

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Darah

2.1.1 Pengertian Darah

Darah adalah jaringan cair yang terdiri atas dua komponen yaitu 55% plasma darah dan 45% sel darah. Plasma darah merupakan bagian cair darah yang terdiri dari 91% air, 8% protein yaitu albumin, globulin, protrombin serta fibrinogen dan 0,9% mineral yaitu natrium klorida, natrium bikarbonat, garam dari kalsium, fosfor, magnesium dan besi. Sedangkan sel darah terdiri dari eritrosit atau sel darah merah, leukosit atau sel darah putih dan trombosit atau keping darah. Volume darah secara keseluruhan adalah satu per dua belas berat badan atau sekitar 5 liter (Pearce, 2010).

2.1.2 Fungsi Darah

Peranan darah bagi tubuh sangat penting, terdapat beberapa fungsi darah bagi tubuh yaitu sebagai berikut :

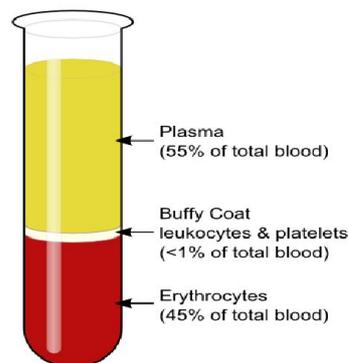
1. Sebagai alat pengangkut.
 - a. Darah mengangkut oksigen dari paru-paru keseluruh jaringan untuk proses oksidasi.
 - b. Mengangkut karbondioksida sisa oksidasi dari seluruh jaringan tubuh ke paru-paru.
 - c. Mengangkut zat-zat makanan yang telah diserap oleh usus keseluruh jaringan tubuh.

- d. Mengangkut sisa proses metabolisme ke alat-alat pengeluaran seperti kulit dan ginjal.
2. Darah sebagai pengatur keseimbangan asam basa tubuh.
3. Darah sebagai pengatur suhu tubuh (Surtiretna, 2006).

2.1.3 Plasma Darah

Plasma darah adalah komponen darah yang berbentuk cairan berwarna kuning yang menjadi medium sel-sel darah. Di dalam plasma darah terkandung benang-benang fibrin atau fibrinogen yang berguna dalam proses pembekuan darah pada bagian tubuh yang terluka. Plasma darah juga mengandung serum yaitu plasma darah yang tidak mengandung fibrinogen dan selalu dalam keadaan cair. Serum ini berfungsi melawan kuman atau bibit penyakit yang masuk dalam tubuh (Surtiretna, 2006).

Plasma darah merupakan komponen terbesar dalam darah, dimana besar volumenya 55% dari volume darah, yang terdiri dari 90% air dan 10% berupa larutan protein, glukosa, faktor koagulasi, ion mineral, hormon dan karbondioksida (Pearce, 2010).



Gambar 2.1.3 Plasma Darah
Sumber : Kiswari , 2014

2.1.4 Fungsi Plasma Darah

Plasma bekerja sebagai medium atau perantara untuk penyaluran makanan, mineral, lemak, glukosa dan asam amino ke jaringan. Selain itu plasma juga merupakan medium untuk mengangkut bahan buangan seperti urea, asam urat dan sebagian dari karbondioksida (Pearce, 2010).

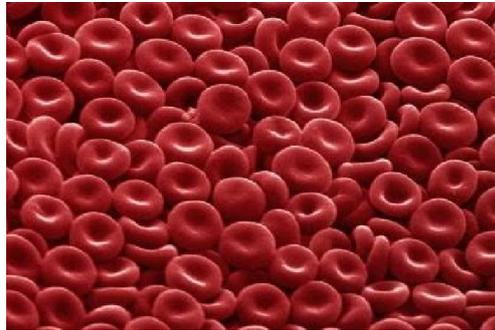
2.2 Tinjauan Sel-Sel Darah

2.2.1 Sel Darah Merah atau Eritrosit

Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru-paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbondioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke paru-paru. Eritrosit tidak mempunyai inti sel, tetapi mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen. Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 7 μ sampai 8 μ . Bentuk bikonkaf tersebut menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil. Melalui mikroskop, eritrosit tampak bulat, berwarna merah, dan di bagian tengahnya tampak lebih pucat. Umur eritrosit adalah 120 hari, sehingga kira-kira setiap hari 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru.

