BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Darah

2.1.1. Definisi Darah

Darah merupakan komponen yang terdiri dari komponen cair dan padat. Komponen cair disebut plasma dan yang padat disebut sel darah. Beberapa unsur sel darah anatara lain sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Volume darah secara keseluruhan rata – ratanya adalah 5 liter. Sekitar 55% nya adalah cairan, sedangkan 45% terdiri atas sel darah, angka ini dinyatakan dalam nilai hematokrit atau volume sel darah yang dipadatkan berkisar 40% sampai 47% (Pearce, 2013).

Setiap orang rata – rata mempunyai kira – kira 70 ml darah setiap kilogram berat badan, atau kira – kira 3,5 liter untuk orang dengan berat badan 50 kilogram. Sebanyak 50 – 60 % darah terdiri atas cairan, sisanya berupa sel – sel darah. Komponen cairan darah disebut plasma, yang mengandung 90% air, dan 10% sisanya adalah bahan – bahan yang terlarut, misalnya ion – ion, glukosa, asam amino, hormon, dan berbagai macam protein. Serum pada dasarnya sama dengan plasma, tetapi tidak mengandung fibrinogen (yang merupakan faktor koagulasi atau pembekuan darah). Sel – sel darah terdiri dari eritosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit (platelet) (Kiswari, 2014).

2.1.2. Fungsi Darah

Fungsi darah secara umum menurut D'Hiru (2013), adalah sebagai berikut :

1. Mengangkut sari – sari makanan dari usus ke jaringan tubuh. Darah bekerja sebagai sistem pengangkutan (sirkulasi, distribusi dan transportasi) dari tubuh dan mengantarkan semua bahan kimia (mineral, vitamin, hormon, enzim dan lain – lain), oksigen, dan zat makanan, nutrisi atau gizi yang dibutuhkan sel dan jaringan untuk melakukan aktivitas fisiologis serta membuang karbondioksida serta hasil pembuangan sisa metabolisme dan lainnya ke luar tubuh.
2. Sel darah merah (eritrosit) mengantarkan oksigen (O_2) dari paru – paru keseluruh jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida (CO_2) dari jaringan tubuh menuju ke paru – paru.
3. Sel darah putih (leukosit) menyediakan banyak tipe sebagai pelindung, misalnya beberapa tipe yang fagositik untuk melindungi tubuh terhadap seragan kuman dengan cara memangsa, melawan infeksi dengan antibodi.
4. Pengantar energi panas dari tempat aktif ke tempat yang tidak aktif untuk menjaga suhu tubuh atau sebagai respon pengaktifan sistem imunitas.
5. Mengedarkan air keseluruh tubuh dan menjaga stabilitasnya.
6. Mengedarkan hormon dari kelenjar endokrin, enzim dan zat aktif ke seluruh tubuh.
7. Trombosit berperan dalam pembekuan darah, melindungi dari pendarahan masif yang diakibatkan luka atau trauma.

2.1.3. Jenis – jenis Sel Darah

Jenis sel darah menurut Asih (2017) :

1. Sel Darah Merah (Eritrosit)

   Sel darah merah merupakan sel yang berbentuk cakram bikonkaf memiliki diameter 7,5 mikron, tebal bagian tepi 2 mikron, dan bagian tengahnya 1 mikron, tersusun oleh membran yang sangat tipis. Sel eritrosit berumur hingga 120 hari.

2. Sel Darah Putih (Leukosit)

   Sel darah putih berperan sebagai sistem imunitas di dalam tubuh. Leukosit merupakan unit yang aktif dalam sistem pertahanan tubuh. Sistem pertahanan ini dibentuk di dalam sumsum tulang (granulosit, monosit, dan limfosit) dan sebagian berada di dalam jaringan limfe (limfosit dan sel plasma), tetapi setelah sel ini dibentuk sel akan diangkut oleh darah ke seluruh tubuh. Fungsi utama limfosit dan sel – sel plasma adalah berhubungan dengan sistem kekebalan tubuh. Jumlah sel leukosit sekitar 5.000 – 10.000 sel/mm^3.

