

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

Darah merupakan bagian dari cairan ekstrasel yang berfungsi untuk mengambil O₂ dari paru-paru, bahan-bahan nutrisi dari saluran cerna, dan mengangkut hormon dari kelenjar endokrin. Bahan-bahan tersebut diangkut ke seluruh sel dan jaringan, dimana bahan-bahan tersebut akan berdifusi dari kapiler ke jaringan interstitial, masuk ke dalam sel dan selanjutnya akan dipergunakan untuk semua aktifitas sel. Sehingga dapat disimpulkan bahwa darah mempunyai tiga peranan penting yaitu : fungsi transport, fungsi regulasi dan fungsi pertahanan tubuh. Darah terdiri dari tiga jenis unsur sel khusus, *eritrosit*, *leukosit* dan *trombosit* yang terendam dalam cairan kompleks plasma, dimana masing-masing sel ini memiliki fungsi yang saling menunjang dalam melaksanakan kerja dari darah tersebut.

B. Eritrosit

Eritrosit adalah sel darah merah yang merupakan komponen darah dan tidak berinti serta tidak mempunyai organel seperti sel-sel lain. *Eritrosit* seolah-olah merupakan kantong untuk *hemoglobin* (Hb), Hb adalah protein *eritrosit* yang berfungsi dalam mentransport O₂ (A.V Hoffbrand,2006).

Darah berwarna merah karena adanya sel-sel darah merah (*eritrosit*). *Eritrosit* berbentuk bulat gepeng yang kedua permukaannya cekung. *Eritrosit* tidak memiliki inti sel dan mengandung *hemoglobin*. *Hemoglobin* (Hb) merupakan protein yang mengandung zat besi. Fungsi hemoglobin adalah untuk mengikat *oksigen* dan *karbondioksida* dalam darah. *Hemoglobin* berwarna merah, karena itu *eritrosit* berwarna merah.

Hitung jumlah *eritrosit* (*reed blood cell*) adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah *eritrosit* dalam 1 uL darah. satuan yang digunakan hitung jumlah *eritrosit* adalah sel/mm³.

Rumus : $\frac{N}{V} \cdot P$

Keterangan:

N = Jumlah Sel yang dihitung

V = Volume bilik hitung

P = Pengenceran (100 / 200)

Penentuan jumlah *eritrosit* pada dasarnya sama dengan hitung jumlah *leukosit*, sehingga cara yang dapat digunakan yaitu menggunakan *hemositometer* (kamar hitung) atau cara otomatis menggunakan *hematology analyzer*. Perbedaan terletak pada pengenceran dan penggunaan *reagen*. hitung jumlah *eritrosit* menggunakan *reagent hayem*. larutan pengencer *hayem* tersusun dari berbagai garam sehingga menghasilkan kondisi yang isotenis yang dapat mempertahankan *eritrosit* agar tidak lisis, akan tetapi ketika homogenisasi dengan pengencer, perlu hati hati dalam pengocokan karena *eritrosit* mudah lisis.

C. Metode Pemeriksaan Jumlah Eritrosit

Ada 2 jenis metode pemeriksaan Jumlah *eritrosit* yaitu :

1. Manual

Pemeriksaan hitung jumlah *eritrosit* secara manual dengan alat *Hemositometer* merupakan metode yang paling umum digunakan karena lebih murah (Herrera, 2015). Metode ini biasanya digunakan pada rumah sakit dan laboratorium klinik berskala kecil dengan beban kerja yang tidak terlalu besar (Ranjan, 2016). Pada metode ini, eritrosit dihitung dengan bantuan *mikroskop*. Namun hitung jumlah *eritrosit* dengan metode ini membutuhkan waktu yang cukup lama dan rumit. Selain itu akurasi hasil pemeriksaan dipengaruhi oleh faktor *subyektif* seperti pengalaman dan keahlian dari teknisi laboratorium, dan faktor kelelahan dari teknisi terutama jika sampel pemeriksaan dalam jumlah yang sangat besar. Metode *otomatis* digunakan sebagai solusi masalah tersebut karena lebih efektif dan efisien (Pandit, 2015). Darah diencerkan dengan larutan yang isotenis untuk memudahkan dalam menghitung jumlah *eritrosit* dan mencegah *hemolysis*. Larutan pengencer yang biasa digunakan:

