

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Darah**

##### **2.2.1 Pengertian darah**

Darah adalah cairan dalam tubuh, dan perannya adalah untuk mengangkut oksigen yang dibutuhkan oleh sel-sel ke seluruh tubuh. Darah juga menyuplai nutrisi ke jaringan tubuh, mengangkut sisa metabolisme, dan mengandung berbagai komponen sistem kekebalan tubuh yang melindungi tubuh dari berbagai penyakit. Hormon dari sistem endokrin juga beredar di dalam darah.

##### **2.3.1 Karakteristik Darah**

Menurut Desmawati, 2013 karakteristik umum darah meliputi warna, viskositas, pH, volume, dan komposisinya:

###### **1. Warna**

Darah arteri berwarna merah muda karena terdapat sejumlah besar  $O_2$  yang dikombinasikan dengan hemoglobin dalam sel darah merah. Darah vena berwarna gelap/merah tua karena kekurangan  $O_2$  dibandingkan darah arteri.

###### **2. Viskositas**

Viskositas darah lebih tinggi dari viskositas air atau 1,048 hingga 1,006.

###### **3. pH**

pH darah bersifat basa, antara 7,35 dan 7,45 (netral 7,00).

###### **4. Volume**

Pada orang dewasa, volem darah sekitar 70-75 ml/kg berat badan atau sekitar 4-5 liter.

Menurut sadikin (2002), fungsi darah secara umum dapat digambarkan sebagai agen transportasi, agen homoestatis, dan agen perlindungan. Namun secara umum fungsi darah dapat dibedakan menjadi beberapa bagian:

- 1) Alat pengangkut makanan, yang diserap dari saluran cerna dan diedarkan ke seluruh tubuh.
- 2) Pengangkut O<sub>2</sub>, yang diambil dari paru-paru diangkut ke seluruh tubuh.
- 3) Alat pengangkut hasil sisa dari jaringan ke alat-alat ekskresi untuk disalurkan sebagai feses ke empedu dan saluran pencernaan.
- 4) Sebagai alat transpor antara jaringan dari bahan-bahan yang dibutuhkan oleh suatu jaringan dibuat oleh jaringan lain.
- 5) Menjaga homoestatis dalam tubuh, mengatur keseimbangan distribusi air dan menjaga keseimbangan asam basa sehingga pH darah dan cairan tubuh lainnya tetap benar. Melindungi tubuh dari serangan benda asing dan senyawa yang umumnya dianggap berpotensi mengancam (Sadikin, 2002).

## **2.2 Hemoglobin**

### **2.2.1 Pengertian Hemoglobin**

Hemoglobin adalah protein kompleks yang mengikat zat besi (Fe) dan terdapat dalam sel darah merah. Fungsi utama hemoglobin adalah membawa oksigen (O<sub>2</sub>) dari paru-paru ke seluruh tubuh dan menukarnya dengan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dari jaringan untuk dikeluarkan dari paru-paru. Setiap sel darah merah mengandung 640 juta molekul hemoglobin, yang memungkinkannya menjalankan fungsinya dengan baik (Nugraha,2017).

Hemoglobin berperan penting dalam mengikat oksigen membentuk oksihemoglobin. Hemoglobin terdiri dari dua komponen utama : heme dan globin, heme merupakan pigmen yang mengandung zat besi (Fe) dan heme juga bertanggung jawab atas warna merah pada darah Globin di sisi lain

adalah protein yang terdiri dari dua pasang rantai alfa dan beta. Setiap sel darah merah mengandung sekitar 200 juta molekul. Hemoglobin memiliki kapasitas pengikatan (afinitas) terhadap oksigen dan karbon dioksida. Namun terdapat perbedaan antara afinitas hemoglobin untuk mengikat oksigen dan afinitas hemoglobin untuk mengikat karbon dioksida (Khasanah, 2018).

### **2.2.2 Fungsi Hemoglobin**

Fungsi utama hemoglobin adalah:

- Mengatur pertukaran oksigen dan karbon dioksida dalam jaringan tubuh.
- Menyerap oksigen dari paru-paru dan mengangkutnya ke seluruh jaringan tubuh.
- Mengangkut karbon dioksida dari jaringan tubuh ke paru-paru melalui metabolisme (Hofbrand dkk., 2005).

