

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

Darah merupakan sebuah jaringan cair yang berupa plasma darah (cairan interseluler, 55%) yang mengandung sel-sel darah di dalamnya (unsur padat, 45%). Volume darah pada setiap tubuh manusia berkisar 1/12 dari berat badan. Secara fisiologis dapat dikatakan bahwa volume darah bersifat tetap (homeostatis) dan diatur oleh tekanan osmotik koloid protein dalam plasma dan jaringan. Komposisi Darah adalah cairan kompleks yang mengandung banyak zat. Secara makroskopis, darah tampak seperti cairan yang homogen, halus, agak kental, dan berwarna merah (karena adanya sel darah merah) (Siswangto, 2017). Secara mikroskopis, darah terdiri dari dua komponen cairan utama menurut Siswangto (2017), yaitu:

1. Bagian cair (plasma darah) (55-60% dari total volume darah).
2. Bagian padat (sel atau sel darah) (40-45%) mengandung sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit).

Fungsi utama darah menurut Siswangto (2017), antara lain:

1. Sebagai alat transportasi, misalnya:
 - a. Mengangkut dan mengantarkan makanan (nutrisi) dan bahan kimia dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh yang membutuhkannya.
 - b. Untuk menyalurkan oksigen yang berasal dari paru-paru ke jaringan tubuh.
 - c. Mengangkut produk sisa metabolisme dan karbon dioksida dari jaringan ke organ ekskresi seperti ginjal dan paru-paru.
 - d. Transportasi sekresi endokrin (hormon) dan enzim dari organ ke organ.
2. Menjaga keseimbangan air tubuh, sehingga kadar air tubuh tidak terlalu tinggi/rendah (homeostatis).
3. Menjaga suhu tubuh karena darah memiliki panas spesifik yang tinggi.
4. Mengatur pH (keseimbangan asam-basa) tubuh dengan mengatur konsentrasi ion hidrogen.

5. Sebagai alat pelindung tubuh terhadap mikroorganisme (leukosit/sel darah putih). Pada hakikatnya darah berperan mengatur lingkungan dalam atau matriks cairan padat dan ini disebut homeostatis (Siswangto, 2017).

2.2 Eritrosit

Istilah lain untuk eritrosit adalah sel darah merah. Sel eritrosit memiliki bentuk bulat dan pipih dengan cekungan di tengahnya (bikonkaf) dan tidak memiliki inti. Saat dilihat di bawah mikroskop, eritrosit berwarna merah muda. Diameter eritrosit berkisar antara 5,0-7,34 mikron dan ketebalannya di bagian terluas mencapai 2,5 mikrometer, sedangkan pada bagian tengah hanya sekitar 1 mikrometer atau kurang. Rata-rata volume sel darah merah adalah 90-95 mikrometer kubik. Bentuk sel darah merah dapat berubah ketika melewati kapiler (Prasetyaningsih, 2019).

Fungsi utama eritrosit adalah sebagai pengangkut hemoglobin untuk membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh. Selain itu, eritrosit juga memiliki fungsi lain, seperti mengandung banyak karbonik anhidrase yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi antara karbon dioksida dan air menjadi beberapa ribu kali lipat. Reaksi ini memungkinkan air dalam darah bereaksi dengan karbon dioksida dan membentuk ion bikarbonat (HCO_3^-) yang kemudian diangkut dari jaringan ke paru-paru (Prasetyaningsih, 2019).

Karakteristik sel darah merah memungkinkannya untuk menjalankan tugasnya sebagai pembawa oksigen dengan efektif. Ukuran sel yang kecil memudahkan pertukaran gas, sedangkan ketiadaan nukleus memberikan ruang tambahan untuk hemoglobin, protein penting dalam transpor oksigen. Sel darah merah juga tidak memiliki mitokondria, sehingga tidak menggunakan oksigen yang dibawanya, melainkan hanya membawanya dan memberikannya kepada jaringan yang membutuhkan (Prasetyaningsih, 2019).

Sel darah merah adalah contoh struktur komplemen dengan fungsi yang luar biasa. Sel darah merah mengambil oksigen dari pembuluh darah kecil di paru-paru dan melepaskannya ke sel-sel jaringan di pembuluh darah kecil lain di seluruh tubuh. Sel darah merah juga membawa sekitar 20% karbon dioksida yang

dilepaskan oleh sel-sel jaringan kembali ke paru-paru. Sel darah merah merupakan faktor utama yang berkontribusi terhadap kekentalan darah. (Prasetyaningsih, 2019).



Gambar 1. Eritrosit pada Sediaan Apus Darah Tepi
(Dosen Teknologi Laboratorium Medik Indonesia, 2019)

2.3 Leukosit

Sel leukosit, atau sel darah putih, merupakan sel yang membentuk bagian dari komponen darah. Sel ini tidak berpigmen, memiliki inti, dan mampu bergerak secara ameboid serta menembus dinding kapiler melalui diapedesis. Meskipun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan sel darah merah, yaitu hanya sekitar 1% dari sel yang ada dalam darah, sel-sel darah putih dibentuk di dalam sumsum tulang, limpa, nodus limfa, dan jaringan retikulo endotelium. Ukurannya lebih besar daripada sel darah merah dan memiliki nukleus serta mitokondria di dalamnya (Prasetyaningsih, 2019).

