

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

Darah adalah cairan yang terdiri dari plasma dan sel darah. Darah merupakan bagian penting dari sistem sirkulasi. Plasma darah merupakan bagian cair yang terdiri dari air 91%, protein 8% (albumin, globulin, protombin, fibrinogen dan lain-lain) dan mineral 0,9%. Sisanya berisi sejumlah bahan organik, yaitu glukosa, lemak, urea, asam urat, kreatinin, kolesterol, dan asam amino. Bagian korpuskuli, yaitu benda-benda darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan sel pembekuan darah (trombosit) (Bakta, 2006).

2.2 Laju Endap Darah

Laju Endap Darah (LED) adalah kecepatan eritrosit mengendap dari sampel darah yang akan diperiksa dalam suatu alat tertentu yang dinyatakan dalam mm per jam. LED dalam bahasa asing diistilahkan *Blood Bezenking Snelheid* (BBS), *Blood Sedimentation Rate* (BSR), *Blood Sedimentation Erythrocyte* (BSE), *Blood Sedimentation* (BS), *Erythrocyte Sedimentation Rate* (ESR). LED dalam bahasa Indonesia diistilahkan juga dengan Kecepatan Pengendapan Darah (KPD) (Gabriel, 2004).

Proses LED menentukan kecepatan eritrosit jatuh pada dasar tabung vertikal dalam waktu tertentu. Pengukuran jarak dari atas kolom eritrosit yang mengendap sampai ke atas batas cairan dalam periode tertentu menentukan laju endap darah

(Sacher, 2009). Proses LED dibagi dalam 3 tingkatan yaitu penggumpalan, pengendapan cepat dan pematatan. Penggumpalan menggambarkan periode eritrosit untuk membentuk gulungan (*rouleaux*) dan sedikit sedimentasi. Pengendapan cepat adalah eritrosit yang mengendap secara tetap dan lebih cepat. Pematatan merupakan pengendapan gumpalan eritrosit yang mulai melambat karena terjadi pematatan eritrosit yang mengendap (Ibrahim, 2006).

Rouleaux adalah gumpalan eritrosit yang disatukan oleh gaya tarik permukaan dan bukan disebabkan oleh antibodi atau ikatan kovalen. Kualitas pembentukan *rouleaux* mencerminkan kemampuan sel membentuk agregat. Apabila proporsi globulin terhadap albumin meningkat, atau kadar fibrinogen sangat tinggi, pembentukan *rouleaux* akan meningkat dan kecepatan pengendapan juga meningkat.

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap LED adalah rasio eritrosit terhadap plasma, dan viskositas (kekentalan) plasma (Sacher, 2009). Pengendalian eritrosit sangat kompleks dan disebabkan tiga fase dari LED seperti agregasi, kecepatan pengendapan maksimal dan pematatan. Pengendapan eritrosit disebabkan oleh perubahan dari permukaan eritrosit yang menyebabkan eritrosit saling menyatu dan mengendap. Perubahan permukaan eritrosit tersebut dipengaruhi oleh permukaan plasma, terutama oleh sifat fisika dari plasma koloid. Nilai LED pada darah normal relatif kecil karena terjadi pengendapan eritrosit. Pengendapan tersebut akibat adanya tarikan yang diimbangi oleh tarikan keatas akibat perpindahan plasma. Viskositas plasma yang tinggi mungkin dapat menghambat tarikan ke bawah terhadap sel

eritrosit. Sebaliknya setiap keadaan yang meningkatkan penggumpalan atau pelekatan sel satu dan lainnya akan meningkatkan LED (Widmann, 2003).

Pengaruh protein plasma terkait dengan pembentukan *rouleaux* yang merupakan dasar pembentukan LED. Albumin cenderung bersifat mudah menghambat pembentukan *rouleaux*. Akan tetapi sifat albumin tersebut akan kalah apabila perbandingan dengan plasma cenderung lebih rendah dari makro molekul sel plasma, sehingga pembentukan *rouleaux* dalam plasma meningkat (Gandasoebrata, 2013).

