

**PENGARUH VOLUME DARAH PADA TABUNG
VAKUM DENGAN ANTIKOAGULAN EDTA
TERHADAP INDEKS ERITROSIT
PADA PASIEN ANEMIA**

**GRIYAN DWI DESTANTO
N121 07 005**



**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**PENGARUH VOLUME DARAH PADA TABUNG VAKUM DENGAN
ANTIKOAGULAN EDTA TERHADAP INDEKS ERITROSIT
PADA PASIEN ANEMIA**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



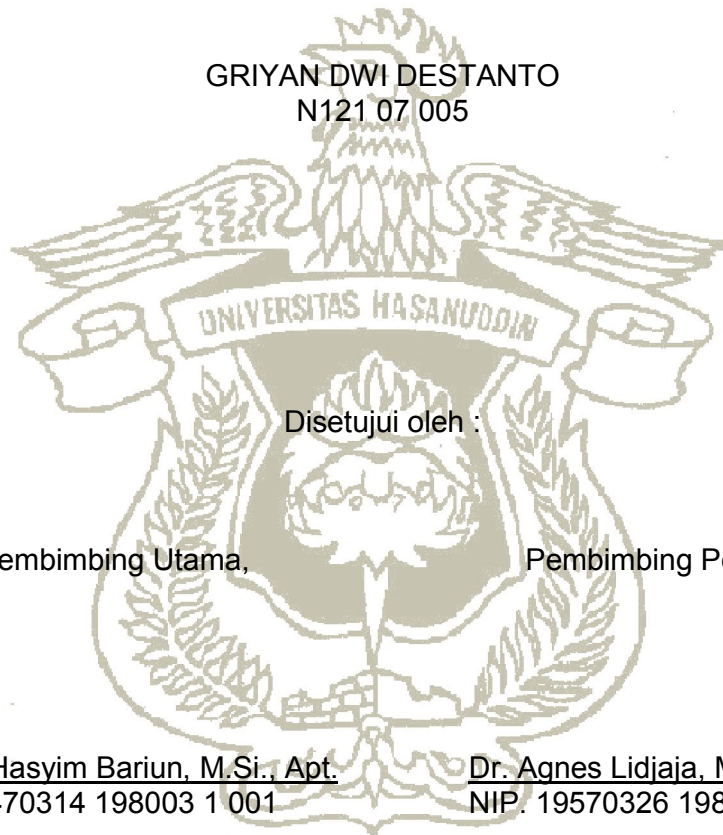
**GRIYAN DWI DESTANTO
N121 07 005**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

PENGESAHAN

**PENGARUH VOLUME DARAH PADA TABUNG VAKUM DENGAN
ANTIKOAGULAN EDTA TERHADAP INDEKS ERITROSIT
PADA PASIEN ANEMIA**

GRIYAN DWI DESTANTO
N121 07 005



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si., Apt.
NIP. 19470314 198003 1 001

Dr. Agnes Lidjaja, M.Kes., Apt.
NIP. 19570326 198512 2 001

Pada tanggal, 22 Februari 2012

PENGESAHAN

**PENGARUH VOLUME DARAH PADA TABUNG VAKUM DENGAN
ANTIKOAGULAN EDTA TERHADAP INDEKS ERITROSIT
PADA PASIEN ANEMIA**

OLEH

**GRIYAN DWI DESTANTO
N121 07 005**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 22 Februari 2012

Panitia Penguji Skripsi :

1. Usmar, S.Si., M.Si., Apt. (.....)
2. Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. (.....)
3. Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si., Apt. (.....)
4. Dr. Agnes Lidjaja, M.Kes., Apt. (.....)
5. Drs. Willem Kondar, MS., Apt. (.....)

Mengetahui
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi ini dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Februari 2012
Penyusun,

Griyan Dwi Destanto

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penelitian dan penulisan skripsi yang merupakan syarat untuk mencapai gelar sarjana pada program konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dapat terselesaikan

Sungguh banyak kendala yang saya hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya saya dapat melewati kendala-kendala tersebut.

Dalam kesempatan ini saya ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Ibunda Suharti Arief dan Ayahanda Haryanto Batjo yang senantiasa mendidik saya dengan penuh kasih sayang serta memberikan pelajaran dan pengalaman yang tak ternilai harganya. Terima kasih juga saya ucapkan kepada saudariku tercinta Octavira Apriyanie dan Sri Sulistyawati atas doa dan dukungannya hingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dan mencapai gelar sarjana.

Rasa terima kasih juga saya ucapkan kepada bapak Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama dan ibu Dr. Agnes Lidjaja, M.Kes., Apt., selaku pembimbing pertama yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan saya bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.

Kepada bapak Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc. selaku penasehat akademik, saya ucapkan banyak terima kasih karena telah memberikan banyak motivasi dalam menyelesaikan studi.

Terima kasih juga saya haturkan kepada ibu Prof. Elly Wahyudin, DEA., Apt., sebagai Dekan Fakultas Farmasi, dan Bapak Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt., sebagai Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan Fakultas Farmasi atas segala fasilitas yang diberikan dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih kepada dosen-dosen Fakultas Farmasi yang senantiasa memberikan dan membagi ilmunya, dan seluruh staf Fakultas Farmasi.

Terima kasih kepada Direktur RS. Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. Wahidin Sudirohusodo ibu dr. Mutmainnah Sp.PK (K) dan staf, Hj. Hasnah Rauf, Hj. Darniati, Hj. Ros, Hj. Caya, Hj. Wati, Kak Nurhaeda, Kak Kasma, Kak lin, dan para staf lainnya, terima kasih banyak atas bantuan dan bimbingannya selama penelitian berlangsung dan mohon maaf kalau saya sempat bikin penuh ruangan sebulan kemarin.