a) Larutan *Hayem*

Natrium sulfat 2.5 g, Natrium klorida 0.5 g, Merkuri klorida 0.25 g, Aquadest 100 ml. Pada keadaan hiperglobulinemia, larutan ini tidak dapat digunakan karena dapat menyebabkan precipitasi protein, rouleaux, aglutinasi.

b) Larutan *Goweer*

Natrium sulfat 12.5 g, asam asetat glasial 33.3 ml, aquadest 200 ml. Larutan ini mencegah aglutinasi dan rouleaux.

c) Natrium Klorida 0,85%

Bahan yang digunakan adalah darah kapiler, darah EDTA, darah heparin, atau darah ammonium-kalium oksalat.

Cara mengitung jumlah *eritrosit* adalah letakkan bilik hitung dibawah *mikroskop* dengan perbesaran lemah(10x). Cari kotak perhitungan yang berada ditengah. Kotak tersebut terbagi dalam 25 kotak kecil dan setiap kotak terbagi menjadi 16 kotak kecil-kecil. Sel *eritrosit* dihitug dalam 5 kotak kecil, yaitu 4 kotak sudut dan 1 kotak lagi ditengah.

2. Automatik

Pada metode otomatis, pengukuran hitung jumlah *eritrosit (red blood cell/RBC)* menggunakan prinsip *impedansi*. Sel dihitug dan diukur berdasarkan pada pengukuran perubahan hambatan listrik yang dihasilkan oleh sebuah partikel, dalam hal ini adalah sel darah yang disuspensikan dalam pengencer konduktif saat melewati celah dimensi. Sel-sel darah yang melewati celah dengan elektroda di kedua sisinya mengalami perubahan impedansi yang menghasilkan getaran listrik yang terukur sesuai dengan volume atau ukuran sel. Amplitude setiap getaran sebanding dengan volume setiap partikel. Setiap getaran diperkuat dan dibandingkan dengan saluran tegangan acuan internal, yang hanya menerima getaran dari amplitude tertentu. Jika getaran range RBC, maka dihitug sebagai RBC. Prinsip pengukuran jumlah sel ini tergantung pada

ukuran sel, luas permukaan, dan adanya granula-granula di dalam sel (Mindray BC3200 Operator's Manual, 2012; Kakel, 2013).

D. Antikoagulan EDTA

EDTA (*Ethylene diamine tetra acetate*) sebagai garam natrium atau kalium. garam-garam itu mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuknya eritrosit tidak juga terhadap bentuk leukosit. EDTA sering dipakai dalam larutan 10%. Kalo ingin menghindarkan terjadi pengenceran darah.

Darah EDTA dapat dilakukan beberapa pemeriksaan hematologi, seperti penetapan kadar *hemoglobin*, hitung jumlah *leukosit*, hitung jumlah eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, penetapan laju endap darah menurut *westergreen* dan *wintrobe*. Tetapi tidak dipakai untuk percobaan *hemoragik* dan pemeriksaan faal trombosit.

EDTA sering digunakan karena antikoagulan ini tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuknya eritrosit dan leukosit, serta mencegah trombosit menggumpal. EDTA yang biasanya digunakan terdiri dalam bentuk larutan atau cair dan kering atau serbuk. Apabila menggunakan EDTA yang kering, wadah berisi darah harus digoncang sedikit lebih lama yaitu 1-2 menit karena EDTA kering lambat melarut. Lambat melarutnya EDTA ini juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, terutama pemeriksaan darah rutin. Penggunaan EDTA dalam bentuk larutan lebih disarankan dari pada penggunaan EDTA kering atau serbuk (Gandasoebrata, 2013 ; Riadi W, 2011).