Menurut Sherwood 2012, hemoglobin melakukan beberapa tugas, salah satunya mengatur pertukaran oksigen dan karbon dioksida dalam jaringan tubuh. Hb suatu molekul alosterik yang terdiri dari empat subunit polipeptida, berfungsi untuk menghantarkan  $O_2$  dan  $CO_2$ . Ketika setiap molekul diikat, hb memiliki kecenderungan untuk meningkatkan  $O_2$ , yang menyebabkan kurva disosiasi berubah, memungkinkan hb menjadi jenuh dengan oksigen dalam paru-paru dan secara efektif melepaskan oksigen ke dalam jaringan. Selanjutnya, mengambil oksigen dari paru-paru dibawa ke seluruh jaringan tubuh untuk digunakan sebagai bahan bakar.

Karena sifatnya yang kaya akan zat besi hemoglobin suatu protein yang kaya akan zat besi, memiliki kemampuan untuk membentuk oksihemoglobin ( $HbO_2$ ) yang merupakan hasil dari afinitasnya terhadap oksigen itu sendiri. Fungsi ini memungkinkan oksigen ditransfer dari paru-paru ke jaringan-jaringan dan membawa  $CO_2$ .

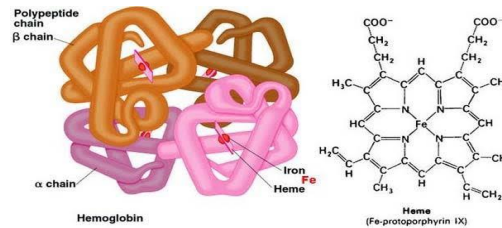
### **2.2.3 Susunan Hemoglobin**

Hemoglobin terdiri dari empat molekul protein yang terikat bersama. Pada orang dewasa, hemoglobin terdiri dari dua rantai alfa globulin dan dua rantai beta globulin. Pada bayi dan bayi baru lahir yang masih dalam kandungan, molekul hemoglobin tersusun dari beberapa rantai beta, dan molekul hemoglobin terbentuk dari dua rantai alfa dan dua rantai gamma yang disebut HbF. Struktur hemoglobin manusia bersifat tetramerik dan terdiri dari dua subunit dengan alfa dan beta yang terikat secara non-kovalen. Setiap subunit secara struktural serupa dan berukuran kira-kira sama. Berat molekul setiap subunit sekitar 16.000 dalton. Hemoglobin memiliki heterosiklik yang disebut porifin. Porifin mengandung zat besi yang disebut heme dan heme terdapat dalam subunit hemoglobin. Kelompok heme bertanggung jawab atas kemerahan darah dan terdiri dari komponen anorganik dan atom pusat. Komponen anorganik disebut protoporfirin dan terdiri dari empat cincin pirol yang dihubungkan melalui jembatan metana untuk membentuk cincin tetrapirrol. Pada cincin terdapat empat gugus metil satu gugus vinil dan dua rantai samping propionat (Ganong, 2007).

### **2.2.4 Struktur Hemoglobin**

Hemoglobin adalah protein logam yang mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan di seluruh tubuh dan karbon dioksida dari jaringan tersebut ke paru-paru dan mengeluarkannya ke udara. Molekul hemoglobin merupakan molekul organik yang tersusun dari globin apoprotein dan 4 gugus heme serta memiliki atom besi. Mutasi pada gen protein hemoglobin menyebabkan serangkaian 4.444 penyakit genetik yang disebut hemoglobinopati yang paling umum adalah anemia sel sabit dan talasemia (Hasanan, 2018). Hemoglobin adalah metaloprotein yang membawa oksigen

dari paru-paru ke jaringan dan tubuh menyerap karbon dioksida dari jaringan-jaringan ini dan mengangkutnya ke paru-paru, lalu dikeluarkan ke udara. Hemoglobin terdiri dari 4.444 molekul protein terkait (rantai globulin). Hemoglobin dewasa normal (HbA) terdiri dari 2 rantai alfa globulin dan 2 rantai beta globulin (Estridge dan Reynolds, 2012).