3. Keping Darah (Trombosit)

   Trombosit dalam darah berfungsi sebagai faktor pembekuan darah dan hemostasis (penghentian pendarahan). Trombosit atau keping darah adalah partikel terkecil dalam pembuluh darah, yang terbentuk di dalam sum – sum tulang. Trombosit mempunyai karakteristik seperti sel pada umumnya walaupun tidak mempunyai inti dan tidak dapat melakukan reproduksi, tetapi di dalam sitoplasma trombosit berperan sangat aktif. Membran sel

trombosit dilindungi oleh glikoprotein untuk mencegah perlekatan endotel normal, tetapi memudahkan dengan perlekatan yang rusak.

Jumlah sel trombosit normal sekitar 150.000 – 300.000 per ml darah. Sel trombosit mampu hidup sekitar 1 – 2 minggu. Masa hidup trombosit sekitar 7,5 hari. Hitung trombosit normal adalah 250 x 10^{9} / Liter (batas 150 – 400 x 10^{9}/ L).

2.2. Tinjauan Eritrosit

2.2.1. Definisi Eritrosit

Eritrosit merupakan sel yang berjumlah paling banyak dibanding sel – sel darah lainnya. Dalam satu milimeter darah terdapat kira – kira 4 – 5 juta eritrosit, itu sebabnya darah berwarna merah.

Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen (O_2) 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 di dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen.

Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 8 – 9 µ. Bentuk bikonkaf tersebut menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil dengan lebih baik. Melalui mikroskop, eritrosit tampak bulat, berwarna merah, dan bagian tengahnya tampak lebih pucat, disebut *central pallour* yang diameternya kira – kira sepertinya dari keseluruhan diameter eritrosit (Kiswari, 2014).

2.2.2. Tahap Pembentukan Eritrosit

Tahap pembentukan eritrosit terdiri dari enam tahap, yaitu:

1. Rubiblast (Pronormoblast)

   Rubriblast atau pronormoblast memiliki diameter keseluruhan 12 – 19 µm. Perbandingan antara inti : sitoplasma (N : C) adalah 4 : 1. Inti mungkin berisi 2 anak inti atau tidak ada, biasanya lebih gelap dan memiliki pola kromatin yang jelas. Sitoplasma berwarna biru khas (basofilik), warna biru menunjukkan aktivitas RNA yang dibutuhkan untuk menghasilkan protein dalam sintesis hemoglobin.

2. Prorubrisit (Normoblast Basofilik)

   Tahap kedua, prorubrisit atau normoblast basofilik, memiliki diameter sel keseluruhan 12 – 17 mm dan hanya sedikit lebih kecil dari rubiblast. Perbandingan N : C tetap tinggi (4 : 1), namun tahap ini menunjukkan meningkatnya bukti kematangan morfologi. Kromatin inti menjadi lebih padat. Anak inti biasanya kurang jelas. Sitoplasma semakin basofilik dengan pewarnaan Wright. Adanya warna merah muda menunjukkan bukti sel ini mulai membentuk hemoglobin.

3. Rubrisit (Normoblast Polikromatik)

   Hemoglobin terdekteksi untuk pertama kali dalam tahap rubrisit atau normoblast polikromatik. Pada tahap ini, ukuran sel secara keseluruhan menurun menjadi 11 – 15 mm, lebih kecil dari tahap prorubrisit. Pematangan juga ditunjukkan oleh menurunnya perbandingan N : C menjadi 1 : 1. Kromatin terus menjadi semakin padat. Sitoplasma sel pada

tahap ini menunjukkan jumlah yang bervariasi dari warna merah muda bercampur biru.