Faktor teknik yang berpengaruh terhadap LED adalah posisi tabung, pemakaian antikoagulan, dan penundaan pemeriksaan. Posisi tabung seharusnya tegak lurus, apabila posisi miring akan berpengaruh terhadap hasil sehingga 30% lebih tinggi. Pemakaian antikoagulan yang berlebihan mengakibatkan LED tinggi. Pemeriksaan LED maksimal dilakukan dalam waktu 2 jam dari pengambilan sampel. Apabila pemeriksaan lebih dari 2 jam akan menyebabkan bakteri lebih banyak dan eritrosit menjadi lisis sehingga LED tinggi (Gandasoebrata, 2013).

Faktor fisik yang berperan dalam pemeriksaan LED, misalnya suhu atau temperatur bahan pemeriksaan. Suhu ideal pemeriksaan LED adalah 20°C. Suhu yang tinggi akan mempercepat pengendapan eritrosit sedangkan suhu yang rendah akan memperlambat pengendapan eritrosit (Widmann, 2003). Variasi yang kecil dari temperatur ruangan tidak berpengaruh besar pada LED. Namun ketika terjadi perbedaan suhu yang cukup besar, LED akan dipengaruhi secara signifikan. Darah yang disimpan pada lemari pendingin, menyebabkan LED secara signifikan akan

menurun. Hal ini disebabkan oleh viskositas plasma yang meningkat (Agustina,2015).

Faktor fisiologi terjadi pada pasien hamil dan anemia mengakibatkan LED tinggi karena peningkatan fibrinogen (Riswanto, 2009). Faktor plasma yang berpengaruh terhadap LED adalah kolesterol, fibrinogen dan globulin. Kolesterol yang meningkat dapat menetralkan tarikan ke bawah terhadap sel atau gumpalan sel. Keadaan yang meningkatkan LED dapat mengurangi sifat saling menolak diantara eritrosit, dan mengakibatkan eritrosit lebih mudah melekat satu dengan yang lain sehingga memudahkan terbentuknya *rouleaux*. Perbandingan globulin terhadap albumin yang meningkat atau kadar fibrinogen sangat tinggi menyebabkan *rouleaux* sangat mudah terbentuk sehingga LED meningkat. Peningkatan LED sering terjadi pada peningkatan kadar fibrinogen plasma yang berkaitan dengan reaksi kronis, tetapi peningkatan dalam makromolekul lainnya dalam plasma akan meningkatkan fibrinogen terutama immunoglobulin (Widmann, 2003).

2.3 Metode Westergreen

Pemeriksaan LED dapat dilakukan dengan metode westergreen dan metode wintrobe. Prinsip metode Westergreen adalah darah dengan antikoagulan dibiarkan di dalam pipet dengan ukuran tertentu dengan posisi tegak lurus. Kecepatan eritrosit mengendap diukur dalam jangka waktu tertentu. Perbandingan darah EDTA dengan NaCl pada metode ini adalah 4:1. NaCl fisiologis berfungsi sebagai pengencer dan bukan sebagai antikoagulan. Penilaian hasil LED adalah 1 jam, apabila hasil sudah

melewati nilai normal maka penilaian LED 2 jam tidak dilakukan. Sebaliknya apabila nilai LED masih dalam nilai normal maka perlu dilakukan penilaian LED pada 2 jam.

Metode Westergreen merupakan metode yang disarankan oleh *International Committee for Standardization in Hematology* (ICSH) (Kosasih, 2008) Tes LED manual dengan metode Westergren memiliki beberapa kelebihan, antara lain memiliki skala tabung yang panjang sehingga memungkinkan untuk menghitung skala pembacaan yang besar. Kekurangan metode westergreen adalah apabila pemasangan tabung tidak tegak lurus akan memberikan hasil yang berbeda (Sacher, 2009).

Metode Westergreen lebih baik dari pada metode Wintrobe dalam menunjukkan adanya indikasi suatu penyakit (kelainan berat). Teknik kerja yang benar memungkinkan dilakukan evaluasi secara realistis pada kelainan-kelainan berat. Hal tersebut menyebabkan para klinisi lebih menyukai cara Westergren dibandingkan dengan cara Wintrobe. Nilai normal LED untuk pria kurang dari 10 mm/jam, wanita kurang dari 15 mm/jam. Pengukuran LED metode Westergren menggunakan Natrium Citrat 3,8% sebagai antikoagulan sekaligus pengencer. Perbandingan penggunaan darah dan Natrium Citrat 3,8% pada metode Westergren adalah 4 : 1 (1,6 mL darah + 0,4 mL Natrium Citrat 3,8%). Sel-sel darah akan tetap mengendap dalam waktu tertentu dengan penambahan Natrium Citrat 3,8% karena adanya makro molekul dalam eritrosit. Hal tersebut menyebabkan eritrosit lebih mudah melekat satu dengan yang lain sehingga memudahkan pembentukan *rouleaux*. Larutan Natrium Citrat 3,8% lebih banyak dipakai dalam pemeriksaan LED

Westergren karena sifatnya yang tidak toksik, sehingga tidak berpengaruh terhadap bentuk dan morfologi sel (Gandasoebrata, 2013).