Eritrosit berjumlah paling banyak dibandingkan sel-sel darah lainnya. Dalam 1 mm^3 darah, terdapat 4,5 juta sampai 6 juta eritrosit yang menyebabkan darah berwarna merah. Parameter untuk mengukur keadaan eritrosit biasanya dilakukan dengan mengukur kadar hemoglobin di dalam darah dalam satuan gram per desiliter, mengukur kadar hematokrit, dan menghitung jumlah eritrosit. Untuk

mengetahui ukuran eritrosit diperoleh dengan cara menghitung volume eritrosit rata-rata atau *mean corpuscular volume* (Kiswari, 2014).

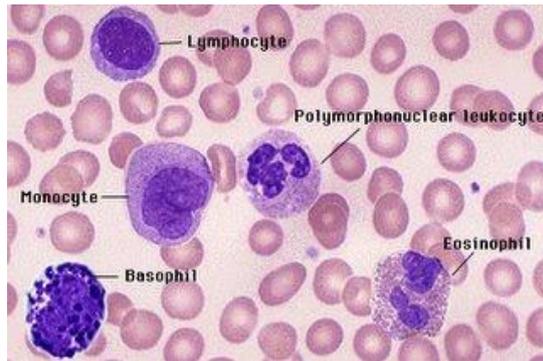


Gambar 2.2.1 Eritrosit
Sumber: Kiswari, 2014

2.2.2 Sel Darah Putih atau Leukosit

Sel darah putih atau leukosit berbentuk tidak tetap dan berinti. Ukuran leukosit lebih besar dari pada eritrosit. Leukosit tidak berwarna dibentuk dalam kelenjar kura dan sumsum tulang. Di dalam setiap 1 mm³ darah terdapat 4.000 sampai 10.000 sel darah putih. Leukosit umurnya lebih pendek dari eritrosit yaitu hanya 12 sampai 13 hari.

Beberapa jenis leukosit terdapat dalam darah. Leukosit pada umumnya dibagi menjadi granulosit yang mempunyai granula khas dan agranulosit yang tidak mempunyai granula khas. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Meskipun leukosit merupakan sel darah, tetapi fungsinya lebih banyak dilakukan di dalam jaringan. Selama berada di dalam darah. Leukosit hanya bersifat sementara mengikuti aliran darah ke seluruh tubuh. Apabila terjadi peradangan pada jaringan tubuh, leukosit akan bermigrasi menuju jaringan yang mengalami radang dengan cara menembus dinding pembuluh darah kapiler (Kiswari, 2014).



Gambar 2.2.2 Jenis Jenis Leukosit
Sumber: Pestariati, 2013

1. Neutrofil

Neutrofil adalah jenis leukosit yang paling banyak di antara jenis-jenis leukosit. Ada dua macam jenis neutrofil yaitu neutrofil stab dan neutrofil segmen. Neutrofil segmen sering disebut juga neutrofil polimorfonuklear. Disebut demikian karena inti selnya terdiri atas beberapa segmen atau lobus yang bentuknya bermacam-macam dan dihubungkan dengan benang kromatin. Jumlah segmen neutrofil adalah sebanyak 3 sampai 6. Bila lebih dari 6 disebut dengan neutrofil hipersegmen. Jumlah neutrofil segmen kira-kira 50% sampai 70% dari keseluruhan leukosit. Neutrofil batang mempunyai inti berbentuk tapal kuda. Neutrofil batang merupakan bentuk muda dari neutrofil segmen.

