

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Konsep Dasar Darah

##### 2.1.1 Pengertian Darah.

Darah merupakan gabungan dari cairan, sel-sel dan partikel yang menyerupai sel, yang mengalir dalam arteri, kapiler dan vena yang berfungsi untuk mengirim oksigen yang di perlukan oleh sel sel di seluruh tubuh dan zat-zat gizi ke jaringan dan membawa karbondioksida dan hasil limbah lainnya. Sebagian besar darah merupakan cairan (plasma), yang mengandung garam-garam terlarut dan protein. Protein utama dalam plasma adalah albumin. Protein lainnya adalah antibodi (imunoglobulin) dan protein pembekuan. Sel darah terdiri atas tiga komponen yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah) (Kusumawardani E, 2010). Darah berwarna merah, antara merah terang apabila kaya oksigen sampai merah tua apabila kekurangan oksigen. Warna merah pada darah disebabkan oleh hemoglobin, Protein pernapasan 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 keseluruh tubuh oleh saluran pembuluh darah aorta. Darah mengedarkan oksigen ke seluruh tubuh melalui seluaran 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 (Pearce, 2006)

### 2.1.1 Susunan Darah

Menurut Nikmah (2006), susunan darah, serum darah dan plasma terdiri dari:

1. Air: 91.0%.
2. Protein: 8.0% (albumin, globulin, protrombin dan fibrinogen).
3. Mineral: 0.9% (Natrium chlorida, Natrium bikarbonat, garam dari kalsium, fosfor, magnesium dan besi, dan seterusnya).
4. Sisanya diisi oleh sejumlah bahan organik, yaitu glukosa, lemak, urea, asam urat, kreatinin, kolesterol, dan asam amino.

### 2.2 Macam–Macam Sel Darah.

#### 2.2.1 Trombosit (sel pembeku darah)

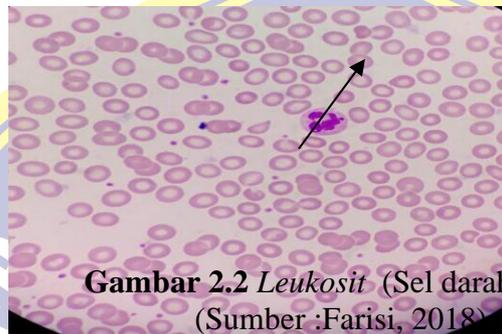
Merupakan partikel yang mempunyai sel, dengan ukuran lebih kecil dari pada sel darah merah atau sel darah putih, sebagai bagian dari mekanisme perlindungan darah untuk menghentikan pendarahan, trombosit berkumpul pada daerah yang mengalami pendarahan dan mengalami pengaktifan, setelah mengalami pengaktifan, trombosit akan melekat satu sama lain dan menggumpal untuk membentuk sumbatan yang membantu menutup pembuluh darah dan menghentikan pendarahan.



**Gambar 2.1** *Trombosit* (Sel pembeku darah)  
(Sumber :Farisi, 2018)

### 2.2.2 *Leukosit* (sel darah putih)

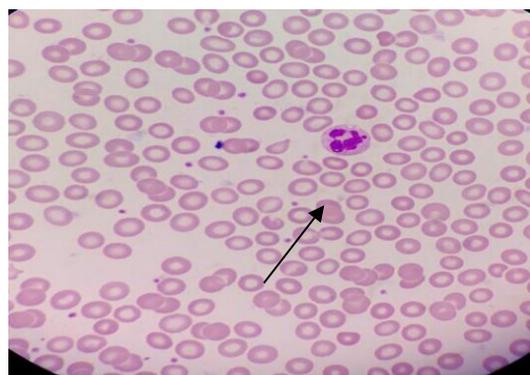
Leukosit sel berwarna bening dengan inti di dalamnya, bentuknya lebih besar dari sel darah merah, tetapi jumlahnya lebih kecil. Dalam setiap milimeter kubik darah terdapat 6.000 sampai 10.000 (rata-rata 8.000) sel darah putih. Mempunyai bermacam-macam inti sel sehingga dapat dibedakan menurut inti selnya.