Jenis EDTA yang direkomendasi oleh *World Health Organization* (WHO), *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) dan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk pemeriksaan hematologi adalah tabung vacutainer K2EDTA (WHO, 2006). Konsentrasi K2EDTA yang direkomendasi oleh BD vacutainer company yaitu 1,8 mg/mL (Becton D, 2014).

E. Homogenisasi

Homogenisasi adalah proses penyeragaman ukuran partikel dalam upaya mempertahankan kestabilan dari sebuah campuran yang terbentuk dari 2 fase yang tidak dapat menyatu atau biasa disebut emulsi. Penyeragaman ukuran dilakukan dengan proses pengecilan ukuran partikel pada fase terdispersi (Fellows, 2000). Proses pengecilan ukuran terjadi karena gaya yang timbul akibat perlakuan mekanik yang diberikan sehingga menyebabkan pemecahan pada partikel terdispersi. Menurut Bylund, 1995 pada homogenisasi menggunakan kecepatan putaran tinggi, pemecahan partikel disebabkan oleh aliran turbulensi yang ditimbulkan. Kecepatan putaran tinggi menghasilkan banyak aliran turbulen kecil yang memecahkan partikel yang bersentuhan dengan aliran tersebut sehingga menjadi lebih kecil. Proses homogenisasi biasanya dilakukan dengan bantuan alat yang disebut homogenizer.

F. Hubungan Homogenisasi Terhadap Jumlah Eritrosit

Tahapan pra analitik merupakan salah satu fase penting dari pemeriksaan laboratorium kesehatan. Fase pra analitik meliputi pengumpulan spesimen, penanganan dan pengelolaan spesimen serta faktor pasien yang berkaitan sebagai penunjang hasil pemeriksaan laboratorium (Narayanan, 2000). Tahapan pra analitik yang menentukan apakah akan diperoleh spesimen yang baik untuk pemeriksaan laboratorium tersebut, sehingga fase pra analitik sangat berpengaruh terhadap kualitas spesimen yang akan digunakan dalam tahap analitik walaupun tidak dapat dinyatakan secara kuantitas. Kriteria penanganan dan pengelolaan spesimen yang buruk akan memberikan hasil pemeriksaan laboratorium yang tidak valid (Pherson & Phincus, 2011).

Proses yang sering diawasi dalam pengendalian mutu hanya tahap analitik dan pasca analitik, sedangkan proses pra analitik kurang mendapat perhatian (Goswani, 2010). Hal ini sejalan dengan sekumpulan bukti yang dikumpulkan dalam beberapa tahun terakhir telah menunjukkan bahwa

sebagian besar kesalahan berada diluar fase analitik, sedangkan pada fase pra dan pasca analitik didapatkan lebih rentan untuk terjadi resiko kesalahan. Kesalahan dalam fase pra analitik menjadi penyebab 50% - 75% dari semua kesalahan laboratorium termasuk kesalahan identifikasi dan masalah sampel yang digunakan untuk bahan pemeriksaan di laboratorium kesehatan (Mario, 2013). Menurut Mengko R, 2013 kesalahan pada proses pra analitik dalam pemeriksaan laboratorium dapat memberikan kontribusi sekitar 62% dari total keseluruhan pemeriksaan laboratorium.

Hasil yang akurat pada pemeriksaan laboratorium dapat dicapai apabila memperhatikan tahapan-tahapan pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Ketiga tahapan ini sangat penting karena berhubungan satu dengan yang lain, salah satu hal yang penting dalam tahap pra analitik adalah saat homogenisasi spesimen. Ketika homogenisasi dengan pengencer, perlu kehati-hatian dalam pengocokan karena eritrosit mudah lisis (Nugraha G, & Badrawi I, 2018).