Terakhir, saya ingin berterima kasih sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah banyak membantu mulai dari awal hingga selesainya penelitian dan skripsi ini. Terkhusus kepada :

1. Ratih Feraritra Danu Atmaja S.Si. Terima kasih atas waktu, pikiran dan tenaganya dalam penyusunan skripsi ini dan mohon maaf kalau sempat bikin repot. Semoga Allah melindungi setiap inchi mu.

2. Ibu Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. Terima kasih atas ilmu dan motivasi yang diberikan serta terima kasih atas bantuannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Teman-teman seperjuangan (kawan-kawan Sp0i7) mulai dari nomor induk 001-078 (penyebutan nama terbukti rawan menciptakan kecemburuan sosial). Terima kasih atas cerita indah selama 4 tahun terakhir dan sampai jumpa di lain kesempatan.
4. Saudara Muchlas Rante Allo. Terima kasih atas perjuangannya yang tidak pernah lelah selama sebulan terakhir ini.
5. Saudara Musyaraffah S.Si. Terima kasih atas bantuannya dalam penyusunan skripsi ini.
6. Dan semua pihak yang tidak sempat saya sebutkan. Terima kasih atas bantuan, doa dan dukungannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Akhirnya semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, Februari 2012

Griyan Dwi Destanto

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian pengaruh volume darah pada tabung vakum dengan antikoagulan EDTA terhadap indeks eritrosit pada pasien anemia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh volume darah pada tabung vakum dengan antikoagulan K₂EDTA terhadap indeks eritrosit, untuk kepentingan penegakan diagnosa anemia sehingga mencegah kemungkinan terjadinya kesalahan hasil. Penelitian ini merupakan studi observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Jumlah sampel sebanyak 32 yang terdiri dari 8 laki-laki (25%) dan 24 perempuan (75%). Hasil penelitian menunjukkan rata-rata nilai MCV, MCH dan MCHC pada tabung dengan 3 ml darah (80,2 fL; 26,7 pg; 33,3 %), tabung dengan 2 ml darah (80,3 fL; 26,7 pg; 33,2 %), dan tabung dengan 1 ml darah (80,2 fL; 26,8 pg; 33,3 %). Dari hasil uji statistik menggunakan uji T berpasangan, menunjukkan bahwa tidak terdapat hasil yang signifikan karena semua nilai T-hitung lebih kecil dari T-tabel dan semua nilai $P > 0,05$ sehingga dinyatakan tidak ada pengaruh antara volume darah pada tabung vakum dengan antikoagulan K₂EDTA terhadap indeks eritrosit.

ABSTRACT

The study about influence of blood volume in vacutainer with EDTA anticoagulant to erythrocyte index had been done. This study was aimed to know influence of blood volume in vacutainer with K₂EDTA to erythrocyte index, for anaemia diagnose and to prevent wrong of result. It was an observational study with cross sectional approach and the subject amount 32 people consist of 8 men (25%) and 24 women (75%). The result of study show that average value of MCV, MCH and MCHC in tube with blood 3 ml (80.2 fL; 26.7 pg; 33.3 %), tube with blood 2 ml (80.3 fL; 26.7 pg; 33.2 %), and tube with blood 1 ml (80.2 fL; 26.8 pg; 33.3 %). The result of statistic test used paired T-test, showed there was not significant result because all of T-count value less than T-table value and all of P value > 0,05, so could be concluded there was not influence between blood volume in vacutainer with K₂EDTA anticoagulant to erythrocyte index result.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Hemopoesis	4
II.2 Darah dan Sifatnya	7
II.2.1 Eritrosit dan Hemoglobin	9
II.2.2 Indeks Eritrosit	13
II.3 Pemeriksaan Laboratorium di Bidang Hematologi ...	15
II.4 Antikoagulan	16
II.5 Anemia	19
II.5.1 Gejala dan Tanda Anemia	20
II.5.2 Klasifikasi Anemia	21

BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	23
III.1 Desain Penelitian.....	23
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
III.2.1 Tempat Penelitian	23
III.2.2 Waktu Penelitian	23
III.3 Populasi Penelitian	23
III.4 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	23
III.5 Perkiraan Jumlah Sampel	24
III.6 Kriteria Sampel	25
III.7 Defenisi Operasional	25
III.8 Alat dan Bahan Penelitian	26
III.8.1 Alat yang digunakan	26
III.8.2 Bahan yang digunakan	27
III.9 Prosedur Kerja	27
III.9.1 Pengambilan darah vena.....	27
III.9.2 Persiapan Sampel	28
III.10 Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
IV.1 Hasil Penelitian	30
IV.2 Pembahasan	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	35
V.1 Kesimpulan	35
V.2 Saran	35

DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN-LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Tempat terjadinya hemopoesis	4
2. Macam-macam tabung vakum dan antikoagulannya	17
3. Karakteristik populasi berdasarkan jenis kelamin	30
4. Karakteristik populasi berdasarkan usia	30
5. Hasil uji statistik T berpasangan	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Morfologi eritrosit	9
2. Ikatan dua rantai alfa dan dua rantai beta dengan <i>heme</i>	11
3. Struktur Hemoglobin	12
4. Rumus struktur EDTA.....	13
5. Hasil rata-rata indeks eritrosit masing-masing variabel	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Data Hasil Penelitian	39
2. Skema Kerja Penelitian	40
3. Hasil Uji Statistik	41
4. Foto Penelitian	42

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
MCH	<i>Mean Corpuscular Haemoglobin</i>
MCHC	<i>Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration</i>
EDTA	<i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
O ₂	Oksigen
HGB	Hemoglobin
WBC	<i>White Blood Cell</i> (Leukosit)
RBC	<i>Red Blood Cell</i> (Eritrosit)
PLT	Platelet
HCT	Hematokrit
RDW	<i>Red Distribution Width</i>
MPV	<i>Mean Platelet Volume</i>
PDW	<i>Platelet Distribution Width</i>
ICSH	<i>International Council for Standardization in Haematology</i>

GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
G-CSF	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
M-CSF	<i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
BPA	<i>Burst Promoting Activity</i>
IL	Interleukin
g/dl	gram per desiliter
fL	femtoliter
pg	pikogram

BAB I

PENDAHULUAN

Anemia adalah keadaan dimana berkurangnya kadar hemoglobin darah. Walaupun nilai normal dapat bervariasi antar laboratorium, kadar hemoglobin biasanya kurang dari 14 g/dl pada pria dewasa dan kurang dari 12 g/dl pada wanita dewasa (1, 2). Salah satu dari tanda yang paling sering dikaitkan dengan anemia adalah pucat. Keadaan ini umumnya oleh berkurangnya volume darah, berkurangnya hemoglobin dan vasokonstriksi untuk memaksimalkan pengiriman Oksigen (O₂) ke organ-organ vital. (3)

Karakteristik jenis dan keparahan anemia ditentukan oleh parameter konsentrasi hemoglobin, atau hematokrit dan berbagai indeks eritrosit seperti *Mean Corpuscular Volume (MCV)*, *Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH)*, *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC)*. Parameter tersebut dalam pemeriksaan laboratorium termasuk pemeriksaan darah rutin dimana sampel pemeriksaannya adalah darah lengkap (3)

Proses pengambilan dan penanganan sampel merupakan salah satu tahap yang sangat berperan penting dalam pemeriksaan laboratorium. Penampungan sampel yang digunakan untuk pemeriksaan darah rutin biasanya menggunakan antikoagulan yang berfungsi untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. (4). Oleh karena itu penggunaan antikoagulan pada pemeriksaan ini sangatlah penting.

Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) adalah salah satu antikoagulan yang paling sering digunakan dalam tabung vakum, dengan mekanisme mengkhelat kalsium dari darah sehingga mencegah proses pembekuan darah. Ada tiga jenis yang berbeda dari EDTA yaitu dinatrium (Na_2EDTA), dipotassium (K_2EDTA) dan tripotassium (K_3EDTA). K_2EDTA dan Na_2EDTA umumnya digunakan dalam bentuk kering sedangkan K_3EDTA biasanya digunakan dalam cairan. (5). Dalam penelitian yang telah dilakukan, digunakan antikoagulan kering yaitu K_2EDTA (*spray dried*) dimana rasio antara volume darah dengan antikoagulan yang dianjurkan untuk digunakan adalah 1,8 mg / mL darah. (6)

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Alenka Nemec , Marinka Drobnic–Kosorok dan Janos Butinar pada hewan coba di tahun 2005 menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang signifikan pada hematokrit dan MCV sedangkan peningkatan terjadi pada MCHC dalam sampel dengan konsentrasi K_3EDTA yang tinggi. (7).

Di beberapa laboratorium klinik, masih banyak ditemukan plebotomis yang mengalami kesulitan dalam memperoleh volume darah yang dibutuhkan untuk pemeriksaan darah lengkap. Sehingga terkadang volume darah kurang dari jumlah yang telah ditentukan. Hal inilah yang dapat menyebabkan kesalahan hasil sehingga dapat mempengaruhi penegakan diagnosa.

Berdasarkan gambaran di atas maka rumusan masalah yang timbul yaitu apakah volume darah manusia pada tabung vakum dengan

antikoagulan K₂EDTA dapat mempengaruhi hasil indeks eritrosit pada pemeriksaan darah rutin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh volume darah pada tabung vakum dengan antikoagulan K₂EDTA terhadap indeks eritrosit untuk kepentingan penegakan diagnosa anemia sehingga mencegah kemungkinan terjadinya kesalahan hasil.

Adapun manfaat dari penelitian ini secara umum adalah sebagai tambahan informasi sehingga dapat menjadi masukan atau informasi bagi laboran dalam bidang hematologi khususnya yang berhubungan dengan indeks eritrosit. Sedangkan bagi penulis sendiri yaitu sebagai bahan kajian pustaka bagi mahasiswa dalam menambah pengetahuan di bidang laboratorium klinik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Hemopoesis

Hemopoiesis atau hematopoiesis adalah proses pembentukan darah. Tempat terjadinya hemopoiesis pada manusia berpindah-pindah sesuai dengan umur. (1,8)

Tabel 1. Tempat terjadinya hemopoiesis

Usia	Tempat Terjadinya Hemopoiesis
0-2 bulan	Kantung kuning telur (<i>yolk sac</i>)
2-7 bulan	Hati, limpa
5-9 bulan	Sumsu tulang
Bayi	Sumsu tulang (pada semua tulang)
Dewasa	<i>Vertebrata</i> , tulang iga, <i>sternum</i> , tulang tengkorak, <i>sacrum</i> dan <i>pelvis</i> , ujung <i>proksimal femur</i>

Untuk kelangsungan hemopoiesis diperlukan beberapa hal yaitu antara lain :

1. Sel induk hemopoetik (*Hematopoetic Stem Cell*)

Sel ini adalah sel-sel yang berkembang menjadi sel darah, termasuk sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan platelet (trombosit) dan juga beberapa sel dalam sumsum tulang seperti fibroblast. Sel induk yang paling primitif disebut sebagai *pluripotent (totipotent) stem cell* yang memiliki sifat *self renewal* (kemampuan memperbarui diri sendiri sehingga tidak akan pernah habis meskipun terus membelah), proliferasif (kemampuan membelah atau memperbanyak diri) dan diferensiatif

(kemampuan untuk mematangkan diri menjadi sel-sel dengan fungsi tertentu). (8)

2. Lingkungan mikro sumsum tulang

Lingkungan mikro sumsum tulang adalah substansi yang memungkinkan sel induk tumbuh secara kondusif. Komponen lingkungan mikro ini meliputi :

- a. Mikrosirkulasi dalam sumsum tulang
- b. Sel-sel stroma (sel endotel, sel lemak, fibroblast, makrofag, sel retikulum)
- c. Matriks ekstraseluler (fibronektin, hemonektin, laminin, kolagen dan proteoglikan).

