

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

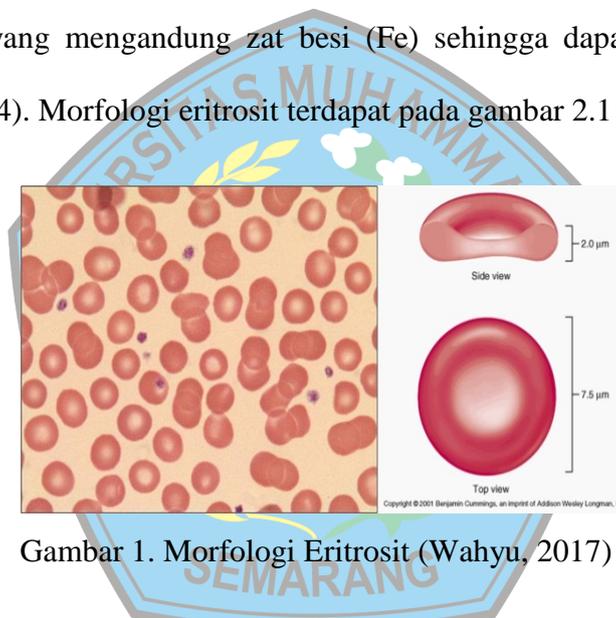
2.1 Darah

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang berada dalam ruang vaskuler. Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lainnya, berada dalam konsistensi cair, beredar dalam suatu sistem tertutup (vaskuler) yang dinamakan pembuluh darah. Darah membentuk 6-8% dari berat tubuh total dan terdiri dari sel-sel darah yang tersuspensi di dalam suatu cairan yang disebut plasma. Cairan plasma membentuk 45-60% dari volume darah total. Eritrosit menempati sebagian besar volume sisanya. Fungsi darah yaitu mengangkut sari-sari makanan dari usus ke jaringan. Bekerja sebagai mekanisme pengangkutan dari tubuh dan mengantarkan semua bahan kimia, oksigen dan zat-zat makanan yang dibutuhkan sehingga fungsi normalnya dapat dijalankan dan membuang karbondioksida serta hasil buangan lainnya (Sacher, 2012).

Komponen sel darah manusia terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping-keping darah (trombosit). Eritrosit adalah sel yang terbanyak di dalam darah. Eritrosit mengandung senyawa yang berwarna merah yaitu hemoglobin, maka dengan sendirinya darah berwarna merah. Sel eritrosit mudah dilihat dengan bantuan mikroskop pada sedian hapus darah. Eritrosit tampak sebagai sel-sel bulat dengan ciri khas tidak berinti, yang menutup lapangan pandang. Morfologi eritrosit bukanlah berupa suatu bola, akan tetapi berupa suatu cakram bikonkaf (Bakta, 2006). Bentuk bikonkaf tersebut menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh

darah yang sangat kecil dengan lebih baik. Eritrosit melalui mikroskop tampak bulat, berwarna merah dan pada bagian tengah tampak lebih pucat dan diameter kira-kira sepertiga dari keseluruhan diameter eritrosit (Kiswari, 2014).

Eritrosit berfungsi untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbondioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke paru. Eritrosit tidak memiliki sel inti, tetapi mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen (Kiswari, 2014). Morfologi eritrosit terdapat pada gambar 2.1 berikut.



Gambar 1. Morfologi Eritrosit (Wahyu, 2017)

Diameter eritrosit manusia biasanya sebesar $7,82 \pm \text{mm}$, sedangkan tebal cakramnya adalah $0,81 \pm 0,35 \text{ mm}$ di tempat yang paling tipis dan $2,58 \pm 0,27$ ditempat yang paling tebal. Volume SDM rata-rata adalah $94 \pm 14 \text{ fL}$ (*femtoliter*), $1 \text{ fL} = 10^{-15} \text{ L}$ sedangkan luas permukaan adalah $135 \pm 15 \text{ mm}^2$. Ukuran tersebut dapat berubah menjadi lebih besar atau lebih kecil, berhubungan dengan kelainan sel darah merah dan menyebabkan atau menyertai anemia (Bakta, 2006).

