

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Karakteristik Darah

Darah adalah cairan yang terdapat pada semua makhluk hidup (kecuali tumbuhan) tingkat tinggi yang berfungsi mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme dan juga sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Karakteristik umum darah meliputi warna, viskositas, pH, volume dan komposisinya (Desmawati, 2013):

1. Warna

Darah arteri berwarna merah muda karena banyak oksigen yang berkaitan dengan hemoglobin dalam sel darah merah. Darah vena berwarna merah tua/gelap karena kurang oksigen dibandingkan dengan darah arteri.

2. Viskositas

Viskositas darah $\frac{3}{4}$ lebih tinggi dari pada viskositas air yaitu sekitar 1.048 sampai 1.066.

3. pH

pH darah bersifat alkaline dengan pH 7.35 sampai 7.45 (netral 7.00).

4. Volume

Pada orang dewasa volume darah sekitar 70 sampai 75 ml/kg BB, atau sekitar 4 sampai 5 liter darah.

5. Komposisi

Darah tersusun atas dua komponen utama yaitu :

- a. Plasma darah yaitu bagian cair darah (55%) yang sebagian terdiri dari 92% air, 7% protein, 1% nutrien, hasil metabolisme, gas pernapasan, enzim, hormon-hormon, faktor pembekuan dan garam-garam organik. Protein-protein dalam plasma terdiri dari serum albumin (alpha-1 globulin, alpha-2 globulin, beta globulin dan gamma globulin), fibrinogen, protombin, dan protein esensial untuk koagulasi. Serum albumin dan gamma globulin sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid dan gamma globulin juga mengandung antibodi (immunoglobulin) seperti IgM, IgG, IgA, IgD, dan IgE untuk mempertahankan tubuh terhadap mikroorganisme.
- b. Sel-sel darah/butir darah (bagian padat) kira-kira 45%, terdiri atas eritrosit atau sel darah merah, leukosit atau sel darah putih, dan trombosit atau *platelet*. Sel darah merah merupakan unsur terbanyak dari sel darah (44%) sedangkan sel darah putih dan trombosit 1%. Sel darah putih terdiri dari basofil, eusinofil, neutrofil, limfosit dan monosit.

B. Antigen dan Antibodi

Antigen adalah molekul yang bereaksi dengan antibodi / imunosit. Tidak harus membangkitkan respon imun. Imunogen adalah molekul yang membangkitkan respon imun. Hapten adalah molekul berukuran kecil, tidak imunogenik, dapat bereaksi dengan antibody yang timbul akibat stimulasi hapten

bersangkutan yang terikat molekul carrier. Epitop adalah bagian antigen yang bereaksi dengan antibodi (Marliana dan Widhyasih, 2018).

Antibodi (imunoglobulin) adalah molekul yang disintesis oleh sel B / sel plasma (bentuk *soluble* dari reseptor antigen pada sel B). Membran imunoglobulin merupakan reseptor antigen pada permukaan sel B. Secara fungsional antibodi adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antigen. Sedangkan paratop adalah bagian antibodi yang bereaksi dengan antigen. Antibodi mempunyai struktur dasar yang sama, terdiri atas fragmen Fab (yang mengikat antigen) dan Fc yang berinteraksi dengan unsur-unsur lain dari sistem imun yang mempunyai reseptor Fc. Berbentuk huruf Y, tersusun atas 2 rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (S-S). Heavy chain mempunyai berat molekul 50.000 dalton sedangkan light chain mempunyai berat molekul 25.000 dalton. Ada 5 jenis antibodi yaitu Ig M, Ig G, Ig A, Ig D dan Ig E (Marliana dan Widhyasih, 2018).