Lingkungan mikro sangat penting dalam hemopoiesis karena berfungsi untuk menyediakan nutrisi dan bahan hemopoiesis yang dibawa oleh peredaran darah mikro dalam sumsum tulang, komunikasi antar sel terutama ditentukan oleh adanya molekul adhesi, dan menghasilkan zat yang mengatur hemopoiesis (*hematopoietic growth factor* dan sitokin). (8)

3. Bahan-bahan pembentuk darah

Bahan-bahan yang diperlukan untuk pembentukan darah adalah antara lain :

- a. Asam folat dan vitamin B₁₂, merupakan bahan pokok pembentuk inti sel.
- b. Besi, merupakan bahan yang sangat diperlukan dalam pembentukan hemoglobin

- c. Cobalt, magnesium, tembaga dan seng
 - d. Asam amino dan vitamin lain (vitamin C dan vitamin B kompleks). (8)
4. Mekanisme regulasi

Mekanisme regulasi sangat penting untuk mengatur arah dan kuantitas pertumbuhan sel dan pelepasan sel darah yang matang dari sumsum tulang ke darah tepi sehingga sumsum tulang dapat merespon kebutuhan tubuh dengan tepat. Produksi komponen darah yang berlebihan ataupun kekurangan sama-sama menimbulkan penyakit. Zat-zat yang berpengaruh dalam mekanisme regulasi ini adalah :

- a. *Hematopoietic growth factor* yang meliputi *Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)*, *Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)*, *Macrophage colony stimulating factor (M-CSF)*, *Thrombopoietin*, *Burst promoting activity (BPA)*, *Stem Cell Factor*
- b. Sitokin seperti interleukin-3 (IL-3), IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11.
- c. Hormon hemopoetik spesifik yaitu eritropoetin.
- d. Hormon non spesifik antara lain androgen (berfungsi menstimulasi eritropoesis), estrogen (menimbulkan inhibisi eritropoesis), glukokortikoid, *growth hormone*, hormon tiroid.

Dalam regulasi hemopoiesis normal terdapat *feed back mechanism* yaitu suatu mekanisme umpan balik yang dapat merangsang hemopoiesis jika tubuh kekurangan komponen darah (*positive loop*) atau menekan

hemopoiesis jika tubuh kelebihan komponen darah tertentu (*negative loop*). (8)

II.2 Darah dan Sifatnya

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, beredar dalam suatu sistem tertutup yang disebut pembuluh darah dan menjalankan fungsi transpor serta fungsi homeostasis. Penggolongan darah sebagai suatu jaringan didasarkan atas definisi jaringan, yaitu sekelompok sel atau beberapa jenis sel yang mempunyai bentuk yang sama dan menjalankan fungsi tertentu. Hanya saja berbeda dengan jaringan lain. Sel-sel yang terdapat dalam darah dan dinamai sebagai sel-sel darah tidaklah terikat satu sama lain membentuk struktur yang bernama organ, melainkan berada dalam keadaan suspensi dalam suatu cairan. (9).

Darah terdiri atas dua komponen utama yaitu, sel-sel darah yang terdiri atas sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan platelet (trombosit). (8). Komponen yang lain adalah plasma darah yang, terdiri dari 91-92% air yang berperan sebagai medium transpor, dan 8-9% zat padat. Zat padat tersebut antara lain protein-protein seperti albumin, globulin, faktor-faktor pembekuan darah, enzim, unsur organik seperti zat nitrogen nonprotein (urea, asam urat, xantin, kreatinin, asam amino), lemak netral, fosfolipid, kolesterol, dan glukosa, dan unsur anorganik berupa natrium, klorida, bikarbonat, kalsium, kalium, magnesium, fosfor,

besi dan iodium. Dimana semua unsur ini memainkan peranan penting dalam fungsi homeostatis. (3)

Pada tubuh yang sehat atau orang dewasa terdapat total volume darah sebanyak 6-8% dari berat badan atau 55-80 ml/Kg berat badan atau terdapat kurang lebih 5 liter. Pada pria dewasa terdapat 7,5% dari berat badan dan pada wanita dewasa terdapat 6,5% dari berat badan. (10)

Fungsi utama darah adalah untuk transportasi. Sel darah merah tetap berada dalam sistem sirkulasi dan mengandung pigmen pengangkut oksigen hemoglobin. Sel darah putih bertanggung jawab terhadap pertahanan tubuh dan diangkut oleh darah ke berbagai jaringan tempat sel-sel tersebut melakukan fungsi fisiologisnya. Trombosit berperan mencegah tubuh kehilangan darah akibat perdarahan dan melakukan fungsi utamanya di dinding pembuluh darah. Protein plasma merupakan pengangkut utama zat gizi dan produk sampingan metabolik ke organ-organ tujuan untuk penyimpanan atau ekskresi. Banyak protein besar yang tersuspensi di dalam plasma juga menarik perhatian ahli hematologi, terutama protein-protein yang berkaitan dengan pencegahan perdarahan melalui proses pembekuan darah (koagulasi). (2)

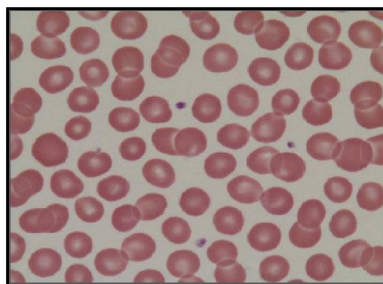
Darah sendiri memiliki sifat fisikokimia yang penting untuk diketahui. Sifat-sifat tersebut antara lain, warna darah yang cenderung merah dan kental. Hal inilah yang membedakan darah dengan cairan tubuh yang lain. Massa jenis dan kekentalan (viskositas) yang lebih besar dari pada air. Massa jenis darah biasanya antara 1,054 – 1,060.