Berdasarkan penampakannya di mikroskop, sel darah putih digolongkan menjadi 2 kelompok, yaitu granulosit (bergranula) dan agranulosit (tidak bergranula), sebagai berikut :

1. Granulosit, yang juga dikenal sebagai polimorfonuklear, adalah jenis sel darah putih yang memiliki granula di sitoplasmanya. Kelompok ini terdiri dari basofil, eosinofil, dan neutrofil. Granulosit adalah komponen terbesar dari sel darah putih dan memiliki kemampuan fagositosis. Sekitar 75% dari sel darah putih adalah granulosit dan dibentuk di sumsum tulang belakang. Basofil memiliki granula biru besar yang mengandung heparin (antikoagulan) dan histamin. Eosinofil memiliki granula merah jingga, bersifat ameboid, dan

fagositik. Neutrofil memiliki granula halus dan berwarna biru. Jumlah eosinofil akan meningkat selama reaksi alergi, sementara jumlah neutrofil akan meningkat saat terinfeksi oleh bakteri.

2. Agranulosit adalah jenis sel darah putih yang memiliki satu lobus sel dan tidak memiliki granula dalam sitoplasmanya. Agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit. Monosit adalah jenis fagosit yang efektif dan dapat bergerak secara aktif. Sementara itu, limfosit berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan tidak dapat bergerak.

Secara keseluruhan, leukosit berperan dalam sistem pertahanan seluler dan humoral tubuh terhadap benda asing. Sel darah putih ini dapat melakukan gerakan ameboid dan diapedesis untuk keluar dari kapiler dan masuk ke dalam jaringan (Prasetyaningsih, 2019).

2.3.1 Basofil

Secara umum, basofil memiliki bentuk seperti huruf S dengan ukuran diameter sekitar 12 μm . Selain itu, basofil memiliki inti yang besar dan tidak beraturan yang hanya terdiri dari satu bagian. Sitoplasma basofil diisi dengan granula besar yang kasar dan berwarna ungu kebiruan. Granula basofil memiliki bentuk yang tidak teratur dan sering menutupi inti. Jumlah basofil dalam darah sekitar 0-1% dari total jumlah leukosit (Prasetyaningsih, 2019). Gambar 2. menunjukkan gambaran mikroskopis basofil.



Gambar 2. Basofil pada Sediaan Apus Darah Tepi
(Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 10-14
Inti sel	: Ungu muda, biasanya dua lobus dihubungkan oleh filamen tipis
Sitoplasma	: Lavender sampai tidak berwarna

Granula	: Lavender ke ungu tua, biru kehitaman, Tidak sama besar, menutupi inti
Kromatin	: Menggumpal kasar
Darah Tepi (%)	: 0-1

Sel darah Basofil jarang terlihat di dalam darah normal. Namun, Basofil merupakan sel utama yang dapat ditemukan pada area peradangan. Oleh karena itu, Basofil dikenal sebagai hipersensitivitas kulit. Basofil yang menunjukkan kaitannya dengan sistem kekebalan tubuh. Ketika terjadi proses peradangan, Basofil akan menghasilkan senyawa kimia seperti heparin, histamin, bradikinin, dan serotonin. Basofil memainkan peran penting dalam reaksi hipersensitivitas yang terkait dengan imunoglobulin E (IgE) (Prasetyaningsih, 2019).

2.3.2 Eosinofil

Sel eosinofil memiliki inti yang umumnya berlobus dua, granula berbentuk ovoid, dan memiliki diameter sekitar 9 μm (sedikit lebih kecil dari neutrofil). Saat diwarnai dengan giemsa, granula eosinofil akan terlihat berwarna ungu kejinggaan. Granula ini mengandung fosfatase asam, katepsin, ribonuklease, tetapi tidak mengandung lisozim. Eosinofil adalah bagian dari sel leukosit yang bergerak secara ameboid untuk memfagositosis bakteri atau benda asing lainnya yang memasuki tubuh, meskipun gerakannya tidak secepat neutrofil. Jumlah eosinofil dalam darah sekitar 1-4% dari total leukosit (Prasetyaningsih, 2019). Contoh bentuk eosinofil dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Eosinofil pada Sediaan Apus Darah Tepi (Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 12-17
Inti sel	: Ungu tua, 2-3 lobus dihubungkan dengan filamen tanpa kromatin
Sitoplasma	: Krem kemerah-mudaan

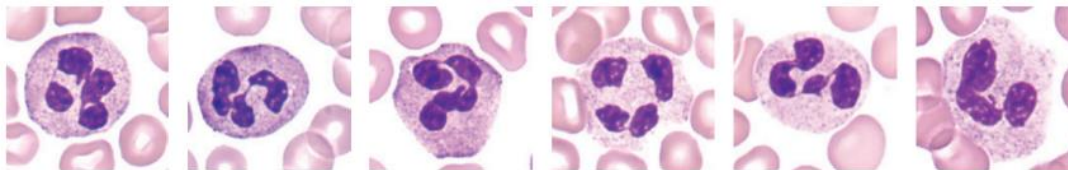
Granula : Banyak, Merah ke orange, Bulat
Kromatin : Menggumpal, Kasar
Darah Tepi (%) : 0-5