4. Metarubrisit (Normoblast Ortokromik)

   Rubrisit berkembang menjadi metarubrisik atau normoblast ortokromik. Sel secara keseluruhan menjadi lebih kecil (8 – 12 mm). Pola kromatin digambarkan sebagai piknotik (padat atau kompak). Pada periode selanjutnya dari tahap ini, inti akan mengalami dekstruksi sel. Sitoplasma metarubrisit berwarna merah muda (asidofilik). Warna ini menunjukkan adanya hemoglobin dalam jumlah lebih banyak.

5. Retikulosit

   Tahap retikulosit adalah tahap pematangan berikutnya. Bagian dari tahap ini terjadi di sumsum tulang, dan bagian akhir berlangsung di dalam sirkulasi darah. Sel ini menunjukkan penampilan karakteristik retikular yang disebabkan oleh sisa RNA dengan pewarnaan supravital, misalnya *new methylen blue*. Dengan pewarnaan *wright*, retikulosit muda dengan jumlah memiliki sisa RNA yang tinggi akan tampak berwarna biru, yang disebut sebagai polikromatofilia. Diameter retikulosit berkisar 7 – 10 mm. Sel ini tidak berinti.

6. Eritrosit Dewasa

   Setelah tahap retikulosit, terbentuklah eritrosit matang. Sel ini memiliki diameter rata – rata 6 – 8 mm. Unsur eritrosit dapat ditentukan dengan menggunakan radioaktif kromium (51Cr). Umur eritrosit yang memendek terjadi pada anemia hemolitik (Kiswari, 2014).

2.1 Tabel Nama Sel dan Ciri – ciri Morfologi Sel Eritrosit

Jenis Sel	Ciri Morfologi
Rubriblast (Pronormoblast)	Ukuran = 12-19 µm Inti : Sitoplasma = 4 : 1 Inti = Bulat, besar, Kromatin halus, ada atau tidak ada anak inti Sitoplasma = Berwarna biru, tidak ada granula
Prorubrisit (Normoblast Basofilik)	Ukuran = 12-17 µm Inti : Sitoplasma = 4 : 1 Inti = Kromatin lebih padat, tidak ada anak inti Sitoplasma = Berwarna biru
Rubrisit (Normoblast Polikromatik)	Ukuran = 11-15 µm Inti : Sitoplasma = 1 : 1 Inti = Kromatin makin padat Sitoplasma = warna merah muda
Metarubrisit (Normoblast Ortokromik)	Ukuran = 8-12 µm Inti = Kromatin padat Sitoplasma = Berwarna merah muda kemerahan
Retikulosit	Ukuran = 7-10 µm Inti = Tidak ada Sitoplasma = Retikulum tersebar, Berwarna merah muda kemerahan
Eritrosit	Ukuran = 6-8 µm

Sumber (Kiswari, 2014)

2.2.3. Penurunan dan Peningkatan Jumlah Eritrosit

1. Penuruan Jumlah Eritrosit

   Penurunan Jumlah Eritrosit dapat dijumpai pada anemia, peningkatan hemolisis, kehilangan darah (pendarahan), trauma, leukimia, infeksi kronis, myeloma multiple, cairan per intra vena berlebih, gagal ginjal kronis,

kehamilan, dehidrasi berlebihan, defisiensi vitamin, melnutrisi, infeksi parasit, penyakit sistem endokin, intoksikasi (Riswanto, 2013).

2. Peningkatan Jumlah Eritrosit

Peningkatan eritrosit dapat terjadi dari kondisi yang tidak berhubungan dengan meningkatnya produksi eritropoietin. Kondisi ini termasuk polisitemia relatif. Polisitemia relatif terjadi saat peningkatan hematokrit yang disebabkan oleh menurunnya volume plasma, dimana jumlah eritrosit total tidak bertambah. Selain itu, kehilangan cairan tubuh dan volume plasma karena kondisi dehidrasi, seperti diare atau luka bakar, dapat meningkatkan hematokrit (Kiswari, 2014).