Interaksi antara antigen antibodi adalah penting dalam respon imun spesifik oleh karena itu, interaksi antigen antibodi *invitro* digunakan secara luas untuk diagnostik yaitu untuk deteksi identifikasi antigen atau antibodi. Reaksi antigen antibodi dalam serum secara *invitro* disebut serologi. Sebagai contoh penggunaan serologi adalah untuk identifikasi dan klasifikasi antigen pada serotyping pada variasi mikroorganisme menggunakan antisera spesifik. Interaksi antigen antibodi menghasilkan variasi presipitasi, aglutinasi dan aktivasi komplemen. Presipitasi, aglutinasi maupun aktivasi komplemen tidak terjadi jika antibodi (dua atau lebih combining site) bereaksi dengan hapten (unideterminan, univalen) atau interaksi

antara fragmen univalen pada antibody seperti Fab dengan antigen walaupun multivalent (Marliana dan Widhyasih, 2018).

C. Sistem Golongan Darah

Karl Landstainer menemukan sistem golongan ABO pertama kali pada tahun 1901. Karl Landstainer merupakan seorang ilmuwan berkebangsaan Austria yang menyatakan bahwa setiap individu memiliki karakteristik sistem golongan darah yang dikelompokkan menjadi golongan darah A, B, O. Kemudian pada tahun 1902 penelitian tersebut disempurnakan oleh Alfred Decastello dan Adriana Sturli, penemuan tersebut menunjukkan bahwa transfusi darah tidak boleh dilakukan pada dua orang dengan golongan darah berbeda (Maharani dan Noviar, 2018).

Sistem golongan darah ABO ditentukan oleh ada atau tidak adanya antigen (Ag) A dan atau antigen (Ag) B yang terekspresikan pada sel darah merah serta ada tidaknya antibodi (Ab) A dan atau B yang terdapat di dalam serum/plasma. Sistem golongan darah ABO terdiri atas 4 golongan darah yaitu golongan darah A, B, AB dan O. Individu dengan golongan darah A, pada sel darahnya terdapat antigen (Ag) A dan di plasmanya terdapat antibodi (Ab) B. Golongan darah B terdapat antigen B dan antibodi A. Golongan darah AB, terdapat antigen AB dan tidak terdapat antibodi A maupun B. Golongan darah O tidak mempunyai antigen A dan B, melainkan mempunyai antibodi A dan B (Maharani dan Noviar, 2018).

Antigen (Ag) pada sistem golongan darah ABO merupakan jenis antigen oligosakarida. Antigen pada sistem ABO merupakan produk dari ekspresi gen H, gen ABO dan gen Se. Gen H berada di lokus H (FUT 1) pada kromosom 19. Gen tersebut mengkode fukosil transferase yang memproduksi antigen H pada sel darah

merah. Antigen H merupakan prekursor / cikal bakal terbentuknya golongan darah ABO. Individu dengan antigen H mempunyai genotip HH dan Hh. Individu dengan genotip hh tidak mengkode fukosil transferase sehingga tidak memproduksi antigen H dan tidak bisa mengekspresikan antigen A dan B. Individu tersebut akan teridentifikasi sebagai golongan darah 'O' Bombay. Banyaknya antigen H pada sel darah merah yang diubah menjadi antigen A dan antigen B tergantung pada enzim glikosil transferase yang disintesis dari gen ABO (Maharani dan Noviar, 2018).

Sistem golongan darah Rh merupakan golongan darah utama selain ABO. Sistem golongan darah Rh merupakan jenis golongan darah dengan jumlah antigen yang cukup banyak. Lima jenis antigen yang utama adalah antigen D, C, E, c dan e. Antigen Rh dibawa oleh protein Rh (Rh-associated glycoprotein/RHAG), sehingga antigen dapat terekspresikan pada permukaan membrane eritrosit. Protein RhD mengekspresikan antigen D, sedangkan protein RhCcEe membawa antigen C/c atau E/e (Maharani dan Noviar, 2018).

