

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

2.1.1 Definisi Darah

Darah merupakan medium transport tubuh, darah manusia sekitar 7%-10% berat badan normal sekitar 5 liter. Pada tiap-tiap orang keadaan jumlah darah tidak sama, bergantung pada usia, pekerjaan, serta keadaan jantung atau pembuluh darah (Handayani&Hariwibowo, 2008).

Darah memiliki peran penting terutama untuk transport oksigen. Darah terdiri dari 2 bagian, yaitu cair dan padat, bagian cair berisi plasma darah dan serum, sedangkan bagian padat berisi eritrosit, trombosit dan leukosit (Pearce, 2006).

2.1.2. Komposisi Sel Darah

Komposisi darah menurut Pearce 2006 yaitu:

1. Eritrosit: Berfungsi untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida dari jaringan tubuh ke paru-paru
2. Trombosit: Berfungsi sebagai sumbatan luka dalam proses hemostasis
3. Leukosit: Berperan dalam proses perlindungan benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

2.1.3 Jenis Spesimen Darah

Pemeriksaan hematologi di Laboratorium biasanya menggunakan 2 jenis yaitu darah vena dan darah kapiler (Gandasoebrata, 2008).

1. Darah vena: Pada orang dewasa umumnya pada vena fossa cubiti atau fosacephalic, pada bayi vena jugularissuperficialis atau sinus sagittalis superior
2. Darah kapiler: Pada orang dewasa umumnya pada ujung jari dan cuping telinga, pada bayi tumit atau ibu jari kaki (Gandasoebrata,2008).

2.2 Sel Darah Putih

2.2.1 Pengertian Leukosit

Leukosit berasal dari bahasa Yunani yaitu leukosit yang berarti putih dan kytos yang berarti sel. Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh yang terdiri dari neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, dan limfosit (Guyton 2008). Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih (Effendi 2003), bergerak bebas secara ameboid, berfungsi melawan kuman secara fagositosis, dibentuk oleh jaringan retikulo endothelium disumsum tulang untuk granulosit dan kelenjar limpha untuk agranulosit (LIPI,2009).

Lekosit di dalam tubuh tidak berasosiasi dengan jaringan tertentu, lekosit bekerja secara independent. Lekosit dapat bergerak dengan bebas, berinteraksi, dan menangkap partikel, serpihan, atau mikroorganisme

asing. Bentuk dan sifat lekosit berbeda dengan eritrosit. Lekosit memiliki macam-macam inti sehingga bisa dibedakan berdasarkan inti sel. (Benedicta, 2014).

2.2.2 Fungsi Leukosit

Lekosit berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh yaitu membunuh dan memakan bibit penyakit atau bakteri yang masuk dalam jaringan. Lekosit juga berfungsi sebagai pengangkut zat lemak dari dinding usus melalui limpa ke pembuluh darah (Benedicta, 2014).

Granulosit dan monosit mempunyai peranan penting dalam perlindungan badan terhadap mikroorganisme sebagai fagosit (fago - memakan), mereka memakan bakteri hidup yang masuk ke sistem peredaran darah melalui mikroskop, adakalanya dapat dijumpai sebanyak 10-20 mikroorganisme tertelan oleh sebutir granulosit. Pada waktu menjalankan fungsi ini mereka disebut fagosit. Sebagai hasil kerja fagositik dari sel darah putih, peradangan dapat dihentikan sama sekali. Bila kegiatannya tidak berhasil dengan sempurna, maka dapat terbentuk nanah. Nanah dari kawan dan lawan - fagosit yang terbunuh dalam kinerjanya disebut sel nanah. Demikian juga terdapat banyak kuman yang mati dalam nanah itu dan ditambah lagi dengan sejumlah besar jaringan yang sudah mencair. dan sel nanah tersebut akan disingkirkan oleh granulosit yang sehat yang bekerja sebagai fagosit (Handayani & Haribowo, 2008).

2.2.3 Pembentukan Lekosit

Sel leukosit yang dibentuk di dalam sumsum tulang disebut granulopoiesis. Bertambahnya jumlah leukosit terjadi dengan mitosis, yaitu suatu proses pertumbuhan dan pembelahan secara berurutan yang kemudian dilepaskan oleh sumsum tulang ke dalam sirkulasi (Sacher, 2004).