2.2.4. Morfologi Abnormal Eritrosit

2.2.4.1. Variasi Ukuran Eritrosit

Istilah umum yang digunakan dalam bidang hematologi untuk menunjukkan suatu variasi dalam hal ukuran sel disebut anisositosis. Eritrosit normal memiliki diameter rata – rata 7,2 mm dengan variasi 6,8 – 7,5 mm. Batas ukuran ekstrem umumnya 6,2 – 8,2 mm. Ukuran eritrosit normal disebut normositik. Eritrosit dapat menjadi lebih besar dibandingkan normal (makrositik) atau lebih kecil (mikrositik) berdiameter lebih kecil dari 6,2 µ.

Makrositosis adalah hasil dari cacat pematangan inti sel pada eritropiesis, terkait dengan defisiensi vitamin B_{12} atau folat, yaitu gangguan pembelahan mitosis di sumsum tulang. Karena cacat ini, sel – sel eritrosit matang yang beredar dalam sirkulasi darah berukuran lebih besar.

Mikrositosis adalah ukuran eritrosit yang lebih kecil dari normal dikaitkan dengan penurunan sintesis hemoglobin. Penurunan hemoglobin dapat disebabkan

oleh defisiensi besi, gangguan sintesis globulin, atau kelainan mitokondria yang mempengaruhi sintesis heme pada molekul hemoglobin. Gangguan yang dapat menyebabkan mikrositosis meliputi sindrom malabsorpsi, anemia defisiensi besi, dan varian jenis hemoglobin, yaitu pada hemoglobinopati (Kiswari, 2014).

2.2.4.2. Variasi Bentuk Eritrosit

Poikilositosis merupakan istilah umum untuk eritrosit dewasa yang memiliki variasi bentuk selain bentuk normal. Poikilositosis dapat bervariasi berbagai bentuk, sering kali menyerupai benda – benda seperti telur, pensil dan air mata. Deviasi bentuk eritrosit merupakan suatu perubahan kimia atau fisik baik pada membran sel ataupun sitoplasma. Beberapa variasi bentuk eritrosit antara lain:

1. Akantosit (Acanthocyte)

   Memiliki beberapa bentuk seperti duri yang tidak teratur yang berada di sekitar membran sel dan dapat bervariasi dalam ukuran. Akantosit memiliki spekula, terdapat pada abetalipoproteinemia dan merupakan penyakit langka yang bersifat menurun (herediter). Akantosit juga ditemukan pada sirosis hati yang terkait anemia hemolitik, setelah pemberian heparin, hemangioma hati, hepatitis neonatal, dan pascaplenoktomi.

2. Sel Blister

   Sel ini adalah eritrosit yang mengandung satu atau lebih vakuola yang menyerupai lecet pada kulit. Vakuola dapat pecah, maka akan terdistori menjadi sel keratosit, sel fragmen, dan skistosit. Perubahan sel ini ditemukan jika ada kerusakan pada membran (misalnya luka bakar parah). Sel blister adalah hasil dari trauma dalam sirkulasi drah. Secara klinis,

jumlahnya meningkat dan dapat dilihat sebagai hasil dari emboli paru, pada anemia sel sabit, dan anemia hemolitik mikroangiopati.

3. Sel Burr

   Memiliki satu atau lebih duri pada membran sel. Sel – sel ini sering memanjang tidak teratur. Sel burr kurang bulat dibandingkan dengan sel akantosit. Secara klinik sel burr miningkat dalam berbagai jenis anemia, perdarahan ulkus lambung, karsinoma lambung, tukak lambung, insulfisiensi fungsi ginjal, defisiensi piruvat kinase, dan uremia.

4. Ekinosit (Echinocyte)

   Sel ini disebut juga *crenated erythrocyte*, memiliki bentuk bergerigi pendek atau seperti duri berderet di seluruh membran sel. Krenasi dapat terjadi sebagai akibat dari hilangnya cairan intrakorpuskular. Tidak ada penyakit terkait, tetapi hal ini akibat dari distorsi sel karena ketidak seimbangan osmotik.