**Gambar 2.1** Struktur Hemoglobin

Struktur Hb terdiri dari empat rantai polipeptida dengan empat grup heme dan 574 asam amino total. Rantai polipeptida terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai beta, masing-masing berikatan dengan satu asam amino. Grup heme: setiap rantai alfa mengandung 141 asam amino. Ada cincin heterosiklik di pusat molekul, yang terdiri dari 146 asam amino disebut porfirin, porfirin terdiri dari empat cincin pirol yang dihubungkan oleh jembatan untuk membentuk cincin tetrapirrol. Ini memiliki dua sisi rantai propionil serta empat gugus metil dan vinil. Nama heme diberikan kepada porfirin pada molekul yang menahan satu atom besi (Fe) memiliki kemampuan untuk melekat dan menghantarkan oksigen dan  $\text{CO}_2$  melalui darah melalui heme ini (Maretdiyani, 2013).

### 2.2.5 Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Pemeriksaan kadar hemoglobin yang paling banyak digunakan adalah metode cyanmeth, yang mengukur hampir semua jenis hemoglobin kecuali sulfhemoglobin. Keuntungan metode ini adalah standar warna yang digunakan relatif stabil sepanjang waktu. Prinsip kerja metode

sianmethemoglobin adalah dengan mencampurkan darah dengan larutan drabkin untuk memecah hemoglobin menjadi sianmethemoglobin dan mengukur serapan darah pada Panjang gelombang 540nm dengan spektrofotometer. Darah diencerkan dengan larutan yang mengandung kalium ferrisianida dan potassium sianida yang mengubah semua jenis hemoglobin. Penentuan kadar hemoglobin bergantung pada rasio kuning-hijau atau kemampuan menyerap cahaya pada spektrum cahaya tampak. Metode ini menggunakan fotometer mikrolab 300 dan menggunakan reagen Drabkin untuk memeriksa kadar hemoglobin (Gandasoebrata, 2011).

#### **2.2.6 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kadar Hemoglobin**

Kadar hemoglobin pada seseorang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya:

##### **1. Usia**

Seiring bertambahnya usia, seseorang menjadi kurang produktif sehingga memiliki kadar hemoglobin yang lebih rendah.

##### **2. Jenis Kelamin**

Jenis kelamin dapat mempengaruhi kadar hemoglobin seseorang, hal ini berkaitan dengan perbedaan hormon pada Wanita pada pria. Umumnya pria memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi dibandingkan Wanita. Karena perempuan kurang aktif dibandingkan laki-laki, dan karena perempuan mengalami satu siklus menstruasi setiap bulan, perempuan memiliki kadar hemoglobin lebih rendah dibandingkan laki-laki.

##### **3. Kondisi Geografis**

Orang yang tinggal di dataran tinggi cenderung memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi karena mereka sangat aktif. Kecenderungan aktif ini menyebabkan mereka memproduksi lebih banyak sel darah merah untuk

mengikat lebih banyak oksigen dalam tubuhnya, berbeda dengan orang yang tinggal di daerah pesisir atau pantai.

#### 4. Nutrisi

Makanan yang dikonsumsi tubuh dapat mempengaruhi kadar hemoglobin seseorang. Mengonsumsi makanan banyak mengandung zat besi dapat meningkatkan kadar hemoglobin dengan baik karena akan meningkatkan produksi sel darah merah dalam tubuh.

#### 5. Status Kesehatan

Kesehatan sangat mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah. Seseorang yang memiliki kondisi tubuh yang sehat, maka kadar hemoglobin dalam tubuh pun akan sehat, dan sebaliknya.

### **2.3 Metode Pemeriksaan Hemoglobin**

Penentuan kadar hb dengan kalori metri visual seperti metode sahli, metode oksihemoglobin (HbO<sub>2</sub>) metode cyanmethemoglobin (HICN) dan sodum lauryl sulfat (Hb SLS). ICSH merekomendasikan cyanemthemoglobin. Standar stabil untuk mengukur hemoglobin kecuali sulfhemoglobin. Sulfur hemoglobin adalah penyakit dimana atom belerang mengoksidasi bagian heme di hemoglobin membuat hemoglobin tidak mampu membawa oksigen sehingga menyebabkan hipoksia dan sianosis. Pigmen kehijauan terbentuk Ketika H<sub>2</sub>S beraksi dengan Oxy-Hb. Sulfhemoglobin tidak dapat mengikat oksigen. Ini adalah hemoglinopati yang disebabkan oleh oksidasi hemoglobin dengan senyawa yang mengandung atom belerang. Sulfhemoglobin sering kali disertai dengan methemoglobin yang di induksi obat. Sulfhemoglobin dapat disebabkan oleh paparan trinitrotoluene atau zinc ethylenebisdithiocarbamate (fungisida) atau dengan konsumsi flutamide dosis terapi. Metode sahli direkomendasikan karena margin of error yang tinggi peralatan yang tidak terstandarisasi dan tidak