Pembentukan sel darah putih dimulai dari diferensiasi dini dari sel sistem hemopoietik pluripoten menjadi berbagai tipe sel stem committed. Selain sel-sel committed tersebut, untuk membentuk eritrosit dan membentuk leukosit. Dalam pembentukan leukosit terdapat dua tipe yaitu mielositik dan limfositik. Pembentukan leukosit tipe mielositik dimulai dengan sel muda yang berupa mieloblas sedangkan pembentukan leukosit tipe limfositik dimulai dengan sel muda yang berupa limfoblas. Leukosit yang dibentuk di dalam sumsum tulang, terutama granulosit, disimpan dalam sumsum sampai sel-sel tersebut diperlukan dalam sirkulasi.

Masa hidup granulosit setelah dilepaskan dari sumsum tulang normalnya 4-8 jam dalam sirkulasi darah, dan 4-5 jam berikutnya dalam jaringan. Pada keadaan infeksi jaringan yang berat, masa hidup keseluruhan sering kali berkurang. Hal ini dikarenakan granulosit dengan cepat menuju jaringan yang terinfeksi, melakukan fungsinya, dan masuk dalam proses dimana sel-sel itu sendiri harus dimusnahkan. Monosit memiliki masa edar yang singkat, yaitu 10-20 jam, berada di dalam darah sebelum berada dalam jaringan. Begitu masuk ke dalam jaringan, sel-sel ini membengkak sampai ukurannya yang sangat besar untuk menjadi makrofag jaringan. Dalam bentuk ini, sel-sel tersebut dapat hidup hingga berbulan-bulan atau bahkan bertahun-

tahun. Makrofag jaringan ini akan menjadi dasar bagi sistem makrofag jaringan yang merupakan system pertahanan lanjutan dalam jaringan untuk melawan infeksi.

2.2.4 Faktor-faktor yang Memengaruhi Jumlah Leukosit

Berikut faktor – faktor yang mempengaruhi jumlah sel darah putih:

1. Penundaan

Darah dengan antikoagulan jika dibiarkan lama akan membentuk serum. Penundaan darah EDTA yang melebihi 2 jam akan berpengaruh terhadap jumlah leukosit.

2. Homogenisasi

Pencampuran darah dengan EDTA sangatlah penting. Sebelum darah diperiksa, spesimen harus selalu dihomogenkan terlebih dahulu, karena kalau tidak sel darah akan mengendap sedangkan serum berada diatas. Hal ini akan menyebabkan hitung sel menjadi turun.

3. Suhu

Suhu sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan, baik suhu pada saat penyimpanan maupun saat pemeriksaan sampel. Pemeriksaan pada suhu kamar memiliki batasan tertentu.

2.3 Pemeriksaan hitung jenis Leukosit

Pemeriksaan hitung jenis leukosit (Differential Count) digunakan untuk mengetahui jumlah berbagai jenis leukosit. Terdapat lima jenis leukosit yang

masing-masing memiliki fungsi yang khusus. Sel-sel itu adalah neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basophil (Freud, 2012).

Hitung jenis leukosit dapat dilakukan dengan menggunakan 2 metode yaitu sediaan apus darah tepi dan *automatik*. Pada diagnosis rutin pemeriksaan hitung jenis leukosit dilakukan dengan mesin penghitung sel(*automatik*). Teknologi yang digunakan untuk pemeriksaan hitung jenis bergantung pada tipe mesin, dengan mengenali berbagai karakteristik sel, seperti ukuran, pembiasan optik, impedansi dan sebagian juga menurut pulsan sitokimiawi. Namun bila hal tersebut berkenaan dengan pengenalan sel-sel patologis, validitas jenis pemeriksaan diferensiasi tersebut sebagian besar terbatas. Karena itu penilaian morfologis sediaan apus darah dengan menggunakan mikroskop masih menjadi dasar diagnosis hematologi. (Freud, 2012).

