sering disebut juga leukosit tanpa granula di dalam sitoplasma. Leukosit agranulosit ada 2, yaitu: limfosit dan monosit (Kiswari, 2010).

1. Limfosit

Limfosit berukuran relatif kecil dari sel makrofag dan neutrofil, yaitu 6-8 mikrometer, jenis leukosit yang jumlahnya yaitu 20-30% dari jumlah leukosit. Ciri-cirinya memiliki inti yang relatif besar, bulat, sedikit cekung pada satu sisi. Limfosit dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu: limfosit B dan limfosit T. Limfosit B berasal dari stem di dalam sumsum tulang dan tumbuh menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi. Limfosit T terbentuk jika sel sistem dari sumsum tulang

pindah ke kelenjar timus, dimana mengalami pembelahan dan pematangan (Kiswari, 2010).



Gambar 4. Limfosit (Hoffbrand, 2006)

2. Monosit

Monosit merupakan sel leukosit yang memiliki ukuran paling besar dengan diameter 9-10 mikrometer. Jumlah monosit kira-kira 3-8% dari total leukosit. Di dalam darah setelah 8-14 jam, monosit yang menuju ke jaringan disebut makrofag. Inti sel dari monosit mempunyai granula kromatin yang halus, menekuk seperti biji kacang. Monosit mempunyai 2 fungsi, yaitu sebagai fagosit mikroorganisme (jamur, bakteri) serta benda asing, dan sebagai reaksi immunitas (Benedicta, 2014).

Gambar 5. Monosit (Hoffbrand, 2006)

2.3 Metode Pemeriksaan Jenis Leukosit

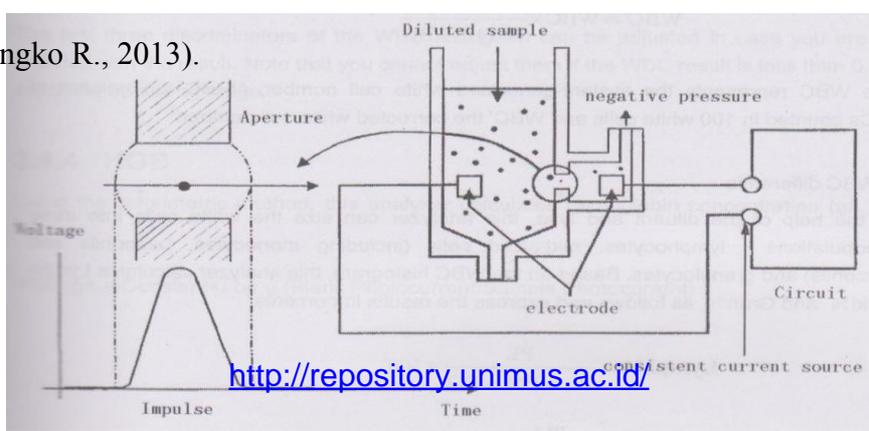
2.3.1 Cara Automatik

Pada pemeriksaan hitung jenis leukosit dengan cara otomatis yang menggunakan alat hematologi analyzer bekerja berdasarkan beberapa prinsip diantaranya *impedance* dan *laser-based flowcytometry*. Pada prinsip *impedance flowcytometry*, jenis-jenis leukosit dibedakan menurut ukuran, yaitu sel yang

berukuran kecil dimasukkan kelompok limfosit, sel yang ukurannya sedang dimasukkan kelompok *mid-cells*, dan sel yang berukuran besar dimasukkan kelompok granulosit. Pada *laser-based flowcytometry*, untuk membedakan sel-sel darah putih selain berdasarkan ukuran sel juga berdasarkan granula yang kompleks dari setiap sel (AA Wahid, 2015).

Metode impedansi elektrik adalah salah satu metode yang digunakan dalam menghitung jumlah dan mengukur sel darah, dimana sebelum pemeriksaan sampel diencerkan dengan menggunakan larutan yang mempunyai konduktivitas tertentu dan merupakan konduktor listrik yang kurang baik kemudian sel darah dialirkan melalui lubang kecil yang disebut *orifice* yang mempunyai ukuran tertentu. Pada saat yang sama, suatu arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang pada sisi luar dan sisi dalam *orifice*, karena sel darah adalah penghantar listrik yang buruk, sehingga jika sel darah masuk melalui *orifice* tadi arus listrik yang mengalir akan terganggu, gangguan ini menimbulkan suatu pulsa listrik. Jumlah pulsa listrik yang terukur persatuan waktu (*frekuensi pulsa*) dideteksi sebagai jumlah sel yang melalui celah tersebut. Sedangkan 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 yang lewat. Jika sel darah besar, maka pulsa yang ditimbulkan besar, sebaliknya jika sel darah kecil maka pulsapun kecil. Dengan demikian dapat mengenali jenis-jenis sel menurut ukuran dan menghitung jumlahnya

(Mengko R., 2013).