5. Eliptosit (Ellipyocyte)

   Sel ini memiliki bentuk memanjang seperti batang, cerutu, atau sosis. Eliptosit merupakan cacar membran. Gangguan klinis yang terkait termasuk eliptositosis herediter, anemia terkait dengan keganasan, penyakit hemoglobin C (HbC), anemia hemolitik, anemia defisiensi besi (Fe), anemia pernisiosa, anemia sel sabit, dan talasemia.

6. Sel Helm (Schizocyte)

   Sel ini memiliki bentuk seperti pecahan eritrosit yang menyerupai bentuk helm. Terbentuk sebagai akibat dari proses fragmentasi. Fragmentasi sel terbentuk di limfa dan gumpalan fibrin intravaskuler.

7. Keratosit (Keratocyte)

   Memiliki bentuk menyerupai dua tanduk, hasil dari vakuola yang pecah. Sel – sel ini terlihat pada kondisi seperti koagulasi intravaskular diseminata (*diseminated intravascular coagulation*).

8. Knizosit (Knizocyte)

   Memiliki bentuk menyerupai botol. Kelainan ini dikaitkan dengan anemia hemolitik, termasuk sferositosis herediter.

9. Leptosit (Leptocyte)

   Menyerupai sel sasaran (target sel) tetapi bagian dalam dan bagian tengahnya tidak sepenuhnya terlepas dari luar membran. Secara klinis terkait dengan gangguan hai, anemia defisiensi besi, dan talasemia.

10. Makrosit Oval (Oval Macrocyte)

    Disebut juga megalocyte, memiliki bentuk oval atau seperti telur. Meskipun sel ini sama dengan eliptosit, namun megalosit adalah makrositik dan memiliki bentuk lebih bulat. Sebaliknya, eliptosit cenderung memiliki ukuran normal. Kelainan ini terlihat pada defisiensi vitamin B_{12} dan folat.

11. Piknosit (Pyknocyte)

    Merupakan eritrosit yang mirip dengan sel duri. Sel ini terlihat pada anemia hemolitik akut yang parah, defisiensi glukosa-6-fosfatdehidrogenasi (G6PD), dan defisiensi lipoprotein yang bersifat herediter.

2.2.4.3. Variasi Warna Eritrosit

Pada pewarnaan konvensional eritrosit normal berwarna merah dan bagian tengahnya berwarna pucat atau lebih terang. Terbentuknya warna merah terbentuk dari banyaknya hemoglobin dalam sel. Sedangkan warna pucat pada tengah sel

eritrosit normal memiliki diameter tidak lebih dari sepertiga diameter keseluruhan sel eritrosit.

Istilah variasi warna yang digunakan pada eritrosit normal yaitu normokromik. Pada kondisi tertentu sel eritrosit memiliki penampilan bagian tengah sel berwarna pucat melebihi sepertiga maupun pucat secara keseluruhaan dari diameter sel, hal ini lebih disebut juga hipokromik. Pada Hapusan Darat Tepi (HDT) hipokromia terjadi akibat cadangan besi (Fe) tidak mencukupi sehingga terjadinya penurunan sintes hemoglobin yang menyebabkan sel eritrosit nampak pucat pada tengah sel melebihi sepertiga bagian (Kiswari, 2014).

2.3. Tinjauan Indeks Eritrosit

Indeks Eritrosit sering disebut juga dengan istiah *Mean Corpuscular Values* merupakan suatu nilai rata – rata ukuran eritrosit dan banyaknya hemoglobin per eritrosit. Pemeriksaan indeks eritrosit dapat digunakan sebagai pemeriksaan penyaring untuk mendiagnosis suatu penyakit anemia (Gandasoebrata, 2011).