Pemeriksaan leukosit cara otomatis menggunakan alat Hematology autoanalyzer dengan prinsip menghitung partikel elektron maupun pembauran cahaya. Penggunaan metode otomatis lebih teliti dan hasil lebih cepat, akan tetapi biayanyapun juga relatif lebih mahal. (Benedicta, 2014)

2.4 Nilai Normal Lekosit

Nilai normal sel leukosit pada orang dewasa menurut Gandasoebrata (2008) adalah 4.000-10.000 / mm³ darah. Dalam keadaan normal mengandung 4x10⁹ hingga 11x10⁹ sel darah putih di dalam 1 liter darah manusia dewasa yang sehat - sekitar 7000-25000 sel per tetes. Dalam setiap milimeterkubik darah terdapat 6000 sampai 10000 (rata-rata 8000) sel darah putih. Dalam kasus leukemia, jumlahnya dapat meningkat hingga 50.000 sel per tetes.

2.5 Jenis Lekosit Medium Sel

a. Monosit

Monosit merupakan sel lekosit yang memiliki ukuran paling besar.

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

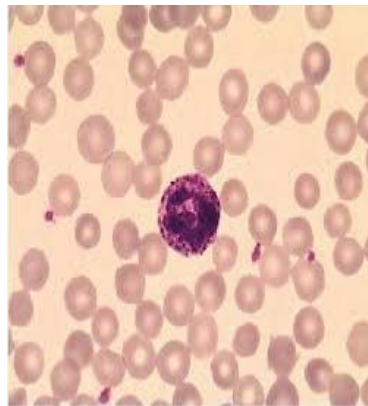


Gambar 2.1 Monosit

(Adianto, 2013)

b. Basofil

Basofil adalah granulosit dengan populasi paling sedikit, sekitar 0-1% dari jumlah lekosit. 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 berperan dalam reaksi sensitivitas yang berhubungan dengan IgE. (Kiswari, 2010)

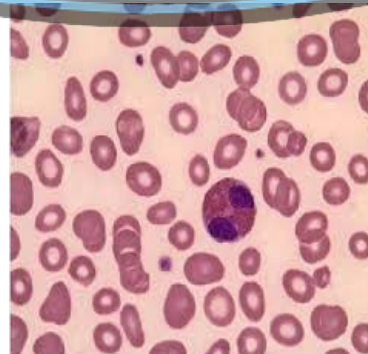


Gambar 2.2 Basofil

(Adianto,2013)

c. Eosinofil

Eosinofil berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasit multisesuler. Eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah-oranye, jumlah eosinofil sekitar 2-4% dari jumlah lekosit, dan dapat meningkat bila terjadi reaksi alergi atau infeksi parasit. Eosinofil dapat bertahan dalam sirkulasi selama 8-12 jam dan apabila tidak dapat stimulasi eosinofil dapat bertahan lebih lama sekitar 8-12 hari (Benedicta, 2014 ; Kiswari, 2010)



Gambar 2.3 Eosinofil

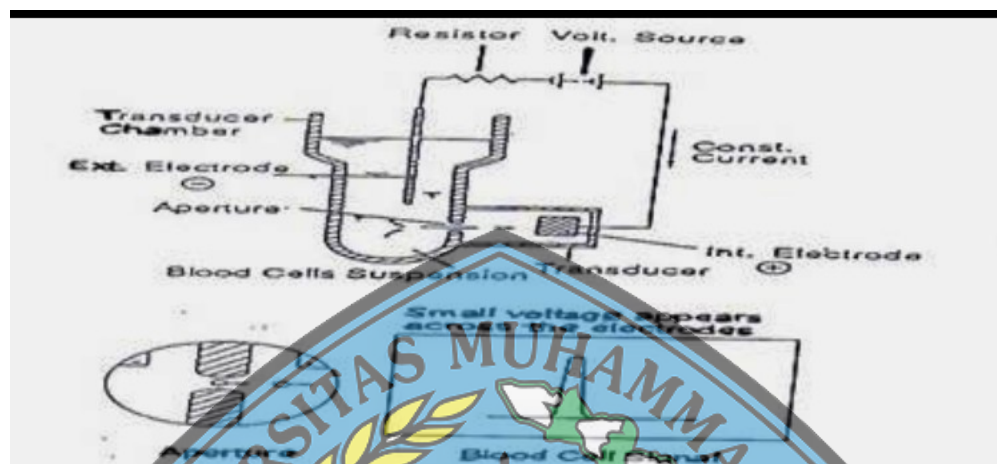
(Adianto,2013)