Leukosit merupakan sel yang membentuk komponen darah, berperan dalam melawan infeksi atau invasi asing. Hitung jumlah leukosit normal berkisar dari

4.000 sampai 11.000/ μ L (Tao, 2013). Leukosit terdiri dari dua jenis sel utama yaitu granulosit (neutrofil, eosinofil, basofil) dan agranulosit (monosit dan limfosit). Granulosit dan monosit memiliki fungsi fagositosis yang berperan dalam perlindungan badan terhadap mikroorganisme, sedangkan limfosit berperan dalam pembentukan antibodi (Sudiono, 2014).

Trombosit merupakan komponen seluler darah yang berperan dalam fungsi hemostasis. Trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit di dalam sumsum tulang sehingga trombosit tidak dapat dipandang sebagai sel utuh. Megakariosit pada proses pematangan akan pecah menjadi 3000-4000 serpihan sel. Trombosit disebut juga platelet atau keping darah (Kiswari, 2014).

Trombosit melekat pada lapisan endotel pembuluh darah yang robek (luka) dengan membentuk *plug* trombosit. Trombosit memiliki bentuk tidak beraturan (seperti pecahan keramik) dengan garis tengah 0.75 sampai 2.25 μ m. Ukuran trombosit 1-4 μ m dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu kemerahan. Trombosit tidak memiliki inti sel, akan tetapi masih dapat melakukan sintesis protein, meskipun terbatas karena di dalam sitoplasma masih terdapat jumlah RNA. Trombosit dalam darah memiliki umur sekitar 8-10 hari. Konsentrasi trombosit dalam darah yaitu antara 150.000 – 400.000/mL darah. Perubahan dalam jumlah trombosit umumnya terjadi penurunan, karena sering terjadi pada beberapa penyakit dan keadaan patologi tertentu (Kiswari, 2014).

2.2 Indeks Eritrosit

Indeks eritrosit adalah batasan untuk ukuran dan isi hemoglobin eritrosit. Indeks eritrosit terdiri atas *Mean Corpuscular Volume* (MCV), *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH), dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC). Indeks eritrosit digunakan secara luas dalam memberikan klarifikasi anemia atau sebagai penunjang dalam membedakan berbagai macam anemia (Israr, 2010). Indeks eritrosit dapat ditetapkan dengan dua metode, yaitu manual dan elektronik (otomatis) menggunakan *auto hematologi analyzer*. Perhitungan indeks eritrosit secara manual diperlukan data kadar hemoglobin (Hb), hematokrit (Ht), dan hitung eritrosit (E) (Riswanto, 2009).

MCV adalah volume rata-rata sel darah merah. MCV diukur secara langsung dengan perhitungan elektronik tetapi dapat juga dihitung dengan membagi hematokrit dengan hitung sel darah merah yang dinyatakan dalam juta/ μ L dan dikali 10. Besaran MCV dinyatakan dalam femtoliter per sel darah merah (fL = 10⁻¹⁵ liter). Rentang normal adalah 80 - 98 fL (Sacher, RA. 2004). Penurunan MCV mengindikasikan terjadi anemia mikrositik, anemia defisiensi besi (ADB), malignansi, artritis reumatoid, hemoglobinopati (talasemia, anemia sel sabit, hemoglobin C), keracunan timbal, dan radiasi. Sedangkan peningkatan MCV mengindikasikan kemungkinan anemia makrositik, aplastik, hemolitik, pernisiiosa; penyakit hati kronis; hipotiroidisme (miksedema) dan pengaruh obat (defisiensi vit B12, antikonvulsan, antimetabolik) (Riswanto, 2009). Berikut adalah rumus perhitungan MCV.

$$\text{MCV} = \frac{\text{Nilai hematokrit}}{\text{Jumlah eritrosit}} \times 10$$

MCH adalah hemoglobin eritrosit rata-rata. MCH dihitung secara otomatis pada penghitung elektronik tetapi juga dapat ditentukan apabila hemoglobin dan hitung sel darah merah diketahui. MCH mengindikasikan bobot hemoglobin di dalam eritrosit tanpa memperhatikan ukurannya. Besaran MCH dinyatakan dalam pikogram ($\text{pg} = 10^{-12}$ gram) dan dapat dihitung dengan membagi jumlah hemoglobin per liter darah dengan jumlah sel darah merah per liter. Rentang normal adalah 26 - 32 pg (Sacher, 2004). MCH meningkat pada anemia makrositik-normokromik atau sferositosis dan menurun pada anemia mikrositik-normokromik atau anemia mikrositik-hipokromik (Riswanto, 2009). Berikut adalah rumus perhitungan MCH.

$$\text{MCH} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin}}{\text{Jumlah Eritrosit}} \times 10$$

MCHC adalah konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata. MCHC dihitung dengan penghitung elektronik setelah pengukuran hemoglobin dan perhitungan hematokrit. MCHC dinyatakan dalam satuan persen (%). MCHC dapat ditentukan secara manual dengan membagi hemoglobin per desiliter darah dengan hematokrit. Nilai rujukan berkisar dari 32 - 36% (Sacher, 2004). Penurunan nilai MCHC terdapat pada anemia hipokromik, defisiensi zat besi serta talasemia (Riswanto, 2009). Berikut adalah rumus perhitungan MCHC.

