

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pengertian Hematologi**

Hematologi adalah ilmu yang mempelajari tentang darah serta jaringan yang membentuk darah. Darah merupakan bagian penting dari sistem transport. Darah merupakan jaringan yang berbentuk cairan yang terdiri dari 2 bagian besar yaitu : plasma darah dan bagian korpuskuli (Sadikin, 2002).

#### **2.2 Darah**

Darah adalah jaringan cair yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Volume darah secara keseluruhan adalah satu per dua belas berat badan atau kira-kira lima liter. Sekitar 55% adalah plasma darah, sedang 45% sisanya terdiri dari sel darah.

Fungsi utama darah dalam sirkulasi adalah sebagai media transportasi, pengaturan suhu, pemeliharaan keseimbangan cairan, serta keseimbangan basa eritrosit selama hidupnya tetap berada dalam tubuh. Sel darah merah mampu mengangkut secara efektif tanpa meninggalkan fungsinya di dalam jaringan, sedang keberadaannya dalam darah, hanya melintas saja.

Darah berwarna merah, antara merah terang apabila kaya 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.

Manusia memiliki sistem peredaran darah tertutup yang berarti darah mengalir dalam pembuluh darah dan disirkulasikan oleh jantung. Darah dipompa oleh jantung menuju paru-paru untuk melepaskan sisa metabolisme berupa karbon dioksida dan menyerap oksigen melalui pembuluh arteri pulmonalis, lalu dibawa kembali ke jantung melalui vena pulmonalis. Setelah itu darah dikirimkan ke seluruh tubuh oleh saluran pembuluh darah aorta. Darah mengedarkan oksigen ke seluruh tubuh melalui saluran halus darah yang disebut pembuluh kapiler. Darah kemudian kembali ke jantung melalui pembuluh darah vena cava superior dan vena cava inferior. Darah juga mengangkut bahan-bahan sisa metabolisme, obat-obatan dan bahan kimia asing ke hati untuk diuraikan dan ke ginjal untuk dibuang sebagai air seni. (Evelyn, 2006)

Komposisi darah terdiri daripada beberapa jenis korpuskula yang membentuk 45% bagian dari darah. Bagian 55% yang lain berupa cairan kekuningan yang membentuk medium cairan darah yang disebut plasma darah. Korpuskula darah terdiri dari:

- a. Sel darah merah atau eritrosit (sekitar 99%). Eritrosit tidak mempunyai nukleus sel ataupun organela, dan tidak dianggap sebagai sel dari segi biologi. Eritrosit mengandung hemoglobin dan mengedarkan oksigen. Sel darah merah juga berperan dalam penentuan golongan darah. Orang yang kekurangan eritrosit menderita penyakit anemia. Keping-keping darah atau trombosit (0,6 - 1,0%), bertanggung jawab dalam proses pembekuan darah.

- b. Sel darah putih atau leukosit (0,2%) Leukosit bertanggung jawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda-benda yang dianggap asing dan berbahaya oleh tubuh, misal virus atau bakteri. Leukosit bersifat amuboid atau tidak memiliki bentuk yang tetap. Orang yang kelebihan leukosit menderita penyakit leukimia, sedangkan orang yang kekurangan leukosit menderita penyakit leukopenia.
- c. Plasma darah Pada dasarnya adalah larutan air yang mengandung : albumin, bahan pembeku darah, immunoglobulin (antibodi), hormon, berbagai jenis protein, berbagai jenis garam.

### **2.3 Antikoagulan EDTA**

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 jumlahleukosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, dan penetapan Laju endap darah (Gandasoebrata, 2001)

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).

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

Pemeriksaan dengan memakai darah EDTA sebaiknya dilakukan segera, namun jika terjadi penundaan, dapat disimpan dalam lemari es ( $4^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Pada umumnya darah EDTA dapat disimpan selama 24 jam pada suhu  $4^\circ\text{C}$  tanpa ada penyimpangan bermakna, kecuali untuk jumlah trombosit dan nilai hematokrit. Dosis pemakaian antikoagulan EDTA kering yaitu 1-1,5 mg/ml darah, sedangkan untuk EDTA cair yaitu 10 ul/1 ml darah (Wirawan R, Silman E. 1992).