Homogenisasi spesimen sampel darah merupakan bagian dari tahap pra analitik. Tujuan homogenisasi sampel adalah untuk mendapatkan sampel darah yang tercampur merata dan menghindari terjadinya pembekuan (Riswanto, 2013). Ada beberapa cara homogenisasi spesimen darah antara lain dengan homogenisasi dengan cara membolak-balikkan tabung atau cara inversi, namun teknik inversi ini tidak semuanya dilakukan oleh ATLM, 70-90% ATLM menggunakan teknik homogenisasi dengan membentuk angka delapan (Tetty, 2017). Penghomogenan darah dilakukan sesuai dengan gold standar, Menurut Decie and Lewis, cara yang dilakukan untuk menghomogenkan darah yaitu menggunakan teknik inversi atau homogenisasi teknik manual dengan membolak balikkan tabung 8 sampai 10 kali.

Homogenisasi dengan alat roller mixer dengan cara otomatis bisa mempermudah petugas laboratorium dalam melakukan pencampuran darah agar lebih homogen berdasarkan pengatur kecepatan yang stabil, pengatur waktu dan pengkondisi suhu dari alat tersebut sehingga tidak menimbulkan

terjadinya bekuan yang dapat mempengaruhi nilai trombosit menjadi rendah palsu. Homogenisasi darah dengan antikoagulan yang tidak sempurna dapat menyebabkan terbentuknya bekuan dan sel-sel banyak yang bergerombol termasuk trombosit, sehingga jumlah trombosit yang terbaca pada alat hematology analyzer menjadi rendah palsu.

G. Blood Roller Mixer

Blood Roller Mixer berasal dari kata *blood* yang berarti darah, *roller* berarti gulungan berputar dan *mixer* berarti pengocok, maka dapat disimpulkan bahwa *Blood roller mixer* merupakan alat pengocok darah dengan gulungan atau rol yang berputar. Alat ini berfungsi untuk menghomogenkan darah atau mengocok sampel darah dalam sebuah venoject (tabung hampa udara steril) sebelum diproses oleh alat Hematology Analyzer (Yudistira Ardy Nugraha, 2010) yang telah diberi anti koagulan sebagai zat yang mampu mencegah pembekuan darah. Menurut (Analisis muslim,2015).

Alat *blood roller mixer* digunakan ketika sampel dalam venoject telah diletakkan tepat diantara rol yang berputar, maka sampel tersebut akan mulai ter kocok mengikuti gerak *roller* nya. Berdasarkan prinsip kerjanya, alat *blood roller mixer* ini memiliki nilai *RPM (Rotate Per Minute)* sebagai kecepatan putaran dari pada rol tersebut dengan pilihan kecepatan 33 dan 40 RPM, kecepatan ini dipilih berdasarkan buku *District Laboratory Practise In Tropical Countries*. Part1, Hal 158 (Monica, 2005).

H. Faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan eritrosit

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah *eritrosit*:

1. Pra-analitik

Kegiatan tahap pra analitik adalah serangkaian kegiatan laboratorium sebelum pemeriksaan spesimen, yang meliputi:

- 1) Persiapan pasien.
- 2) Pemberian identitas specimen.
- 3) Pengambilan dan penampungan specimen.

- 4) Penanganan specimen.
- 5) Pengiriman specimen
- 6) Pengolahan dan penyiapan spesimen

Kegiatan ini dilaksanakan agar spesimen benar-benar representatif sesuai dengan keadaan pasien, tidak terjadi kekeliruan jenis spesimen, dan mencegah tertukarnya specimen spesimen pasien satu sama lainnya.

Tujuan pengendalian tahap pra analitik yaitu untuk menjamin bahwa spesimenspesimen yang diterima benar dan dari pasien yang benar pula serta memenuhi syarat yang telah ditentukan.

