

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Darah

##### 1. Definisi Darah

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup, mulai dari manusia sampai binatang. Dalam keadaan fisiologik, darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsi sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan mekanisme hemostasis. Darah terdiri atas dua komponen utama yaitu plasma darah yang merupakan bagian cair darah yang terdiri dari sebagian besar air, elektrolit dan protein darah serta butir-butir darah yang terdiri atas eritrosit (SDM), leukosit (SDP), trombosit (keping darah). Komponen sel dalam darah dibentuk dalam suatu proses yang dinamakan hematopoiesis (Bakta, 2013).

##### 2. Komposisi Darah

Darah terdiri sekitar 55% plasma dan 45% komponen sel. Plasma terdiri dari 90% air dan 10% sisanya dari protein plasma, elektrolit, gas terlarut, berbagai produk sampah metabolisme, nutrient, vitamin dan kolesterol. Plasma darah berfungsi untuk mengangkut sari makanan ke sel-sel serta membawa sisa pembakaran dari sel ke tempat pembuangan. Fungsi lainnya adalah menghasilkan zat kekebalan tubuh terhadap penyakit (Wahyu P, 2009, Elizabeth C, 2009).

Komponen sel darah terdiri atas sel dari sel darah merah (eritrosit) sekitar 99% dan 1% sisanya adalah sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit).

##### 3. Jenis Sel Darah

###### a. Sel Darah Merah atau Eritrosit

Fungsi utama eritrosit adalah pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan, dan membawa karbon dioksida dari

jaringan ke paru. Eritrosit tidak mempunyai inti, berbentuk bikonkaf dengan diameter 6-8  $\mu\text{m}$  dan ketebalan 2  $\mu\text{m}$ . bentuk bikonkaf tersebut yang memungkinkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil. Eritrosit merupakan sel terbanyak dalam darah dengan nilai normal 4-5 juta/ $\text{mm}^3$  pada wanita dan 5-6 juta/ $\text{mm}^3$  pada laki-laki. Umur eritrosit adalah 120 hari (Mengko, 2013).

b. Sel Darah Putih atau Leukosit

Leukosit adalah sel yang membentuk komponen pada darah yang mempunyai inti dengan ukuran 9-20  $\mu\text{m}$ . jumlahnya berkisar 4000-11.000/ $\text{mm}^3$  darah. Leukosit berperan penting dalam pertahanan tubuh, fungsi utamanya adalah membunuh mikroorganisme/pathogen yang masuk kedalam tubuh dengan cara fagositosis. Fungsi lainnya adalah membentuk antibody yang dapat membunuh mikroorganisme/pathogen secara tidak langsung atau indirek (Riswanto, 2013).

c. Keping Darah atau Trombosit

Trombosit merupakan partikel-partikel kecil yang terbentuk dari pecahan megakariosit di sumsum tulang. Trombosit berfungsi dalam respon hemostasis primer dengan membentuk sumbat trombosit pada luka kecil pembuluh darah. Apabila teraktifkan, trombosit akan mengubah fosfolipid dipermukaanya untuk berinteraksi dengan factor koagulasi sehingga dapat menyebabkan pembekuan darah pada luka jaringan. Umur trombosit adalah 10 hari (Bain, 2015)

d. Pembentukan Sel Darah

Hematopoiesis adalah proses pembentukan sel-sel darah. Tempat hematopoiesis pada manusia berbeda-beda seiring bertambahnya usia. Sejak masa janin sampai 2 minggu setelah lahir hati dan limpa merupakan organ penting tempat pembentukan sel darah. Pada usia kanak-kanak sampai

dewasa sumsum tulang merupakan tempat satu-satunya pembentukan sel darah (Hoffbrand, 2013).

## **B. Sel Darah Merah**

### **1. Definisi**

Eritrosit terbentuk dalam suatu proses yang terdiri dari beberapa tahap, yaitu pembelahan, perubahan-perubahan morfologi dari sel berinti proeritroblas sampai orthokromatik eritroblas, yang kemudian disusul perubahan menjadi eritrosit tidak berinti yang disebut retikulosit hingga menjadi eritrosit. Didalam eritrosit mengandung hemoglobin yang merupakan komponen utama untuk transportasi oksigen. Morfologi eritrosit dapat dilihat dengan SADT dengan pengecatan Wright, Giemsa atau dengan pengecatan lain. Pada pengecatan Giemsa eritrosit akan berwarna kemerah-merahan dan gelap pada bagian tepi dan berangsur-angsur berwarna pucat pada tengah sel (Nurrachmat H, 2005). Eritrosit mempunyai muatan listrik negative yang disebut sebagai “potensial zeta”. Muatan listrik negative ini berfungsi untuk menjaga agar eritrosit tetap terpisah (Kumta S et al, 2011).