### **2.3.1 Tabung Vacutainer**

Vacutainer adalah tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari kaca atau plastik, apabila dilekatkan pada jarum, darah akan mengalir masuk kedalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai. Tabung vacutainer yang berisi anti koagulan  $\text{K}_3\text{EDTA}$  telah direkomendasi oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) untuk pemeriksaan hematologi, karena mempunyai stabilitas yang lebih baik dari EDTA lain dan mempunyai pH mendekati pH darah (Tietz, 1996).

Warna tutup tabung vacutainer digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium

1. Tabung tutup merah, 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, berisi gel separator (serum separator tube/SST) yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi
3. Tabung tutup hijau terang, berisi gel separator (plasma separator tube/PST) dengan antikoagulan lithium heparin. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah.
4. Tabung tutup ungu atau lavender, berisi EDTA. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (crossmatch)
5. Tabung tutup biru, berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi (mis. PPT, APTT)
6. Tabung tutup hijau, berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit, kimia darah.
7. Tabung tutup biru gelap, berisi EDTA yang bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan trace element (zink, copper, mercury) dan toksikologi.
8. Tabung tutup abu-abu terang, berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa.

9. Tabung tutup hitam, berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan LED (ESR).
10. Tabung tutup pink, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi
11. Tabung tutup putih, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan molekuler/PCR dan DNA.
12. Tabung tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas, berisi media biakan, digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi - aerob, anaerob dan jamur (Riswanto, 2009).

Penggunaan vacutainer lebih menguntungkan karena tidak perlu membagi sampel darah kedalam beberapa tabung, cukup dengan sekali penusukan dapat digunakan untuk beberapa tabung secara bergantian sesuai jenis pemeriksaan yang akan dilakukan. Untuk uji biakan kuman, cara ini lebih baik untuk mencegah kontaminasi karena darah langsung mengalir ke media biakan (Arnol A, 2012).

Vacutainer EDTA digunakan untuk pengujian parameter dalam hematologi. Permukaan Tabung bagian dalam tabung dilapisi Spray Dried  $K_2EDTA$  (dipotassium ethylene diamine tetra acetic acid) atau  $K_3EDTA$  (tripotassium ethylene diamine tetra acetic acid). Tabung vacutainer  $K_3EDTA$  menunjukkan secara substansial setara dengan kinerja tabung vacutainer  $K_2EDTA$  dan tidak ada perbedaan yang signifikan secara klinis antara keduanya.

Semua garam EDTA adalah hiperosmolar, yang menyebabkan air meninggalkan sel dan menyebabkan penyusutan sel. Semakin tinggi konsentrasi EDTA, semakin besar penarikan osmotik air dari sel. Oleh karena itu harus di

pastikan bahwa tabung diisi sepenuhnya. Selain itu, pengisian tabung yang kurang, juga menyebabkan rasio darah dan bahan aditif menurun, mengakibatkan penyusutan sel, pengurangan Mean Corpuscular Volume, dan meningkatkan Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration. Pada Tabung K<sub>3</sub>EDTA mungkin sedikit lebih terpengaruh, karena konsentrasi ion kalium yang lebih tinggi (Anonim, 2012).

## **2.4 Hemoglobin**

Hemoglobin merupakan zat protein yang ditemukan dalam SDM dan sebagai pengangkut oksigen (medlineplus) yang memberi warna merah pada darah (Kee, 2007).

Hemoglobin merupakan komponen utama SDM. Fungsi utama hemoglobin adalah transport O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>. Hemoglobin terdiri dari bahan yang mengandung besi yang disebut hem (heme) dan protein globulin. Terdapat sekitar 300 molekul hemoglobin dalam setiap SDM. Setiap molekul hemoglobin memiliki 4 tempat pengikatan untuk oksigen. Hemoglobin yang mengikat oksigen disebut oksihemoglobin. Hemoglobin dalam darah dapat mengikat oksigen secara parsial atau total di keempat tempatnya. Dalam menjalankan fungsinya sebagai pengikat oksigen, 1 gram hemoglobin akan bergabung dengan 1,34 ml oksigen. Tugas akhir hemoglobin adalah menyerap karbondioksida dan ion hidrogen serta membawanya ke paru tempat zat-zat tersebut dilepaskan dari hemoglobin. Hemoglobin diproteksi oleh SDM dengan dibentuknya glutathion tereduksi (GSH) yang dihasilkan dari nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NADPH). Menurut James Isbister Kadar hemoglobin adalah salah satu pengukuran tertua dalam laboratorium kedokteran dan

tes darah yang paling sering dilakukan. Kisaran normal dari hemoglobin dipengaruhi oleh berbagai variabel dan kadar harus diinterpretasikan dalam hubungannya dengan beberapa faktor yaitu kehamilan, penduduk pada daerah dengan ketinggian yang tinggi, merokok, latihan jasmani, penyakit yang berkaitan (Anemia, polisitemia, dll).(Sylvia, 2005).