2.4 Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap Laju Endap Darah

Spesimen yang tidak langsung diperiksa dapat disimpan dengan memperhatikan jenis pemeriksaan yang akan diperiksa. Darah yang disimpan dalam lemari pendingin mengakibatkan konsentrasi darah pada spesimen dapat berubah sebagai hasil dari berbagai proses metabolisme. Hasil LED pada darah EDTA yang disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C akan menurun secara signifikan, karena viskositas plasma yang meningkat, semakin rendah temperatur maka viskositas plasma menjadi lebih tinggi dan menghambat terbentuknya gumpalan sel-sel darah merah sehingga kecepatan pengendapan berkurang. Hal ini mengakibatkan LED menjadi lebih lambat dan nilai LED cenderung menurun (Agustina, 2015).

Batas waktu penyimpanan darah EDTA untuk pemeriksaan LED adalah 2 jam pada suhu kamar, dan 6 jam pada suhu 4°C. Pemeriksaan LED yang melebihi batas waktu maksimal 6 jam pada suhu 4°C menyebabkan eritrosit akan berubah bentuk dan mengalami krenasi, agregasi dari eritrosit lambat sehingga menghambat terbentuknya *rouleaux* maka kecepatan pengendapan tidak maksimal dan pematatan berlangsung lama sehingga nilai LED rendah. Persyaratan penyimpanan spesimen untuk beberapa pemeriksaan harus memperhatikan jenis spesimen, antikoagulan atau pengawet dan wadah serta stabilitasnya. Spesimen dapat disimpan pada suhu kamar,

disimpan dalam lemari es suhu 2-8°C, atau dapat diberikan bahan pengawet (Witono, 2008).

2.5 Macam macam Antikoagulan

Antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan hematologi adalah EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*), *Trisodium Citrate*, Heparin, *Double Oxalat*,

2.5.1. EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*)

Antikoagulan EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetate*) umumnya tersedia dalam bentuk garam natrium dan kalium, yang mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium (Ca) dalam darah. EDTA memiliki keunggulan dibanding antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah, sehingga ideal untuk pemeriksaan hematologi. EDTA yang digunakan dalam praktek laboratorium ada tiga macam, yaitu dinatrium (Na₂EDTA), dipotasium (K₂EDTA) dan tripotasium (K₃EDTA). Na₂EDTA dan K₂EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K₃EDTA biasanya digunakan dalam bentuk cair (Riswanto, 2013). K₂EDTA adalah yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (*International Council for Standardization in Hematology*) dan CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Pemakaian antikoagulan ini adalah 1 mg K₂EDTA untuk 1 mL darah. Pemakaian dalam bentuk cair dapat dilakukan dengan membuat larutan 10%, pemakaiannya 1 mL EDTA 10% untuk 5 mL darah (1:5).

Antikoagulan EDTA dalam bentuk Na₂EDTA serbuk masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Pengukuran dipermudah dengan membuat

menjadi larutan 10%. Penggunaan disodium EDTA (Na_2EDTA) biasanya dengan konsentrasi 1,4 – 2,0 mg/mL darah (Narayanan, 2000).

Tabung darah dan tabung hampa udara (*vacutainer tube*) yang berisi EDTA bertutup lavender (ungu) atau pink (Riswanto, 2013). EDTA pada tabung vakum biasanya berupa K_3EDTA yang memiliki stabilitas lebih baik daripada garam EDTA yang lain karena memiliki pH mendekati pH darah, namun demikian tabung EDTA berisi larutan K_3EDTA sudah tidak diproduksi lagi. Penggunaannya digantikan oleh tabung EDTA berisi serbuk K_2EDTA yang direkomendasikan oleh ICSH. Penggunaan tabung *vacutainer* pada pengambilan darah vena tidak perlu menggunakan *sprit* dan kondisi vakum mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan takaran antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggungjawabkan (Nurrachmat, 2005).

