

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1.Darah

Darah merupakan cairan mengandung oksigen yang digunakan untuk mengangkut oksigen dan diedarkan ke seluruh tubuh. Dalam pemeriksaan, sampel darah sangat berpengaruh untuk diagnosis suatu penyakit. Pemeriksaan morfologi apusan darah tepi harus dilakukan dengan baik, karena merupakan pemeriksaan laboratorium yang sangat penting. Kesalahan dalam pemeriksaan apusan darah tepi dapat mempengaruhi diagnosis.

Ada dua komponen yang dapat membentuk darah yaitu komponen seluler dan non seluler. Komponen seluler yang terdiri dari 45% (eritrosit, leukosit, dan trombosit), sedangkan komponen non seluler yang terdiri dari 55% berupa plasma. Fungsi darah dalam sirkulasi yaitu sebagai respirasi, eritrosit sebagai pengangkut oksigen dari paru-paru menuju jaringan keseluruhan tubuh, mengangkut sebagai nutrisi, sebagai system ekskresi, penyeimbang asam basa dalam tubuh, pengatur suhu tubuh, pertahanan terhadap infeksi, transport hormon dan pengatur metabolisme, dan pembekuan darah (koagulase).

Darah didistribusikan melalui pembuluh darah dari jantung keseluruhan tubuh dan akan kembali lagi menuju jantung. System ini memenuhi kebutuhan sel jaringan akan nutrisi dan oksigen, serta mentransport sisa metabolisme sel atau jaringan keluar dari tubuh (Nugraha G,2015).

2.2. Komposisi Darah

Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen seluler dan non seluler. Komponen seluler yang terdiri dari 45% sel darah, sedangkan non seluler 55% yang terdiri dari plasma disebagian dari darah. Komponen seluler terdiri dari

2.3. Sel Darah Merah atau Eritrosit (99%)

Eritrosit memiliki bentuk bikonkaf dengan diameter 7,5 μ m dan tebal 2,0 μ m memiliki sifat elastis sehingga dapat berubah bentuk ketika memasuki pembuluh darah yang dilaluinya mengandung hemoglobin dan mengandung oksigen (Nugraha G, 2015).

Morfologi sel eritrosit dapat dilihat dari bentuk, warna, dan ukuran dengan sediaan apus darah tepi yang menggunakan pewarnaan Giemsa / Wright / lainnya. Bentuk eritrosit normal yaitu bikonkaf dengan diameter 6,5 μ m, dan berwarna kemerah-merahan. Eritrosit yang normal berukuran sama dengan inti limfosit kecil pada sediaan apus darah tepi. Kelainan eritrosit dapat dilihat dari bentuk, warna, dan ukuran serta benda-benda inklusi.

1. Ukuran Eritrosit

Eritrosit memiliki ukuran 6,8 μ m dengan bentuk bikonkaf, bentuk eritrosit yang normal biasanya disebut dengan normositik, sedangkan ukuran eritrosit yang lebih kecil disebut mikrositik, dan yang lebih besar dari ukuran normal disebut makrositik.

2. Warna Eritrosit

Eritrosit yang normal memiliki warna yang pucat 1/3 dari bagian keseluruhan eritrosit. Eritrosit yang memiliki bagian pucat 1/3 bagian

disebut hipokrom, sedangkan jika memiliki warna pucat kurang dari 1/3 disebut hiperkrom.

3. Bentuk Eritrosit

Akibat pengaruh faktor kimia dan fisika variasi eritrosit akan mengalami perubahan (sitoplasma atau membrane sel). Bentuk abnormal pada eritrosit berupa ovalosit, sperosit, schitosit atau fragmentosit, sel target, sel sabit, krenasi, lisis, sel burr, akantosit, tear drop cells, poiklositosis, dan auto aglutinasi (Nugraha, 2015).

2.4.Sediaan Apus Darah Tepi

Sediaan apus darah tepi merupakan pemeriksaan dengan tehnik mikroskopik untuk melihat morfologi sel darah (Nugraha, 2015), seperti gambaran darah tepi, jumlah eritrosit, indeks eritrosit, jumlah retikulosit dan trombosit. Ada dua bagian pemeriksaan di apusan darah tepi yaitu meliputi hitung jenis leukosit (termasuk pemeriksaan rutin), gambaran sel darah, serta unsur-unsur lain diantaranya sel ganas, parasit dan lain-lain (Budiwiyono I, 2002). Syarat mutlak untuk mendapatkan hasil yang baik yaitu dengan cara pembuatan apusan darah tepi yang baik pula (Mescher, Anthony L, 2012).