**Gambar 2.2** *Leukosit* (Sel darah putih)  
(Sumber :Farisi, 2018)

### 2.2.3 *Eritrosit* (sel darah merah)

Morfologi sel darah merah terdiri dari bentuk, warna, ukuran dapat diamati pada sediaan apus dengan pewarnaan Giemsa / Wright / lainnya. Bentuk normal bikonkaf dengan diameter 6–8 mm dan berwarna kemerah-merahan. Eritrosit normal berukuran sama dengan inti limfosit kecil pada sediaan apus. Kelainan morfologi eritrosit berupa kelainan ukuran (size), kelainan bentuk (shape), kelainan warna (staining characteristics), dan benda-benda inklusi Berikut merupakan kelainan morfologi pada sel darah merah.



**Gambar 2.3. Eritrosit (Sel darah merah)**  
(Sumber :Farisi, 2018)

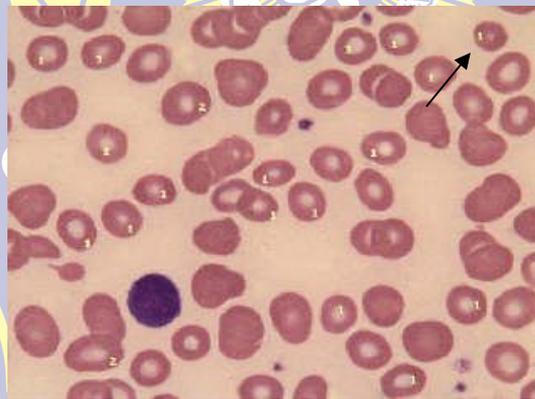
## 2.3 Kelainan-Kelainan Sel Darah Merah.

### 2.3.1 Kelainan Ukuran (*Anisositosis*)

Istilah umum yang digunakan dalam hematologi untuk menunjukkan suatu variasi dalam hal ukuran sel disebut Anisositosis. Anisositosis terdiri dari makrositosis, mikrositosis. Anisositosis disebabkan oleh berbagai hal seperti Pematangan inti yang terganggu menjadikan sel lebih besar dari bentuk normal (makrositosis) ukuran rata-rata diameter eritrosit  $>8,5 \mu\text{m}$  dan menurunnya sintesa hemoglobin yang menyebabkan sel lebih kecil dari bentuk normal ukuran rata-rata diameter eritrosit  $<7 \mu\text{m}$ . Anisositosis tampak jelas pada anemia berat.

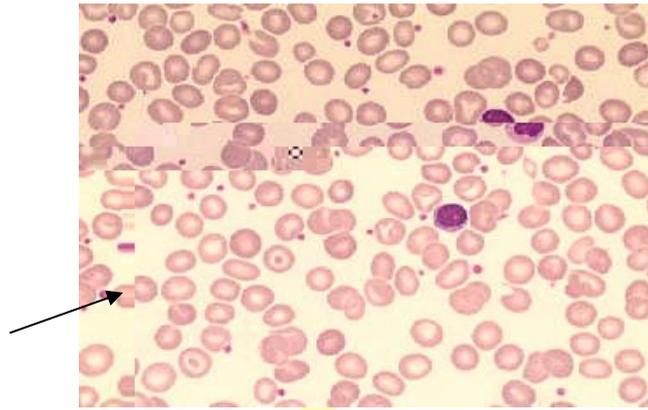
Contoh-contoh kelainan ukuran :

- 1) Mikrositosis : eritrosit lebih kecil daripada eritrosit normal, dengan ukuran  $<7 \mu\text{m}$ .



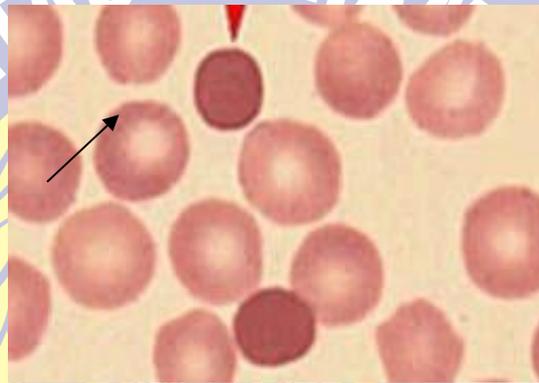
**Gambar 2.4 Mikrositosis**  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 1.) Makrositosis : eritrosit lebih besar daripada eritrosit normal, dengan ukuran  $>8 \mu\text{m}$ .



**Gambar 2.5.** Makrositosis  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 2.) *Sferosit* : eritrosit lebih kecil, lebih bulat, dan lebih pekat warnanya daripada eritrosit normal. Tidak didapat bagian yang pucat ditengah sel.