semua jenis hemoglobin diubah menjadi asam hematin seperti karboksihemoglobin methemoglobin dan sulfhemoglobin (George Ashish, 2017).

Menurut Chairlain 2011, metode ini merupakan metode laboratorium pilihan untuk pengukuran kuantitatif kadar hemoglobin. Ada beberapa metode yang umum digunakan untuk memeriksa kadar hemoglobin antara lain metode cyanmethemoglobin dan hemocu. Metode cyanmethemoglobin melibatkan pengambilan sampel vena. metode hemocue saat ini didasarkan pada tabung kapiler. Menurut Gibson 2015, hemoglobin sangat baik diukur menggunakan darah vena yang diantikoagulasi dengan asam etilendiamintetraceticacid (EDTA). Darah kapiler dapat diambil dari telinga, umit, ujung jari dapat tapi hasil tidak akurat karena sampel darah kapiler diencerkan dengan cairan usus. Oleh karena itu, pengukuran kadar Hb dengan metode cyanmethemoglobin merupakan metode yang direkomendasikan ICSH dan dianggap paling akurat berdasarkan tujuan WHO.

### **2.3.1 Metode Cyanmethemoglobin**

Darah diencerkan dalam larutan kalium sianida dan kalium ferri sianida. Kalium ferri sianida mengoksidasi Hb menjadi Hi (methemoglobin) dan kalium sianida menyediakan ion sianida ( $\text{CN}^-$ ) untuk membentuk HiCN (cyanmethemoglobin) yang memiliki penyerapan maksimum yang luas pada Panjang gelombang 540 nm.

## **2.4 Alat Fotometer**

### **2.4.1 Fotometer**

Fotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur pencahayaan atau penyimpanan atau penyinaran, Seperti penerapan di fotometry industry suatu “Fotometer” adalah kata umum yang meliputi alat-alat untuk mendeteksi : intensitas cahaya hamburan.

### **2.4.2 Prinsip Fotometer**

Prinsip dasar fotometer adalah pengukuran penyerapan sinar akibat interaksi sinar yang mempunyai Panjang gelombang tertentu dengan larutan atau zat warna yang dilewatinya. Sinar yang melewati suatu larutan akan terserap oleh senyawa-senyawa dalam larutan tersebut.

#### 1) Kelebihan alat fotometer

1. Hasil lebih akurat.
2. Kadar Hb terlalu rendah dan terlalu tinggi dapat terbaca.
3. Proses QC (Quality Control) baik.
4. Akurasi dan persisi hasil pemeriksaan baik.
5. Tidak ada faktor ketergantungan bahan habis pakai / reagen (open methodo).

#### 2) Kekurangan Alat Fotometer

1. Hasil tes membutuhkan waktu yang lama.
2. Untuk tes ulang dibutuhkan waktu yang lama.
3. Pemeriksaan dan penyimpanan dibutuhkan tempat khusus.
4. Alat harus menggunakan arus listrik yang stabil.
5. Harga lebih mahal.

## **2.5 Antikoagulan**

Antikoagulan adalah zat yang mencegah pembekuan darah dengan cara menghambat faktor pembekuan darah. EDTA berbentuk garam natrium atau kalium. Setiap 1 mg EDTA mencegah 1 ml pembekuan darah. Tabung vacutainer yang digunakan berwarna ungu (Arianda, 2015). Pengambilan sampel darah yang baik diambil dari vena. Pemeriksaannya darah vena akan diberi antikoagulan untuk menghindari terjadinya penggumpalan darah. Ada beberapa cara dapat dilakukan agar sampel (darah) tidak membeku, yaitu dengan cara:

1. Menggunakan antikoagulan
2. Defibrinasi, yaitu dengan cara mengaduk-aduk sampel darah menggunakan butiran kaca sehingga seluruh fibrin (produk hasil proses pembekuan darah) akan melekat pada butiran kaca tersebut.
3. Menggunakan peralatan yang dilapisi dengan silikon. Lapisan silikon berfungsi mencegah aktivitas faktor koagulasi XII dan mencegah adhesi trombosit.