#### 2.4.1 Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin ialah ukuran pigmen respiratori kedalam butiran-butiran darah merah. Jumlah hemoglobin dalam darah normal adalah kira-kira 15 gram setiap 100 ml darah dan jumlah ini biasanya disebut “100 persen”. Batas normal nilai hemoglobin untuk seseorang sukar ditentukan karena kadar hemoglobin bervariasi diantara setiap suku bangsa.

**Tabel 2.1: Batas Kadar Hemoglobin**

<b>KelompokUmur</b>	<b>Batas Nilai Hemoglobin (gr/dl)</b>
Anak 6 bulan - 6 tahun	11,0
Anak 6 tahun - 14 tahun	12,0
Pria dewasa	13,0
Ibu hamil	11,0
Wanita dewasa	12,0

(Evelyn, 2009).

#### 2.4.2 Struktur Hemoglobin (Hb)

Pada pusat molekul terdiri dari cincin heterosiklik yang dikenal dengan porfirin yang menahan satu atom besi, atom besi ini merupakan situs/lokal ikatan oksigen.Porfirin yang mengandung besi disebut heme.Nama hemoglobin merupakan gabungan dari heme dan globin, globin sebagai istilah generik untuk protein globular.Ada beberapa protein mengandung heme dan hemoglobin adalah yang paling dikenal dan banyak dipelajari.

Pada manusia dewasa, hemoglobin berupa tetramer (mengandung 4 subunit protein), yang terdiri dari masing-masing dua subunit alfa dan beta yang terikat secara non kovalen. Subunitnya mirip secara struktural dan berukuran hampir sama. Tiap subunit memiliki berat molekul kurang lebih 16.000 Dalton, sehingga berat molekul total tetramernya menjadi 64.000 Dalton. Tiap subunit hemoglobin mengandung satu heme, sehingga secara keseluruhan hemoglobin memiliki kapasitas empat molekul oksigen.

### **2.4.3 Guna Hemoglobin (Hb)**

Hemoglobin di dalam darah membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan membawa kembali karbondioksida dari seluruh sel ke paru-paru untuk dikeluarkan dari tubuh. Mioglobin berperan sebagai reservoir oksigen : menerima, menyimpan dan melepas oksigen di dalam sel-sel otot. Sebanyak kurang lebih 80% besi tubuh berada di dalam hemoglobin (Sunita, 2001).

Menurut Depkes RI adapun guna hemoglobin antara lain :

1. Mengatur pertukaran oksigen dengan karbondioksida di dalam jaringan-jaringan tubuh.
2. Mengambil oksigen dari paru-paru kemudian dibawa ke seluruh jaringan-jaringan tubuh untuk dipakai sebagai bahan bakar.
3. Membawa karbondioksida dari jaringan-jaringan tubuh sebagai hasil metabolisme ke paru-paru untuk di buang, untuk mengetahui apakah seseorang itu kekurangan darah atau tidak, dapat diketahui dengan pengukuran kadar hemoglobin. Penurunan kadar hemoglobin dari normal berarti kekurangan darah yang disebut anemia (Widayanti, 2008).

#### **2.4.4 Manfaat Pemeriksaan Hemoglobin dalam Klinik**

Pemeriksaan hemoglobin memiliki beberapa manfaat yaitu :

1. Untuk mengevaluasi kapasitas pengangkutan oksigen.
2. Menilai struktur dan fungsi eritrosit.
3. Memberikan pemahaman mengenai penyakit sel darah merah.
4. Memperkirakan ukuran rata-rata dan kandungan hemoglobin di masing-masing eritrosit (MCH dan MCHC).
5. Mengetahui penyebab umum hipoksia jaringan (Sacher, dkk. 2004).