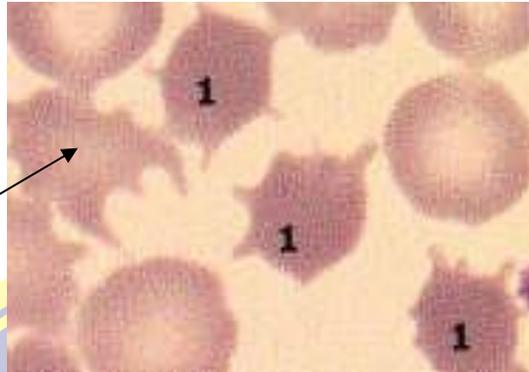
**Gambar 2.6.** *Sferosit*  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

### 2.3.2 Kelainan Bentuk (*Poikilositosis*)

Istilah umum dari hematologi yang digunakan untuk menunjukkan suatu variasi bentuk dari eritrosit disebut poikilositosis. Kelainan bentuk eritrosit bisa membantu mendiagnosa penyakit. Variasi bentuk dari poikilositosis meliputi akantosit yang menyerupai sel duri, burr sel, sel krenasi yang bisa disebabkan oleh kesalahan pemeriksaan prosedur dan kesalahan pra analitik, eliptosit atau ovalosit berbentuk seperti oval, stomatosit, leptosit, poikilositosis atau bentuk tidak rata, sickle sel, dan schistosit.

Contoh-contoh kelainan bentuk:

- 1) Akantosit : ditandai dengan adanya proyeksi halus dipermukaan eritrosit, menyerupai duri (kata Yunani : achanta : duri). Kelainan bawaan yang jarang: achanthtocytois, bisa mencapai lebih dari 50%.



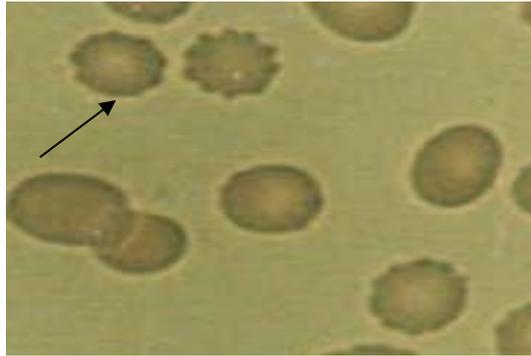
**Gambar 2.7. Akantosit**  
(Sumber : Koko Putra Pamungkas, 2014)

- 2) Burr sel : menunjukkan proyeksi-proyeksi atau tonjolan-tonjolan pendek misalnya pada uremia dan karsinomatosis. Bedakan dengan akantosit dan sel krenasi (artefak).



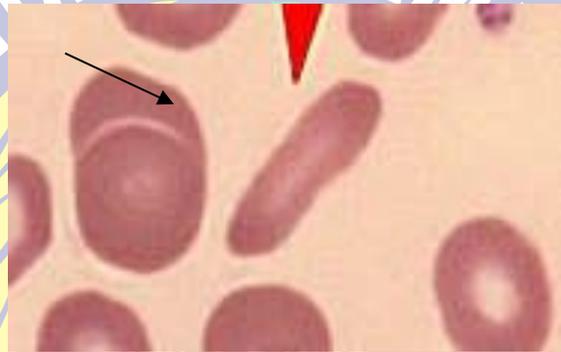
**Gambar 2.8. Burr sel**  
(Sumber : Koko Putra Pamungkas, 2014)

- 3) Sel Krenasi : merupakan kelainan bentuk dari eritrosit (poikilositosis) yang berbentuk seperti artefak. Krenasi berawal dari sel eritrosit yang mengalami pengerutan akibat cairan yang berada di dalam sel keluar melalui membran. Morfologi krenasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, misalnya terjadinya kesalahan pada prosedur pemeriksaan pra-analitik (penambahan antikoagulan, jenis antikoagulan).



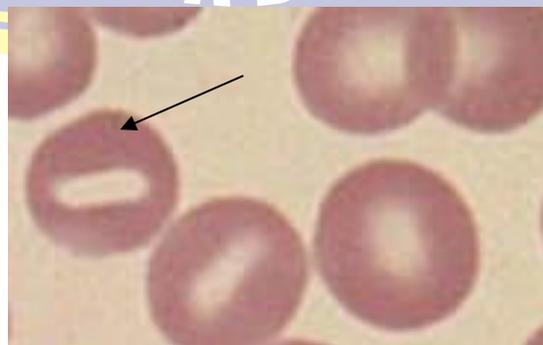
**Gambar 2.9.** Sel krenasi  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 4) *Eliptosit* : bentuk seperti elip atau oval dengan ukuran normal. Juga disebut ovalosit. Bila ada dalam jumlah yang besar mungkin disebabkan karena anomali bawaan, ovalositosis.