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin}}{\text{Nilai Hematokrit}} \times 100$$

2.3 Faktor-Faktor yang Berpengaruh terhadap Nilai Indeks Eritrosit

Terdapat 3 faktor yang dapat berpengaruh terhadap penetapan nilai indeks eritrosit yaitu kadar hemoglobin, nilai hematokrit dan jumlah eritrosit. Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar hemoglobin adalah kecukupan zat besi dalam tubuh. Zat Besi dibutuhkan untuk produksi hemoglobin, sehingga anemia gizi besi akan menyebabkan terbentuknya sel darah merah yang lebih kecil dan kandungan hemoglobin yang rendah (Bakta, 2006).

Nilai hematokrit digunakan untuk menghitung nilai indeks eritrosit. Faktor yang berpengaruh terhadap nilai hematokrit yaitu sampel darah. Apabila sampel darah diambil pada daerah lengan yang terpasang jalur intra-vena, nilai hematokrit cenderung rendah karena terjadi hemodilusi. Pemasangan tali tourniquet yang terlalu lama berpotensi menyebabkan hemokonsentrasi, sehingga nilai hematokrit dapat mengalami peningkatan (Riswanto, 2013).

Faktor yang berpengaruh terhadap hasil laboratorium jumlah eritrosit, diantaranya adalah pH, suhu, konsentrasi glukosa, dan persediaan oksigen dalam tubuh. Penurunan kadar glukosa dalam darah akan berpengaruh terhadap kadar eritrosit, karena salah satu substansi adalah glukosa. Apabila kadar eritrosit menurun akan menyebabkan terjadinya anemia. Persediaan oksigen dalam tubuh dapat berpengaruh terhadap produksi eritrosit. Apabila Persediaan oksigen dalam tubuh hanya sedikit, maka produksi eritropoietin akan meningkat sehingga menyebabkan produksi eritrosit juga meningkat. Sampel darah untuk pemeriksaan jumlah eritrosit sebaiknya tidak disimpan terlalu lama karena eritrosit yang berumur lama cenderung memiliki fragilitas osmotik tinggi. Apabila sampel darah

yang diambil lebih dari 3 jam dapat menunjukkan peningkatan fragilitas osmotik eritrosit. Sampel darah disimpan pada suhu rendah (4°C) sehingga metabolisme dapat diperlambat. Suhu maksimum untuk menyimpan darah adalah 10°C , di atas suhu tersebut merusak eritrosit akan berlangsung cepat. Selain itu, pH darah dapat juga berubah selama masa penyimpanan. pH normal darah adalah pH 7,4. (Gandasoebrata, 2013).

2.4 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan digunakan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah, sehingga darah tetap dalam kondisi cair. Terdapat berbagai jenis antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi, salah satunya adalah EDTA. EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$) adalah antikoagulan yang paling umum dan banyak digunakan untuk parameter pemeriksaan hematologi. EDTA umumnya tersedia dalam bentuk garam sodium (natrium) atau potassium (kalium). EDTA dalam bentuk garam kalium 15 kali lebih larut dalam air dibandingkan dalam bentuk garam natrium (Gandasoebrata, 2011).

Terdapat tiga macam EDTA, yaitu Na_2EDTA , K_2EDTA dan K_3EDTA . Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA biasanya digunakan dalam bentuk cair. Mekanisme kerja EDTA adalah dengan menghambat kerja aktivator pada pembekuan darah. Proses pembekuan darah diperlukan Ca^{2+} untuk mengaktivasi kerja protrombin menjadi trombin. Ca_2^+ diperlukan kembali pada proses aktivasi fibrin lunak menjadi fibrin dengan gumpalan keras. EDTA berperan sebagai *chelating agent* yang dapat

mengikat ion Ca_2^+ yang bebas dalam darah sehingga tidak dapat berperan aktif dalam proses selanjutnya (Wirawan, 2002).