Eritrosit mempunyai masa hidup sekitar 120 hari. Eritrosit mengandung banyak hemoglobin. Sel darah merah yang mati dihancurkan didalam hati.

### **2. Fungsi Sel Darah Merah**

Fungsi utama eritrosit adalah membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan dan membawa karbon dioksida dari jaringan menuju keparu-paru.

### **3. Pembentukan Sel Darah Merah**

Proses pembentukan eritrosit dinamakan proses eritropoietik. Proses eritropoietik dipengaruhi oleh eritropoietin. Proses eritropoietik berlangsung didalam sumsum tulang pada saat masa kanak-kanak sampai dewasa.

### **4. Bentuk Sel Darah Merah**

Pada umumnya eritrosit mempunyai bentuk bikonkaf atau berbentuk bulat pipih dengan cekungan dimasing-masing sisi permukaan. Namun, ada beberapa keadaan yang menyebabkan eritrosit mempunyai bentuk yang abnormal. Kelainan bentuk pada eritrosit disebut anisositosis.

### **C. Pemeriksaan Darah Rutin**

Pemeriksaan darah rutin merupakan pemeriksaan penunjang diagnosis. Pemeriksaan darah rutin terdiri dari pemeriksaan kadar hemoglobin (Hb), pemeriksaan hitung jumlah leukosit, pemeriksaan hitung jenis leukosit (diff count) dan pemeriksaan Laju Endap Darah (LED) (Liswanti Y, 2014).

### **D. Laju Endap Darah**

#### **1. Pengertian Laju Endap Darah**

Laju endap darah yaitu tingkat kecepatan eritrosit untuk mengendap didalam tabung pemeriksaan dengan posisi tegak lurus dan dinyatakan dalam mm/jam (Patrick, 2005). LED diukur dengan cara melihat sel eritrosit yang mengendap hingga bagian batas plasma pada waktu tertentu. Pemeriksaan LED tidak bersifat spesifik, tapi beberapa dokter masih menggunakan pemeriksaan LED untuk perhitungan kasar mengenai proses penyakit sebagai pemeriksaan screening. Pemeriksaan LED umumnya digunakan untuk mendeteksi dan memantau adanya kerusakan jaringan dan inflamasi khususnya Rheumatoid arthritis dan berbagai penyakit yang berada pada protein plasma (Nugraha, 2015).

#### **2. Fase-Fase LED**

##### **a. Fase Pertama**

Fase pembentukan rouleux atau disebut fase pengendapan lambat pertama (stage of agregation) yaitu eritrosit baru saling menyatukan diri. Waktu yang dibutuhkan pada fase ini adalah 10 menit.

##### **b. Fase Kedua**

Fase pengendapan eritrosit dengan kecepatan konstan (stage of sedimentation), karena partikel-partikel eritrosit menjadi lebih besar dan permukaan menjadi lebih kecil. Waktu yang dibutuhkan pada fase ini adalah 40 menit.

c. Fase Ketiga

Fase pengendapan lambat kedua (stage of packing) yaitu fase pengendapan eritrosit mengalami penurunan kecepatan, karena mengalami pemampatan pada dasar tabung. Waktu yang dibutuhkan pada fase ini adalah 10 menit. (Depkes, 2014)

3. Antikoagulan

Antikoagulan adalah suatu zat yang berfungsi untuk mencegah pembekuan darah. Macam-macam antikoagulan diantaranya :

a. Double Oxalat

Nama lainnya adalah balanced oxalate mixture. Antikoagulan ini terdiri dari campuran kalium dan ammonium oxalate dengan perbandingan 4:6. Pencampuran dua zat ini secara tepat tidak akan mempengaruhi bentuk eritrosit. Karena jika hanya memakai kalium oxalate maka eritrosit akan mengalami mengalami pembengkakan atau eritrosit menjadi mengembang dan jika hanya memakai ammonium oxalate maka eritrosit akan mengalami krenasi atau eritrosit akan mengerut. Double oxalate ini tidak dapat dipakai untuk pemeriksaan sediaan apus darah tepi (SADT), karena bersifat toxic yang dapat menyebabkan perubahan morfologi pada leukosit (Gandasoebrata, 2010).

