

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

Darah merupakan medium transport tubuh, volume darah manusia sekitar 7% - 10% berat badan normal dan berjumlah sekitar 5 liter. Keadaan jumlah darah pada tiap – tiap orang tidak sama, bergantung pada usia, pekerjaan, serta keadaan jantung atau pembuluh darah (Handayani dan Haribowo, 2008).

Darah membentuk sekitar 8% berat tubuh total dan memiliki volume rata-rata 5 liter pada wanita dan 5,5 liter pada pria. Darah manusia berwarna merah, antara merah terang apabila mengandung banyak oksigen sampai merah tua, apabila kekurangan oksigen. Warna merah pada darah disebabkan oleh hemoglobin, protein pernapasan (respiratory protein) yang mengandung besi dalam bentuk heme, yang merupakan tempat terikatnya molekul-molekul oksigen. Keberadaan darah sangat penting, oleh karenanya harus terdapat mekanisme yang dapat memperkecil kehilangan darah apabila terjadi kerusakan pembuluh darah. Tanpa darah, manusia tidak dapat melawan infeksi atau kuman penyakit dan bahan-bahan sisa yang dihasilkan tubuh tidak dapat dibuang (Evelyn, 2009).

2.2 Sel Darah Merah (Eritrosit)

2.2.1 Pengertian

Eritrosit atau sel darah merah adalah sel yang terbanyak dalam darah perifer. Jumlahnya pada orang dewasa normal berkisar antara 4 – 6 juta

sel/ul. Eritrosit mempunyai bentuk bikonkaf , yang memberi gambaran seperti cincin pada sediaan hapus darah tepi. Fungsi utama eritrosit adalah transport gas (Kosasih E.N. dan Kosasih A.S., 2008).

Eritrosit adalah satu – satunya sel dalam tubuh yang fungsinya lengkap tanpa suatu nucleus dan juga unik yaitu mempunyai metabolisme aerobik yang minimal (misalnya tidak mempunyai mitokondria). Eritrosit diberkahi dengan sifat fleksibilitas dan fluiditas untuk menjalankan peranannya dalam pertukaran gas ke jaringan dan dari jaringan, berjalan melalui pembuluh darah yang mungkin kecil (separuh dari ukuran eritrosit) (Isbister J.P. dan Pittiglio D.H., 1999).

Penggunaan unit Internasional (SI), jumlah eritrosit dinyatakan sebagai jumlah eritrosit per liter darah. Jadi jumlah eritrosit 5 juta/mm³ dinyatakan dalam SI adalah 5 x 10¹² /L. (Widmann, 2009).

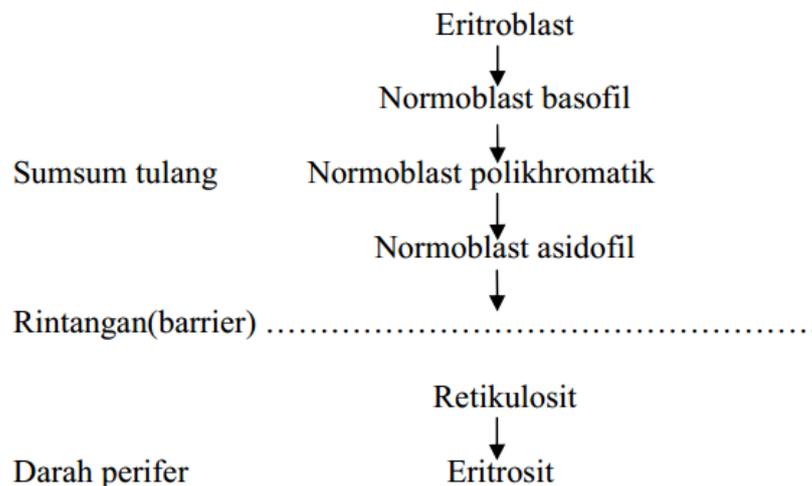
Nilai normal	Satuan lama	Satuan Baru (SI)
Pria	4,50 - 5,90x10 ⁶ /ul	4,50 - 5,90x10 ¹² /L
Wanita	4,00 - 5,20x10 ⁶ /ul	4,00 - 5,20x10 ¹² /L

(Kosasih E.N dan Kosasih A.S., 2008)

2.2.2 Pembentukan eritrosit (Eritropoisis)

Pematangan eritrosit dalam sumsum tulang berlangsung sekitar 7 hari. Dalam peredaran darah perifer inti umumnya sudah hilang. Retikulosit adalah sel termuda dalam darah perifer. Kira – kira 10% dari eritrosit dalam darah perifer adalah retikulosit. Hal ini berarti hanya 1% dari jumlah jangka hidup eritrosit adalah retikulosit. 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).