Sedangkan cairan darah yang telah terpisah dari sel-sel darah yaitu plasma atau serum mempunyai massa jenis antara 1,024 – 1,028. Viskositas darah kira-kira 4,5 kali viskositas air. Sementara itu pH darah berbeda dengan pH air dimana pH darah adalah 7,4. (9)

Namun sifat-sifat di atas dapat berubah pada keadaan tertentu. Massa jenis darah misalnya, dapat meningkat jika terjadi hemokonsentrasi. Kekentalan (viskositas) darah juga dapat dipengaruhi oleh beberapa keadaan tertentu yang disertai dengan meningkatnya jumlah protein tertentu dalam cairan darah. pH darah juga dapat dipengaruhi oleh penyakit tertentu sehingga terjadi keadaan *alkalosis* (pH darah menjadi lebih basa) ataupun *asidosis* (pH darah menjadi lebih asam). Sementara itu warna darah juga dapat berubah pada keadaan dimana meningkatnya methemoglobin (bentuk teroksidasi dari hemoglobin). (9)

II.2.1 Eritrosit dan Hemoglobin

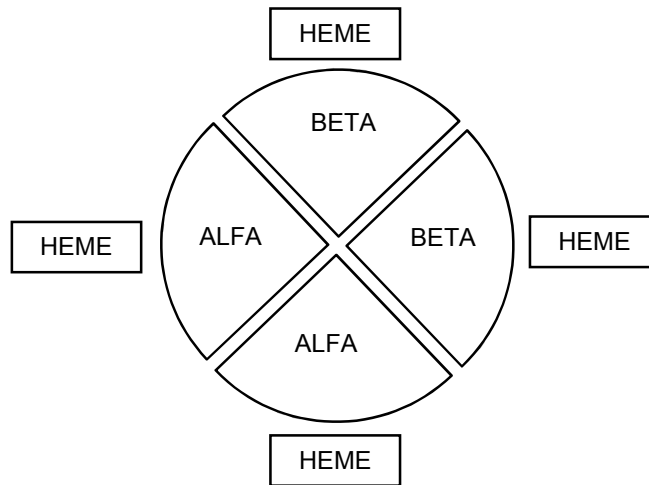
Eritrosit atau sel darah merah adalah cakram bikonkaf tidak berinti yang kira-kira berdiameter 8 μm , tebal bagian tepi 2 μm dan ketebalannya berkurang di bagian tengah hanya menjadi 1 μm atau kurang. (3)



Gambar 1. Morfologi eritrosit
(sumber : <http://drdjebrut.files.wordpress.com/2009/12/eritrosit-normal1.jpg>)

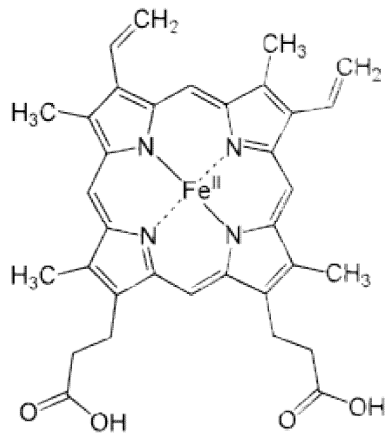
Fungsi utama eritrosit adalah mengikat dan membawa oksigen dari paru-paru untuk diedarkan dan dibagikan ke seluruh sel di berbagai jaringan. Untuk memenuhi keperluan seluruh sel tubuh akan oksigen setiap saat yang jumlahnya besar, senyawa ini tidak cukup untuk dibawa dalam keadaan terlarut secara fisik di dalam darah. Kelarutan oksigen secara fisik di dalam darah sangat dipengaruhi oleh tekanan parsial dari gas PO_2 serta oleh suhu. Dimana kedua faktor ini adalah faktor lingkungan yang sangat mudah berubah-ubah. Oleh karena itu tubuh organisme memerlukan suatu mekanisme yang tidak harus bergantung pada faktor lingkungan tersebut. Mengikat oksigen secara kimia adalah salah satu mekanismenya dan hemoglobin adalah senyawa yang berperan dalam mekanisme tersebut. (9)

Hemoglobin terdiri dari dua bagian yaitu *heme* dan globin. Satu molekul *heme* terdiri dari empat cincin pyrol yang dihubungkan satu dengan yang lain oleh atom-atom C. Dalam pusat, keempat cincin pyrol ini terdapat pada satu ion Fe^{2+} . Sedangkan globin terdiri dari dua pasang rantai polypeptide yaitu dua rantai alfa polypeptide dan dua rantai beta polypeptide. Dimana masing masing rantai tersebut diikat dengan suatu zat *heme*. Hal ini dapat digambarkan sebagai berikut. (12)



Gambar 2. Ikatan dua rantai alfa dan dua rantai beta dengan *heme* (sumber : Rot P. *Kumpulan kuliah hematologi dan endrokinologi*. Bagian Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2010. hal. 2)