Kriteria sediaan yang baik meliputi:

1. Apusan tidak lewat dari kaca objek
2. Memiliki zona baca yang baik dimana eritrosit tidak bertumpuk
3. Sediaan tidak boleh berlubang-lubang ataupun bergaris (harus rata)
4. Penyebaran eritrosit harus baik, tidak boleh bertumpuk, pada zona baca.

Tabel 2.1 Faktor Yang Menyebabkan Apusan Tidak Baik Untuk Digunakan

No	Faktor Penyebab	Dampak terhadap apusan
1	Sampel darah terlalu lama (> 1 Jam).	Perubahan bentuk atau kerusakan sel
2	Lambat melakukan apusan pada kaca objek	Penyebaran sel tidak merata
3	Kaca objek kotor, dan ada lemak	Apusan berlubang-lubang
4	tetesannya terlalu banyak	apusan terlalu tebal dan panjang
5	Tetesannya terlalu sedikit	Apusan terlalu tipis dan pendek
6	Sudut geseran terlalu besar	Apusan terlalu tebal dan pendek
7	Sudut geseran terlalu kecil	Apusan terlalu tipis dan panjang
8	Geseran terlalu lambat	Apusan membentuk gelembung dan penyebaran sel tidak baik
9	Tekanan Geseran terlalu kuat	Apusan terlalu tipis
10	Tekanan geseran terlalu lemah	Apusan tebal dan bagian ekor terputus
11	Kelembapan ruangan terlalu tinggi	Apusan lama mengering dan eritrosit rusak

2.5. Pewarnaan Darah Apus.

Pewarnaan sediaan darah apus dapat membantu pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis dilaboratorium hematologi. Sediaan apus darah tepi dibagi menjadi 3 bagian, yaitu bagian ekor, badan, dan kepala. Dengan ketebalan apusan tersebut menggambarkan distribusi sel darah (Nugraha G, 2015). Zona apusan darah tepi dibagi menjadi VI bagian diantaranya zona I yaitu zona irreguler (tidak teratur, berdesakan, 3%), zona II (tipis tidak rata, berdesakan, 14%), zona III (tebal, bergelombol, rouleux, 45%), zona IV (sama dengan zona II, tipis, 14%), zona V (tidak berdesakan, tidak bertumpuk, regular, rata, bentuk utuh, 11%), zona VI (sangat tipis, longgar, 9%). Pembacaan dapat dilakukan pada zona yang baik,

yaitu eritrosit tersebar merata, tidak bertumpuk. Pembacaan dapat dilakukan dari pinggir hingga 10 lapangan pandang (Santosa B, 2010).

Pewarnaan ini dapat berfungsi untuk mempermudah pengamatan morfologi eritrosit, pewarnaan yang umum digunakan yaitu giemsa karena ketahanan dan jelasnya pewarnaan yang terjadi di SADT (Nugraha, 2015).

Prinsip pengecatan giemsa yaitu dilakukan fiksasi selama 5 menit dan digenangi menggunakan zat warna giemsa yang sudah diencerkan, biarkan selama 20 menit, bilas menggunakan aquades, dan biarkan mengering diudara (Subrata, 2007). Kriteria sediaan apus darah tepi yang baik yaitu :

1. Inti leukosit berwarna ungu
2. Eritrosit berwarna merah
3. Trombosit berwarna merah muda dan ungu muda
4. Granula eosinofil berwarna kemerah-merahan
5. Latar belakang sediaan berwarna biru pucat (Onggowaluyo, 2001).

Preparat yang baik memiliki warna kontras merah, biru pucat, dan ungu, dengan inti leukosit berwarna ungu, eritrosit berwarna ungu, trombosit berwarna merah muda dan ungu muda, serta granula pada eosinofil berwarna kemerah-merahan.

Faktor yang mempengaruhi kualitas pewarnaan SADT yaitu :

1. kualitas pewarnaan giemsa yang digunakan dengan pengenceran yang tepat, tidak kontaminasi oleh air
2. konsentrasi pada larutan fiksasi
3. waktu pewarnaan

4. ketebalan pewarnaan dan kebersihan preparat.

2.6. Pewarnaan Giemsa

Pewarnaan giemsa merupakan pewarnaan romanowsky yaitu pewarnaan yang menggunakan zat warna azure B (*trimethylthionin*, produk oksidasi *methylene blue*) yang memiliki warna biru dan eosin (eosin B atau eosin Y) dengan warna merah, kombinasi zat warna ini bersifat polikromatik yang memberikan warna pada SADT. Pewarnaan giemsa digunakan untuk membedakan leukosit, eritrosit dan trombosit dalam sel darah. Pewarna giemsa berupa giemsa stok atau padat yang diencerkan 20 kali menggunakan buffer ph 6,8 dengan perbandingan 1 bagian giemsa stok 1 : 9 bagian pelarut (Nugraha G, 2015).

