

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Darah**

Darah merupakan sel yang berbentuk cair yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Perbandingan volume darah dengan berat badan adalah 1:12, atau sekitar 5 liter. Darah terdiri dari beberapa jenis korpuskula yang membentuk 45% bagian dari darah. Bagian 55% yang lain berupa cairan kekuningan yang membentuk medium cair darah yang disebut plasma darah (Pearce, 2006).

##### **2.1.1. Komponen Darah**

Darah merupakan jaringan yang berbentuk cairan yang terdiri dari dua bagian besar. Darah terdiri dari atas dua komponen utama yaitu plasma darah sebesar 55% dan komponen padatan (korpuskuli) sebesar 45%. Plasma darah terdiri atas 91% air, 8% protein terlarut, 1% asam organik dan 1% garam (Guyton Arthur L, 2002). Plasma mengandung bermacam-macam zat yang dikategorikan dalam beberapa golongan, yaitu :

- a. Golongan Karbohidrat contohnya Glukosa
- b. Golongan Protein contohnya Albumin, Globulin, Fibrinogen
- c. Golongan Lemak/Lipid contohnya Kolesterol
- d. Golongan Enzym contohnya Amylase, Transaminase
- e. Golongan Hormon contohnya Insulin, Adrenalin
- f. Golongan Mineral contohnya zat Besi (Fe), Kalium (K)

- g. Golongan Vitamin contohnya Vitamin A, Vitamin K
- h. Golongan ampas Metabolik contohnya Urea, Asam Urat, Kreatinin
- i. Golongan zat warna contohnya Bilirubin dan lain-lainnya.

Bahan organik pada plasma merupakan protein yang disebut Plasma Protein yang berkisar 6-8%. Terdapat beberapa jenis protein yang berbeda sifat dan fungsinya. Tubuh individu terdapat kira-kira 200-300 gram protein terdapat dalam bentuk koloid dan mempengaruhi kekentalan (viskositas) darah. (DepKesRI, 2005).

Komponen padat (korpuskuli) terdiri atas sel – sel darah. Terdapat tiga jenis sel darah yaitu : sel darah merah, (Eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan kepingdarah (trombosit) (Guyton Arthur L, 2002).

### **2.1.2. Fungsi Darah**

Fungsi utama darah dalam sirkulasi adalah sebagai media transportasi, pengatur suhu dan pemelihara keseimbangan cairan, asam dan basa. Eritrosit selama hidupnya tetap berada dalam darah. Sel-sel ini mampu mengangkut oksigen secara efektif tanpa meninggalkan pembuluh darah serta cabang-cabangnya. Sebaliknya leukosit melaksanakan fungsinya di dalam jaringan, sedangkan keberadaannya dalam darah hanya melintas saja. Trombosit melakukan fungsinya pada dinding pembuluh darah, sedangkan trombosit yang ada dalam sirkulasi tidak mempunyai fungsi khusus. (Frances, K. Widmann, 2003).

Secara Umum Fungsi darah adalah sebagai berikut :

1. Bekerja sebagai sistem transport dari tubuh, menghantarkan semua bahan kimia, oksigen dan zat makanan yang diperlukan untuk tubuh supaya

fungsi normalnya dapat dijalankan, dan menyingkirkan karbon dioksida dan hasil buangan lain.

2. Eritrosit mengantarkan oksigen ke jaringan dan menyingkirkan sebagian karbon dioksida.
3. Leukosit menyediakan banyak bahan pelindung dan area gerakan fagositosis dari beberapa sel untuk melindungi tubuh terhadap serangan mikroorganisme.
4. Plasma membagi protein yang diperlukan untuk pembentukan jaringan.
5. Hormon dan enzim diantarkan dari organ ke organ dengan perantara darah.
6. Menghentikan pendarahan melalui proses pembekuan. (Sadikin, 2002)