Gambar 1: Skema Perkembangan Dari Eritroblast Menjadi Eritrosit

2.2.3 Proses pembentukan eritrosit memerlukan;

- a. Sel induk : CFU-E, BFU-E, normoblast (eritroblast)
- b. Bahan pembentuk eritrosit: besi, vitamin B12, asam folat, protein,
- c. Mekanisme regulasi: faktor pertumbuhan hemopoetik dan hormone eritropoitin (Bakta I Made, 2006)

2.2.4 Penghancuran Eritrosit

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 sebagai berikut:

- a. Komponen protein, yaitu globin yang akan dikembangkan ke pool protein dan dapat digunakan kembali.
- b. Komponen heme akan dipecah menjadi dua, yaitu:
 - 1) Besi yang akan dikembalikan ke pool besi dan digunakan ulang;
 - 2) Bilirubin yang akan diekskresikan melalui hati dan empedu (Handayani dan Haribowo, 2008).

2.3 Faktor yang mempengaruhi jumlah eritrosit

Jumlah eritrosit sangat bervariasi antara individu yang satu dengan yang lainnya. Jumlah eritrosit di perbanyak apabila terjadi perubahan atau waktu berada di daerah tinggi dengan tujuan menormalkan pengangkutan O₂ ke jaringan (Surgi, 1990). Jumlah eritrosit dipengaruhi juga oleh kondisi tubuh, jenis kelamin, keadaan stres, dan umur (Schmidt dan Nelson, 1990).

Kurangnya zat besi dalam makanan yang dikonsumsi juga mempengaruhi jumlah eritrosit dalam tubuh. Zat besi diabsorpsi dari saluran pencernaan. Sebagian besar zat besi diabsorpsi dari usus halus bagian atas terutama duodenum. Bila terjadi gangguan pencernaan, maka absorpsi zat besi terhadap saluran pencernaan tidak optimal.

Selain itu kehilangan darah disebabkan oleh luka, kanker dan perdarahan menstruasi yang berat akibat, kehilangan darah tersebut dapat mengakibatkan kurangnya cadangan zat besi dalam tubuh sehingga pembentukan sel darah merah terganggu.

2.4 Antikoagulan

Antikoagulan digunakan untuk mencegah terjadinya penjendalan darah, sehingga darah tetap dalam kondisi cair. Ada berbagai jenis antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi, diantaranya EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid). EDTA digunakan dalam beberapa macam pemeriksaan hematologi seperti penetapan kadar hemoglobin, hitung jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, dan penetapan Laju endap darah (Gandasoebrata, 2007).

Mekanisme kerja EDTA adalah dengan menghambat kerja aktivator pada pembekuan darah. Pada proses pembekuan darah diperlukan Ca^{2+} untuk mengaktivasi kerja protrombin menjadi trombin. Ca^{2+} diperlukan kembali pada proses aktivasi fibrin lunak menjadi fibrin dengan gumpalan keras. EDTA disini berfungsi sebagai chelating agent yang dapat mengikat ion Ca^{2+} yang bebas dalam darah sehingga tidak dapat berperan aktif dalam proses selanjutnya (Riswanto, 2010).

Antikoagulan adalah cairan yang digunakan untuk pencegahan pembekuan pada darah (Fattah M, 2002), ada beberapa macam antikoagulan dan mempunyai cara yang berbeda dalam pencegahan pembekuan darah.

Jenis-jenis antikoagulan:

1. Heparin

Heparin berdaya seperti antitrombin, tidak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit dan leukosit, tiap 1 ml heparin dapat mencegah membekunya 10 ml darah (Gandasoebrata, 2007).

2. EDTA (*Ethylene Diamine Teraacetic Acid*)

Antikoagulan ini dapat berupa garam natrium atau kaliumnya. Garam-garam itu mengubah ion calcium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1 ml darah. EDTA sering dipakai dalam bentuk larutan 10% (Gandasoebrata, 2007).

3. Double oksalat

Campuran ammonium oksalat dan kalium oksalat menurut Paul dan Heller yang juga dikenal sebagai campuran oksalat seimbang. Dipakai dalam keadaan kering agar tidak mengencerkan darah yang di periksa. Jika campuran kedua garam itu dalam perbandingan 3:2 tidak berpengaruh terhadap besarnya eritrosit tetapi berpengaruh terhadap morfologi lekosit (Gandasoebrata, 2007).

4. Natriumsitrat dalam larutan 3,8%

Larutan yang isotonik dengan darah, dapat dipakai dalam beberapa macam percobaan hemoragik dan untuk laju endap darah cara Westergren (Gandasoebrata, 2007).