Eosinofil mempunyai peranan dalam melaksanakan fagositosis yang selektif terhadap gabungan antigen-antibodi. Eosinofil mengandung profibrinolisin dan diduga berfungsi untuk menjaga agar darah terhindar dari proses pembekuan, terutama jika terdapat perubahan keadaan yang tidak normal akibat proses patologis. Kortikosteroid akan memicu penurunan jumlah eosinofil darah secara cepat (Prasetyaningsih, 2019).

2.3.3 Neutrofil

Sel darah putih yang disebut neutrofil memiliki ukuran sekitar 12 μm dengan satu inti dan biasanya memiliki 2-5 lobus. Di dalam sitoplasmanya terdapat banyak granula halus yang akan terlihat keunguan saat diwarnai dengan Giemsa. Granula pada neutrofil terdiri dari azurofilik yang mengandung lisozim dan peroksidase, serta granula spesifik yang mengandung fosfatase alkali dan fagositin. Selain itu, neutrofil juga mengandung sedikit granula glikogen dan memiliki mitokondria dengan aparatus golgi yang rudimenter. Gambar 4. menunjukkan bentuk neutrofil. Sel ini dibentuk di sumsum tulang dan dikeluarkan ke dalam sirkulasi darah. Jumlah neutrofil paling banyak di antara jenis leukosit lainnya, yaitu sekitar 60-70% dari seluruh leukosit (Prasetyaningsih, 2019).

Neutrofil berfungsi sebagai garda terdepan dalam sistem kekebalan seluler untuk melawan invasi mikroorganisme dan memfagosit partikel-partikel kecil secara aktif. Granula azurofilik pada neutrofil mengandung asam amino D oksidase yang penting dalam proses pengenceran dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Selama proses fagositosis, peroksidase dibentuk. Mieloperoksidase, yang terdapat dalam neutrofil, berikatan dengan peroksida dan halida, kemudian bekerja pada molekul tirosin pada dinding sel bakteri untuk menghancurkannya (Prasetyaningsih, 2019).



Gambar 4. Neutrofil Segmen pada Sediaan Apus Darah Tepi (Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 10-15
Inti sel	: Ungu kemerah-mudaan, 2-5 lobus dihubungkan oleh filamen tipis
Sitoplasma	: Merah muda pucat, krem, atau tidak berwarna
Granula	: Sedikit, berlimpah
Kromatin	: Menggumpal kasar
Darah Tepi (%)	: 50-70



Gambar 5. Neutrofil Batang pada Sediaan Apus Darah Tepi (Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 10-15
Inti sel	: Ungu kemerah-mudaan, Terbatas, kromatin terlihat di bagian tertipis
Sitoplasma	: Biru pucat menjadi merah muda
Granula	: Sedikit, berlimpah
Kromatin	: Menggumpal kasar
Darah Tepi (%)	: 0-5

2.3.4 Limfosit

Dengan menggunakan zat warna, limfosit terlihat memiliki inti besar yang berwarna ungu dan menempati sebagian besar volume sel. Biasanya, inti berbentuk bulat, meskipun ada beberapa cekungan, dan dikelilingi oleh lapisan tipis sitoplasma berwarna biru pucat. Diameter limfosit berkisar antara 5-17 μm , tetapi

sering diklasifikasikan berdasarkan ukurannya, yaitu kecil (5-8 μm), sedang (10-12 μm), dan besar (14-17 μm). Meskipun limfosit besar ada dalam tubuh, hanya sedikit yang dapat ditemukan dalam aliran darah (sebagian besar adalah limfosit kecil). Sel limfosit yang normal memiliki inti yang relatif besar, bulat, sedikit cekung di satu sisi, kromatin inti yang padat, sitoplasma yang sangat sedikit, mengandung granula azurofilik, dan sedikit basofilik (Prasetyaningsih, 2019).

Sel limfosit tidak memperlihatkan gerakan mirip ameba dan tidak dapat menyerap bakteri. Walaupun demikian, sel tersebut berfungsi dalam menghasilkan antibodi yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh terhadap infeksi. Berdasarkan ukurannya, sel limfosit terbagi menjadi beberapa tipe, seperti:

1. *Resting lymphocyte*. Biasanya berukuran kecil (7-10 μm), inti selnya berbentuk bulat atau oval.
2. *Reactive lymphocyte*. Ukuran selnya paling besar apabila terjadi infeksi, misalnya mononukleosis.
3. *Large granular lymphocyte*. Berukuran sedang dan mengandung granula kasar azurofilik. Limfosit ini berperan sebagai sel natural killer (NK) imunologi.