## 2.2. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah merupakan salah satu komponen sel yang terdapat dalam darah, fungsi utamanya adalah sebagai pengangkut hemoglobin yang akan membawa oksigen dari paru – paru ke jaringan (Guyton, 2002). Eritrosit merupakan suatu sel yang kompleks, membrannya terdiri dari lipid dan protein, sedangkan bagian dalam sel merupakan mekanisme yang mempertahankan sel selama 120 hari masa hidupnya serta menjaga fungsi hemoglobin selama masa hidup sel tersebut (Williams, 2007). Eritrosit berbentuk bikonkaf dengan diameter sekitar 7,5  $\mu\text{m}$ , dan tebal 2  $\mu\text{m}$  namun dapat berubah bentuk sesuai diameter kapiler yang akan dilaluinya, selain itu setiap eritrosit mengandung kurang lebih 29 pg hemoglobin, maka pada pria dewasa dengan jumlah eritrosit normal sekitar 5,4 jt/ $\mu\text{l}$  didapati kadar hemoglobin sekitar 15,6 mg/dl (Ganong, 2010).

### 2.2.1. Komponen Eritrosit

Komponen utama sel darah merah atau eritrosit adalah molekul haemoprotein, hemoglobin yang terdiri dari 60-70%, H<sub>2</sub>O, 28-35% hemoglobin mengisi kira-kira sepertiga dari masa eritrosit. Dengan menggunakan metode elektrophoretik, hemoglobin dapat ditemukan. Molekul hemoglobin terdiri atas dua cincin, haem dan globin yang disintesis sendiri-sendiri. Rantai haem mengandung besi dan merupakan tempat pengikatan oksigen. Molekul ini memiliki kemampuan mengambil dan menggantikan oksigen dengan tekanan relatif tipis. Pada mamalia eritrosit tidak berinti, sedangkan pada unggas dan unta, eritrosit berinti. Eritrosit didalam pembuluh darah tersusun bertumpuk seperti koin dan disebut dengan istilah rouleaux (Guyton, 2008).

### 2.2.2. Fungsi Eritrosit

Fungsi utama sel darah merah adalah membawa oksigen (O<sub>2</sub>) dari paru-paru ke jaringan untuk melakukan metabolisme tubuh. Eritrosit mempunyai kemampuan yang khusus karena hemoglobin tinggi, apabila tidak ada hemoglobin kapasitas pembawa oksigen darah dapat berkurang sampai 99%. Fungsi penting hemoglobin ini adalah mengikat dengan mudah dan reversible, akibatnya oksigen yang langsung terikat dalam paru-paru diangkut sebagai oksihemoglobin dalam darah dan langsung terurai dari hemoglobin dalam jaringan. (Muttaqin, 2008)

### 2.2.3. Pembentukan Eritrosit

Proses pembentukan eritrosit terjadi dalam sumsum tulang. Proses pembentukannya melalui beberapa tahap, mula-mula besar dan berisi nukleus dan tidak berisi hemoglobin kemudian dimuati hemoglobin dan akhirnya kehilangan

nukleusnya dan siap diedarkan dalam sirkulasi darah yang kemudian akan beredar di dalam tubuh selama lebih kurang 25- 140 hari, setelah itu akan mati (Guyton, 2008).

Adapun proses pembentukan eritrosit menurut Apriliani tahun 2014, Pembentukan eritrosit adalah *eritropoiesis* merupakan proses yang diregulasi ketat melalui kendali umpan balik. Pembentukan eritrosit dihambat oleh kadar hemoglobin diatas normal dan dirangsang oleh keadaan anemia dan hipoksia. Eritropoiesis pada masa awal janin terjadi dalam *yolk sac*, pada bulan kehamilan kedua eritropoiesis berpindah ke liver dan pada saat bayi lahir eritropoiesis berpindah ke liver berhenti dan pusat pembentukan eritrosit berpindah ke sumsum tulang. Eritrosit sel yang kompleks, membrannya terdiri dari lipid protein, sedangkan bagian dalam sel merupakan mekanisme yang mempertahankan sel selama 120 hari. Proses eritropoiesis diatur oleh glikoprotein bernama eritropoietin yang diproduksi oleh ginjal 85% dan hati 15%. Pada janin dan neonatus pembentukan eritropoietin bersiklus dalam darah dan menunjukkan peningkatan menetap pada penderita anemia, regulasi kadar eritropoietin ini berhubungan eksklusif dengan keadaan hipoksia (Apriliani,2014)