2.5 Darah EDTA 10%

EDTA yang sering dipakai dalam pemeriksaan hematologi adalah larutan dengan kadar EDTA 10% yang artinya 10g EDTA serbuk dilarutkan dalam 100ml aquades. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1 ml darah. Pemakai EDTA dalam jumlah yang berlebihan perlu dihindari, bila dipakai EDTA lebih dari 2 mg per ml maka nilai hematokrit menjadi lebih rendah dari yang sebenarnya.

EDTA digunakan dalam bentuk garam yaitu Natrium (Na_2EDTA) atau Kalium ($\text{K}_2\text{EDTA}/\text{K}_3\text{EDTA}$). Semua garam EDTA bersifat hiperosmolar yang dapat menyebabkan eritrosit mengkerut. Na_2EDTA dan K_2EDTA bersifat lebih asam dibandingkan K_3EDTA . Penggunaan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan stabilitas yang lebih baik dari garam EDTA lain karena darah dengan antikoagulan ini menunjukkan pH yang mendekati pH darah (Wirawan R, 2002).

Dosis pemakaian antikoagulan EDTA kering yaitu 1-1,5 mg/ml darah, sedangkan untuk EDTA cair yaitu 10 ul/1 ml darah (Wirawan R dan Silman E, 1992). Pemberian antikoagulan EDTA yang kurang dari yang dibutuhkan menyebabkan jumlah trombosit menurun karena terjadi mikrotrombi di dalam penampung yang dapat menyumbat alat, sebaliknya bila pemberian antikoagulan berlebih menyebabkan sel mengalami pembengkakan, kemudian disintegrasi, membentuk fragmen dengan ukuran yang sama dengan trombosit sehingga terhitung oleh alat sebagai trombosit. Hal ini mengakibatkan terjadinya peningkatan palsu jumlah trombosit. Begitu pula sebaliknya, bila fragmen berbeda ukuran dengan trombosit, maka menyebabkan penurunan jumlah trombosit (Wirawan, 2004).

Zat kering boleh dipakai untuk menghindarkan terjadi pengenceran darah, akan tetapi dalam hal terakhir ini perlu sekali menggoncang-goncangkan atau menghomogenkan wadah yang berisi darah dan EDTA selama 1-2 menit karena zat EDTA yang kering agak sukar larut atau lambat melarut (R.Gandasoebrata, 2007).

Berikut perhitungan perbandingan darah dan antikoagulan :

10 g EDTA serbuk dalam 100 ml aquades adalah EDTA 10%

1 ml EDTA cair = 0,1 g EDTA serbuk

1 ml = 100 mg

0,01 µl EDTA cair = 1 mg EDTA serbuk → untuk 1 ml darah

2.6 Tabung Vacutainer

Tabung vacutainer merupakan tabung yang sangat aman untuk penempatan specimen. Tabung vacutainer dapat mengurangi terjadinya tumpahnya specimen. Tabung ini juga aman digunakan, sederhana dan sesuai panduan *Environmental Protection Agency (EPA)*. Tabung vacutainer harus disimpan pada suhu yang sesuai (Turgeon, 2005).

Tabung vacutainer yang berisi K₃EDTA disarankan oleh National Committee for Clinical Laboratory Standard untuk pemeriksaan hematologi, karena memiliki stabilitas yang lebih baik dibanding EDTA lain (Tietz, 1996). Tabung vacutainer ada beberapa jenis dan dengan antikoagulan yang berbeda yang ditunjukkan dengan berbagai warna antara lain:

1. Biru muda

Mengandung antikoagulan sodium citrate, digunakan untuk pemeriksaan CTAD.

2. Merah

Tidak mengandung antikoagulan, digunakan untuk pemeriksaan kimia darah.

3. Kuning

Mengandung inter polymer gel, digunakan untuk pemeriksaan SST.

4. Hijau muda

Mengandung lithium heparin dan gel, digunakan untuk penentuan pemisahan plasma kimia.

5. Lavender/ungu

Mengandung K_3EDTA , digunakan untuk penentuan hematologi darah, pengujian immunohematology rutin dan skrining donor darah.

6. Abu-abu

Mengandung sodium fluoride dan potassium oxlate, digunakan untuk pemeriksaan glukosa (Rodak et, al, 2013).