Sintesis *heme* terutama terjadi di mitokondria melalui suatu rangkaian reaksi biokimia yang bermula dengan kondensasi glisin dan suksinil koenzim A oleh kerja enzim kunci yang bersifat membatasi kecepatan reaksi yaitu asam δ -aminolevulinat (ALA) sintase. piridoksal fosfat (vitamin B₆) adalah suatu koenzim untuk reaksi ini yang dirangsang oleh eritropoietin. Akhirnya protopofirin bergabung dengan besi dalam bentuk ferro (Fe^{2+}) untuk membentuk *heme*. Masing-masing molekul *heme* bergabung dengan satu rantai globin yang dibuat pada poliribosom. Suatu tetramer yang terdiri dari empat rantai globin masing-masing dengan gugus *hemenya* sendiri dalam satu kantung kemudian dibentuk untuk menyusun satu molekul hemoglobin. (1)



Gambar 3. Struktur Hemoglobin
(sumber : http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Heme_b.svg)

Meskipun tidak berikatan langsung dengan molekul oksigen, protein globin adalah bagian yang sangat penting dari hemoglobin dan ikut menentukan daya ikat atom besi yang terkandung dalam molekul tersebut. Ikatan dan interaksi protein globin dengan *heme* menentukan *afinitas* antara atom besi *heme* dengan oksigen. Interaksi tersebut juga mempengaruhi mudah atau sukarnya atom besi hem dicapai oleh molekul air. (9)

Pada manusia, hemoglobin yang lazim tidak hanya satu macam saja. Pada orang dewasa sehat, telah diketahui terdapat dua macam hemoglobin ada bersama-sama. Kedua hemoglobin tersebut tersebut ialah HbA₁ dan HbA₂ (A adalah singkatan dari *adult*). Pada bayi dalam kandungan terutama dua trimester pertama, hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit bukanlah salah satu atau kedua HbA tersebut, akan tetapi hemoglobin lain yang bernama HbF (F adalah singkatan dari *fetal*).

Ternyata, *afinitas* HbF terhadap oksigen lebih besar dari pada afinitas HbA. Hal ini disebabkan karena janin tidak berhubungan langsung dengan udara bebas sehingga pasokan oksigennya mutlak seluruhnya tergantung pada darah ibu. Hemoglobin di dalam eritrosit ibu adalah HbA. Untuk dapat menarik dan mengikat oksigen yang terikat dalam darah ibu, yang terpisah pula oleh selapis membran plasenta dari janin, mengharuskan di dalam eritrosit janin harus memiliki suatu mekanisme yang dapat menarik oksigen tersebut dan mekanisme tersebut dijalankan oleh HbF. (9)

Gambaran morfologik eritrosit dapat memberi petunjuk mengenai defek membran eritrosit. Evaluasi laboratorium terhadap parameter ini bermanfaat dalam menilai struktur dan fungsi eritrosit dan memberikan pemahaman mengenai penyakit eritrosit. (2)

Tiga variabel primer adalah jumlah hemoglobin yang ada di darah lengkap (dalam gram per desiliter), proporsi eritrosit dalam darah lengkap, hematokrit dan jumlah absolut eritrosit dalam darah lengkap, biasanya dinyatakan sebagai juta sel per mikroliter. Indeks korpuskular yang juga disebut indeks eritrosit adalah perhitungan yang memungkinkan kita memperkirakan ukuran rata-rata dan kandungan hemoglobin di masing-masing eritrosit. (2)

II.2.2 Indeks Eritrosit

Yang termasuk dalam Indeks Eritrosit adalah *Mean Corpuscular Volume* (MCV), *Mean Corpuscular Haemoglobin* (MCH), dan *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration* (MCHC) kadang-kadang disebut

sebagai “nilai eritrosit absolut” dan dihitung dari hematokrit (PCV), perkiraan hemoglobin dan hitung eritrosit. Angka-angka ini telah digunakan secara luas dalam klasifikasi anemia. Dengan menggunakan metode otomatis, angka-angka absolut dihitung secara simultan dengan angka-angka penghitungan, dengan pengecualian hematokrit, yang juga merupakan angka penghitungan pada *instrument* otomatis. Kadar hemoglobin atau hematokrit sering digunakan untuk menyatakan derajat anemia. Keduanya biasanya memiliki hubungan yang tetap. Satu satuan hemoglobin dalam gram per desiliter setara dengan tiga satuan hematokrit dalam angka persentase. Apabila ukuran dan bentuk eritrosit abnormal atau terjadi gangguan pembentukan hemoglobin, rasionya mungkin tidak lagi proporsional. (2)

A. Mean Corpuscular Volume (MCV)

Besaran ini mencerminkan volume rata-rata eritrosit. Dengan alat *automatic*, MCV diukur secara langsung, tetapi MCV dapat dihitung dengan membagi hematokrit dengan hitung eritrosit yang dinyatakan dalam juta per mikroliter dan dikali 1000. Satuannya dinyatakan dalam *femtoliter* (fL) per sel darah merah ($\text{fL} = 10^{-15}$ liter). Nilai normalnya adalah 80-98 fL. (2)

B. Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH)

Besaran ini dihitung secara otomatis pada alat tetapi juga dapat ditentukan apabila hemoglobin dan eritrosit diketahui. Besaran ini dinyatakan dalam *pikogram* dan dapat dihitung dengan membagi jumlah

hemoglobin per liter darah dengan jumlah eritrosit per liter. Nilai normalnya adalah 26-32 pikogram ($\text{pg} = 10^{-12}$ gram). (2)

C. Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC)

Besaran ini juga dihitung dengan alat *automatic* setelah pengukuran hemoglobin dan penghitungan hematokrit. MCHC dapat ditentukan secara manual dengan membagi hemoglobin per desiliter darah dengan hematokrit. Nilai rujukannya berkisar dari 32-36 %. (2)