Fungsi utama neutrofil pada umumnya adalah sebagai fagositosis terhadap bakteri. Neutrofil merupakan bentuk pertahanan tubuh yang utama untuk melawan bakteri. Bakteri yang mati karena obat-obatan antimikroba ternyata mengandung granula-granula. Neutrofil bersikulasi di dalam darah kira-kira selama 10 jam dan dapat hidup selama 1 sampai 4 hari pada saat berada di dalam jaringan ekstrasvaskuler.

2. Eosinofil

Eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah orange yang tampak pada hapusan darah tepi. Pada umumnya intinya bersegmen dua lobus. Fungsi eosinofil sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terutama terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Jumlah eosinofil normal adalah 2% sampai 4% dan akan meningkat bila terjadi reaksi alergi atau infeksi parasit.

3. Basofil

Basofil mengandung granula kasar berwarna ungu atau biru tua dan sering kali menutupi inti sel. Inti sel basofil bersegmen. Basofil adalah jenis leukosit yang paling sedikit jumlahnya, yaitu kira-kira <2% dari jumlah keseluruhan leukosit. Granula pada basofil mengandung heparin, histamin, dan substansi anafilaksis. Basofil berperan dalam reaksi hipersensitivitas yang berhubungan dengan IgE.

4. Limfosit

Limfosit adalah jenis leukosit yang jumlahnya kedua paling banyak setelah neutrofil. Jumlah limfosit pada anak-anak relatif lebih banyak dibandingkan jumlahnya pada orang dewasa dan jumlah limfosit ini meningkat bila terjadi infeksi virus.

Berdasarkan fungsinya, limfosit dibagi menjadi sel B dan sel T. Sel B berefek pada sistem imun humoral yang berkembang di dalam sumsum tulang dan dapat ditemukan dalam limfonodus, limpa dan organ lainnya yang berada selain dalam darah. Setelah terjadi rangsangan dari antigen, sel B akan berkembang menjadi sel plasma yang dapat memproduksi antibodi.

5. Monosit

Jumlah monosit kira-kira 3% sampai 8% dari total jumlah leukosit. Setelah 8 jam sampai 14 jam berada di dalam darah, monosit menuju ke jaringan dan menjadi makrofag. Monosit adalah jenis leukosit yang paling besar. Inti selnya mempunyai granula kromatin halus yang menekuk berbentuk menyerupai ginjal atau biji kacang. Monosit mempunyai dua fungsi yaitu sebagai fagosit mikroorganisme khususnya jamur, bakteri, dan benda asing serta berperan dalam reaksi imun (Kiswari, 2014).

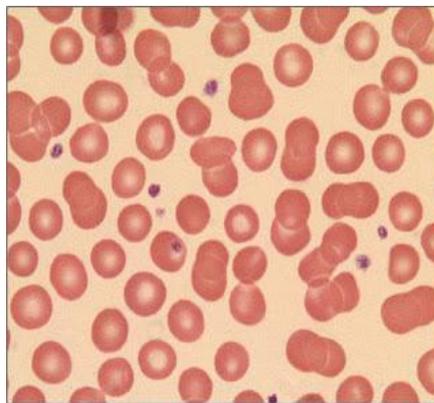
2.2.3 Trombosit

2.2.3.1 Fisiologi Trombosit

Trombosit matang adalah fragmen sel aktif yang merupakan komponen penting kedua dalam hemostasis. Trombosit dihasilkan di dalam sumsum tulang dengan cara melepaskan diri dari perifer sitoplasma atau megakariosit melalui rangsangan trombopoetin (Kiswari, 2014).

Trombosit tidak berinti, dalam keadaan inaktif bentuknya seperti cakram bikonveks dengan diameter 2 μm sampai 4 μm . Di dalam setiap 1 mm^3 darah terdapat 150.000 sampai 450.000 trombosit. Trombosit yang lebih muda berukuran lebih besar dibandingkan yang lebih tua. Dengan mikroskop elektron, trombosit dapat dibagi menjadi 4 zone dengan masing-masing zone mempunyai fungsi khusus. Keempat zone tersebut adalah zone periper yang berguna untuk adhesi dan agregasi, zone sol gel menunjang struktur dan mekanisme kontraksi, zone organel yang berperan dalam pengeluaran isi trombosit dan zone membran yang keluar dari isi granula saat pelepasan (Wirawan, 2006).