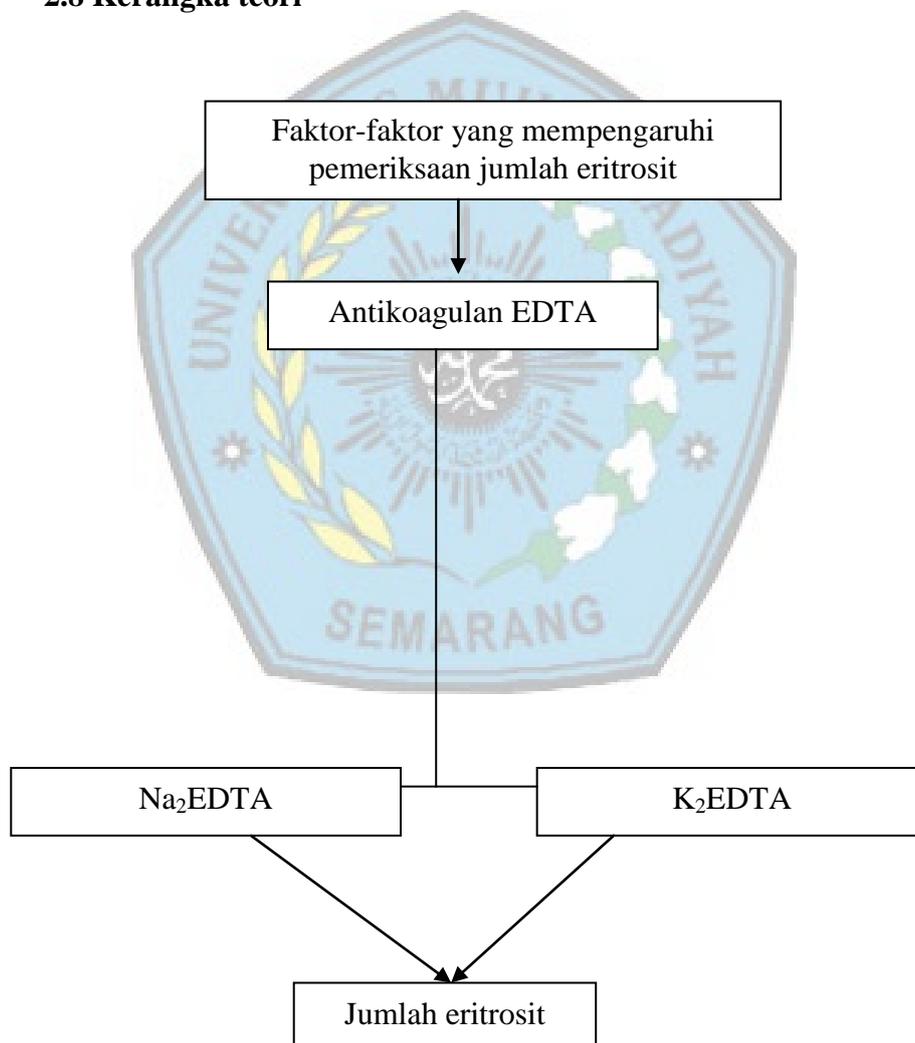
Tabung dengan tutup warna ungu inilah yang sering dan umum digunakan pada pemeriksaan hematologi. Tabung ini berisi cairan K_3EDTA yang merupakan cairan yang dapat mencairkan sampel 1-2 %. Konsentrasi K_3EDTA dalam tabung vacutainer yaitu 1,8 mg/dl darah (Lisa, 2016).

2.7 Hematology Analyzer

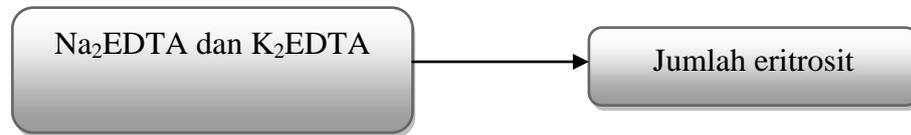
Hematology Analyzer adalah alat yang digunakan untuk memeriksa darah lengkap dengan cara menghitung dan mengukur sel-sel darah secara otomatis berdasarkan variasi berkas cahaya terhadap sel-sel yang dilewatkan. Alat ini bekerja berdasarkan prinsip Flow cytometer. Flow cytometer adalah metode pengukuran jumlah dan sifat-sifat sel yang dibungkus oleh aliran cairan melalui celah sempit (Mindray, 2006).

Cara kerja dari hematology analyzer itu sendiri yaitu darah dicuci selama 200 kali lalu dicampur dengan hemolizing kemudian akan dihitung Hemoglobin (HB) dan White Blood Cell (WBC)nya, kemudian untuk perhitungan Red Blood Cell (RBC) dan platelet darah akan dicuci selama 200 kali dan kemudian semua data diolah di mikroprosesor yang kemudian akan ditampilkan dalam monitor atau display.

2.8 Kerangka teori



2.9 Kerangka Konsep



3.0 Hipotesis

Ada perbedaan antara hitung jumlah eritrosit dengan penambahan Na₂EDTA dan K₂EDTA.