Ukuran (MCV) dan kandungan hemoglobin (MCHC) di setiap sel merupakan hal penting dalam mengevaluasi anemia dan kelainan hematologik lain. Ukuran sel dapat digambarkan sebagai normositik dengan MCV normal, mikrositik apabila MCV lebih kecil daripada normal, dan makrositik dengan MCV yang lebih besar daripada normal. Derajat hemoglobinisasi sel dapat diperkirakan dengan mengukur MCH dan dapat digambarkan sebagai memiliki hemoglobin rata-rata normal (normokromik) atau hemoglobin rata-rata yang kurang daripada normal (hipokromik). (2)

II.3 Pemeriksaan Laboratorium di Bidang Hematologi

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu disiplin ilmu dalam kedokteran laboratorium. Hasil pemeriksaan laboratorium merupakan bahan penunjang atau penentu diagnosis yang berkaitan dengan terapi dan *prognosis* dokter. Tujuan pemeriksaan laboratorium itu sendiri antara lain menegakkan dan menentukan diagnosis, menentukan beratnya penyakit, *follow up* pengobatan dan memantau jalannya penyakit, rasionalisasi pemberian obat, serta untuk mengetahui kondisi pasien

secara umum. (11). Dengan melakukan pengukuran dan pemeriksaan laboratorium akan didapatkan data ilmiah yang dapat digunakan dalam menginterpretasi masalah yang diidentifikasi secara klinis. (2)

Pemeriksaan hematologi banyak dilakukan dengan menggunakan alat hitung sel darah otomatis yang mencakup parameter pemeriksaan seperti jumlah leukosit (WBC), jumlah eritrosit (RBC), kadar hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular haemoglobin* (MCH), *mean corpuscular haemoglobin concentration* (MCHC), *red distribution width* (RDW), jumlah trombosit (PLT), *mean platelet volume* (MPV), dan *platelet distribution width* (PDW). (10). Untuk pemeriksaan tersebut perlu diperhatikan beberapa hal seperti persiapan pasien, cara pengambilan sampel dan pengiriman sampel bila sampel tersebut dirujuk serta antikoagulan yang digunakan. Kesalahan yang terjadi yang berhubungan dengan hal-hal tersebut akan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. (4).

II.4 Antikoagulan

Antikoagulan adalah suatu bahan kimia yang ditambahkan ke dalam sampel darah yang mempunyai efek untuk mencegah sampel darah membeku. Jenis-jenis tabung vakum dan antikoagulan yang biasa digunakan di laboratorium klinik antara lain : (13,21)

Tabel 2. Macam-macam tabung vakum dan antikoagulannya

No.	Warna Penutup	Antikoagulan	Keterangan
1	Merah	Tidak ada	Serum (untuk pemeriksaan kimia)
2	Lembayung (Ungu)	EDTA	Untuk pemeriksaan darah lengkap (mengikat kalsium)
3	Hijau	Heparin	Menghambat aktivasi thrombin
4	Biru	Buffer Sitrat	Untuk tes koagulasi (mengikat kalsium)
5	Hitam	Buffer Natrium Sitrat	Untuk pemeriksaan LED
6	Abu-abu	Natrium Flourida	Untuk tes glukosa
7	Kuning	Citrate Dextrose (ACD)	Pengawet eritrosit

Dalam menyiapkan sampel darah, suatu antikoagulan harus ditambahkan ke dalam sampel apabila mengalami penyimpanan. (4). Beberapa studi telah mengungkapkan pemilihan antikoagulan untuk sampel darah menghasilkan hasil yang berbeda untuk pemeriksaan hematologi. EDTA adalah antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Haematology (ICSH)* untuk digunakan pada pemeriksaan darah lengkap. (7). EDTA baik digunakan karena tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuk eritrosit dan leukosit, selain itu EDTA juga mencegah agregasi trombosit. (14)

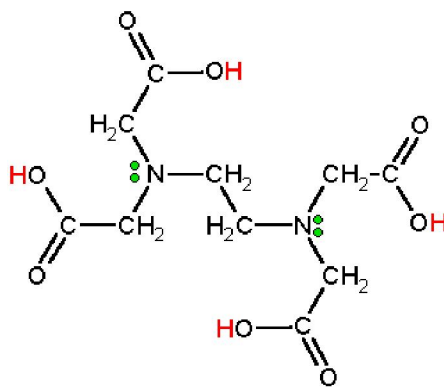
Terdapat tiga jenis berbeda dari garam EDTA yang biasa digunakan dalam proses pengolahan sampel yaitu *dinatrium* (Na_2EDTA), *dipotassium* (K_2EDTA) dan *tripotassium* (K_3EDTA). K_2EDTA dan Na_2EDTA umumnya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA biasanya digunakan dalam bentuk cair. (5)

Pada proses pembekuan darah diperlukan ion kalsium untuk dapat mengaktivasi kerja *prothrombin* membentuk *thrombin*. Selanjutnya peranan ion kalsium diperlukan kembali pada proses aktivasi fibrin lunak menjadi fibrin dengan gumpalan keras. Proses ini tidak memerlukan waktu yang begitu lama, jika semua faktor pembekuan dalam keadaan normal maka proses akhir pembekuan dapat terjadi dalam waktu 5-15 menit. (14). Mekanisme kerja EDTA adalah dengan mengkhelat atau mengikat ion kalsium dari darah dalam bentuk tidak terionisasi sehingga tidak dapat berperan aktif dalam proses aktivasi lebih lanjut yang kemudian mencegah proses pembekuan darah. (5,15).

Dalam penelitian yang telah dilakukan ini digunakan antikoagulan K_2EDTA (*spray dried*) dimana rasio antara antikoagulan dengan volume darah yang dianjurkan untuk digunakan adalah 1,8 mg K_2EDTA / ml darah. (5).