Antigen pada sistem golongan darah ABO tidak hanya terdapat pada sel darah merah, melainkan juga bisa terdapat pada cairan tubuh dalam bentuk antigen terlarut. Gen yang mengkode jenis antigen ini adalah gen Se yang berada pada locus Se (FUT2) di kromosom 19. Gen Se mengkode fukosil transferase yang berperan pada produksi antigen H di cairan tubuh, seperti pada saliva / air liur. Ekspresi Antigen A dan B tergantung pada genotip A dan B. Individu dengan genotip Se/Se atau Se/se, disebut dengan sekretor, sedangkan individu dengan genotip se/se disebut dengan non sekretor dan tidak membentuk antigen A, B terlarut (Maharani dan Noviar, 2018).

Pada pemeriksaan golongan darah ABO, dapat ditemui hasil aglutinasi lemah antara sel darah merah yang direaksikan dengan reagen antisera (*forward grouping*) atau plasma yang direaksikan dengan reagen tes sel (*reverse grouping*). Hal ini dapat disebabkan karena antigen A dan B pada membran sel darah merah mempunyai jumlah sedikit. Berdasarkan reaksi serologi yang dihasilkan pada pemeriksaan golongan darah ABO, terdapat sub grup A dan sub grup B. Pada umumnya, sub grup diketahui dari adanya ketidaksesuaian hasil pemeriksaan golongan darah antara *forward grouping* dan *reverse grouping* (Maharani dan Noviar, 2018).

Pada sub grup A, urutan jumlah Ag A yang terbanyak adalah : A1 > A2 > A3 > AX > Aend > Am > Ael. Pada sub grup A3, AX, Aend dapat beraglutinasi dengan anti A, sedangkan sub grup Am Ael tidak dapat aglutinasi dengan anti A. Populasi golongan darah dengan sub grup A1 dan A2, keduanya mempunyai Ag A, hanya saja individu dengan golongan darah A1, mempunyai jenis Ag A1 yang tidak dipunya oleh individu dengan A2. individu dengan golongan darah A1 lebih banyak dibandingkan golongan darah A2. Golongan darah A2 dan A2B dapat menghasilkan anti A1 yang dapat bereaksi dengan sel eritrosit A1 dan A1B. Seperti sub grup A, sub grup B juga mempunyai jumlah antigen yang lebih sedikit, sehingga sulit dideteksi. Pada sub grup B, urutan jumlah Ag B yang terbanyak adalah : B > B3 > Bx > Bm > Bel. Golongan darah AB diklasifikasikan menjadi 9 sub tipe berdasarkan jumlah antigen A atau B. Sub tipenya adalah : Ax B, A1 Bx, Am B, A1 Bm, Ael B, A1 Bel, cis A2 B3, cis A2 B, cis A1 B3 (Maharani dan Noviar, 2018).

Identifikasi sub grup AB menjadi penting, karena kadangkala dapat ditemui individu yang salah interpretasi golongan darah O, sehingga dapat berakibat fatal jika individu tersebut ditransfusi dengan darah golongan O. Selain itu, pada golongan darah sub grup A2 dan A2B dapat terbentuk anti A1, sehingga dapat mengakibatkan ketidaksesuaian hasil pemeriksaan golongan darah antara *forward grouping* dan *reverse grouping*. Jenis sub grup lainnya, yang dapat mempunyai antibodi A1 pada serumnya adalah : AX, A3, Aend, Ael (Maharani dan Noviar, 2018).

Reaksi yang terjadi antara antigen dan antibodi akan membentuk suatu ikatan ditandai dengan munculnya aglutinasi. Reaksi aglutinasi terjadi jika antigen bertemu dengan antibodi yang sesuai. Kadar dari antigen dan antibodi berperan dalam pembentukan aglutinasi. Semakin banyak antigen-antibodi yang berikatan, akan membentuk aglutinasi yang semakin besar, jelas, dan semakin kuat reaksi yang terjadi (Faruq, 2015).