Sel limfosit terbentuk di kelenjar limfe dan sumsum tulang. Sekitar 20-30% dari sel leukosit adalah limfosit. Kondisi di mana jumlah limfosit meningkat disebut limfositosis. Namun, jumlah sel limfosit akan menurun seiring bertambahnya usia. Pada saat lahir, tubuh manusia memiliki sekitar 5% limfosit. Namun, pada usia yang lebih tua, kemampuan tubuh untuk memproduksi limfosit akan menurun, sehingga kekebalan tubuh juga akan menurun (Prasetyaningsih, 2019).

Limfosit beredar terutama dari timus dan organ limfoid perifer seperti limpa, nodus limfe, tonsil, dan lainnya. Kemungkinan besar, semua sel pregenitor limfosit berasal dari sumsum tulang. Beberapa limfosit mengalami diferensiasi dengan bermigrasi ke timus dan memperbanyak diri di sana, di mana sel-sel tersebut memperoleh sifat limfosit T. Sel T kemudian kembali ke aliran darah, sumsum tulang, atau organ limfoid perifer, dan dapat hidup selama beberapa bulan atau bahkan beberapa tahun. Sel T bertanggung jawab atas reaksi imunitas seluler dan memiliki reseptor permukaan yang spesifik untuk mengenali antigen asing

(Prasetyaningsih, 2019).

Sel limfosit lainnya tetap tidak bergerak dari sumsum tulang dan mengalami diferensiasi menjadi limfosit B. Sel B kemudian berkembang di dalam kompartemennya sendiri. Tugas dari sel B adalah memproduksi antibodi humoral yang dapat beredar dalam peredaran darah dan secara khusus mengikat antigen asing. Hal ini membuat antigen asing tersebut dilapisi oleh antibodi dan meningkatkan fagositosis, lisis sel, dan aktivitas sel pembunuh (killer cell atau sel K) terhadap organisme penyerang (Prasetyaningsih, 2019).

Perbedaan antara sel T dan sel B hanya dapat dilihat secara morfologis ketika keduanya diaktifkan oleh antigen. Sel plasma merupakan tahap akhir pada proses diferensiasi sel B yang sudah diaktifkan. Sel plasma memiliki retikulum endoplasma kasar yang penuh dengan molekul-molekul antibodi. Sedangkan, sel T yang diaktifkan memiliki sedikit endoplasma yang kasar, tetapi penuh dengan ribosom bebas (Prasetyaningsih, 2019).



Gambar 6. Limfosit pada Sediaan Apus Darah Tepi (Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 7-18
Inti sel	: Ungu kebiruan, Bulat ke oval, menjorok pada nukleus sesekali
Sitoplasma	: Biru langit, Sedikit hingga sedang
Granula	: Sedikit azurofilik
Kromatin	: Terkondensasi menjadi sangat kental
Darah Tepi (%)	: 20-40

2.3.5 Monosit

Sel leukosit terbesar disebut Monosit. Monosit berdiameter 9-10 μm , namun bisa mencapai 20 μm atau lebih pada darah yang dikeringkan. Inti Monosit biasanya tidak beraturan, terdapat lekukan kromatin dengan bentuk tapal kuda,

tersusun fibriler, dan terdapat azurofilik yang kurang padat. Monosit dapat ditemukan di dalam darah, jaringan penyambung, dan rongga tubuh. Jumlah Monosit mencapai 3-8% dari total sel leukosit (Prasetyaningsih, 2019).

Monosit termasuk dalam sistem retikuloendotel dan memiliki reseptor di permukaan membrannya untuk imunoglobulin dan komplemen. Monosit beredar di seluruh tubuh melalui aliran darah, menembus dinding kapiler, dan masuk ke jaringan penyambung. Di dalam jaringan, Monosit berinteraksi dengan limfosit dan memainkan peran penting dalam pengenalan dan interaksi sel-sel imunokompeten dengan antigen (Prasetyaningsih, 2019).



Gambar 7. Monosit pada Sediaan Apus Darah Tepi
(Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 12-20
Inti sel	: Warna Ungu muda, Bentuk variabel, Kadang bulat, tapal kuda, berbentuk ginjal, sering memiliki lipatan yang menghasilkan “mirip otak”
Sitoplasma	: Biru keabu-abuan
Granula	: Banyak, butiran halus
Kromatin	: Cukup menggumpal
Darah Tepi (%)	: 3-11

2.4 Trombosit

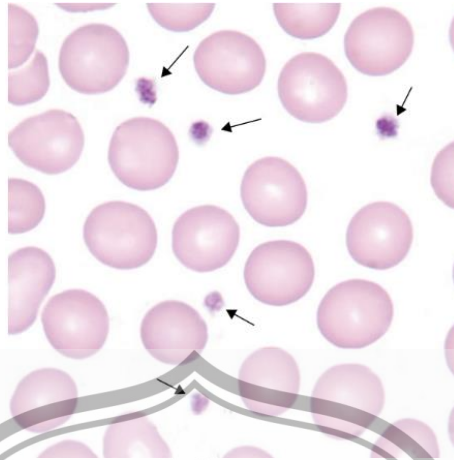
Platelet, yang juga dikenal sebagai trombosit atau keping darah, merupakan fragmen sitoplasma dari megakariosit yang tidak memiliki inti dan terbentuk di sumsum tulang. Ukuran trombosit matang adalah 2-4 μm . Secara morfologi, trombosit berbentuk bulat dengan garis tengah sebesar 0,75-2,25 μm dan berbentuk cakram bikonveks, dengan volume 5-8 fl. Sebagian trombosit, yaitu sekitar 20-30%, mengalami sekuestrasi di limpa setelah keluar dari sumsum tulang

(Prasetyaningsih, 2019).

