

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sel-sel darah

1. Sel darah merah (eritrosit)

Sel darah merah atau eritrosit adalah sel yang sangat penting untuk makhluk hidup. Sel eritrosit termasuk sel yang terbanyak di dalam tubuh manusia. Dalam keadaan fisiologik, darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan mekanisme hemostatis. Darah terdiri dari dua komponen utama, pertama plasma darah yaitu bagian darah yang terdiri dari air, elektrolit dan protein darah, kedua sel-sel darah merah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit) (Indah V dan Tristyanto, 2012).

Pembentukan dan pematangan eritrosit di dalam sumsum tulang selama 7 hari. Dalam darah perifer inti umumnya sudah hilang. Retikulosit adalah sel eritrosit termuda yang mengandung RNA, yang jumlahnya cukup untuk menggantikan eritrosit yang mati. Kira-kira 10% dari eritrosit dalam darah perifer adalah retikulosit hal ini hanya 1% dari jumlah jangka hidup eritrosit. Sedangkan panjang masa hidup eritrosit setelah pelepasan dari sumsum tulang kurang lebih 120 hari sampai mengalami penuaan dan destruksi (Kosasih E.N dan Kosasih A.S, 2008).

Proses penghancuran eritrosit terjadi karena proses penuaan (*senescence*) dan proses patologis (*hemolisis*). *Hemolisis* yang terjadi pada eritrosit akan mengakibatkan terurainya komponen-komponen hemoglobin menjadi dua komponen yaitu komponen protein, komponen yang globin nya dikembangkan ke *pool* protein dan dapat di gunakan kembali. Kedua komponen heme, yang dipecah menjadi dua yaitu besi dan billirubin. Besi akan dikembalikan ke *pool* besi dan digunakan ulang. Billirubin akan di ekskresikan melalui hati dan empedu (Handayani dan Haribowo, 2008).

Penurunan jumlah eritrosit dapat dijumpai pada anemia, peningkatan hemolisis, kehilangan darah (*perdarahan*), trauma, leukemia, infeksi kronis, mieloma multiple, cairan per intra vena berlebih, gagal ginjal kronis, kehamilan, dehidrasi berlebih, defisiensi vitamin, malnutrisi, infeksi parasit, penyakit sistem endokrin, intoksikasi.

Peningkatan jumlah eritrosit dijumpai pada polisitemia vera, hemokonsentrasi/dehidrasi, penduduk yang tinggal di dataran tinggi, dan penyakit kardiovaskuler. Nilai normal eritrosit pada pria dewasa 4,5-6,5jt/mm³ dan pada wanita dewasa 3,8-4,8jt/mm³(Riswanto, 2013). Dua metode yang bisa digunakan pemeriksaan eritrosit adalah manual dan otomatis.

2. Sel Darah Putih (leukosit)

Leukosit disebut juga sel darah putih, sel ini memiliki inti tetapi tidak memiliki bentuk sel yang tetap dan tidak berwarna. Mempunyai granula spesifik (*granulosit*), inti bentuk bulat seperti ginjal. Terdapat dua jenis leukosit agranuler : limfosit dan monosit. Terdapat tiga jenis granuler: neutrofil, basofil, asidofil atau

eosinofil yang dapat dibedakan dengan afinitas granula terhadap zat warna netral, basa dan asam (Efendi,2003).

Sel leukosit mempunyai peranan penting, leukosit menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada. Peningkatan leukosit dijumpai pada infeksi yang disebabkan bakteri maupun mikroba lain yang infeksius dan toksik. Pada radang akut yang berperan yaitu netrofil dan monosit. Sedangkan yang radang kronik yang berperan yaitu makrofag dan limfosit (Sadikin MH, 2003).

Orang dewasa darah tepi mempunyai jumlah leukosit antara 5000-10000 sel/mm³(Zukesti, 2003). Hitung jumlah leukosit merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk menunjukkan adanya infeksi dan juga dapat digunakan untuk mengikuti perkembangan penyakit tertentu. Dua metode pemeriksaan leukosit yaitu manual atau otomatis.

Leukosit meningkat melebihi 10.000 sel/mm³ disebut leukositosis. Karena leukosit meningkat sebagai respon fisiologis untuk melindungi tubuh dari serangan mikroorganisme. Leukositosis reaktif kadang-kadang menunjukkan gambaran yang meriah dengan masuknya leukosit muda maupun yang matang kedalam darah tepi dalam jumlah lebih. Reaksi leukomid akan menyatakan leukosit yang meningkat dan meningkatnya bentuk imatur. Ini akibat dari bentuk respon toksik, infeksi, dan peradangan.