b. Heparin

Heparin merupakan antikoagulan yang normal yang ada pada tubuh, tetapi heparin jarang digunakan untuk pemeriksaan hematologis karena harganya yang lebih tinggi dari antikoagulan lainnya. Heparin biasanya digunakan pada transfuse darah. Heparin juga tidak dapat digunakan dalam pemeriksaan SADT karena akan menyebabkan dasar biru kehitaman pada

preparat dengan pengecatan wright stain. Tabung heparin dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (vacutainer) dengan tutup berwarna hijau.

c. EDTA

Nama lainnya adalah Ethylene Diamine Tetra Acid. Pada umumnya yang digunakan adalah garam natrium dan garam kaliumnya. Daya larut garam EDTA terhadap air yang paling besar adalah garam kaliumnya. Garam natriumnya adalah  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  yang berbentuk serbuk. Garam kaliumnya adalah  $\text{K}_2\text{EDTA}$  atau  $\text{K}_3\text{EDTA}$  yang biasanya terdapat dalam tabung vacutainer. EDTA adalah antikoagulan yang sering dipakai pada pemeriksaan hematologis. Tabung EDTA dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (vacutainer) dengan tutup yang berwarna ungu. Tabung vacutainer EDTA biasanya berisi  $\text{K}_2\text{EDTA}$  atau  $\text{K}_3\text{EDTA}$ .

d. Natrium Sitrat

Sitrat bekerja dengan cara mengikat kalsium. Dalam bentuk larutan 3,8% yaitu larutan yang isotonic dengan darah. Pada pemeriksaan LED natrium sitrat dipakai dengan perbandingan 4:1 (4 bagian darah : 1 bagian Na sitrat). Tabung sitrat dapat dijumpai dalam bentuk tabung hampa udara (vacutainer) dengan tutup yang berwarna biru muda.

e. Tabung Vacutainer Untuk Pemeriksaan LED

Saat ini untuk pemeriksaan LED sudah dapat dijumpai tabung vacutainer yang berisi sodium sitrat untuk pemeriksaan LED tanpa harus menggunakan pengenceran. Tabung vacutainer untuk pemeriksaan LED dapat dijumpai dengan tutup tabung berwarna hitam.

4. Macam – Macam Metode LED

a. Metode Westergreen

Pemeriksaan LED metode westergreen sampel yang digunakan adalah darah vena yang dicampur dengan antikoagulan EDTA atau Na sitrat

dengan pengenceran 4:1. Jika menggunakan darah EDTA maka harus diencerkan dengan NaCl 0,9% dengan perbandingan 4:1. Jika menggunakan darah Na sitrat, maka 4 bagian darah vena dicampur dengan 1 bagian Na sitrat 0,0109 M.

Prinsip kerja pemeriksaan LED metode westergreen adalah darah dengan antikoagulan dengan perbandingan tertentu dimasukkan dalam tabung westergreen yang diletakkan tegak lurus dan dibiarkan selama satu jam maka akan eritrosit akan mengendap dan dinyatakan dalam mm/jam.

b. Metode Wintrobe

Sampel yang digunakan adalah darah vena dengan antikoagulan EDTA, Na sitrat dan Double oxalate (Gandasoebrata, 2007), dengan perbandingan darah vena 1 mL ditambah 10 µl EDTA 10%.

Pemeriksaan LED dengan metode wintrobe sama halnya dengan pemeriksaan LED metode westergreen tetapi metode wintrobe menggunakan tabung wintrobe yang lebih pendek daripada tabung westergreen.

c. Metode Automatic

Sampel yang digunakan pada pemeriksaan LED menggunakan automatic adalah darah vena yang dicampur dengan EDTA yang dikumpulkan dalam cuvette khusus dan diaduk oleh operator dan kemudian dibiarkan mengendap didalam alat. Dengan bantuan sensor digital (opto-electronic unit) alat secara otomatis menentukan tingkat endapan eritrosit dan kemudian secara otomatis dicetak atau ditunjukkan pada layar dalam waktu 20 menit.

Metode Westergreen ini yang akan dipakai oleh penulis untuk melakukan penelitian.

5. Nilai Normal

- a. Laki-laki : 0-10 mm/jam
- b. Wanita : 0-15 mm/jam (Gandasoebrata, 2007).

## **E. Faktor Yang Mempengaruhi Pemeriksaan Laju Endap Darah**

### 1. Luas permukaan eritrosit/ukuran eritrosit

Semakin luas permukaan sel darah merah (eritrosit) maka LED akan cepat membentuk rouleaux dan hasil LED akan meninggi. Ukuran eritrosit yang kurang dari normal atau biasa disebut mikrosit akan lambat membentuk rouleaux maka nilai LED menurun.