EDTA yang dipakai dapat berupa garam Na_2EDTA , K_2EDTA atau K_3EDTA dengan ukuran 1,5 mg/mL darah. Larutan garam EDTA 1% menunjukkan pH yang berbeda. Na_2EDTA jika telah tercampur darah akan menunjukkan pH $5,0 \pm 1,0$. K_2EDTA pH $4,8 \pm 1,0$ sedangkan K_3EDTA pH $7,5 \pm 1,0$ (Wirawan, 2002). Garam EDTA bersifat hiperosmolar yang menyebabkan eritrosit mengerut, sehingga nilai hematokrit lebih rendah. Selain itu pH garam Na_2EDTA dan K_2EDTA yang bersifat asam akan menyebabkan eritrosit membesar, sehingga terjadi kompensasi ukuran eritrosit yang mengerut akan normal kembali. Penggunaan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan nilai MCV lebih rendah sedikit jika dibandingkan dengan K_2EDTA atau Na_2EDTA , sehingga terjadi penurunan nilai hematokrit (Wirawan, 2002).

Darah dengan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan stabilitas yang lebih baik dari garam EDTA lain karena darah dengan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan pH yang mendekati pH darah (Wirawan, 2002). Pemeriksaan dengan memakai darah EDTA sebaiknya dilakukan segera, namun jika terjadi penundaan dapat disimpan dalam lemari es (4°C) selama 24 jam. Darah EDTA pada umumnya dapat disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C tanpa ada penyimpangan bermakna, kecuali untuk jumlah trombosit dan nilai hematokrit (Gandasoebarta, 2011). Perbandingan jumlah darah dengan antikoagulan yang dipakai harus tepat karena apabila darah berlebih, akan terdapat mikrotrombin di dalam penampung yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat

menyumbat alat pemeriksaan. Apabila darah yang dipakai lebih sedikit antikoagulan yang ada berlebihan. Keadaan tersebut akan mengakibatkan eritrosit mengerut sehingga nilai hematokrit lebih rendah, nilai MCV menurun dan nilai MCHC meningkat (Wirawan, R. 2002).

2.5 Tabung Vacutainer

Tabung vacutainer merupakan inovasi di dunia medis tentang teknik pengambilan darah menggunakan tabung vacum. Tabung ini merupakan tabung reaksi yang hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik. Prinsip kerja tabung vacutainer ini adalah ketika jarum telah menusuk ke dalam vena darah akan mengalir masuk ke dalam tabung vacutainer hingga volume tertentu dan ketika volume darah tercapai maka darah akan dengan sendirinya berhenti. Tabung ini pertama kali diciptakan oleh Joseph Kleiner pada tahun 1947, kemudian diproduksi secara massal oleh perusahaan Becton Dickinson (Mahendra, 2014).

Warna tutup tabung vacutainer digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium. Terdapat 5 jenis tabung vacutainer yang sering digunakan di laboratorium yaitu tabung tutup merah, tabung tutup kuning, tabung tutup hijau, tabung tutup ungu, tabung tutup ungu. Tabung tutup merah yaitu tabung tanpa penambahan zat *additive*. Darah akan menjadi beku dan serum dipisahkan dengan cara didiamkan atau di sentrifuge. Tabung tutup merah umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi, dan bank darah (*crossmatching test*). Tabung tutup kuning yaitu tabung berisi gel separator (*serum separator tube/SST*) yang berfungsi memisahkan serum dan sel darah, umumnya digunakan untuk

pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi. Tabung tutup hijau yaitu tabung yang berisi gel separator (*plasma separator tube/PST*) dengan antikoagulan lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah. Tabung tutup ungu atau lavender yaitu tabung yang berisi EDTA (K_3EDTA/K_2EDTA). Tabung tutup ungu umumnya digunakan untuk pemeriksaan hematologi dan bank darah (*crossmatch*). Tabung tutup biru yaitu tabung yang berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan tes koagulasi misalnya PPT dan APTT (Mahendra, 2014).