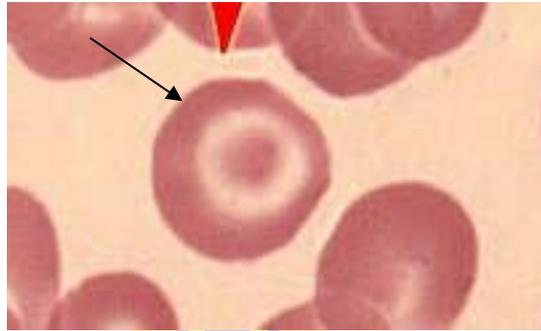
**Gambar 2.10.** Eliptosit  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 5) *Stomatosit* : bentuk seperti topi Meksiko. Pusatnya tidak hipokrom tetapi berwarna merah.



**Gambar 2.11.** *Stomatosit*  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 6) *Leptosit* : disebut juga sel target karena dibagian tengah eritrosit yang pucat terdapat lingkaran berwarna merah dipusat eritrosit yang menyerupai topi.



**Gambar 2.12.** *Leptosit*  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 7) *Poikilositosis* : bentuk tidak rata. Tergolong disini : sel burr, sel buah jambu, dan sebagainya.
- 8) *Sickle cell* : bentuk sabit. Berwarna lebih padat daripada eritrosit biasa. Didapat pada anemia hemolitik sel sabit.



**Gambar 2.13.** *Sickle cell*  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

- 9) *Schistosit* : hasil fragmentasi eritrosit, bisa berbentuk segitiga, elips dengan indentasi atau sebagai sel dengan permukaan tidak rata. Biasanya didapat pada anemia hemolitik

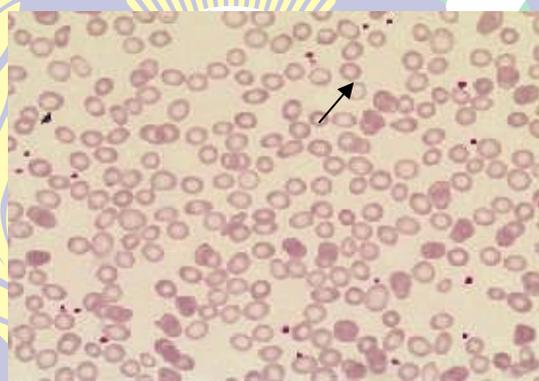
### 2.3.3 Kelainan warna

Eritrosit normal memiliki warna merah dengan bagian pusat berwarna lebih terang atau pucat ketika di warnai dengan pewarnaan konveksional. Warna merah menandakan banyaknya kadar hemoglobin didalam sel eritrosit. Eritrosit didalam tubuh bisa mengalami perubahan bentuk dan perubahan ukuran sesuai dengan kondisi didalam tubuh yang

dipengaruhi oleh penyakit dan kondisi organ-organ didalamnya. Oleh sebab itu kelainan warna pada eritrosit dapat membantu menegakkan diagnosa suatu penyakit. Kelainan warna juga bisa terjadi pada waktu pengecatan sediaan hapusan darah yang bisa dipengaruhi oleh cat giemsa karena cat giemsa yang diencerkan harus langsung digunakan jika disimpan dengan tidak baik maka akan mempengaruhi hasil pengamatan. Penurunan sintesa hemoglobin bisa menyebabkan hipokrom serta peningkatan sintesa hemoglobin bisa menyebabkan hiperkrom. Hemoglobin sangat berpengaruh terhadap warna karena yang memberi warna pada sel darah merah adalah hemoglobin dengan bantuan zat besi didalam tubuh

Contoh contoh kelainan warna :

1. Hipokrom : warna pucat pada bagian tengah keadaan eritrosit dengan konsentrasi hemoglobin kurang dari normal, eritrosit lebih besar dari biasanya.



**Gambar 2.14.** Hipokrom  
(Sumber :Pamungkas, 2014)

2. Polikromasia : Mengikat zat warna asam sehingga disamping warna merah ada kebiru-biruan. Pematangan sitoplasma lebih lambat dibandingkan pematangan inti.
3. Hiperkrom : Keadaan eritrosit karena penebalan membran sel tidak karena kejenuhan hemoglobin.