Fungsi utama trombosit adalah sebagai penutup luka pada cedera vaskular. Ini adalah respons hemostatik normal saat terjadi cedera vaskular akibat kebocoran darah melalui pembuluh darah kecil. Trombosit memiliki tiga fungsi, yaitu pelekatan (adhesi), penggumpalan (agregasi), dan reaksi pelepasan. Fungsi trombosit juga berhubungan dengan pertahanan tubuh, namun tidak terhadap benda atau sel asing. Trombosit berfungsi dalam mempertahankan keutuhan jaringan tubuh apabila terjadi luka. Dalam proses penutupan luka, trombosit membantu mencegah kehilangan darah dan melindungi tubuh dari invasi benda atau sel asing (Prasetyaningsih, 2019).

Trombosit mengumpul (agregasi) di tempat luka untuk membantu menutup luka secara fisik. Beberapa trombosit akan pecah dan melepaskan isinya, yang berfungsi untuk memanggil trombosit dan sel-sel leukosit dari tempat lain. Isi trombosit yang rusak juga aktif dalam mempercepat proses pembekuan darah sehingga luka kemudian ditutupi oleh bekuan darah yang terbentuk itu (Prasetyaningsih, 2019).

Dalam proses hemostasis, trombosit menghasilkan senyawa tertentu yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah, mempertahankan kekuatan pembuluh darah (daya tahan kapiler, kontraksi kapiler), berfungsi sebagai fagosit (pertahanan non-spesifik), sebagai alat transportasi zat tertentu, melindungi dinding dalam pembuluh darah, sebagai sumber pembentukan protrombin, pembekuan darah, dan penyusutan bekuan darah (Prasetyaningsih, 2019).



Gambar 8. Trombosit pada Sediaan Apus Darah Tepi
(Rodak & Carr, 2013)

Ukuran sel (μm)	: 2-3
Inti sel	: NA
Sitoplasma	: Ungu
Darah Tepi (%)	: 7-25 per 100x lapangan pandang

2.5 Sediaan Apus Darah Tepi

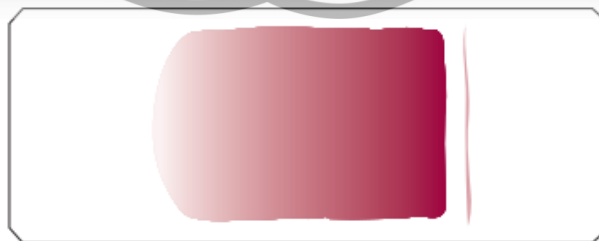
Pemeriksaan apusan darah tepi adalah bagian yang terpenting berdasarkan rangkaian pemeriksaan hematologi. Keunggulan spesifik apusan darah tepi adalah bisa menilai banyak sekali unsur sel misalnya morfologi sel (eritrosit, leukosit, trombosit), memilih jumlah trombosit dan mengidentifikasi adanya parasit. Sediaan apusan darah tepi yang baik secara makroskopis dan mikroskopis sangat berpengaruh pada menilai keberhasilan pembuatan apusan darah tepi. Bentuk dan tampilan preparat adalah hal penting yang wajib diperhatikan pada pembuatan apusan darah tepi, supaya memungkinkan buat mengusut keadaan sel darah. Sediaan apusan darah hendaknya cepat mengering dalam kaca obyek, sediaan yang lambat mengering akan mengakibatkan perubahan dalam morfologi eritrosit. Pengeringan yang normal yaitu preparat apusan darah dibiarkan kering di udara lalu dilakukan pewarnaan (Yuliarti, 2021).

Tujuan dilakukannya pewarnaan dalam preparat apusan darah tepi yaitu supaya memudahkan pada melihat banyak sekali jenis sel dan pula pada mengevaluasi morfologi berdasarkan sel-sel tersebut (Ardina, 2018).