## **2.3. Hematokrit**

### **2.3.1. Definisi**

Hematokrit adalah perbandingan bagian dari darah yang mengandung eritrosit terhadap volume seluruh darah yang dihitung dalam persen (%). (Sutejo, 2009). Hematokrit berasal dari dua kata yaitu *haem* yang berarti darah dan *krinein*

yang berarti memisahkan. Nilai Hematokrit adalah volume semua eritrosit dalam 100 ml darah yang darah kapiler atau darah vena. (Gandasoebrata, 2010)

Pemeriksaan hematokrit merupakan salah satu pemeriksaan darah khusus yang sering dilakukan di laboratorium yang berguna untuk membantu berbagai diagnosa penyakit diantaranya Demam Berdarah Dengue (DBD), Anemia, polisitemia dan diare berat. (Soetedjo, 2009 ; 28)

Pemeriksaan hematokrit dapat dilakukan dengan cara makro dan mikro. Cara makro menggunakan tabung wintrobe dengan panjang 9,5 cm, diameter 0,6 mm dan bersekala 0-100. Cara mikro digunakan tabung kapiler dengan panjang 75 mm dan diameter 1,5 mm. (Mahode, 2011)

Metode makro menggunakan centrifuge yang cukup besar, untuk memadatkan sel-sel darah merah dan membutuhkan waktu  $\pm 30$  menit. Metode mikro menggunakan centrifuge mikro hematorit yang menapai kecepatan yang jauh lebih tinggi, maka dari itu lamanya pemusingan dapat diperpendek. (Gandasoebrata, 2007)

### **2.3.2. Macam-macam pemeriksaan hematokrit**

#### **1. Pemeriksaan hematokrit dengan cara konvensional**

Pemeriksaan hematokrit dapat dilakukan dengan cara makro dan cara mikro dengan prinsip pemeriksaan yaitu dimana darah dengan antikoagulan dicentrifuge pada kecepatan tertentu dan dalam waktu tertentu. perbandingan volume eritrosit terhadap volume spesimen darah dinyatakan dalam %.

Kekurangan dalam melakukan pemeriksaan hematokrit cara konvensional metode makro adalah waktu yang diperlukan untuk centrifuge rata-rata 30 menit dan sampai darah yang digunakan juga cukup banyak. Kelebihannya adalah tidak perlu menutup salah satu ujung tabung dengan nyala api, karena disini menggunakan tabung wintrobe. (Gandasoabrata,2007)

Kekurangan dalam melakukan pemeriksaan hematokrit dengan cara konvensional metode mikro adalah penutupan ujung tabung kapiler yang tidak rapat, karena hal tersebut dapat menyebabkan kebocoran tabung kapiler saat dicentrifuge dan dapat menyebabkan nilai hematokrit menurun. Kelebihannya adalah tekniknya lebih sederhana, sampel yang digunakan sedikit dan nilai hematokrit dari tabung kapiler variabilitasnya hanya 1-2%. (Mahode,2011)

## 2. Pemeriksaan hematokrit dengan cara otomatis (Hematologi Analyzer)

Pemeriksaan hematokrit dengan hematologi analyzer Sysmex XN 1000. Sysmex XN 1000 menggunakan 3 detektor block dan dua jenis reagen untuk analisis darah pemeriksaan hematokrit menggunakan Sysmex XN 1000 reagen yang digunakan adalah Cell Pack yang berfungsi untuk pengenceran atau diluents, Stromalyzer dan Cell Clean yang memiliki prinsip yaitu metode deteksi berdasarkan tinggi pulsa eritrosit merupakan rasio sel darah merah terhadap volume total darah. Kadar hematokrit didapat dari perbandingan antara volume eritrosit dengan volume darah keseluruhan dinyatakan dalam %.