Kesalahan yang terjadi pada tahap pra analitik adalah yang terbesar, yaitu dapat mencapai 60% - 70%. Hal ini dapat disebabkan dari spesimen yang diterima laboratorium tidak memenuhi syarat yang ditentukan. Spesimen dari pasien dapat diibaratkan seperti bahan baku yang akan diolah. Jika bahan baku tidak baik, tidak memenuhi persyaratan untuk pemeriksaan, maka akan didapatkan hasil/ output pemeriksaan yang salah. Sehingga penting sekali untuk mempersiapkan pasien sebelum melakukan pengambilan spesimen. Spesimen yang tidak memenuhi syarat sebaiknya ditolak, dan dilakukan pengulangan pengambilan spesimen agar tidak merugikan laboratorium.

2. Analitik

Kegiatan laboratorium yang dilakukan pada tahap analitik meliputi:

- 1) Pemeriksaan specimen.
- 2) Pemeliharaan dan Kalibrasi alat.
- 3) Uji kualitas reagen.
- 4) Uji Ketelitian - Ketepatan

Tujuan pengendalian tahap analitik yaitu untuk menjamin bahwa hasil pemeriksaan spesimen dari pasien dapat dipercaya/ valid, sehingga klinisi dapat menggunakan hasil pemeriksaan laboratorium tersebut untuk menegakkan diagnosis terhadap pasiennya.

Walaupun tingkat kesalahan tahap analitik (sekitar 10% - 15%) tidak sebesar tahap pra analitik, laboratorium tetap harus memperhatikan kegiatan pada tahap ini. Kegiatan tahap analitik ini lebih mudah dikontrol atau dikendalikan dibandingkan tahap pra analitik, karena semua kegiatannya berada dalam laboratorium. Sedangkan pada tahap pra analitik ada hubungannya dengan pasien, yang kadang-kadang sulit untuk dikendalikan.

Laboratorium wajib melakukan pemeliharaan dan kalibrasi alat baik secara berkala atau sesuai kebutuhan, agar dalam melaksanakan pemeriksaan spesimen pasien tidak mengalami kendala atau gangguan yang berasal dari alat laboratorium. Kerusakan alat dapat menghambat aktivitas laboratorium, sehingga dapat mengganggu performa/penampilan laboratorium yang pada akhirnya akan merugikan laboratorium itu sendiri.

Untuk mendapatkan mutu yang dipersyaratkan, laboratorium harus melakukan uji ketelitian – ketepatan. Uji ketelitian disebut juga pemantapan presisi, dan dapat dijadikan indikator adanya penyimpangan akibat kesalahan acak (random error). Uji ketepatan disebut juga pemantapan akurasi, dan dapat digunakan untuk mengenali adanya kesalahan sistemik (systemic error). Pelaksanaan uji ketelitian – ketepatan yaitu dengan menguji bahan kontrol yang telah diketahui nilainya (assayed control sera). Bila hasil pemeriksaan bahan kontrol terletak dalam rentang nilai kontrol, maka hasil pemeriksaan terhadap spesimen pasien dianggap layak dilaporkan.

3. Post-analitik

Kegiatan laboratorium yang dilakukan pada tahap pasca analitik yaitu sebelum hasil pemeriksaan diserahkan ke pasien, meliputi:

- 1) Penulisan hasil
- 2) Interpretasi hasil.

3) Pelaporan Hasil.

Seperti pada tahap analitik, tingkat kesalahan tahap pasca analitik hanya sekitar 15% - 20%. Walaupun tingkat kesalahan ini lebih kecil jika dibandingkan kesalahan pada tahap pra analitik, tetapi tetap memegang peranan yang penting.

Kesalahan penulisan hasil pemeriksaan pasien dapat membuat klinisi salah memberikan diagnosis terhadap pasiennya. Kesalahan dalam menginterpretasikan dan melaporkan hasil pemeriksaan juga dapat berbahaya bagi pasien.