2.5.1 Ciri Apusan Darah Tepi yang Baik

Ciri sediaan apus yang baik meliputi:

1. Sediaan tidak melebar sampai tepi kaca objek, panjang 2 - 2/3 panjang kaca.
 2. Terdapat bagian yang cukup tipis untuk diperiksa; pada bagian itu, eritrosit tersebar merata, berdekatan, dan tidak saling bertumpuk.
 3. Ketebalan apusan berangsur-angsur menipis, dari kepala ke arah ekor, tidak berlubang-lubang, tidak terputus-putus, tidak terlalu tebal, dan pewarnaannya baik.
 4. Pada bagian kepala, eritrosit tampak saling bertumpukan; pada bagian badan, eritrosit terdistribusi secara merata dan struktur tiga dimensi mudah untuk diamati; sedangkan pada bagian ekor, eritrosit tersebar, tetapi struktur tiga dimensi sulit untuk diamati.
 5. Sisi pinggir sediaan terlihat rata, tidak berlubang, dan tidak bergaris-garis.
 6. Penyebaran leukosit baik, tidak berkumpul di sisi pinggir atau ujung sedimen.
- Syarat-syarat untuk membuat apusan darah yang bagus meliputi penggunaan kaca objek yang bersih, kering, dan tidak berlemak. Apusan yang baik harus memiliki ketebalan yang memadai dan harus bergradasi dari kepala (awal) sampai ekor (akhir). Zona morfologi sebaiknya tidak lebih dari 5 cm. Kaca preparat sering digunakan untuk menempelkan sampel darah yang diambil dari lokasi yang jauh. Selanjutnya, apusan darah ini akan diproses, diperiksa, dan disimpan atau dicuci kembali. Oleh karena itu, sangat penting untuk menggunakan kaca preparat yang berkualitas dan baik (Prasetyaningsih, 2019).

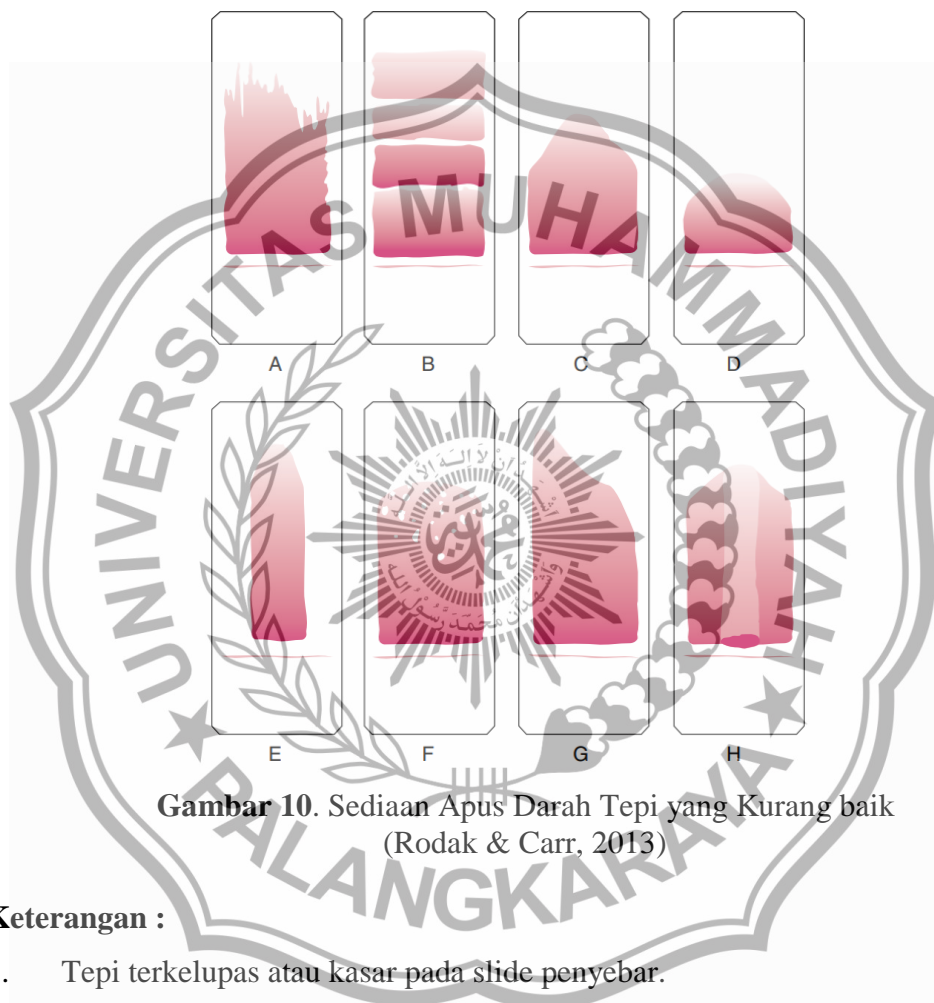


Gambar 9. Sediaan Apus Darah Tepi yang baik (Rodak & Carr, 2013)

2.5.2 Sediaan Apusan Darah Tepi yang Kurang Baik

Sediaan apus darah tepi yang tidak dapat diterima. Tampilan slide terkait dengan kesalahan yang paling umum ditampilkan, tetapi perhatikan bahwa kombinasi penyebab mungkin menyebabkan sediaan yang tidak dapat diterima.

Ada beberapa contoh sediaan apusan darah yang kurang baik, seperti berikut:



Gambar 10. Sediaan Apus Darah Tepi yang Kurang baik (Rodak & Carr, 2013)

Keterangan :

1. Tepi terkelupas atau kasar pada slide penyebar.
2. Ragu-ragu dalam gerakan maju slide penyebar.
3. Slide penyebar didorong terlalu cepat.
4. Setetes darah terlalu kecil.
5. Setetes darah tidak bisa menyebar ke seluruh lebar slide.
6. Kotoran atau minyak pada slide; juga dapat disebabkan oleh peningkatan lipid dalam spesimen darah.
7. Tekanan tidak rata pada slide penyebar.
8. Waktu tunda; setetes darah mulai mengering.