2.6 Cara pemeriksaan lekosit dengan menggunakan alat analyzer

Pemeriksaan lekosit secara automatic menggunakan alat analisis sel darah automatic. BC-2600 Auto Hematology Analyzer merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter untuk pemeriksaan kuantitatif maksimum 19 parameter dan 3 histogram yang meliputi WBC (Whole Blood Cel atau lekosit), Medium cel (monosit, basofil, eosinofil), limfosit, granulosit, presentase limfosit, presentase mid sel, presentase granulosit, RBC (Red Blood Cel), HGB (Hemoglobin), MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD, HCT (Hematokrit), PLT, MPV, PDW, PCT, WBC Histogram, RBC Histogram, PLT Histogram (Mindray, 2006)

Metode impedansi hitung jenis lekosit medium sel menggunakan alat penghitung sel darah *Hematologi analyzer mindray BC-2600* dengan prinsip teknik *impedansi*. Prinsip tersebut memungkinkan sel-sel masuk *flow chamber* untuk dicampur dengan *diluent* kemudian dialirkan melalui *apertura* (celah sempit). Teknik impedansi ini berdasarkan pengukuran besarnya resistensi elektronik antara dua elektroda yaitu elektroda internal dan eksternal sehingga terjadi perubahan tahanan listrik sehingga dicatat sebagai peningkatan voltase dan digambarkan dalam bentuk pulsa. Setiap pulsa listrik yang terjadi sesuai dengan satu lekosit yang melalui *apertura* dan tingginya pulsa menunjukkan ukuran lekosit dan jumlah pulsa sama dengan jumlah lekosit. Alat tersebut mempunyai keuntungan diantaranya mudah dan cepat serta waktu tunggu pasien untuk segera mendapatkan hasil laboratorium untuk membantu diagnosis penyakitnya,

kekurangannya yaitu tidak dapat mendekteksi ukuran diluar dari yang telah ditentukan alat tersebut. (Mindray, 2006)



Gambar 2.4 metode impedansi

Adisti Wulandari dan Siti Zulailah, 2012

2.7 Metode Hitung Jenis Lekosit

Pemeriksaan hitung jenis lekosit digunakan metode sediaan apus. Prinsip metode ini setetes darah di buat hapusan pada slide, dicat, dan di periksa di bawah mikroskop. Dengan metode ini dapat di hitung jumlah lekosit perlapang pandang (Gandasoebrata, 2007).

Tiap – tiap perhitungan lekosit harus di kontrol dengan pemeriksaan sediaan apusan darahnya. Penaksiran jumlah lekosit harus di lakukan pada daerah penghitung (counting area) yaitu bagian untuk hapusan tempat eritrosit–eritrosit terletak berdampingan satu dengan yang lainnya, tetapi tidak saling bertumpukan. Pembacaan lekosit sesuai dengan jenis lekosit dan morfologinya yaitu basofil, eosinofil, netrofil batang, netrofil segmen, limfosit dan monosit.

2.8 Evaluasi Lekosit

Terdapat tiga hal yang di lakukan evaluasi sel darah putih:

1. Estimasi jumlah sel darah putih

Kesan jumlah sel darah putih pada preparat darah apus ini hanya di gunakan untuk korfirmasi apabila hasil yang di dikeluarkan dalam perhitungan sel darah putih benar atau tidak. Maka untuk sementara di anjurkan dalam melakukan estimasi jumlah sel darah putih menggunakan lensa obyektif 10 X untuk melihat luasnya kemudian dengan lensa obyektif 40 X untuk mengamati sel darah putih yang ada di daerah ekor preparat

2. Hitung jenis sel darah putih

Pemeriksaan differensial jenis sel – sel ini dapat di kerjakan terlebih dahulu setelah selesai pemeriksaan orientasi umum karena termasuk pemeriksaan rutin. Cara ini menggunakan obyektif 40 X.

3. Mencari kemungkinan sel darah putih abnormal

Bila di temukan sel – sel darah putih abnormal atau sel – sel darah putih yang tidak lazim perlu di laporkan, misalnya yang dapat di jumpai antara lain: hipersegmen, sel plasma biru, granula toksik, vacuolisasi. (FK Undip, 2001).