Di dalam trombosit terdapat enzim trombokinase. Enzim ini akan keluar dari trombosit ketika mengalami luka. Pengaruh ion kalsium dan vitamin K dalam darah menyebabkan enzim trombokinase akan merubah protrombin menjadi trombin. Selanjutnya trombin ini akan merubah fibrinogen menjadi benang-benang fibrin. Terbentuknya benang-benang fibrin menyebabkan luka tertutup sehingga darah tidak keluar lagi. Protrombin adalah senyawa protein yang dibentuk di hati, yang pembentukannya dipengaruhi oleh vitamin K. Orang yang kekurangan vitamin K akan mengalami kesulitan dalam proses pembekuan darah.



Gambar 2.2.3 Trombosit
Sumber: Pestariati, 2013

2.2.3.2 Fungsi Trombosit

Trombosit berfungsi antara lain sebagai berikut:

1. Mengawali penyumbatan darah dengan membentuk sumbat primer.
2. Stabilisasi fibrin.
3. Mencegah tubuh kehilangan darah akibat perdarahan.
4. Merupakan salah satu faktor pembekuan darah.

2.2.3.3 Adhesi Trombosit

Setelah cedera pembuluh darah, trombosit melekat pada jaringan ikat subendotel yang terbuka. Trombosit menjadi aktif apabila terpajan ke kolagen

subendotel dan bagian jaringan yang cedera. Adhesi trombosit melibatkan suatu interaksi antara glikoprotein membran trombosit dan jaringan yang terpajan atau cedera. Adhesi trombosit tergantung pada faktor protein plasma yang disebut faktor von Willebrand, yang memiliki hubungan integral dan kompleks dengan faktor koagulasi antihemofilia VIII plasma dan reseptor trombosit yang disebut glikoprotein Ib membran trombosit. Adhesi trombosit berhubungan dengan peningkatan daya lekat trombosit sehingga trombosit berlekatan satu sama lain serta dengan endotel atau jaringan yang cedera. Dengan demikian, terbentuk sumbat hemostatik primer atau inisial. Pengaktifan permukaan trombosit dan rekrutmen trombosit lain menghasilkan suatu massa trombosit lengket dan dipermudah oleh proses agregasi trombosit (Kiswari, 2014).

2.2.3.4 Agregasi Trombosit

Agregasi adalah kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk suatu sumbat. Agregasi terjadi akibat kontak permukaan dan pembebasan ADP dari trombosit lain yang melekat ke permukaan endotel. Hal ini disebut gelombang agregasi primer. Kemudian, seiring dengan makin banyaknya trombosit yang terlibat, maka lebih banyak ADP yang dibebaskan sehingga terjadi gelombang agregasi sekunder disertai rekrutmen trombosit yang lebih banyak. Agregasi berkaitan dengan perubahan bentuk trombosit dari discoid menjadi bulat. Gelombang agregasi sekunder merupakan suatu fenomena irreversible, sedangkan perubahan bentuk awal dan agregasi primer masih reversible.

Peningkatan ADP yang dibebaskan dari trombosit aktif ke membran trombosit akan mengaktifkan enzim fosfolipase, yang menghidrolisis fosfolipid di

membran trombosit untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat adalah precursor mediator kimiawi yang sangat kuat, baik pada agregasi maupun inhibisi agregasi yang terlibat dalam jalur prostaglandin. Tromboksan A2 adalah senyawa yang sangat aktif, tetapi tidak stabil yang mengalami penguraian menjadi tromboksan B2 yang stabil dan inaktif. Tromboksan A2 juga merupakan vasokonstriktor kuat yang akan mencegah pengeluaran darah lebih lanjut dari pembuluh yang rusak (Kiswari, 2014).