2.6 Pewarnaan Apusan Darah Tepi dengan Giemsa

Terdapat lima jenis pewarnaan pada preparat darah tepi menurut Romanowsky, yakni pewarnaan Wright, Lieshman, Jenner, May-Grunwald, dan Giemsa. Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan diambil dari darah vena atau darah kapiler, kemudian diaplikasikan pada objek kaca (Wuan, 2019).

1. Metode Grundwald-giemsa (MGG)

Pewarnaan Azure Eosin Methylene Blue, yang juga dikenal sebagai May-Grunwald-Giemsa (MGG) dan Giemsa, digunakan dalam teknik pewarnaan untuk sediaan darah, sumsum tulang, sedimen urine, dan sputum. Metode MGG memungkinkan pengamatan morfologi jamur, bakteri, parasit, dan sel darah. Salah satu kekurangan dari reagen Giemsa dalam MGG adalah mudah terkontaminasi dan rusak. Oleh karena itu, Giemsa harus disaring dengan kertas saring sebelum digunakan agar memberikan hasil yang optimal. Keuntungan lain dari metode pewarnaan MGG adalah sediaan dapat disimpan dan digunakan untuk tujuan pembelajaran (Wuan, 2019).

2. Metode Lieshman

Pewarnaan Leishman dianggap sebagai alternatif bagi pewarnaan Giemsa dalam mengenali parasit malaria. Selain itu, pewarnaan Leishman dapat diterapkan untuk mengamati bentuk sel dan dikatakan lebih efektif dalam memvisualisasikan morfologi sel, termasuk sel darah putih. Menurut penelitian oleh Fasakin (2014), pewarnaan Leishman dianggap sebagai pilihan utama dalam mewarnai sel darah, terutama dalam melakukan analisis jenis leukosit, karena proses pewarnaannya lebih cepat dibandingkan dengan pewarnaan Giemsa (Wati, 2021).

Menurut riset Wati (2021), hasilnya menyatakan bahwa pewarnaan Leishman lebih efektif dibandingkan dengan pewarnaan Giemsa dalam mewarnai sediaan apus darah tipis. Keuntungan dari hal tersebut termasuk kemudahan dalam prosedur pewarnaan, waktu pewarnaan yang singkat (dengan total waktu sekitar 9-22 menit), dan hasil pewarnaan yang optimal pada semua aspek sediaan apus darah tipis, seperti morfologi sel darah merah,

nukleus dan sitoplasma sel darah putih, dan parasit malaria (Wati, 2021).

3. Metode Jenner

Pewarnaan Jenner dapat menggantikan pewarnaan May-Grunwald dengan teknik yang dijelaskan di atas. Namun, hasilnya sedikit kurang memuaskan. Untuk melakukan pewarnaan Jenner, warna dicampur dengan 4 volume air buffer dan film, kemudian difiksasi dengan metanol sebelum direndam dalam larutan pewarnaan Jenner selama sekitar 4 menit. Setelah itu, sampel dipindahkan ke dalam pewarnaan Giemsa dan dibiarkan menodai selama 7-10 menit. Diferensiasi dilakukan sesuai dengan metode yang telah dijelaskan sebelumnya (Bain, 2019).

4. Metode Wright

Metode *wright* merupakan warna yang dipakai dalam teknik Romanowsky. warna ini terdiri dari campuran eosin Y, azur B, biru metilen, dan metil I alkohol dalam konsentrasi yang tinggi. Langkah awal, sampel diberi warna *wright* secara langsung, kemudian diikuti oleh penyangga dengan pH 6,4 dan dibiarkan selama 15-20 menit. Kemudian, sampel dicuci dengan *aquadest* untuk menghilangkan residu warna. Setelah selesai, sediaan apusan diamati secara mikroskopis dengan perbesaran 100x (Wuan, 2019).

Sediaan apus yang telah dibiarkan mengering tidak memerlukan perlakuan khusus karena sudah mengandung metil alkohol dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Pewarna *wright* sebaiknya tidak dikeringkan pada sampel karena sulit untuk dihilangkan tanpa merusak struktur sampel (Wuan, 2019).

Keunggulan dari teknik pewarnaan *wright* adalah kemampuannya dalam memperjelas gambaran plasma dan inti sel. Hal ini disebabkan oleh kandungan pewarna *wright* yang terdiri dari biru metilen yang mampu memberikan warna biru pada inti sel (nukleus) yang mengandung DNA, sedangkan eosin dapat memberikan warna merah pada sitoplasma. Namun, kelemahan dari teknik pewarnaan *wright* adalah ketidakmampuannya dalam bertahan lama di iklim tropis (Wuan, 2019).