Dari ketiga cara yang sudah disebutkan diatas, yang lazim dilakukan adalah dengan menambahkan antikoagulan, karena lebih mudah dilakukan lebih hemat waktu dan hasil pemeriksaan lebih akurat dibandingkan penggunaan kedua cara lainnya. Aktivitas zat antikoagulan pada dasarnya adalah pangan mengikat atau mendapatkan ion kalsium (Ca). ion kalsium adalah salah satu faktor pembekuan (faktor IV) tanpa kalsium pembekuan tidak terjadi pada akan menghambat pembentukan trombin. Trombin adalah enzim yang berperan dalam perubahan fibrinogen menjadi fibrin (kiswari, 2014).

### **2.5.1 Jenis-jenis Antikoagulan**

Agar darah yang akan diperiksa jangan sampai membeku dapat dipakai bermacam-macam antikoagulan tidak semua macam antikoagulan dapat dipakai karena ada yang terlalu banyak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit atau leukosit yang akan diperiksa morfologinya. Yang dapat dipakai ialah:

1. EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetate*), sebagai garam natrium atau kaliumnya. Garam-garam itu mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap bentuk leukosit. Selain itu, EDTA mencegah trombosit bergumpal, karena itu EDTA sangat baik dipakai sebagai antikoagulan pada hitung trombosit. Tiap 1 mg EDTA menghindari membekunya 1 mL darah.

2. Heparin beraya seperti antitrombin, tidak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit dan leukosit. Dalam praktek sehari-hari heparin kurang banyak dipakai karena mahal harganya. Tiap 1 mg heparin menjaga membekunya 10 mL darah. Heparin boleh dipakai sebagai larutan atau dalam bentuk kering.
3. Natrium sitrat dalam larutan 3,8% yaitu larutan yang isotonic dengan darah. Dapat dipakai untuk beberapa macam percobaan hemoragik dan untuk laju endapan darah cara wastergren.

Campuran amoniumoxalat dan kaliumoxalat menurut Paul dan Heller yang juga dikenal sebagai campuran oxalate seimbang dipakai dalam keadaan kering agar tidak mengencerkan darah yang diperiksa. Jika memakai amoniumoxalat tersendiri eritrosit-eritrosit membengkak, kaliumoxalat tersendiri menyebabkan mengerut. Campuran kedua garam itu dalam perbandingan 3:2 tidak berpengaruh terhadap besarnya eritrosit (tetapi berpengaruh terhadap morfologi leukosit) (Gandosoebrata, 2010).

Berikut perhitungan pengenceran antikoagulan :

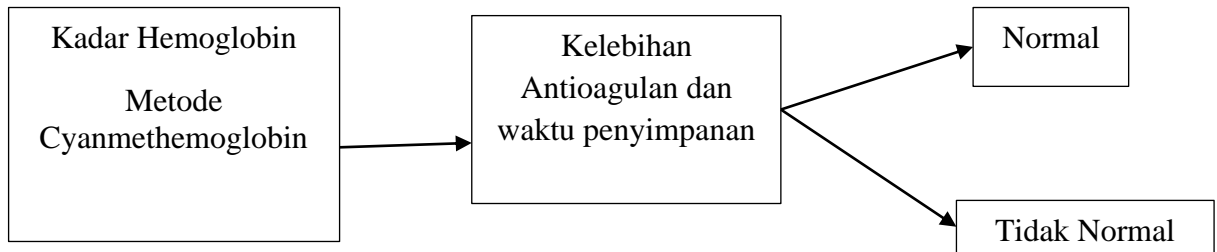
10g EDTA serbuk dalam 100ml aquadest adalah 10%

1ml EDTA cair = 0,1g EDTA serbuk

1ml EDTA cair = 100mg (1ml = 1000  $\mu$ L)

Artinya adalah 10  $\mu$ L EDTA cair = 1mg EDTA serbuk

## 2.6 Kerangka Konsep



**Gambar 2.2** Kerangka Konsep