Perbandingan jumlah darah dengan antikoagulan yang digunakan harus tepat, karena bila darah yang dipakai lebih banyak dari yang seharusnya, maka darah akan menggumpal dan didapatkan mikotrombin di dalam penampung yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat menyumbat alat pemeriksaan. Sebaliknya bila dipakai darah yang lebih sedikit dan antikoagulannya berlebihan, maka akan menyebabkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit dan MCV menurun, sedangkan MCHC meningkat dan trombosit membesar dan mengalami desintegrasi. (7,16).

EDTA memiliki enam proton aktif, dua pada nitrogen dan empat pada gugus karboksilat yang dapat ditulis sebagai H_6Y^{2+} karena merupakan asam heksaprotik yang dapat kehilangan 6 proton membentuk Y^{4-} . Pada pH netral, bentuk yang mendominasi dalam larutan EDTA adalah HY^{3-} . Reaksi pembentukan kompleks dengan ion kalsium terjadi melalui bentuk EDTA yang telah kehilangan proton (Y^{4-}). (17)



Gambar 4. Rumus Struktur EDTA
(sumber : <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/edta/edtah.htm>)

II.5 Anemia

Menurut definisi, anemia adalah keadaan dimana berkurangnya jumlah eritrosit hingga di bawah normal, hematokrit dan kuantitas hemoglobin per 100 ml darah. (3). Walaupun nilai normal tiap laboratorium bervariasi, pada umumnya kadar hemoglobin kurang dari 14,0 g/dl pada pria dewasa dan kurang dari 12,0 g/dl pada wanita dewasa. Sejak usia 3 bulan sampai pubertas, kadar hemoglobin yang kurang dari 11,0 g/dl menunjukkan anemia. (1, 2). Karena semua sistem organ dapat terkena, maka pada anemia dapat menimbulkan manifestasi klinis yang luas yang bergantung pada kecepatan timbulnya anemia, usia individu, mekanisme

kompensasi, tingkat aktivitas, keadaan penyakit yang mendasari dan beratnya anemia. (3)

Karena jumlah efektif eritrosit berkurang maka pengiriman oksigen ke jaringan menurun. Kehilangan darah yang mendadak (30% atau lebih), seperti pada perdarahan, mengakibatkan gejala *hipovolemia* dan *hipoksemia*, termasuk kegelisahan, *diaphoresis* (keringat dingin) *takikardia*, napas pendek dan berkembang cepat menjadi kolaps sirkulasi atau syok. Namun berkurangnya massa eritrosit dalam waktu beberapa bulan memungkinkan mekanisme kompensasi tubuh untuk beradaptasi dengan meningkatkan curah jantung dan pernapasan, oleh karena itu meningkatkan pengiriman oksigen ke jaringan-jaringan oleh eritrosit, meningkatkan pelepasan oksigen oleh hemoglobin, mengembangkan volume plasma dengan menarik cairan dari sela-sela jaringan dan redistribusi aliran darah ke organ-organ vital. (3)

II.5.1 Gejala dan Tanda Anemia

Biasanya gejalanya adalah nafas pendek khususnya pada saat berolahraga, kelemahan, palpitasi dan sakit kepala. Pada pasien berusia tua, mungkin ditemukan gejala gagal jantung, angina pectoris dan kebingungan. (1). Tanda-tanda lain adalah warna kulit dan selaput lendir yang berubah menjadi pucat. Dalam hal ini selain melihat warna konjungtiva ada baiknya memperhatikan juga warna selaput lendir mulut dan warna kuku. Seringkali pada anemia, konjungtiva berwarna pucat, tetapi ada kemungkinan juga konjungtiva berwarna merah (oleh karena

radang setempat). Biasa juga terdapat orang dengan kulit berwarna pucat tetapi sebenarnya tidak anemia. Hal ini disebabkan oleh karena letak pembuluh darah di kulitnya lebih mendalam dari pada orang lain. (12)

II.5.2 Klasifikasi Anemia

Anemia dapat diklasifikasikan menurut antara lain, secara morfologi eritrosit beserta indeks eritrositnya dan secara etiologi. (3)

Pada klasifikasi morfologi anemia, *mikro* atau *makro* menunjukkan ukuran eritrosit dan *kromik* untuk menunjukkan warnanya. Terdapat tiga kategori anemia berdasarkan morfologi eritrosit. (3)

a) Anemia Normositik Normokrom

Anemia ini adalah anemia dimana eritrosit memiliki ukuran dan bentuk yang normal. Sementara MCV, MCH dan MCHC juga dalam batas normal. Penyebab dari anemia jenis ini adalah hemolisis (anemia hemolitik), kehilangan darah akut, kegagalan sumsum tulang, gangguan endokrin dan gangguan ginjal. (3,13)

b) Anemia Makrositik Normokrom

Anemia ini adalah anemia dimana eritrosit lebih besar dari normal. Indeks eritrosit seperti MCV meningkat sedangkan MCH dan MCHC berada dalam batas normal. Keadaan ini disebabkan oleh terganggunya atau terhentinya sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) seperti yang ditemukan pada anemia defisiensi vitamin B₁₂. (3). Anemia ini juga disebabkan oleh defisiensi asam folat. (8)

c) Anemia Mikrositik Hipokrom

Mikrositik berarti sel berukuran kecil dan hipokrom berarti pewarnaan yang berkurang. (3). Anemia ini menunjukkan dimana ketiga indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC) berada di bawah nilai normal dan sediaan apus menunjukkan eritrosit yang kecil dan pucat. Gambaran ini disebabkan oleh defek sintesis hemoglobin. Penyebab anemia ini antara lain defisiensi besi, kehilangan darah kronis, dan gangguan sintesis globin seperti pada thalasemia. (1)