2.5.2. *Trisodium Citrate*

Antikoagulan Natrium Sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sering digunakan dalam bentuk larutan dengan konsentrasi 3,8% dan 3,2%. Cara kerjanya sebagai bahan yang isotonik dengan darah dan mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat ion Ca^{++} melalui gugus karboksilat dari senyawa ini membentuk ikatan kompleks khelasi larut. Sering digunakan beberapa macam pemeriksaan hemostasis dan LED metode Westergren. Pemeriksaan LED metode Westergren digunakan perbandingan 1 bagian Natrium Sitrat 3,8% dan 4 bagian darah. Pemeriksaan hemostasis menggunakan konsentrasi 3,2% dengan perbandingan 1 bagian Natrium Sitrat 3,2% dan 9 bagian darah sesuai dengan NICCLS. Antikoagulan Natrium Sitrat 3,8% dan

3,2% tidak dapat digunakan bila mengalami kekeruhan. Antikoagulan sitrat ini karena tidak toksis maka sering digunakan dalam unit transfusi darah dalam bentuk ACD (*Acid Citric Dextrose*) namun pemakaiannya terbatas dalam pemeriksaan hematologi (Riswanto, 2013).

2.5.3. Heparin

Heparin merupakan antikoagulan normal terdapat dalam tubuh. Antikoagulan ini adalah asam *mukopolisakarida* yang bekerja dengan cara menghambat pembentukan thrombin dari protrombin sehingga menghentikan pembentukan fibrin dari fibrinogen. Antikoagulan ini tidak boleh digunakan untuk pembuatan sediaan apus darah tepi karena dapat mengakibatkan biru kehitaman pada preparat (Riswanto, 2013).

2.5.4. Double Oxalat

Double Oxalate terdiri dari campuran *ammonium oxalate* dan *kalium oxalate* dengan perbandingan 3 : 2. Oksalat mencegah pembekuan darah dengan cara mengendapkan kalsium dalam darah. Antikoagulan ini dapat dijumpai sebagai ammonium, lithium, kalium dan natrium (Riswanto, 2013). Antikoagulan ini digunakan dalam keadaan kering dan digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, laju endap darah, resistensi osmotik dan hitung sel darah termasuk retikulosit. Pemakaian anti koagulan ini adalah 2 mg/mL darah (Gandasoebrata, 2013).

2.6 Darah EDTA

Sampel darah untuk LED sebaiknya dari darah vena ditambah antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan sehingga akan terbentuk plasma yang diukur sebagai nilai LED. Antikoagulan adalah zat yang mencegah pembekuan darah. Antikoagulan akan mengikat (kelasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium, atau dengan cara menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013).

Darah EDTA dibuat dengan menambahkan Na_2EDTA serbuk dengan perbandingan 1 - 1,5 mg Na_2EDTA per mililiter darah, atau penambahan 75 μL larutan EDTA 10% untuk 5 mL darah. Perbandingan pemberian EDTA dengan darah yang tidak tepat akan memberikan hasil tidak sesuai dengan kenyataan, karena itu sebaiknya menggunakan tabung *vacutainer* EDTA. Penggunaan tabung *vacutainer* dapat mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan takaran antikoagulan dengan volume darah tepat (Charles, 2006). Perbandingan EDTA dengan darah harus tepat karena kelebihan konsentrasi EDTA berpengaruh terhadap bentuk eritrosit sehingga dapat memperlambat LED (Gandasoebrata, 2013).

2.7 Kesalahan Pemeriksaan LED

Hasil pemeriksaan laboratorium yang benar dan dapat dipercaya perlu memperhatikan seluruh rangkaian pemeriksaan mulai tahap pra analitik, analitik, dan paska analitik. Tahap pra analitik antara lain pengambilan, penampungan, pengolahan dan penyimpanan bahan pemeriksaan. Penyimpanan bahan pemeriksaan perlu