Gambar 6. Metode impedansi dalam penghitungan jumlah sel dan ukuran
(Mindray, 2010)

2.3.2 Cara Manual (Sediaan Apusan Darah Tepi)

Sediaan apus darah tepi merupakan suatu pemeriksaan untuk menghitung jenis dan mengidentifikasi morfologi darah (Houwen, Berend 2000). Apusan darah tepi sangat penting dalam bidang hematologi, bukan saja berkaitan dengan morfologi sel darah, tetapi juga dapat memberi petunjuk keadaan hematologik yang semula tidak diduga. Sediaan apus darah tepi dapat diwarnai dengan berbagai macam metode termasuk larutan-larutan yang sederhana antara lain pewarnaan giemsa, pewarnaan acid fast, pewarnaan garam, pewarnaan wright, dan lain-lain (Maskoeri, 2008). Metode pembuatan SADT ada beberapa diantaranya metode two slides/wedges, coverglass dan spinner method. Faktor-faktor yang mempengaruhi Sediaan Apusan Darah Tepi antara lain :

2.3.2.1 Teknik Pembuatan Preparat Apusan Darah

Apusan darah yang baik atau memenuhi syarat diperlukan latihan terus menerus, faktor penilaian sediaan apus yang benar diperlukan preparat sediaan apus yang memenuhi kriteria yang baik antara lain ketebalannya gradual, paling tebal di daerah kepala, makin menipis ke arah ekor, apusan tidak melampaui atau

menyentuh pinggir kaca obyek, tidak terputus-putus, tidak berlubang-lubang, bagian ekornya tidak membentuk “bendera robek”, dan panjang apusan kira-kira

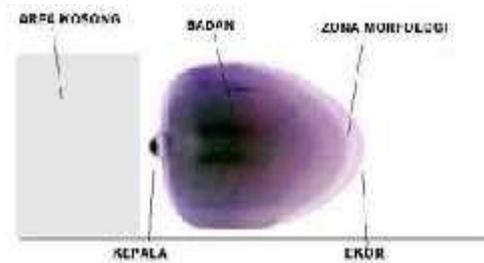
$\frac{2}{3}$ panjang kaca obyek (Kiswari R, 2014).

2.3.2.2 Pewarnaan Darah Apus

Mempermudah pengamatan sel dan komponennya pada apusan darah, perlu dilakukan teknik pewarnaan. Terdapat berbagai macam teknik pewarnaan yang digunakan untuk apusan darah, misalnya dengan menggunakan pewarnaan menurut Romanowsky ada 4 macam pewarnaan preparat darah apus yaitu pewarnaan wright's stain, pewarnaan lieshman, pewarnaan may grunwald, pewarnaan giemsa. Teknik pewarnaan yang umum digunakan untuk sediaan apusan darah tepi adalah pengecatan giemsa, karena ketahanan hasil zat warna tersebut lebih baik dengan hasil pewarnaan lebih jelas (Nugraha G, 2015).

2.3.2.3 Teknik Pembacaan Preparat Apusan Darah

Pembacaan preparat apusan darah dapat dilakukan pada bagian atas dan bawah pada zona IV sampai VI yang dekat dengan bagian ekor. Teknik pembacaan merupakan salah satu faktor penentu dalam menilai keberhasilan penilaian sediaan apus darah (Santosa B, 2009).



Gambar 7. Preparat Sediaan Apusan Darah Tepi (Arif, 2015)

2.4 Antikoagulan

Antikoagulan terdapat didalam darah untuk mencegah terbentuknya bekuan. Sebagai contoh, heparin adalah suatu antikoagulan yang dibentuk oleh sel monosit dan basofil sebagai respon terhadap cedera jaringan dan peradangan. Heparin menghentikan tahap koagulan dan menyebabkan terurainya trombin. Protein-protein anti trombin juga bersirkulasi dalam plasma untuk membatasi pembentukan bekuan darah (Corwin, J. Elizabeth, 2000).

2.4.1 Macam-macam Antikoagulan

Macam-macam antikoagulan yang sering dipakai dalam pemeriksaan hematologi menurut Gandasoebrata (2008), yaitu:

2.4.1.1 EDTA

EDTA (*Ethylene Diamene Tetraacetic Acid*) memiliki keunggulan dibanding antikoagulan lainnya, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah sehingga

ideal untuk pemeriksaan hematologi (Gandasoebatra, 2009). Ada tiga macam EDTA, yaitu dinatrium EDTA (Na_2EDTA), dipotasium EDTA (K_2EDTA) dan tripotasium EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA digunakan dalam bentuk cair. EDTA yang digunakan dalam bentuk kering harus digoyang hgoyangkan selama pencampuran dengan darah karena lambat larut (Cushman, 2011).

2.4.1.2 Heparin

Antikoagulan ini bersifat seperti antitrombin, tidak mempengaruhi bentuk eritrosit dan leukosit. Heparin dapat dipakai sebagai larutan ataupun dalam bentuk kering dengan konsentrasi penggunaan adalah 1 mg heparin kering untuk 10 ml darah (Gandasoebata, 2010). Heparin banyak digunakan pada analisa kimia darah, enzim, kultur sel, OFT (*osmotic fragility test*). Konsentrasi dalam penggunaan adalah 0,1-0,2 mg/ml darah. Heparin tidak dianjurkan untuk pemeriksaan apusan darah karena menyebabkan latar belakang biru (Riswanto, 2013).