2.3.1. *Mean Corpuscular Values* (MCV)

Mean Corpuscular Value (MCV) atau Volume Eritrosit Rata – rata (VER) adalah volume rata – rata sebuah eritrosit yang dinyatakan dalam satuan femtoliter (fl). Dapat dihitung dengan rumus :

$$\textbf{MCV} = \frac{\text{Nilai Hematokrit (vol\%)}}{\text{Jumlah Eritrosit (juta/µl)}} \times 10$$

Nilai normal *Mean Corpuscular Values* (MCV) sekitar 82 – 92 femtoliter (fl). Nilai MCV meningkat dapat ditemukan pada kondisi anemia aplastik, anemia

hemolitik, anemia penyakit hati kronik, efek obat vitamin B12, hipotridisme dan anti metabolik. Sedangkan penurunan nilai MCV dapat ditemukan pada kondisi anemia mikrositik, anemia defisiensi besi (Fe), arthritis rheumatoid, thalasemia, keracunan timah dan radiasi (Gandasoebrata, 2011).

2.3.2. *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH)

Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) atau Hemoglobin Eritrosit Rata – rata (HER) adalah banyaknya hemoglobin per eritrosit yang dinyatakan dalam satuan pikogram (pg). Dapat dihitung dengan rumus :

$$\textbf{MCH} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin (gr/dl)}}{\text{Jumlah Eritrosit (juta/µl)}} \times 10$$

Nilai normal *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) sekitar 27 – 31 pikogram (pg). Peningkatan MCH dapat ditemukan pada kondisi anemia defisiensi besi (Fe). Sedangkan penurunan nilai MCH dapat ditemukan pada kondisi anemia mikrositik, dan anemia hipokromik (Gandasoebrata, 2011).

2.3.3. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentrate* (MCHC)

Mean Corpuscular Hemoglobin Concentrate (MCHC) atau Konsentrasi Hemoglobin Eritrosit Rata – rata (KHER) adalah kadar hemoglobin yang didapat per eritrosit dan dinyatakan dalam satuan persen (%). Dapat dihitung dengan rumus:

$$\textbf{MCHC} = \frac{\text{Nilai Hemoglobin (gr/dl)}}{\text{Nilai Hematokrit (vol \%)}} \times 100$$

Nilai normal *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentrate* (MCHC) 32 – 37 persen (%). Peningkatan nilai MCHC dapat ditemukan pada kondisi anemia defisiensi besi (Fe). Sedangkan penurunan nilai MCHC dapat ditemukan pada kondisi anemia hipokromik, dan anemia mikrositik (Gandasoebrata, 2011).

2.4. Tinjauan Antikoagulan

2.4.1. Definisi Antikoagulan

Antikoagulan merupakan suatu zat aditif yang ditambahkan ke dalam darah dengan tujuan mencegah atau menghambat proses pembekuan darah (hemostasis) dan menghambat pembentukan trombin dari protombin. Dengan pemberian antikoagulan maka didapat spesimen darah utuh (*whole blood*) yang diperoleh dari proses sentrifugasi. Penggunaan antikoagulan berdasarkan kebutuhan pemeriksaan karena pada setiap zat aditif yang digunakan memiliki cara kerja dan sifat masing – masing terhadap spesimen darah (Nugraha, 2017).

2.4.2. Macam – macam Antikoagulan

1. EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*)

   EDTA merupakan jenis antikoagulan yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium khususnya di bidang hematologi. EDTA memiliki rumus kimia $[CH_2N(CH_2CO_2H)_2]_2$. EDTA tersedia dalam dua bentuk yaitu dalam bentuk garam kering di-kalium (K_2EDTA) dan dalam bentuk garam di-natrium (Na_2EDTA) dan dalam bentuk cair tri-kalsium (K_3EDTA).

   Cara kerja antikoagulan EDTA yaitu dengan cara mengikat ion kalsium sehingga terbentuk garam kalsium yang tidak larut, sehingga ion kalsium yang berperan sebagai antikoagulasi menjadi tidak aktif dan mengakibatkan

darah tidak mengalami proses pembekuan. Tetapi pada penggunaan antikoagulan ini darah harus segera dicampur setelah pengumpulan untuk menghindari pembentukan gumpalan trombosit dan pembentukan bekuan mikro.