faktor yang mempengaruhi pemeriksaan hematokrit menggunakan metode hematology analyzer :

- a. Sampel kurang homogen.
- b. Volume sampel yang kurang.
- c. Kalibrasi dan kontrol tidak benar.
- d. Reagen yang rusak atau jelek.
- e. Sampel terdapat bekuan.

Kekurangan pemeriksaan hematokrit dengan cara otomatis menggunakan hematology analyzer adalah kurang efisien dari segi dana dan membutuhkan sampel darah yang lebih banyak. Kelebihannya adalah hasil pemeriksaan akan dibaca secara otomatis dan hasil pemeriksaan dapat langsung diketahui secara cepat tepat dan mempunyai derajat ketepatan yang tinggi.

### **2.3.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hematokrit**

1. Faktor- Faktor yang mempengaruhi hematokrit secara invivo
  - a. Eritrosit

Faktor ini sangat penting pada pemeriksaan hematokrit karena eritrosit merupakan sel yang diukur dalam pemeriksaan tersebut. Hematokrit dapat meningkat pada polisitemia yaitu peningkatan jumlah sel darah merah dan nilai hematokrit dapat menurun pada anemia yaitu penurunan kuantitas sel-sel darah merah dalam sirkulasi (Corwin, 2001).

b. Viskositas Darah

Efek hematokrit terhadap viskositas darah adalah makin besar prosentase sel darah maka makin tinggi hematokritnya dan makin banyak pergeseran diantara lapisan-lapisan darah, pergeseran inilah yang menentukan viskositas. Oleh karena itu, viskositas darah meningkat secara drastis ketika hematokrit meningkat (2003).

c. Plasma

Pada pemeriksaan hematokrit plasma harus pula diamati terhadap adanya ikterus atau hemolisis. Keadaan fisiologis atau patofisiologis pada plasma dapat mempengaruhi pemeriksaan hematokrit (Widmann, 2003).

2. Faktor-faktor yang mempengaruhi hematokrit secara invitro

a. Sentrifugasi

Penempatan tabung kapiler pada lubang jari-jari centrifuge yang kurang tepat dan penutup yang kurang rapat dapat menyebabkan hasil pembacaan hematokrit tinggi palsu. Kecepatan putar centrifuge dan pengaturan waktu dimaksudkan agar eritrosit memadat secara maksimal. Oleh karena itu harus diatur secara tepat. Pemakaian microcentrifuge dalam waktu yang lama mengakibatkan alat menjadi panas sehingga dapat mengakibatkan hemolisis dan nilai hematokrit menjadi rendah palsu (Wirawan, 2005)

b. Antikoagulan

Penggunaan antikoagulan Na<sub>2</sub>EDTA/ K<sub>2</sub>EDTA lebih dari kadar 1,5 mg/ ml darah mengakibatkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit akan rendah (Wirawan, 2005).

c. Pembacaan yang tidak tepat

d. Bahan pemeriksaan tidak dicampur hingga homogen sebelum pemeriksaan dilakukan

e. Tabung hematokrit tidak bersih dan kering

f. suhu dan waktu penyimpanan sampel

Bahan pemeriksaan sebaiknya segera diperiksa, jika dilakukan penundaan pemeriksaan sebaiknya sampel disimpan pada 4 derajat celcius selama 24 jam memberikan nilai hematokrit yang lebih tinggi (Gandasoebrata, 2008)

#### 2.4. Tabung Vacutainer

Tabung *vacutainer* merupakan tabung yang aman untuk pengumpulan spesimen darah. Penggunaan tabung *vacutainer* dapat mengurangi resiko terjadinya kerusakan dan tumpahnya spesimen serta pembuangan tabung plastik yang aman, sederhana dan sesuai dengan *Environmental Protection Agency (EPA)* (Turgeon, 2005).