2.7. Fiksasi

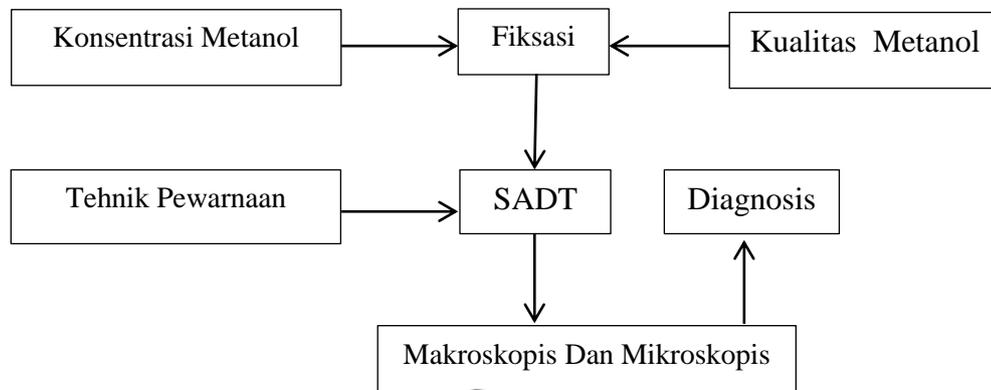
Dalam sediaan darah apus harus dilakukan fiksasi dengan baik. Fiksasi ini berfungsi untuk merekatkan sel darah supaya mudah saat diwarnai. Cara untuk menghentikan metabolisme yaitu salah satunya dengan cara fiksasi, fiksasi ini juga dapat mencegah rusaknya jaringan (Rudyatmi, 2011). Konsentrasi methanol dalam pengecatan sangat berpengaruh pada hasil sediaan apus darah tepi, serta penyimpanan metanol yang tidak baik juga dapat mempengaruhi hasil apus darah.

Metanol dapat berfungsi untuk melisiskan dinding sel sehingga dapat menyerap warna. Fiksasi yang tidak dilakukan <1 jam akan menyebabkan preparat berwarna kebiruan. Larutan fiksasi yang tidak baik akan mempengaruhi hasil morfologi, warna, dan bentuk pada eritrosit, hal ini dapat terjadi ketika larutan fiksasi tidak absolut, mengandung air >3%, karena telah menguap, dan dapat mengubah konsentrasi metanol tersebut sehingga menyebabkan fiksasi tidak

sempurna (Houwen Berend, 2000). Eritrosit juga dapat terjadi krenasi (pengerutan) hal ini, disebabkan karena darah dimasukkan kedalam larutan hipertonis sehingga terjadi tekanan osmosis dan sel akan keluar. Pada eritrosit yang berada dalam lingkungan hipotonis akan mengalami tekanan osmosis sehingga sel akan menggembung hingga sel burr (Pasini dkk, 2006). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi tekanan osmosis membran eritrosit secara fisiologis menurut Swenson (2005) dan Adenkola (2011), yaitu status nutrisi, temperatur lingkungan, dan genetik dapat mempengaruhi tekanan osmosis membran eritrosit. Status nutrisi akan mempengaruhi penyusunan membran eritrosit seperti pendapat Torbora dan Graboieski (2006) bahwa penyusun eritrosit terdiri dari fosfolipid, glikolipid, kolestrol dan protein (glikoprotein) dimana komponen tersebut tergantung pada status nutrisi yang dikonsumsi. Oyewale (1993) berpendapat bahwa penggunaan antikoagulan EDTA juga dapat meningkatkan tekanan osmosis pada membran eritrosit.

Faktor yang mempengaruhi hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi yaitu sampel yang terlalu lama disimpan, pembuatan apusan yang tidak baik, kaca objek tidak bersih, ketebalan atau tipisnya pembuatan apusan juga dapat berpengaruh pada hasil mikroskopis, konsentrasi metanol, tehnik pewarnaan akan mempengaruhi sediaan apus darah tepi sehingga hal ini akan mempengaruhi diagnosis yang akan ditentukan.

2.8. Kerangka Teori



2.9. Kerangka Konsep



2.10. Hipotesis

Terdapat pengaruh antara pengenceran larutan fiksasi terhadap hasil makroskopis dan mikroskopis sediaan apus darah tepi.