2.2.3.5 Kelainan Trombosit

Kelainan trombosit meliputi kuantitas dan kualitas trombosit. Trombositopenia adalah berkurangnya jumlah trombosit di bawah normal, yaitu kurang dari 150×10^3 per μl . Trombositopenia dapat terjadi karena beberapa keadaan di antaranya:

1. Penurunan produksi megakariositopenia, terjadi bila fungsi sumsum tulang terganggu.
2. Meningkatnya destruksi megakarisitosis, terjadi akibat trombosit yang beredar berhubungan dengan mekanisme imun.
3. Pengenceran trombosit.
4. Dapat terjadi karena transfusi yang dibiarkan dalam waktu singkat dengan memakai darah murni yang disimpan, sehingga dapat mengakibatkan kegagalan hemostatik pada resepien (Kiswari, 2014).

2.2.3.6 Trombositosis

Trombositosis adalah meningkatnya jumlah trombosit di atas normal pada peredaran darah, yaitu lebih dari 400×10^3 per μl . Pada trombositosis, apabila rangsangan-rangsangan ditiadakan, maka jumlah trombosit normal. Misalnya

pada saat terjadi perdarahan yang akut, pada trauma saat pembedahan atau melahirkan (Kiswari, 2014).

2.2.3.7 Faktor yang Dapat Mempengaruhi Hitung Jumlah Trombosit

Faktor yang dapat menurunkan hasil pemeriksaan jumlah trombosit berdasarkan teknik pemeriksaannya adalah :

1. Perbandingan volume darah dengan dengan antikoagulan tidak tepat dapat menyebabkan kesalahan pada hasil :
 - a. Jika volume antikoagulan terlalu banyak eritrosit mengalami krenasi, sedangkan trombosit mengalami disintegrasi. Dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun.
 - b. Jika volume terlalu antikoagulan terlalu sedikit dapat menyebabkan terbentuknya jendalan yang berakibat menurunnya jumlah trombosit.
2. Penundaan pemeriksaan lebih dari 1 jam menyebabkan penurunan jumlah trombosit (Gandasoebrata 2011).
3. Penggunaan darah kapiler menyebabkan hitung jumlah trombosit cenderung lebih rendah.
4. Pengambilan sampel darah yang lamban menyebabkan trombosit saling melekat atau agregasi sehingga jumlahnya menurun palsu.
5. Tidak segera mencampur darah dengan antikoagulan atau pencampuran yang kurang juga dapat menyebabkan agregasi trombosit serta dapat terjadi bekuan.

2.3 Tinjauan Tentang Antikoagulan

Antikoagulan ialah suatu zat yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah. Agar darah yang akan diperiksa tidak mengalami pembekuan darah, dapat

ditambahkan bermacam-macam antikoagulan. Tidak semua macam antikoagulan dapat dipakai karena ada yang berpengaruh terhadap bentuk eritrosit atau leukosit yang akan diperiksa morfologinya (Gandasoebrata, 2011).

Menurut Gandasoebrata (2011), ada beberapa antikoagulan yang banyak digunakan untuk pemeriksaan laboratorium, diantaranya adalah :

1. EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*).
2. Natrium Sitrat.
3. Heparin.
4. Double Oxalat.

2.3.1 Macam-Macam Antikoagulan

1. EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*).

EDTA yang dipakai yaitu dalam bentuk garam natrium atau garam kaliumnya. Garam-garam ini akan mengubah ion Ca menjadi bentuk yang bukan ion. Selain itu EDTA juga mencegah trombosit menggumpal.

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, hapusan darah.

K2EDTA biasanya digunakan dengan konsentrasi 1 sampai 1,5 mg/ml darah. Penggunaannya harus tepat. Bila jumlah EDTA kurang, darah dapat mengalami koagulasi. Sebaliknya, bila EDTA kelebihan, eritrosit mengalami krenasi, trombosit membesar dan mengalami disintegrasi. Setelah darah dimasukkan ke dalam tabung, segera lakukan pencampuran atau homogenisasi

dengan cara membolak-balikkan tabung dengan lembut sebanyak 6 kali untuk menghindari penggumpalan trombosit dan pembentukan bekuan darah.

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*).