Kelebihan penggunaan EDTA sebagai antikoagulan karena sifat zat aditifnya yang tidak merubah morfologi sel dan menghambat peagregasi trombosit dengan lebih baik dibanding antikoagulan lainnya. Namun antikoagulan EDTA juga memiliki kekurangan yaitu sifatnya yang sulit larut dibanding antikoagulan lainnya, oleh sebab itu pencampuran EDTA dilakukan berkali – kali sebanyak 8 – 10 kali dengan cara membolak balikan tabung.

EDTA dalam bentuk garam kalium (K_3EDTA) memiliki larutan 15 kali lebih besar dalam darah di bandingkan dengan garam natrium, oleh sebab itu K_3EDTA lebih sering digunakan dalam laboratorium karena kelarutannya sangat tinggi sehingga menghasilkan specimen yang memiliki gumpalan lebih sedikit.

Jumlah penggunaan EDTA serbuk pada setiap 1 ml darah dibutuhkan 1 mg, sedangkan pada EDTA cair dengan konsentrasi 10% dihunakan dengan menambahkan 10 µl EDTA ke dalam 1 ml darah. Bila jumlah EDTA yang diberikan kurang dari ketentuan, darah akan mengalami koagulasi. Konsentrasi EDTA yang berlebihan akan menyebabkan penyusutan sel eritrosit (Nugraha, 2017).

2. Natrium Sitrat

Natrium sitrat atau *trisodium citrate dehidrat* memiliki rumus kiamia ($Na_2C_6H_5O_7.2H_2O$) merupakan salah satu antikoagulan toksik. Natrium sitrat digunakan dalam bentuk larutan pada konsentrasi 3,2% dan 3,8%. Cara kerja antikoagulan Natrium sitrat menghambat koagulasi dengan cara mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif.

Internasional Committee for Standardization in Hematology (ICHS) dan *International Society for Thrombosis and Haematology* merekomendasikan antikoagulan Natrium Sitrat 3,2% sebagai antikoagulan terpilih untuk pengujian koagulasi dan agregasi trombosit. Penggunaannya adalah dengan cara menambahkan 1 bagian natrium sitrat 3,2% ke dalam 9 bagian darah. Sedangkan Natrium Sitrat 3,8% digunakan dalam pemeriksaan laju endap darah (LED) metode *westergreen*, dengan cara pada 1 bagian natrium sitrat 3,8% dimasukkan ke dalam 4 bagian darah.

Pada penggunaan antikoagulan Natrium Sitrat, darah yang didapat harus segera dilakukan pencampuran dengan antikoagulan dengan tujuan untuk mencegah terjadinya koagulasi dan bekuan darah dalam spesimen yang berdampak pada hasil invalid terhadap pemeriksaan koagulasi. Pencampuran dilakukan dengan cara membolak balikan tabung (inversi) sebanyak 4 – 5 kali secara perlahan. Pencampuran yang dilakukan secara berulang – ulang dan terlalu kuat dapat menyebabkan trombosit akan saling menggumpal dan mempersingkat waktu pembekuan (Nugraha, 2017).

3. Oksalat

Antikoagulan Oksalat tersedia dalam bentuk natrium oksalat ($Na_2C_2O_4$), kalium oksalat ($K_2C_2O_4$), dan ammonium oksalat ($(NH_4)_2C_2O_4$)). Oksalat memiliki cara kerja dengan cara mengikat ion kasium, dan memiliki sifat toksik. Antikoagulan oksalat yang paling umum digunakan dalam laboratorium adalah kalium oksalat yang dikombinasikan dengan natrium florida (NaF) yang digunakan pada pemeriksaan glukosa darah. Selain itu, kalium oksalat dikombinasikan dengan ammonium oksalat yang biasa dikenal sebagai *double oksalat* atau *balance oxalate*.

Penggunaan natrium oksalat dengan cara menambahkan 1 bagian oksalat ke dalam 9 bagian darah. Antikoagulan ini sering digunakan pada pembuatan adsorb plasma dalam pemeriksaan hemostasis. Digunakan juga dalam bentuk larutan dengan komsentrasi 0,1 N untuk pemeriksaan *Plasma Protombin Time* (PTT). *Double oxalate* digunakan sebanyak 2 mg untuk 1 ml darah (Nugraha, 2017).