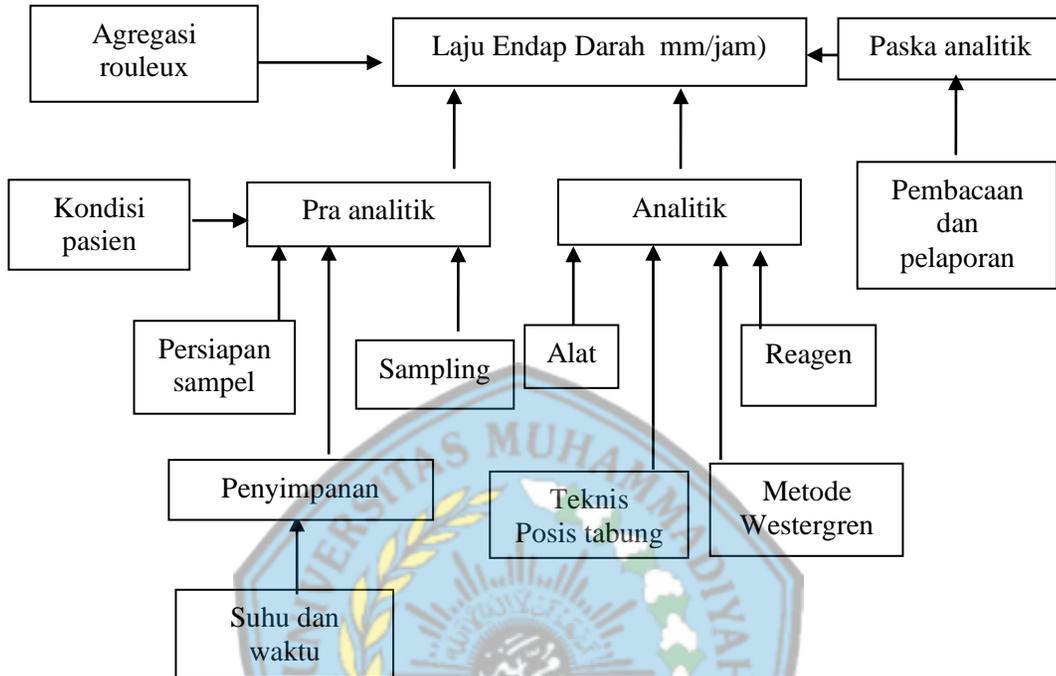
memperhatikan stabilitas sampel, suhu dan lama waktu penyimpanan karena akan berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan. Tahap pra analitik pemeriksaan LED antara lain kondisi pasien. Sebelum pengambilan spesimen form permintaan laboratorium diperiksa, identitas pasien harus ditulis dengan benar (nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis dan sebagainya) disertai diagnosis atau keterangan klinis. Identitas harus ditulis dengan benar sesuai dengan pasien yang akan diambil darahnya. Pengambilan sampel idealnya dilakukan waktu pagi hari. Teknik atau cara pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai *Standard Operating Procedure* (SOP) yang ada. Volume spesimen mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar atau tidak kadaluwarsa, tidak berubah warna, dan tidak berubah bentuk. Selain itu pemakaian antikoagulan atau pengawet harus tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat dan identitas sesuai dengan data pasien. Darah yang disimpan pada lemari pendingin menyebabkan laju pengendapan darah secara signifikan akan menurun, karena viskositas plasma meningkat (Gandasoebrata, 2013).

Tahap analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan. Pencampuran 1,6 mL darah EDTA dengan 0,4 mL NaCl 0,9% harus tepat. Tabung Westergren yang digunakan bersih dan kering. Pengisapan campuran darah EDTA ke dalam tabung Westergren harus tepat pada angka 0. Posisi tabung Westergren di rak Westergren dalam posisi tegak lurus (Gandasoebrata, 2013).

Tahap paska analitik atau tahap akhir pemeriksaan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan sesuai. Tahap ini dipengaruhi oleh waktu pembacaan nilai LED pada tabung Westergren tidak sesuai, dan pembacaan lapisan plasma pada tabung Westergren salah. Hal tersebut menyebabkan kesalahan dalam pencatatan hasil dan pelaporan (Gandasoebrata, 2013).

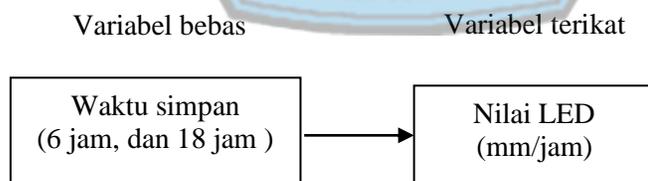


2.8 Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Terdapat perbedaan laju endap darah pada sampel darah EDTA segera diperiksa dengan disimpan 6 jam, dan 18 jam suhu lemari pendingin.