2.9 Sediaan Apus Darah Tepi

Penilaian kualitas hapusan darah tepi

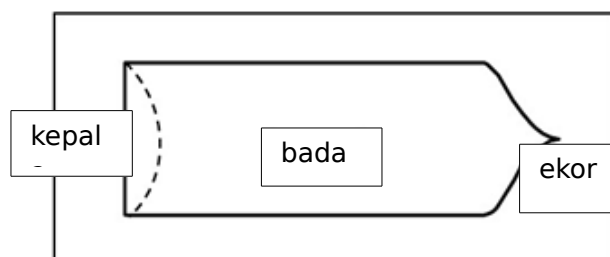
Ciri – ciri sediaan yang baik:

- a. Sediaan tidak melebar sampai pinggir kaca obyek, panjangnya setengah sampai dua 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. Penyebaran lekosit tidak boleh buruk, lekosit – lekosit itu tidak boleh berhimpunan pada pinggir – pinggir atau ujung – ujung sediaan.
- e. Ujung ekornya tidak berbentuk bendera robek.
- f. Pengecatan yang baik (Depkes).

2.10 Morfologi preparat hapus darah tepi

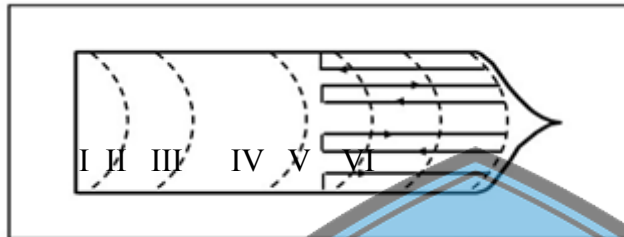
Pada preparat hapus terdapat tiga bagian, yaitu:

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 2.5 Bagian – bagian dari apusan darah tepi yang baik

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:



Gambar 2.6 Skema Diagram Preparat Apus Darah Tepi Metode Longitudinal dengan arah pergerakan yang ditunjukkan dengan Tanda Anak Panah

Zona I: disebut zona irregular

Didaerah ini distribusi sel darah merah tidak teratur, ada yang padat, bergerombol sedikit atau banyak dan tidak selalu sama pada tiap – tiap preparasi.

Zona ini meliputi lebih kurang 3 % dari seluruh badan preparat.

Zona II: disebut zona tipis

Sel– sel darah merah disini distribusinya tidak teratur atau tidak merata, saling bertumpuk (over laping) dan berdesakan, zona ini meliputi lebih kurang 14%.

Zona III: disebut zona tebal

Sel – sel di daerah ini bergerombol rapat / padat, saling bertumpukan dan berdesakan, zona ini merupakan zona terluas meliputi hampir separuh luas seluruh preparat lebihkurang 45 %.

Zona IV: disebut zona tipis

Gambaran zona ini sama dengan zona II, hanya luasnya lebih besar sedikit daripada luas zona II, lebih kurang 18 %.

Zona V: disebut zona “eve “atau zona reguler

Di mana sel – sel tersebar rata tidak saling bertumpukan atau berdesakan, sehingga bentuk – bentuknya masih asli / utuh tidak mengalami perubahan – perubahan invitro. zona ini meliputi daerah seluas lebih kurang 11 %.

Zona VI: disebut zona sangat tipis

Terletak di ujung preparat sebelum menjadi ekor. Disini sel – selnya tidak padat dan lebih longgar di banding sel darah merah di zona II atau IV. pada umumnya telah membentuk gerombolan sel – sel yang tersusun berderet – deret. zona ini meliputi daerah seluas lebih kurang 9 %. (FK Undip, 2001)