#### **2.4.5 Penetapan Kadar Hemoglobin**

Banyak cara-cara yang ditemukan untuk menentukan nilai hemoglobin (Hb).Sampai sekarang belum ada satu carapun yang dapat dipercaya hasilnya 100%, mudah dikerjakan dan sederhana. Beberapa cara ini adalah:

##### **1. Cara Tallquist**

Cara ini menentukan kadar Hb tidak teliti, kesalahan antara 25 - 50%. Prinsip kerja cara ini adalah dengan membandingkan darah asli dengan suatu skala warna yang bertingkat-tingkat mulai dari warna merah muda sampai warna merah tua (mulai 10% sampai 100%). Sebagai dasar diambil ialah 100% = 15,8 gram Hb per 100 ml darah.

##### **2. Cara Sahli**

Cara sahli paling banyak dipakai di Indonesia dengan kesalahan  $\pm 10\%$ . Walaupun cara ini tidak tepat 100% akan tetapi masih dianggap cukup baik untuk mengetahui apakah seseorang kekurangan Hb (darah). Prinsip pemeriksaan Hb cara sahli yaitu hemoglobin oleh asam chlorida (0,1 N) diubah menjadi acid hematin yang

warnanya sawo matang. Dengan air suling warna ini diencerkan sampai warnanya sama dengan warna standard pada hemometer. Kadar Hb dibaca pada tabung sahli (tabung pengencer). Tiap hemometer (sahli) terdiri dari alat pembanding warna, tabung pengencer, pipet darah (20 $\mu$ l), pipet pengencer darah (Dep kes RI, 1989). Kelemahan dari metode ini adalah kenyataan bahwa kolorimetri visual tidak teliti, bahwa hematin asam itu bukan merupakan larutan sejati dan bahwa alat itu tidak dapat distandardkan. Cara ini juga kurang baik karena tidak semua macam hemoglobin diubah menjadi hematin asam, misalnya karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulfhemoglobin (Gandasoebrata, 2007)

## 2. Dengan CuSO<sub>4</sub> BJ 1,053

Cara ini hanya dipakai untuk menetapkan kadar Hb dari donor yang diperlukan untuk tranfusi darah. Untuk pemeriksaan klinik cara kupersulfat tidak dapat digunakan karena tidak mendapatkan kadar Hb dengan tepat. Hasil dari metode ini adalah persen Hb. Perlu diketahui bahwa kadar Hb seorang donor cukup kira-kira 80% Hb. Tes ini dilakukan dengan meneteskan darah kapiler 1 tetes diatas permukaan larutan CuSO<sub>4</sub> Bj 1,053 dengan volume 300 – 500 ml di dalam gelas takar. Hasil cara ini adalah darah terapung, melayang atau terbenam. Darah terapung menunjukkan bahwa kadar Hb kira-kira dibawah 80%. Darah melayang menunjukkan kadar Hb kira-kira berkisar 80%. Sedangkan darah terbenam menunjukkan kadar Hb diatas 80%.

## 3. Cara Photometrik Kolorimeter

Dengan photo-elektrik kolorimeter didapatkan kadar Hb lebih teliti daripada cara visual (sahli). Kesalahan hanya berkisar  $\pm 2\%$ .

Penetapan kadar Hb dengan cara ini ada berbagai macam cara, yaitu:

a. Cara Sianmethemoglobin

Cara ini berdasarkan bahwa semua bentuk Hb (methemoglobin, karboxyhemoglobin kecuali sulfhemoglobin) diubah menjadi sianmet hemoglobin dalam larutan yang berisi kali umsianida (KCN) dan kalium ferrisianida ( $K_3Fe(CN)_6$ ).

b. Cara Oxihemoglobin

Cara ini lebih singkat dan sederhana. Kelemahan metode ini ialah tidak ada larutan standard oxyhemoglobin yang stabil sehingga photometer sukar ditera. Maka untuk menera photometer dapat dipakai nilai hematokrit. Kadar Hb Misalnya: nilai hematokrit 45% sesuai dengan kadar Hb 15 gram/100 ml darah.

c. Cara Alkali Hematin

Cara ini sebenarnya menetapkan total Hb baik dari carboxy hemoglobin, methemoglobin atau sulfhemoglobin. Cara ini kurang teliti bila dibandingkan dengan cara sianmet hemoglobin dan oxyhemoglobin.

## 2.5 Hipotesis

Tidak ada perbedaan yang signifikan kadarhemoglobin menggunakan alat Hematologi Analyzer dengan pemberian antikoagulan EDTA konvensional dan EDTA vacutainer.