## 2.4 Pemeriksaan Laboratorium

### 2.4.1 Sediaan Apusan Darah Tepi

Menurut Afriansyah (2016), tujuan pemeriksaan sediaan hapusan darah tepi antara lain menilai berbagai unsur sel darah tepi seperti eritrosit, leukosit dan trombosit dan mencari adanya parasit seperti malaria, tripanosoma, microfilaria. Sediaan hapusan darah tepi yang dibuat dan diwarnai dengan baik merupakan syarat mutlak untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang baik. Dasar dari pemeriksaan Romanowsky adalah penggunaan dua zat warna yang berada yaitu Azur B (Trimetiltionin) yang bersifat basa dan eosin y (tetrabromofluorescein) yang bersifat asam. Azur B akan mewarnai komponen sel yang bersifat asam seperti kromatin, DNA dan RNA. Sedangkan eosin yang akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa seperti granula eosinofil dan hemoglobin. Ikatan eosin pada Azur B yang beragregasi dapat menimbulkan warna ungu, dan keadaan ini dikenal sebagai efek Romanowsky giemsa. Efek ini terjadi sangat nyata pada DNA tetapi tidak pada RNA sehingga menimbulkan kontras antara inti yang berwarna ungu dengan sitoplasma yang berwarna biru.

Sediaan hapusan darah yang baik harus memenuhi syarat yaitu lebar dan panjangnya tidak memenuhi seluruh kaca objek,ekornya tidak terbentuk seperti bendera robek,secara granula penebalannya nampak berangsur-angsur menipis dari kepala kearah ekor hapusan,tidak berlemak atau berlubang-lubang,tidak terputus-putus karena gesekan yang ragu-ragu,tidak terlalu tebal dan pewarnaan yang baik.

#### **2.4.2 Apusan Darah Tepi Yang Baik Secara Visual**

Menurut Afriansyah (2016), hapusan darah yang baik secara visual, ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi untuk membuat hapusan darah tepi yang baik secara visual, diantaranya yaitu:

1. Ketebalan gradual, paling tebal di daerah kepala, makin menipis ke arah ekor (pada saat proses pengeringan dimulai dari bagian ekor menuju ke kepala).
2. Hapusan tidak melampaui atau menyentuh pinggir kaca objek.

3. Tidak bergelombang atau tidak terputus.
4. Tidak berlubang-lubang atau berlemak.
5. Bagian ekornya tidak membentuk “bendera robek”.
6. Panjang hapusan kira-kira  $\frac{2}{3}$  panjang kaca objek.
7. Tidak membentuk garis tajam pada ujungnya

## 2.5 Pewarnaan Sediaan Apusan Darah

Macam-macam pewarnaan menurut Romanowsky ada 4 yaitu Pewarnaan Wright, Pewarnaan Liesman, Pewarnaan May grunwald, dan Pewarnaan Giemsa (Koko Putra Pamungkas, 2014).

Kriteria pembuatan dan pewarnaan sediaan darah yang baik, yaitu :

- a. Inti leukosit berwarna ungu (tanda umum).
- b. Trombosit berwarna ungu muda dan merah muda.
- c. Sisa – sisa eritrosit muda berwarna biru atau biru muda.
- d. Sitoplasma limfosit kelihatan biru pucat.
- e. Sitoplasma monosit berwarna biru.
- f. Granula eosinofil berwarna *orange*.
- g. Latar belakang sediaan bersih dan kelihatan biru pucat.

### 2.5.1 Pewarnaan Wright

Pewarnaan Wright adalah zat warna yang digunakan dalam metode Romanowsky, merupakan campuran eosin Y, Azure B, metilen blue, dan metil alkohol dalam konsentrasi tinggi. Sediaan apus yang telah dikeringkan di udara, tidak perlu mengadakan fiksasi tersendiri, karena telah mengandung metil alkohol dalam konsentrasi tinggi dan di cat Wright langsung ditambah penyanggah pH 6,4 sama banyak dan membiarkan selama 15-2- menit. Preparat apus

yang telah selesai dibuat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (R. Gandasoebarta, 2007).

Berikut ini cara pembuatan reagen Wright stain menurut Modul Praktikum (2017), yaitu:

**Tabel 2.1** Komposisi Pembuatan Reagen Wright

1. Serbuk cat Wright	10 gr
2. Glycerin	90 ml
3. Methanol	2910 ml

(Sumber: Modul Praktikum Hematologi, 2017)

Campuran dilarutkan sampai rata, simpan dalam botol coklat bertutup rapat. Biarkan selama 30 hari sebelum digunakan, agar tercampur secara menyeluruh. Untuk mempercepat dapat pula diinkubasi pada suhu 37°C, saring lebih dahulu sebelum digunakan.