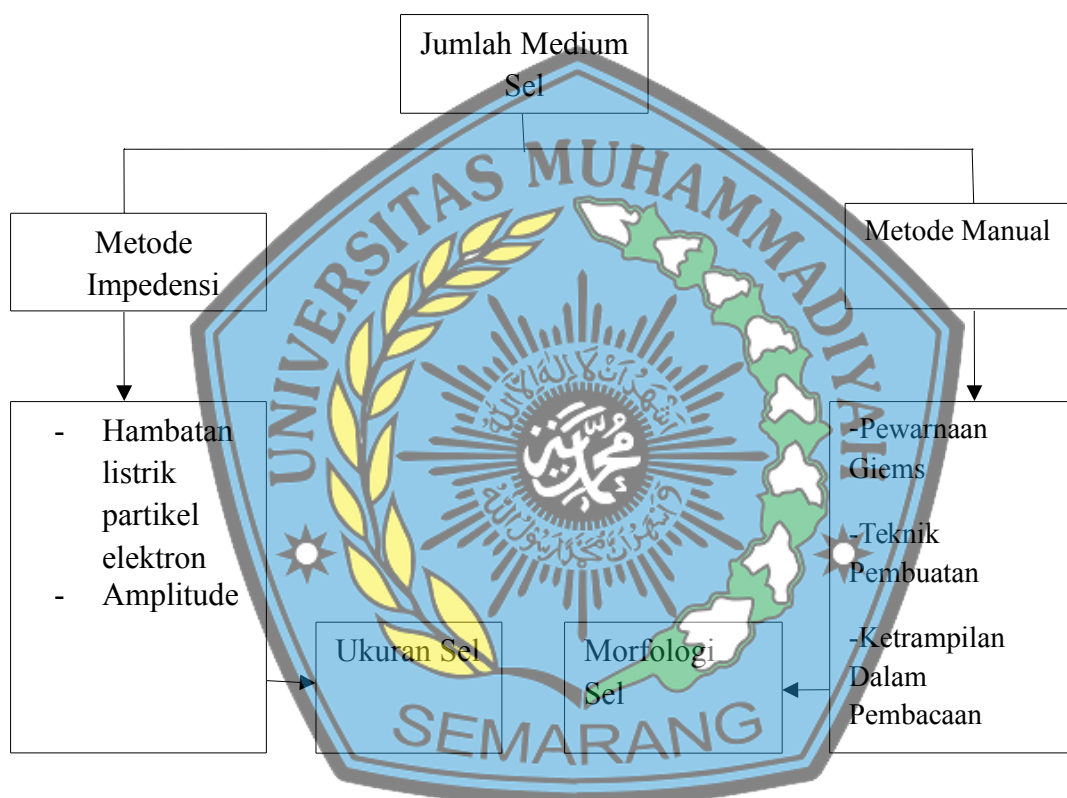
2.11 Pewarnaan sediaan darah tepi apus

Pewarnaan Giemsa (Giemsa Stain) adalah teknik pewarnaan untuk pemeriksaan mikroskopis yang namanya diambil dari seorang peneliti malaria yaitu Gustav Giemsa. Pewarnaan ini digunakan untuk pemeriksaan sitogenetik dan untuk diagnosis histopatologis parasit malaria dan juga parasit jenis lainnya. (Jason and Frances, 2010)

Dasar dari pewarnaan Giemsa adalah presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan metilen biru dan eosin yang dilarutkan di dalam metanol. Yaitu dua zat warna yang berbeda yaitu Azur B (*Trimethylionin*) yang bersifat basa dan eosin y (*tetrabromofluorescin*) yang bersifat asam seperti kromatin, DNA dan RNA. Sedangkan eosin y akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa seperti granula, eosinofili dan hemoglobin. Ikatan eosin y pada azur B yang

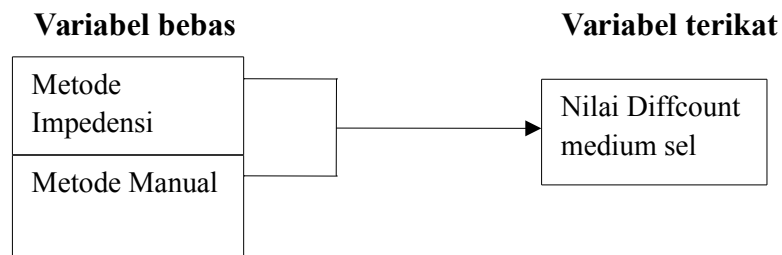
beragregasi dapat menimbulkan warna ungu, dan keadaan ini dikenal sebagai efek Romanowsky giemsa. Efek ini terjadi sangat nyata pada DNA tetapi tidak terjadi pada RNA sehingga akan menimbulkan kontras antara inti yang berwarna dengan sitoplasma yang berwarna biru. (Tjokronegoro A, 1996)

2.12 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori Penelitian

2.13 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka konsep penelitian

2.14 Hipotesis

Tidak ada perbedaan hasil medium sel lekosit dengan metode manual dan metode impedansi