Tabung *vacutainer* direkomendasikan oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) untuk pemeriksaan hematologi karena mempunyai ketepatan perbandingan antikoagulan dengan darah yang lebih baik dibandingkan penambahan antikoagulan cara konvensional. Namun, penggunaan

EDTA *vacutainer* 4 kali lebih mahal dibandingkan EDTA konvensional (Nurrachmat, 2005).

Vacutainer mempunyai banyak macam ukuran dan volume, yaitu :

1. Biru muda : mengandung *sodium citrate*. Digunakan untuk penentuan CTAD untuk fungsi tes trombosit yang dipilih dan penentuan koagulasi rutin.
2. Merah : mengandung aktivator penggumpalan dan dilapisi silikon. Digunakan untuk penentuan serum dalam kimia, skrining donor darah rutin dan tes diagnostik serum untuk penyakit menular. Waktu pembekuan darah : 60 menit.
3. Kuning : mengandung *inert polymer gel*. Digunakan untuk pemeriksaan SST, gel pada tabung ini setelah disentrifugasi akan menjadi pembatas sel dengan serum.
4. Hijau muda: mengandung *lithium heparin* dan *gell* pemisahan plasma. Digunakan untuk penentuan plasma kimia.
5. Lavender : mengandung *spray – coated*  $K_2EDTA$ / *liquid* $K_3EDTA$ . Digunakan untuk penentuan hematologi darah, pengujian immunohematologi rutin, dan skrining donor darah.

Abu – abu : mengandung *sodium flouridedan potassium oxalate* yang merupakan antiglikolisis. Digunakan untuk pemeriksaan glukosa (Keohane *et al*, 2016).

Tabung dengan tutup lavender merupakan tabung yang umumnya digunakan dalam pemeriksaan hematologi. Tabung ini dilapisi Spray dried  $K_2EDTA$  atau  $K_3EDTA$  dalam bentuk cair.  $K_3EDTA$  berbentuk cairan dan akan mencairkan

sampel sebanyak 1 – 2 %. Konsentrasi K<sub>3</sub>EDTA dalam tabung vacutainer adalah 1,8 mg/ml darah. Penting untuk mencampur sampel 8 – 10 kali segera setelah pengambilan untuk memastikan semua antikoagulan tercampur dengan darah dalam tabung. (analismuslim, 2013)

Volume darah minimum dan maksimum yang dapat diterima harus ditetapkan pada masing – masing parameter, untuk memastikan bahwa hasil hematologi yang diperoleh akurat. Tabung vacutainer ini dirancang untuk mendapatkan volume darah yang tepat untuk rasio aditif. (analismuslim, 2013)

## **2.5. Antikoagulan EDTA**

Antikoagulan adalah zat yang digunakan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Antikoagulan EDTA dalam bentuk garam natrium, kalium atau lithium, dapat dipakai untuk beberapa macam pemeriksaan hematologi, seperti penetapan kadar hemoglobin, hitung jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, penetapan laju endap darah menurut Westergren dan Wintrobe, tetapi tidak dapat dipakai untuk percobaan hemoragik dan pemeriksaan faal trombosit. (R.Gandasoebrata, 2007)

Pemeriksaan dengan memakai darah EDTA sebaiknya dilakukan segera, hanya kalau perlu boleh disimpan dalam lemari es dengan suhu 40C. Darah EDTA yang disimpan pada suhu 40C selama 24 jam memberikan nilai hematokrit yang lebih tinggi. Pembuatan sediaan apus darah tepi dapat dipakai darah EDTA yang disimpan dengan waktu paling lama 2 jam. Darah EDTA dapat disimpan paling lama 24 jam didalam lemari es tanpa mendatangkan penyimpanan yang

bermakna, kecuali untuk jumlah trombosit dan nilai hematokrit. (R.Gandasoebrata, 2007)