Lekopenia adalah jumlah leukosit yang menurun. Netropenia menyatakan penurunan jumlah absolut netrofil. Jumlah netrofil yang berkurang akan

mempengaruhi individu terhadap infeksi yang mengancam kehidupan (Corwin, 2009).

3. Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit yang tidak berinti dan terbentuk di sumsum tulang. Trombosit matang berukuran 2-4 μm , berbentuk cakram bikonkaf. Setelah keluar sumsum tulang, sekitar 20-30% trombosit mengalami sekuestrasi di limpa (Wulandari dan Zulaikah, 2012). Jumlah trombosit adalah 150.000-450.000 sel/ mm^3 darah. Masa hidupnya 8-10 hari, setelah itu keping darah akan dibawa ke limpa untuk dihancurkan. Sisa-sisa sel tersebut akan dimakan oleh makrofag (Dharma AR dkk, 2011).

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis selama respon hemostatik normal terhadap luka vaskuler. Trombosit juga penting untuk mempertahankan jaringan apabila terjadi luka. Trombosit ikut serta dalam usaha menutup luka, sehingga tubuh tidak mengalami kehilangan darah dan terlindung dari benda asing. Trombosit melekat (adhesi) pada permukaan asing terutama serat kolagen. Trombosit akan melekat pada trombosit lain (agregasi). Selama proses agregasi terjadi perubahan bentuk trombosit perubahan bentuk yang menyebabkan trombosit akan melepaskan isinya. Masa agregasi trombosit akan melekat pada endotel, sehingga terbentuk sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah, sedangkan sumbat trombosit yang stabil melalui pembentukan fibrin (Sadikin MH, 2003).

Kekurangan trombosit atau jumlah trombosit yang menurun disebut trombositopenia. Karena ada kerusakan, penurunan pembentukan trombosit atau

menghambat fungsi sumsum tulang. Sedangkan peningkatan jumlah trombosit disebut trombositosis. Trombositosis terjadi karena produksi trombosit yang berlebihan atau tidak terkendali. Trombosit meningkat sebagai bagian dari respon fase akut peradangan atau infeksi. Ada dua metode yang digunakan untuk pemeriksaan trombosit yaitu manual dan otomatis.

4. Hemoglobin

Haemoglobin terdiri dari bahan yang mengandung besi yang disebut (heme) dan protein globulin. Terdapat 300 molekul haemoglobin dalam setiap sel darah merah (Corwin E J, 2000). Haemoglobin merupakan zat protein yang kaya akan zat besi yang dinamakan *conjugated* protein. Sebagai intinya Fe dengan *protoporphyrin globulin* (tetra phirin), menyebabkan warna darah merah karena adanya Fe. Hemoglobin dinamakan juga zat warna merah. Bersama-sama dengan eritrosit, hb, karbondioksida menjadi karboxyhemoglobin dan warnanya menjadi merah tua. Darah arteri mengandung oksigen dan darah vena mengandung karbondioksida.

Fungsi dari hemoglobin sendiri adalah mengatur pertukaran oksigen dengan karbondioksida didalam jaringan tubuh. Mengambil oksigen dari paru-paru kemudian dibawa keseluruh tubuh untuk dipakai sebagai bahan bakar. Membawa karbondioksida dari jaringan-jaringan tubuh sebagai hasil metabolisme ke paru-paru untuk dibuang (Kee J L, 2007).

Nilai normal hemoglobin berbeda antara wanita dan pria. Laki-laki dewasa kadar normal 13,5-17,0 g/dl, rentang normal pada perempuan adalah 12,0-15,0 g/dl (Kay, 2007)). Apabila wanita maupun pria mengalami penurunan jumlah

hemoglobin maka pertanda anemia. Menurut morfologi eritrosit didalam sediaan darah apus, anemia dapat digolongkan atas tiga golongan yaitu anemia mikrositik hipokrom, anemia makrositik, dan anemia normositik normokrom. Untuk mencari penyebab suatu anemia diperlukan pemeriksaan-pemeriksaan lebih lanjut.

Apabila kadar hemoglobin meningkat tergantung oleh lamanya reksia, juga tergantung dari respon individu yang berbeda-beda. Kerja fisik yang berat juga dapat menaikkan kadar hemoglobin. Mungkin ini disebabkan masuknya sejumlah eritrosit yang tersimpan dalam kapiler-kapiler peredaran darah atau karena hilangnya plasma (Dharma, 2004).