### 2. Konsentrasi makromolekul dalam plasma

Peningkatan kadar globulin atau fibrinogen menyebabkan peningkatan pembentukan rouleaux sehingga pengendapan eritrosit juga lebih cepat (LED meningkat).

Kadar fibrinogen rendah (misal bayi baru lahir, gula darah tinggi, albumin rendah) akan menyebabkan nilai LED menurun. Pada sampel darah yang membeku sebelum dilakukan pemeriksaan akan menyebabkan nilai LED menurun karena fibrinogen telah dipakai pada pembekuan darah.

### 3. Bentuk eritrosit

Normalnya eritrosit berbentuk bikonkaf. Namun ada keadaan dimana eritrosit mengalami perubahan bentuk yang dinamakan anisositosis. Ada beberapa bentuk yang menyebabkan perbedaan hasil pada pemeriksaan LED, diantaranya :

- a. Sferosit
- b. Sel akantosit
- c. Eritrosit mengkerut atau krenasi
- d. Sel sickle atau sel sabit

### 4. Rasio eritrosit terhadap plasma

Pada anemia nilai LED akan meninggi dan pada polisitemia (jumlah eritrosit meningkat) nilai LED akan menurun.

### 5. Faktor teknik

Faktor diluar keadaan fisiologis tubuh yang dapat menyebabkan perbedaan hasil LED. Faktor teknik dapat juga dikelompokkan menjadi 3 tahap yaitu :

a. Tahap pra analitik

- Pembendungan terlalu lama
- Perbandingan antikoagulan dan darah tidak sesuai
- Antikoagulan dan darah tidak bercampur merata, dll

b. Tahap analitik

- Tabung pemeriksaan tidak tegak lurus
- Terjadi guncangan pada saat tabung didiamkan
- Terdapat gelembung pada tabung yang sudah berisi specimen, dll

c. Tahap pasca analitik

- Petugas tidak mampu membaca hasil LED
- Petugas salah menginput hasil LED

6. Homogenisasi

Homogenisasi termasuk dalam faktor teknik yang dapat mempengaruhi hasil pada pemeriksaan LED pada tahap pra analitik. Homogenisasi adalah proses pencampuran darah dan antikoagulan dalam suatu wadah yang berfungsi untuk mencegah terjadinya pembekuan darah sebelum dilakukan pemeriksaan. Pada pemeriksaan LED, darah membeku dapat menyebabkan hasil LED yang menurun atau lebih lambat.

Ada beberapa teknik homogenisasi yang biasa digunakan untuk menghomogenkan sampel yaitu :

a. Menggunakan Teknik Inversi

Menurut Decie and Lewis menghomogenkan menggunakan teknik inversi dengan cara membolak-balikkan tabung yang sudah berisi antikoagulan dan darah sebanyak 8-10 kali. Teknik inversi ini merupakan standar teknik untuk menghomogenkan darah dan antikoagulan.