## **2.6. Pengaruh Penggunaan Tabung K<sub>2</sub>EDTA dan K<sub>3</sub>EDTA terhadap Pemeriksaan Sel**

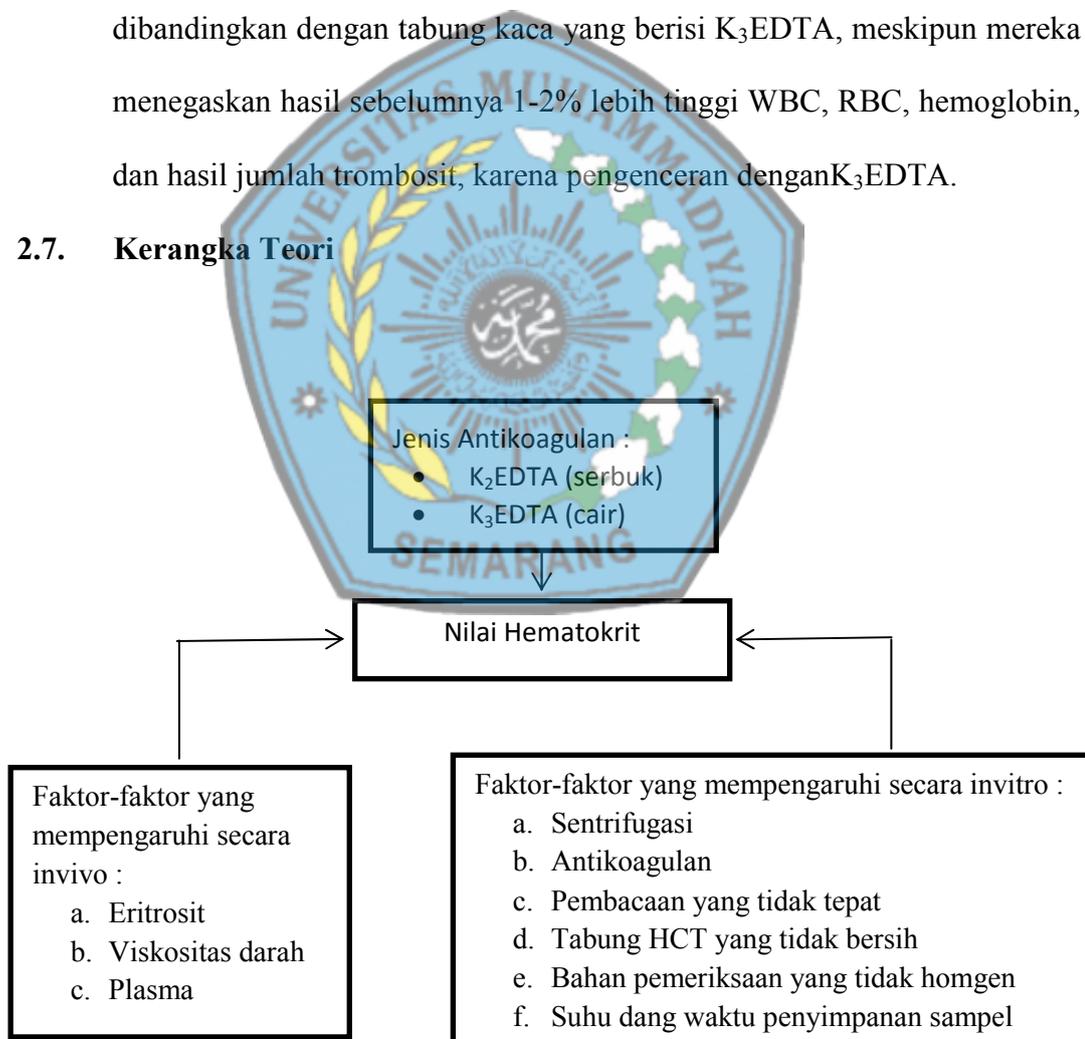
Ketiga jenis sel darah yaitu leukosit, eritrosit dan trombosit dihitung per satuan volume darah dengan terlebih dahulu membuat pengenceran dari darah yang diperiksa. Pada laboratorium besar yang beban kerjanya besar pula, upaya itu biasanya dilakukan dengan menggunakan alat hitung elektroni. Pada dasarnya alat semacam itu yang lazimnya dipakai bersama alat pengencer otomatis memberi hasil yang sangat teliti dan tepat. Sering alat penghitung elektronik dikaitkan dengan komputer kecil yang dapat memberi data mengenai volume eritrosit rata – rata dan nilai hemoglobin rata – rata. Harga alat penghitung elektronik mahal dan mengharuskan pemakaian dan pemeliharaan yang sangat cermat. Selain itu perlu ada upaya untuk menjamin tepatnya alat itu bekerja dalam satu program jaminan mutu (quality control). Metode elektronik itu tidak dijelaskan lebih lanjut (Gandasoebrata, 2007).