### 2.5.2 Larutan Penyangga Buffer

Larutan penyangga buffer adalah suatu larutan yang dapat menahan perubahan pH yang besar ketika ion-ion hydrogen atau hidroksida ditambahkan atau ketika larutan itu diencerkan disebut larutan penyangga.

Berikut ini cara pembuatan reagen Wright stain menurut Modul Praktikum (2017), yaitu:

**Tabel 2.2** Komposisi Pembuatan Reagen Buffer Fosfat pH 6,4

1. $\text{KH}_2\text{PO}_4$	6,63 gr
2. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	3,20 gr
3. Aquades add	1 liter

(Sumber: Modul Praktikum Hematologi, 2017)

Reagen dapat dipakai air suling biasa yang pH nya disesuaikan dengan menambah larutan K karbonat 1% diteteskan bergantian, menggunakan indikator Bromthymolblue 0,04% sampai mencapai warna hijau. Buffer berfungsi untuk ionisasi komponen sel yang bersifat basa membentuk warna jingga hingga merah muda, dan methylene blue bersifat basa memberi warna komponen sel yang bersifat asam membentuk warna biru sedangkan komponen sel yang bersifat netral akan mengikat warna biru dan merah sama banyak.

## 2. 6 Pengeringan Apusan Darah Tepi

Faktor pengeringan seperti suhu dan kelembaban dapat mempengaruhi suatu pemeriksaan yang berhubungan dengan cairan tubuh salah satunya sediaan hapusan darah tepi (Kiswari R, 2014). Faktor suhu dan kelembaban dapat menyebabkan lambatnya proses pengeringan pada sediaan apus darah yang dapat menyebabkan perubahan morfologi pada eritrosit (Gandasoebrata R, 2007). Pengeringan preparat berfungsi agar darah pada kaca obyek kering. Pengeringan yang optimal akan menyebabkan darah melekat kuat sehingga yakin bahwa sel-sel didalamnya strukturnya tetap normal (Koko Putro Pamungkas, 2014). Suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas sel darah terutama dalam mengatur aktivitas biologis sel darah (Ramadhani, 2011).

Pengeringan menggunakan suhu tinggi dapat menyebabkan perubahan pada morfologi sel didalamnya. Suhu Api Bunsen merupakan suhu yang cenderung panas, kondisi lingkungan yang panas dapat menyebabkan darah menjadi hemolisis. Hemolisis yaitu pecahnya membran sel eritrosit yang disebabkan oleh pemanasan sehingga menyebabkan kelainan morfologi. Pengeringan menggunakan suhu tinggi dapat menyebabkan sel darah merah menjadi rusak, yaitu pecahnya membran sel eritrosit yang disebabkan oleh pemanasan, apabila membran sel eritrosit pecah maka cairan yang terdapat didalam eritrosit akan keluar sel sehingga sel mengalami krenasi yang menyebabkan sel berkeriput karena kekurangan air (Afriansyah, 2016).

Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan perubahan yang jelas terhadap morfologi eritrosit seperti kehadiran echinocytes dan spherocytes. Kondisi penyimpanan darah yang berbeda dapat mempengaruhi secara mikroskopis sel darah seperti kehadiran sel krenasi (T. Wagner et. al., 2014).

## 2.7 Teknik Pembacaan Preparat Apusan Darah

Faktor penilaian sediaan apus yang benar diperlukan preparat sediaan hapusan yang memenuhi kriteria yang baik antara lain lebar, panjang tidak memenuhi seluruh kaca obyek, ketebalannya gradual, tidak berlubang, tidak terputus-putus dan memiliki pengecatan yang baik. Preparat darah apus yang baik memiliki tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor. Bagian badan terdiri dari enam zona sampai ekor. Pembacaan preparat apusan darah dapat dilakukan pada bagian atas dan bawah pada zona IV sampai VI yang dekat dengan bagian ekor. Teknik pembacaan merupakan salah satu faktor penentu dalam menilai keberhasilan penilaian sediaan apus darah ( Santosa B, 2010).

## 2.8 Hipotesis

Ada perbedaan berbagai metode pengeringan preparat sebelum pengecatan terhadap morfologi sel darah merah (*Erythrocyte*).