2. Natrium Sitrat

Natrium sitrat bersifat isotonis, mempunyai konsentrasi yang hampir sama dengan cairan di dalam tubuh, darah dan tidak bersifat toksik. Antikoagulan natrium sitrat 3,2% bisa direkomendasikan untuk pengujian faal hemostatis. Penggunaannya menggunakan perbandingan 1 bagian sitrat berbanding 9 bagian darah.

Sedangkan natrium sitrat konsentrasi 3,8% digunakan untuk pemeriksaan LED (Laju Endap Darah) atau ESR (*Erythrocyte Sedimentation Rate*), penggunaannya menggunakan perbandingan 1 bagian sitrat berbanding 4 bagian darah.

3. Heparin

Antikoagulan heparin merupakan antitrombin. Heparin tidak berpengaruh terhadap bentuk sel-sel darah tetapi tidak boleh digunakan untuk pembuatan sediaan hapusan karena menyebabkan terjadinya dasar yang biru kehitam-hitaman

pada preparat yang diwarnai dengan pewarna Wright. Konsentrasi dalam penggunaannya adalah 0,1 mg heparin kering untuk 1 ml darah.

4. Double Oxalat

Antikoagulan ini sering disebut sebagai *Paul Heller's mixture* atau juga disebut sebagai *balanced mixture*. Dipakai dalam keadaan kering agar tidak mengencerkan darah yang diperiksa.

Jika memakai amoniumoxalat saja, akan mengakibatkan eritrosit membengkak. Apabila memakai kaliumoxalat saja, akan mengakibatkan eritrosit mengerut. Oleh karena itu dibuatlah campuran dari keduanya dengan perbandingan 3 bagian amoniumoxalat : 2 bagian kaliumoxalat. Campuran ini tidak berpengaruh terhadap eritrosit.

2.4 Tinjauan Tabung *Vacutainer*

Tabung vakum pertama kali dipasarkan dengan nama dagang *vacutainer*. Jenis tabung ini berupa tabung reaksi yang hampa udara, terbuat dari kaca atau plastik. Ketika tabung dilekatkan pada jarum, darah akan mengalir masuk ke dalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai. Tabung *vacum* dibedakan jenisnya berdasarkan warna tutup dan etiketnya.



Gambar 2.4 Tabung *Vacutainer*
 Sumber: onemedhealthcare.com

2.4.1 Kode Warna Untuk Tiap Tabung *Vacutainer*

1. Tabung tutup merah

Tabung ini tanpa penambahan zat additive, darah akan menjadi beku dan serum dipisahkan dengan pemusingan. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi, serologi dan bank darah (*crossmatching test*).

2. Tabung tutup kuning

Tabung ini berisi gel separator (*serum separator tube* atau *SST*) yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Setelah pemusingan, serum akan berada di bagian atas gel dan sel darah berada di bawah gel. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi.

3. Tabung tutup hijau muda

Tabung ini berisi gel separator (*plasma separator tube* atau *PST*) dengan antikoagulan lithium heparin. Setelah pemusingan, plasma akan berada di bagian atas gel dan sel darah berada di bawah gel. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah.

4. Tabung tutup ungu atau lavender

Tabung ini berisi EDTA. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (*crossmatch*).

5. Tabung tutup biru

Tabung ini berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi misalnya PPT dan APTT.

6. Tabung tutup hijau

Tabung ini berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit dan kimia darah.

7. Tabung tutup biru gelap

Tabung ini berisi EDTA yang bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan *trace element* yaitu zink, copper, merkuri dan toksikologi.

8. Tabung tutup abu-abu terang

Tabung ini berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa.

9. Tabung tutup hitam

Tabung ini berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan laju endap darah atau LED.

10. Tabung tutup pink

Tabung ini berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi.

11. Tabung tutup putih

Tabung ini berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan molekuler atau PCR dan DNA (Kiswari, 2014).

2.5 Hipotesis

Ada perbedaan jumlah trombosit antara darah yang menggunakan antikoagulan EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer*.