*The International Council for Standardization in Haematology and NCCLS telah merekomen dasikan K<sub>2</sub>EDTA sebagai tikoagulan pilihan untuk menghitung sel darah dan ukuran, alasannya sebagai berikut:*

- K<sub>2</sub>EDTA tidak terjadi penyusutan dari RBC (Red Blood Cell) Sel darah merah dengan meningkatnya konsentrasi EDTA (11% penyusutan perbandingan 7,5 mg/ml darah)
- K<sub>2</sub>EDTA tidak meningkatkan volume sel (1,6% kenaikan setelah 4 jam)

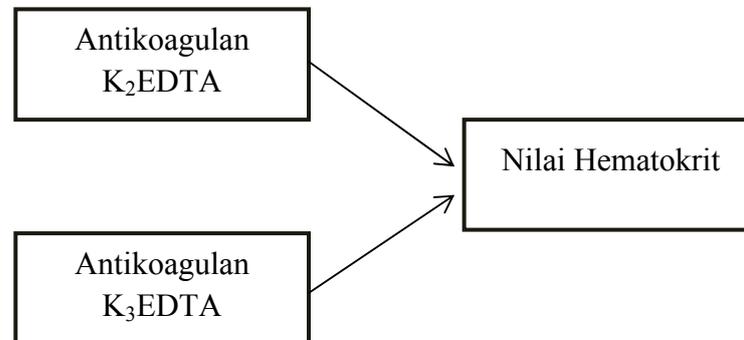
- $K_2EDTA$  karena berbentuk bubuk kering sehingga tidak aditif.
- Pengukuran pemeriksaan Hb, RBC, WBC, dan jumlah trombosit telah diteliti 1-2% lebih rendah dari hasil yang diperoleh dengan  $K_2EDTA$
- Beberapa alat instrument atau alat pemeriksaan hitung jumlah sel,  $K_3EDTA$  memberikan jumlah WBC lebih rendah bila digunakan pada konsentrasi tinggi. Brunson, et al., Mengatakan bahwa tabung plastik yang berisi  $K_2EDTA$  memberikan hitung darah lengkap dengan hasil yang sangat baik dibandingkan dengan tabung kaca yang berisi  $K_3EDTA$ , meskipun mereka menegaskan hasil sebelumnya 1-2% lebih tinggi WBC, RBC, hemoglobin, dan hasil jumlah trombosit, karena pengenceran dengan  $K_3EDTA$ .

## 2.7. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

## 2.8. Kerangka konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

## 2.9. Hipotesis

Ada perbedaan nilai hematokrit dengan menggunakan K<sub>2</sub>EDTA dan K<sub>3</sub>EDTA.