Kadar haemoglobin lebih tinggi daripada nilai rujukan maka keadaan ini disebut *polistemia*. Polistemia ada 3 macam yaitu :

1. *Polistemia vera*, suatu penyakit yang tidak diketahui penyebabnya
2. *Polistemia sekunder*, suatu keadaan yang terjadi sebagai akibat berkurangnya saturasi oksigen. Misalnya, kelainan jantung bawaan, penyakit paru-paru, karena peningkatan kadar eritroprotein berlebih.
3. *Polistemia relatif*, suatu keadaan yang terjadi akibat kehilangan plasma misal, pada luka bakar.

5. Hematokrit

Pemeriksaan hematokrit adalah volume semua eritrosit dalam 100ml darah dan disebut dengan % dari volume darah itu. Biasanya nilai itu ditentukan dengan darah vena maupun darah kapiler (Gandasoebrata R, 2008). Semakin tinggi presentase hematokrit berarti konsentrasi darah semakin kental, diperkirakan

banyak plasma darah yang keluar (ekstra vakasi) dari pembuluh darah berlanjut dalam keadaan shock *hipovolemik*.

Hematokrit merupakan salah satu metode yang paling teliti dan simple dalam deteksi dan mengukur derajat anemia atau polistemia. Nilai hematokrit juga dapat menghitung nilai eritrosit rata-rata (Wirawan, 1996). Pemeriksaan hematokrit merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan apakah jumlah sel darah merah terlalu tinggi, rendah, maupun normal. Arti klinis dari pemeriksaan hematokrit yaitu:

1. Digunakan sebagai pemeriksaan penyaring penderita anemia.
2. Digunakan sebagai harga absolut.
3. Digunakan untuk mengetahui leukosit normal.
4. Digunakan untuk mengetahui atau mengikuti perjalanan penyakit (Agustina-Nugroho, 2012).

Disetiap laboratorium harga normal pemeriksaan hematokrit memang berbeda-beda. Pria 40-48 vol% dan wanita 37-43 vol% (Gandasoebrata R, 2008). Sehingga dapat diketahui bahwa hematokrit, volume eritrosit yang menunjukkan presentasi zat padat dalam darah terhadap cairan darah keluar dari pembuluh darah, akan terjadi peningkatan pada pembuluh darah dan peningkatan kadar hematokrit tersebut.

B. Anti Koagulan EDTA

Antikoagulan adalah zat yang dipakai untuk menghambat pembekuan darah. Zat ini ini tidak melarutkan bekuan darah seperti *trombolitik*, tetapi bekerja untuk pembentukan bekuan baru. EDTA (ethylenediaminetetraaceticacid,

$[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2]_2$) 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. Cara konvensional yang dipakai adalah 1,5mg EDTA/ml darah. Sedangkan untuk pemeriksaan hematologi dan klinik diperlukan 3ml darah sehingga EDTA yang diperlukan sebanyak 4,5mg (dalam bentuk serbuk) untuk memudahkan pengukuran maka dibuat larutan 10% Dengan cara melarutkan 10gram Na_2EDTA dilarutkan dalam 100ml aquadest. Darah sebanyak 3ml dibutuhkan 4,5mg serbuk EDTA, bila diberikan dalam bentuk larutan 10% dibutuhkan 45ul atau 1 tetes pipet pasteur (1 tetes=50ul), pemipetan seharusnya dilakukan secara tegak lurus dan pipet dalam keadaan kosong, tetapi pada kenyataannya sering diabaikan sehingga volume tetesan larutan Na_2EDTA 10% menjadi tidak tepat (Malau, 2006).

Perkembangan zaman yang semakin modern, penggunaan digantikan oleh tabung EDTA yang berisi serbuk K_2EDTA merupakan jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Hematology*. Penggunaan tabung vacutainer ini pada pengambilan darah vena tidak perlu menggunakan spuit dan kondisi vakum mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan antara takaran antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggung jawabkan. Walaupun demikian, pada penggunaan EDTA vacutainer juga dapat terjadi peningkatan

palsu jumlah trombosit, misalnya antara takaran antikoagulan dan volume darah sudah tidak tepat lagi (Wijaya, 2006).

EDTA mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium, sehingga EDTA memiliki keunggulan dibanding dengan antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah, sehingga ideal untuk pengujian hematologi, seperti pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, LED, hitung lekosit, hitung trombosit, retikulosit, apusan darah, dan seterusnya. Darah EDTA disimpan dalam suhu 4°C pada umumnya pemeriksaan dapat dilakukan tidak lebih dari 12-18 jam penyimpanan.