4. Heparin

Heparin secara alami terdapat dalam tubuh sebagai antikoagulan yang diprodiksi oleh sel mast dan basophil. Heparin merupakan asam mukopoliskarida yang tidak terfaksionasi dengan berat molekul 15.000 – 18.000. heparin bekerja dengan cara menghentikan pembentukan thrombin dari protombin sehingga menghentikan pembentukan fibrin.

Heparin merupakan antikoagulan yang jarang digunakan dalam pemeriksaan hematologi karena harganya yang relatif mahal, tetapi menjadi antikoagulan pilihan karena tidak mengubah komposisi darah. Terdapat tiga

macam heparin yang digunakan dalam laboratorium, yaitu ammonium heparin, lithium heparin, dan sodium heparin.

Konsentrasi penggunaannya adalah 0,1 ml atau 1 mg untuk 10 ml darah. Pencampuran dilakukan dengan cara membolak balikan tabung (inversi) sebanyak 6 kali. Heparin tidak dianjurkan untuk pemeriksaan apusan darah tepi karena menyebabkan latar belakang berwarna biru (Nugraha, 2017).

2.5. Pemeriksaan Hematologi

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan cairan darah yang berhubungan dengan sel – sel darah dan biokimiawi yang berhubungan dengan sel darah. Secara garis besar pemeriksaan hematologi dibagi mejadi dua jenis pemeriksaan, yaitu pemeriksaan hematologi yang berperan dalam mendefinisikan sel – sel darah atau pigmen darah yang normal dan abnormal serta menentukan sifat kelainan tersebut, pemeriksaan hematologi yang berperan dalam mengevaluasi gangguan hemostasis (gangguan pada mekanisme pembekuan darah), baik yang berupa pendarahan berlebihan maupun yang dapat menyebabkan terjadinya thrombosis (Riswanto, 2013).

Pemeriksaan hematologi meliputi parameter pemeriksaan kadar hemoglobin, Hematokrit, Laju Endap Darah (LED), Hitung sel – sel darah, hitung sel eritrosit, hitung sel leukosit, hitung sel retikulosit, hitung sel trombosit dan pemeriksaan darah khusus lainnya. Untuk menunjang hasil pemeriksaan hematologi yang maksimal perlu dilakukan persiapan – persiapan diantaranya yaitu dimulai dari persiapan pasien hingga proses analisis. Pemeriksaan laboratorium ditentukan oleh beberapa tahap yang terkait antara lain tahap pra analitik, tahap analik, dan tahap pasca analitik (Kiswari, 2014).

2.6. Sumber Kesalahan Pemeriksaan Hematologi

1. Tahap Pra Analitik

Pada tahap ini sangat menentukan kualitas sampel yang nantinya akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja selanjutnya. Tahap Pra Analitik meliputi :

a. Kondisi pasien, sebelum pengambilan specimen form permintaan laboratorium diperiksa. Identitas pasien harus ditulis dengan benar (nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis dan lain sebagainya) disertai diagnosis atau keterangan klinis. Identitas harus ditulis dengan benar sesuai dengan pasien yang akan diambil spesimen.
b. Pengambilan sampel idealnya dilakukan waktu pagi hari. Teknik atau cara pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai Standart Operating Procedur (SOP) yang ada.
c. Spesimen yang akan diperiksa volume mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar atau tidak kadaluarsa, tidak berubah warna, tidak berubah bentuk, pemakaian antikoagulan atau pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat dan identitas sesuai dengan data pasien.

2. Tahap Analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap Analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan.
3. Tahap Pasca Analitik atau tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar – benar valid atau benar (Subekti, 2016).

2.7. Hipotesis

Ada perbedaan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dan indeks eritrosit pada sampel darah EDTA yang ditunda 24 jam dibanding 2 jam.