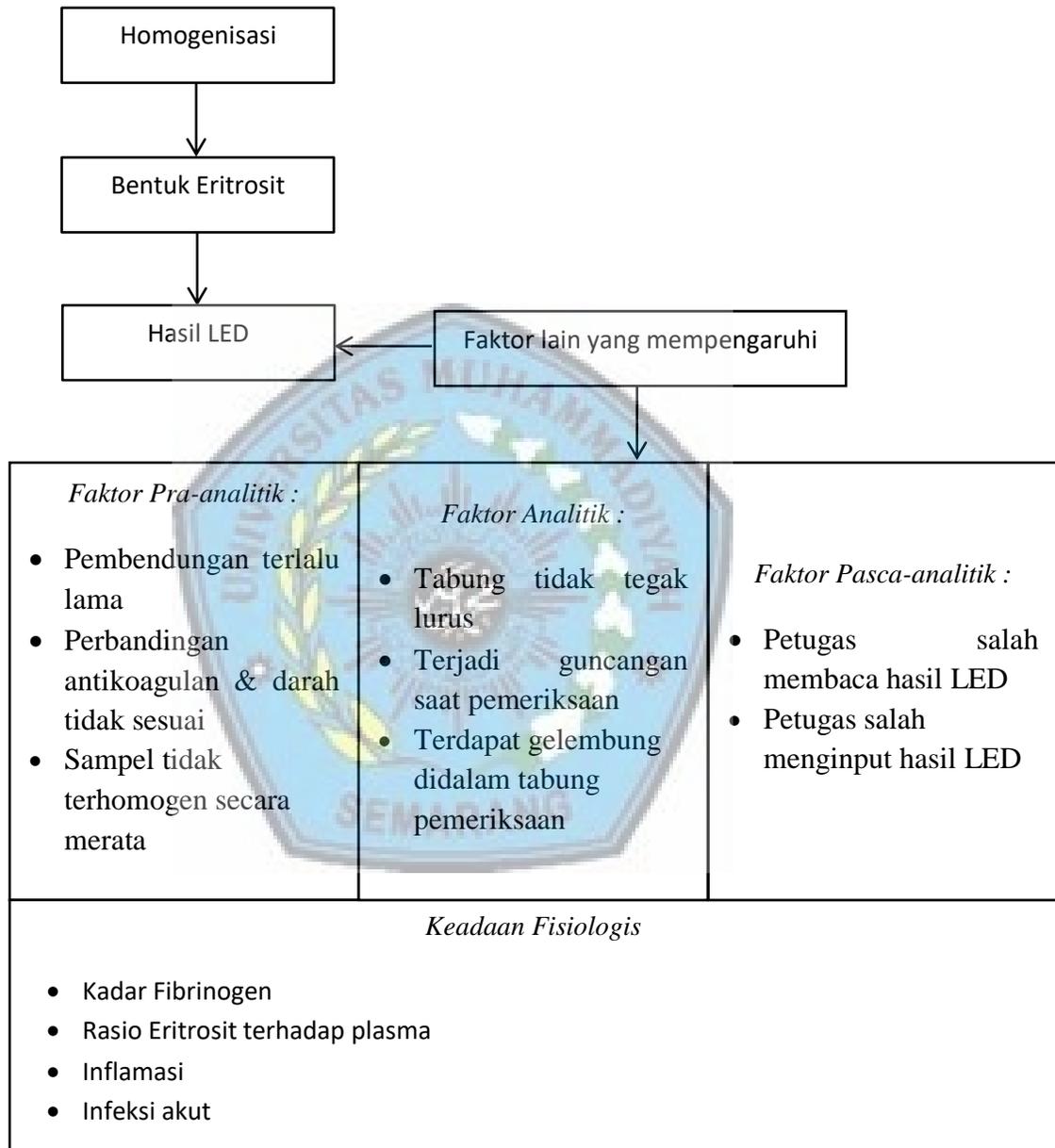
b. Menggunakan Blood Roller Mixer

Blood roller mixer adalah alat yang digunakan untuk penghomogenan darah dan antikoagulan secara otomatis dengan cara menaruh tabung specimen diatas gulungan rol yang ada pada alat blood roller mixer. Alat ini sudah dilengkapi dengan pengaturan kecepatan dan pengaturan waktu. Biasanya, Blood Roller Mixer digunakan untuk menghomogenkan darah dan antikoagulan dalam waktu 1 sampai 5 menit dengan kecepatan  $\pm 35$  rpm. Kecepatan dan waktu bias diubah dan disesuaikan sesuai kebutuhan pemeriksa.



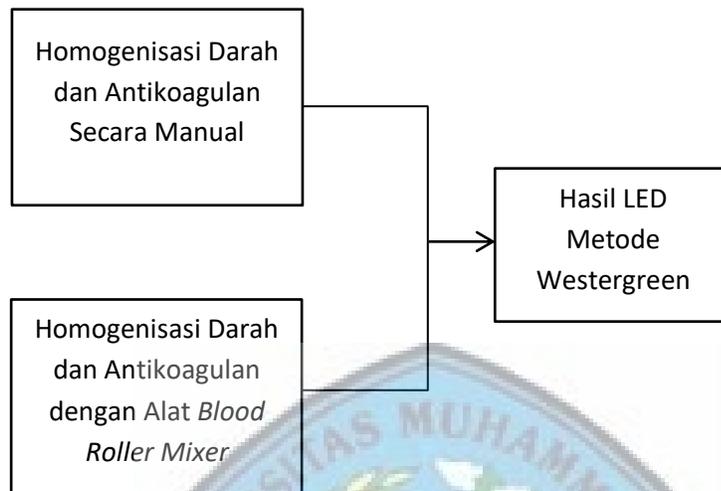
## F. Kerangka Teori

Tabel 2. Kerangka Teori



## G. Kerangka Konsep

Tabel 3. Kerangka Konsep



## H. Hipotesis

Terdapat perbedaan hasil LED yang dihomogenkan secara manual dengan hasil LED yang dihomogenkan dengan alat Blood Roller Mixer.