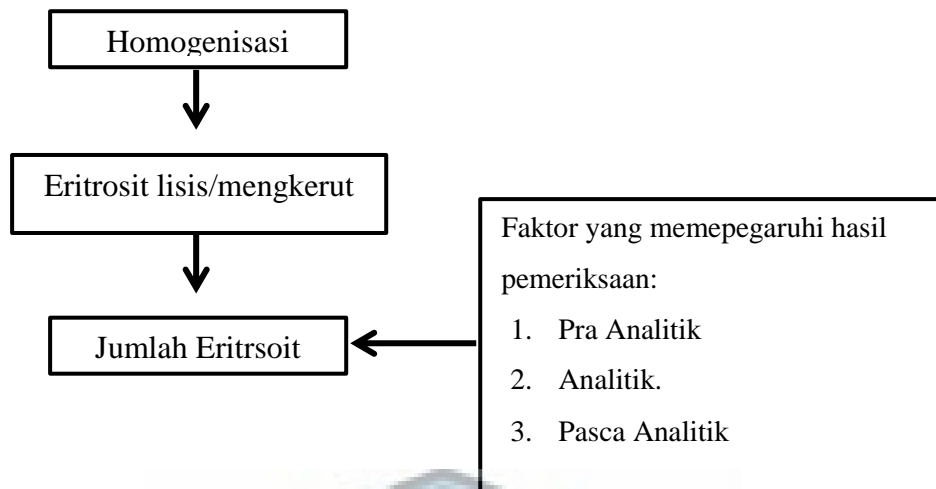
Ketiga tahap kegiatan laboratorium ini sama-sama penting untuk dilaksanakan sebaik mungkin, agar mendapatkan hasil pemeriksaan yang berkualitas tinggi, mempunyai ketelitian dan ketepatan sehingga membantu klinisi dalam rangka menegakkan diagnosa, pengobatan atau pemulihan kesehatan pasien yang ditanganinya.

I. Kesalahan Pemeriksaan Jumlah Eritrosit

Ada beberapa kesalahan yang bisa terjadi dalam pemeriksaaan jumlah eritrosit diantaranya:

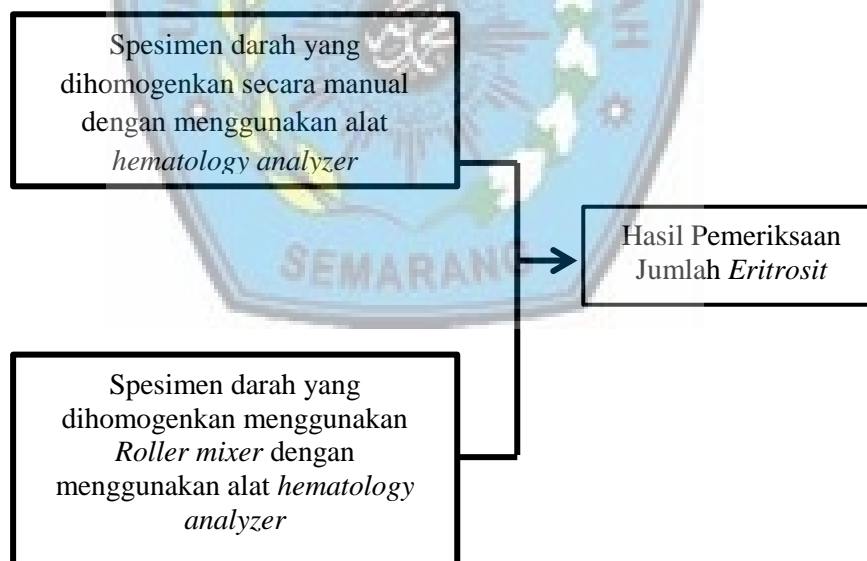
1. Pengambilan sampel darah didaerah lengan yang terpasang jalur intra-vena menyebabkan hitung eritrosit rendah akibat hemodilusi.
2. Pengenceran yang tidak tepat.
3. Larutan pengencer yang tercemar darah dan lainnya.
4. Alat yang digunakan seperti pipet, bilik hitung, kaca penutupnya kotor.

J. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

K. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

L. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit yang dihomogenkan secara manual dan menggunakan alat *roller mixer* berdasarkan pemeriksaan menggunakan *Hematoly analyzer*