Perbandingan jumlah darah antikoagulan harus tepat, apabila:

- a. Darah yang ditampung lebih banyak dari yang seharusnya atau antikoagulan yang kurang menyebabkan hitung jumlah trombosit menurun.
- b. Darah yang ditampung kurang dari seharusnya atau antikoagulan yang ada berlebih menyebabkan, hitung jumlah eritrosit menurun, hitung jumlah lekosit menurun, hitung jumlah trombosit menurun atau meningkat, hemoglobin dan hematokrit menjadi menurun.

C. Macam-macam antikoagulan

1. EDTA (ethylene diamine tetra acetate)

Ada tiga macam EDTA, yaitu dinatrium EDTA (Na_2EDTA), dipotassium EDTA (K_2EDTA) dan tripotassium EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA biasanya digunakan dalam bentuk cair. Dari ketiga jenis EDTA tersebut, K_2EDTA adalah yang paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (International Council for

Standardization in Hematology) dan CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Walaupun demikian, sampai saat ini Na_2EDTA dalam bentuk serbuk masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Umumnya untuk memudahkan pengukuran maka dibuat menjadi larutan 10% (Gandasoebrata 2007). Kalau ingin menghindari terjadi pengenceran darah, zat kering pun boleh dipakai. Dalam hal ini perlu menggoncangkan wadah berisi EDTA selama 1-2 menit, sebab EDTA kering lambat larut. Didalam EDTA terdapat garam-garam yang mengubah ion calcium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. Karena itu EDTA sangat baik dipakai sebagai antikoagulan pada pemeriksaan darah rutin. Tiap 1mg EDTA menghindarkan membekunya 1ml darah. Bila dipakai EDTA lebih dari 2mg per ml darah maka nilai hematokrit menjadi lebih rendah dari yang sebenarnya.

2. Heparin

Heparin seperti antitrombin, tidak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit dan leukosit. Heparin kurang banyak dipakai karena mahal harganya. Tiap 1mg heparin menjaga membekunya 10ml darah. Heparin boleh dipakai sebagai larutan atau dalam bentuk kering.

3. Natriumsitrat dalam larutan 3,8%

Yaitu larutan yang isotonik dengan darah, dapat dipakai untuk beberapa macam percobaan hemoragik dan untuk laju endap darah cara westergreen.

4. Campuran amoniumoxalat dan kaliumoxalat

Menurut paul dan heller yang juga dikenal sebagai campuran oxalat seimbang. Dipakai dalam bentuk kering agar tidak mengencerkan darah yang diperiksa (Gandasoebrata R, 2008).

D. Pengaruh Bahan Pemeriksaan, Alat, Reagen Dan pemeriksaan Terhadap Pemeriksaan Jumlah Darah Rutin

1. Bahan pemeriksaan

Pemeriksaan jumlah darah rutin menggunakan darah vena. Sampel yang digunakan tidak boleh lisis maupun menggumpal di dalam penampung, karena pencampuran antara antikoagulan dengan sampel tidak merata. Menyebabkan sampel menjadi rusak dan mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi.

2. Alat

Alat pemeriksaan bila tidak dilakukan perawatan secara rutin maupun kalibrasi maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan menjadi lebih tinggi maupun lebih rendah. Perlu dilakukan perawatan alat secara rutin dengan melakukan perawatan harian. Kalibrasi hendaknya diperiksa secara teratur dengan menggunakan program pemantapan mutu yang biasa dilakukan setiap laboratorium, sesuai dengan persyaratan laboratorium yang baik.