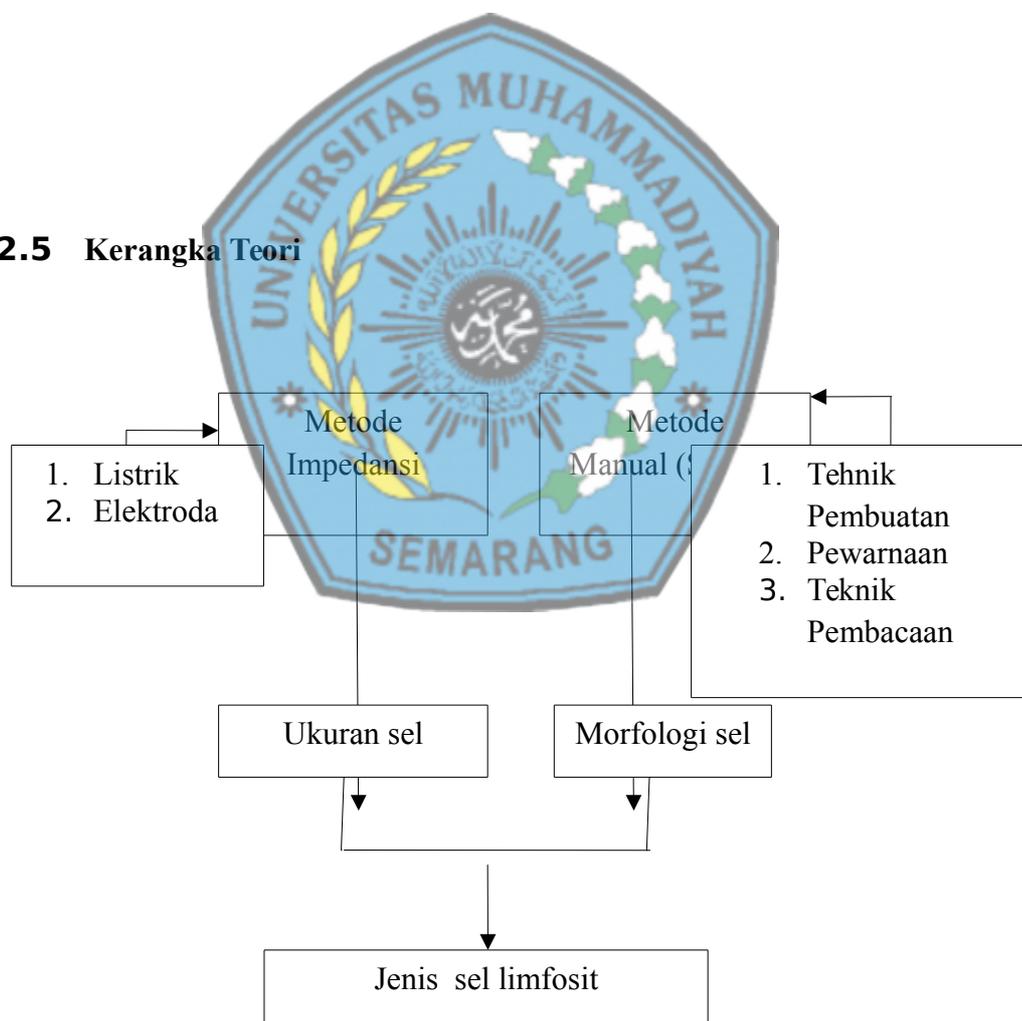
2.4.1.3 Oksalat

Kalium oksalat digunakan bersama dengan natrium fluorida untuk menentukan kadar glukosa darah, dimana fungsinya adalah sebagai antiglikolisis yang mencegah metabolisme glukosa oleh sel (Riswanto, 2013).

2.4.1.4 Sitrat

Penggunaan natrium sitrat konsentrasi 3,8% digunakan untuk pemeriksaan ESR (*erythrocyte sedimentation rate*) atau KED/LED cara westergreen. Penggunaannya adalah 1 bagian sitrat + 4 bagian darah (Riswanto, 2013).

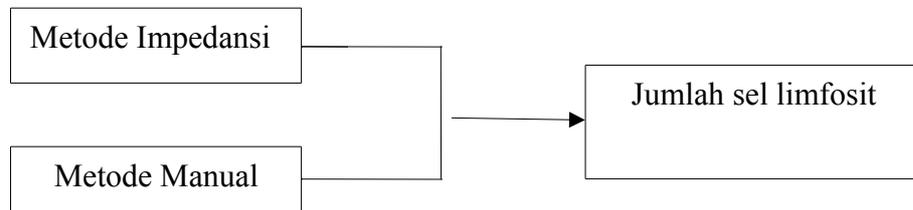
2.5 Kerangka Teori



Gambar 8. Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka teori diatas, kerangka konsep yang digunakan adalah sebagai berikut :



Gambar 9. Kerangka Konsep

2.7 Hipotesa

“Ada perbedaan jumlah sel limfosit menggunakan metode *diff count* dengan impedansi”.