5. Metode Giemsa

Giemsa merupakan pigmen yang terdiri dari eosin, metilen azur, dan metilen biru yang memberikan warna merah muda pada sitoplasma serta warna biru pada inti sel leukosit. Ketiga pigmen ini diencerkan dengan metil alkohol dan gliserin, kemudian dimasukkan ke dalam botol cokelat yang dikenal sebagai larutan giemsa stok dengan pH 7 (Wuan, 2019).

Sebelum digunakan untuk mewarnai sel darah, Giemsa stock perlu diencerkan terlebih dahulu. Zat warna giemsa akan larut selama 40-90 menit dengan menggunakan air, *aquadest*, atau larutan buffer. Setelah itu, semua zat warna akan mengendap dan sebagian kecil akan muncul di permukaan membentuk lapisan tipis seperti minyak. Oleh karena itu, air harus dihindari agar giemsa tidak terkontaminasi (Wuan, 2019). Menurut WHO (2016), pewarna giemsa terbaru yang dibuat dari stok yang disiapkan dengan baik dan diencerkan dengan buffer hingga pH 7,2 direkomendasikan untuk mencapai pewarnaan sediaan apus darah yang optimal. Pewarna giemsa yang diperoleh untuk program nasional telah distandarisasi untuk mengurangi penyesuaian yang sering dilakukan pada SOP. Pewarna giemsa dengan cepat menyerap uap air di udara atau saat giemsa diencerkan dengan deionisasi, *aquadest* atau segala bentuk air (asalkan tidak terlalu asam atau terlalu basa), giemsa akan cepat kehilangan sifat pewarnaannya, sehingga apabila giemsa sudah diencerkan maka harus segera digunakan dan tidak dapat digunakan berulang (WHO, 2016).

Di Indonesia, pewarnaan yang generik dipakai adalah pewarnaan giemsa, karena giemsa lebih tahan pada iklim tropis. Beberapa klinik pula memakai pewarna *wright* pada mewarnai apusan darah tepi. Terkadang pewarnaan giemsa pula dikombinasikan menggunakan *wright*, dimana dibutuhkan kelebihan berdasarkan tiap-tiap zat pewarna giemsa dan *wright* mampu dihasilkan dan akan menghasilkan sediaan apus darah tepi lebih terlihat secara jelas pada mikroskopis dan pewarnaan tersebut menjadi lebih awet atau tidak pudar (Ardina, 2018).

2.7 Larutan Pengencer

Larutan diartikan sebagai campuran yang homogen antara dua macam zat ataupun lebih. Larutan terdiri dari pelarut dan zat sebuah yang terlarut. Umumnya zat terlarut jumlahnya lebih kecil dibandingkan pelarut. Sedangkan pelarut bisa berupa air ataupun cairan organik seperti metanol, etanol, aseton dan lain-lain.

Larutan pengencer adalah larutan untuk penurunan konsentrasi sebuah larutan dengan menambahkan zat pelarut seperti air ke dalam larutan yang pekat untuk menurunkan konsentrasi sebuah larutan tersebut dari yang semula pekat akan menjadi lebih encer yang berguna untuk keperluan Laboratorium. Pengenceran pada prinsipnya hanya menambahkan pelarut saja, sehingga jumlah mol zat terlarut sebelum pengenceran sama dengan jumlah mol zat terlarut sesudah pengenceran (Lopez).

2.7.1 Aquadest

Aquadest adalah air murni dengan asumsi hanya mengandung molekul-molekul H_2O tanpa penambahan unsur lain seperti ion. *Aquadest* berasal dari air hasil penyulingan, komposisinya murni H_2O , sedangkan air mineral tidak murni H_2O dan berbeda dengan air mineral. Bahkan *aquadest* tidak mengandung mineral. *Aquadest* berfungsi sebagai sebuah larutan pengganti *buffer phosphate* atau sebagai alternatif disaat minimnya stok *buffer phosphate* (Primasari, 2018).

Kelebihan dari *aquadest* dibandingkan *buffer phosphate* adalah lebih murah dan lebih mudah didapat (Pertananda, 2019). Menurut WHO (2016) pewarna giemsa dapat diencerkan oleh segala bentuk air seperti *aquadest* dan *aquabidest*.

2.7.2 Buffer Phosphate pH 7,2

Larutan penyangga adalah larutan yang dapat menjaga pH tertentu terhadap upaya mengubah pH, seperti penambahan asam basa atau pengenceran. Dengan kata lain, larutan penyangga pH tidak akan berubah meskipun sedikit asam kuat, basa kuat, atau ditambahkan ke dalamnya (Ortega, 2016).

Larutan pengencer *buffer phosphate* terdiri dari asam lemah dengan pH buffer sebesar 7,2 (Kemenkes RI, 2017). Fungsi dari larutan pengencer *buffer phosphate* yaitu untuk mempertahankan zat dalam keadaan pH saat jumlah kecil asam atau

basa saat dicampurkan pada larutan. Kegunaan *buffer phosphate* sebagai larutan ialah karena memiliki sifat isotonis serta mampu mempertahankan pH saat ion-ion hidrogen ditimbulkan atau saat larutan itu diencerkan dengan larutan penyangga (Sanyi, 2020).