3. Reagen

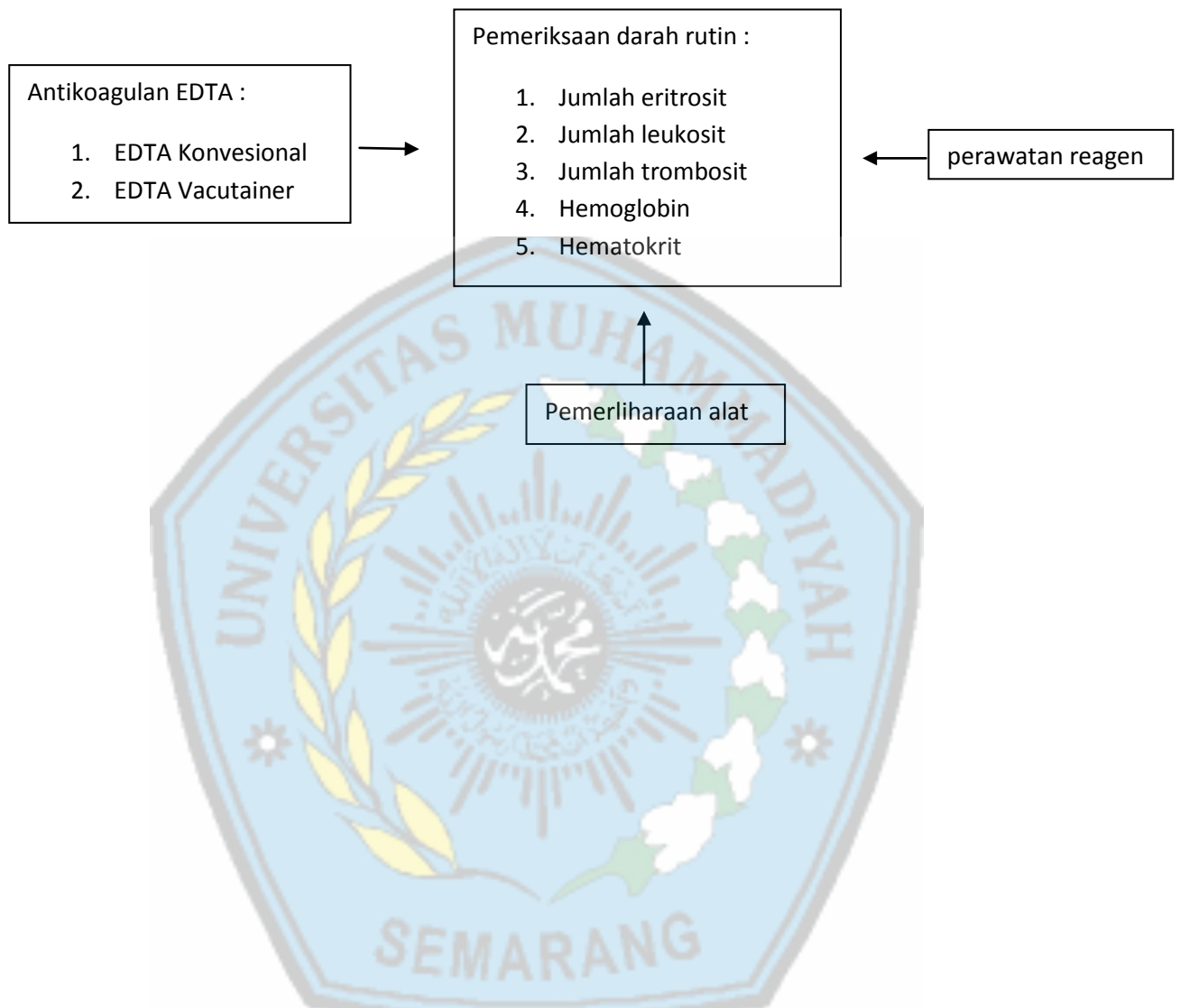
Reagen harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatannya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan expired nya. Pemakaian reagen yang sudah rusak oleh karena expired maupun dalam suhu penyimpanan akan menyebabkan hasil yang turun.

4. Pemeriksaan

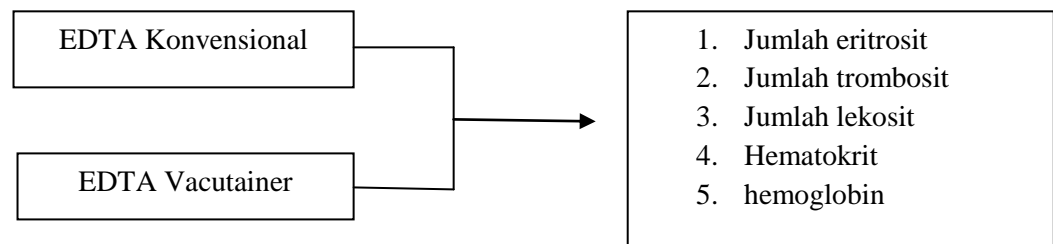
Faktor pemeriksaan juga berpengaruh pada hasil pemeriksaan jumlah darah rutin. Bila sampel tidak tercampur dengan baik, sampel dihisap tidak sampai dasar tabung sampel atau hanya pada permukaan tabung sampel. Maka hasil jumlah eritrosit, trombosit, dan leukosit akan rendah.



E. Kerangka Teori



F. Kerangka Konsep



G. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan darah rutin pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA vacutainer.