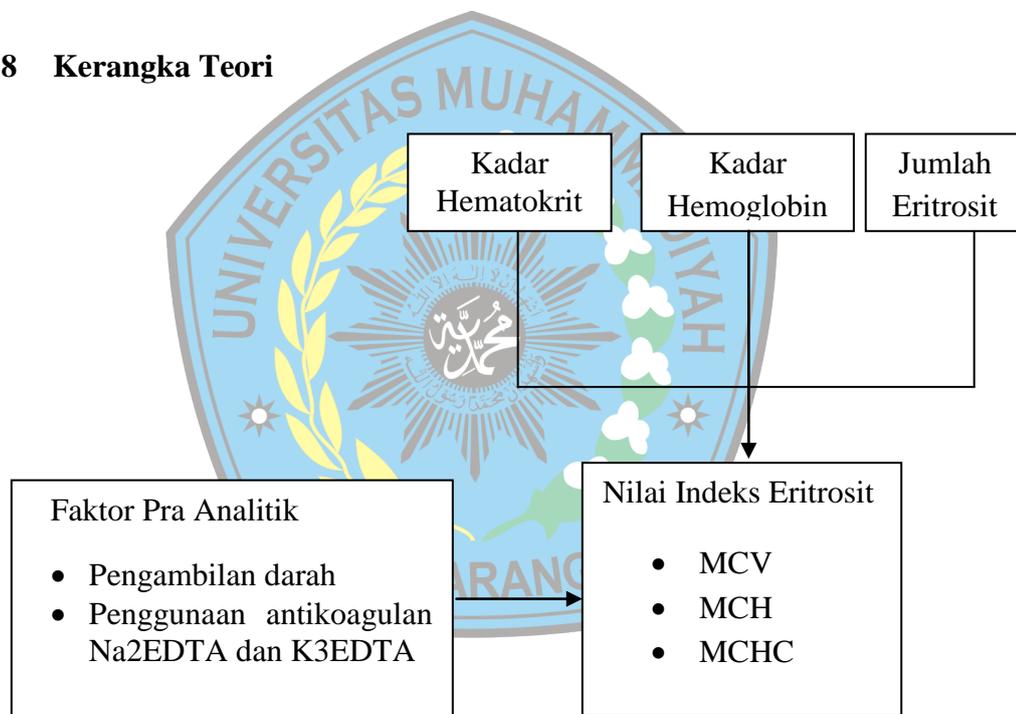
2.6 Sumber Kesalahan Pemeriksaan Hematologi

Sumber kesalahan pemeriksaan pada hematologi biasanya terjadi pada tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Tahap pra analitik atau tahap persiapan awal, merupakan tahap yang menentukan kualitas sampel yang akan dihasilkan dan berpengaruh terhadap proses kerja berikutnya. Tahap pra analitik meliputi kondisi pasien, sebelum pengambilan spesimen form permintaan laboratorium diperiksa. Identitas pasien harus ditulis dengan benar meliputi nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis, disertai diagnosis dan keterangan klinis. Identitas harus ditulis dengan benar sesuai dengan pasien yang akan diambil specimen. Pengambilan sampel idealnya dilakukan waktu pagi. Teknik atau cara pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai *standard operating procedure (SOP)* yang ada. Spesimen yang akan diperiksa memiliki volume mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar atau tidak kadaluarsa, tidak berubah warna dan tidak berubah bentuk. Pemakaian antikoagulan atau pengawet tepat,

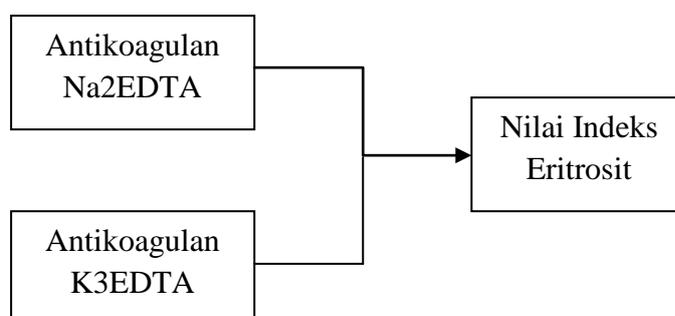
ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat dan identitas sesuai dengan data pasien.

Tahap analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memerhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan. Tahap pasca analitik atau tahap akhir pemeriksaan yang dilaksanakan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid atau benar (Budiwiyono, 2002).

2.8 Kerangka Teori



2.9 Kerangka Konsep



2.10 Hipotesis

Terdapat perbedaan antara penggunaan antikoagulan Na_2EDTA dan K_3EDTA terhadap hasil pemeriksaan indeks eritrosit.