D. Pemeriksaan Golongan Darah

Pemeriksaan golongan darah dilakukan untuk menentukan jenis golongan darah pada manusia. Teknik pemeriksaan golongan darah terdapat tiga jenis yakni:

1. *Cell grouping/typing* adalah memeriksa antigen sel darah merah dengan cara menambahkan anti-A, anti-B dan anti-D.
2. *Serum grouping/typing* adalah memeriksa antibodi dalam serum/plasma dengan cara mereaksikannya dengan sel golongan A, B, dan O.
3. Auto kontrol adalah memeriksa antibodi dalam serum dengan cara mereaksikannya dengan sel darah merahnya sendiri (Maharani dan Noviar, 2018).

Berdasarkan jenis peralatan penunjang yang digunakan, pemeriksaan golongan darah secara manual dapat dikerjakan dengan tiga metode, yaitu *slide test* atau *glass slide* atau *white porcelain tile*, *tube test*, *microwell plate* atau *microplate test* (Mulyantari dan Yasa, 2017).

Prinsip pemeriksaan golongan darah metode tabung adalah apabila sel darah merah mengandung antigen yang sesuai dengan jenis antibodi yang ditambahkan pada reagen maka akan terjadi aglutinasi. Pemeriksaan golongan darah metode tabung direkomendasi pada pemeriksaan golongan darah di Laboratorium karena aglutinasi lemah dapat dibaca dikarenakan lebih sensitif (Maharani dan Noviar, 2018).

Pemeriksaan golongan darah pada metode tabung (*tube test*) menggunakan sampel darah beku atau dengan antikoagulan. Sel darah merah dapat disuspensi secara *autologous* dengan serum, plasma, salin atau membutuhkan pencucian terlebih dahulu kemudian diresuspensi dalam salin. Jenis sampel disesuaikan dengan rekomendasi *insert kit reagen* yang digunakan. Reagen yang digunakan mengandung anti-A, anti-B dan anti-AB yang bersifat opsional. Karena pemeriksaan juga dilakukan pada sampel serum, maka reagen tambahan pada *tube test* adalah suspensi sel A1, A2, B dan O 2-5%. Suspensi sel dapat dibuat sendiri di laboratorium atau menggunakan suspensi sel yang dijual secara komersial. Penggunaan sel A2 bersifat opsional (Mulyantari dan Yasa, 2017).

Pembuatan suspensi sel darah merah berfungsi untuk membuat kepekatan sel darah menjadi enceran tertentu guna mengoptimalkan reaksi antigen pada sel darah merah terhadap antibodi. Pembuatan suspensi sel darah merah adalah dengan

mencampurkan sel darah merah pekat dengan NaCl 0,9% dengan perbandingan tertentu (Puspita dan Gunawan, 2019).

Beberapa catatan penting yang perlu diperhatikan pada *tube test* antara lain:

1. Semua reagen harus digunakan berdasarkan intruksi perusahaan yang memproduksi reagen,
2. Reaksi positif kuat ditandai oleh aglutinasi derajat 3+ sampai 4+ dengan penambahan reagen yang mengandung ABO antibodi. Reaksi pada *serum grouping* sering lebih lemah sehingga perlu dilakukan inkubasi 5-15 menit sebelum sentrifugasi sehingga reaksi lemah menjadi lebih kuat (Mulyantari dan Yasa, 2017).

Aglutinasi sel darah merah dapat berlangsung melalui dua tahapan. Tahap pertama antibodi berikatan dengan permukaan sel darah merah, tahap kedua antibodi berinteraksi dengan sel darah merah sehingga sel-sel saling berdekatan dan terjadilah aglutinasi. Tahap pertama aglutinasi dipengaruhi oleh suhu, pH media, konstanta afinitas antibodi, waktu atau lama inkubasi, kekuatan ion pada medium, dan rasio antigen antibodi. Tahap kedua aglutinasi dipengaruhi oleh jarak antar sel, muatan molekul dalam suspensi, deformitas membran, molekul permukaan membran dan struktur molekul (McCullough, 2012).

Terjadinya aglutinasi dibaca secara visual sehingga kemungkinan terjadi kesalahan pembacaan hasil lumayan tinggi tergantung dari kekuatan aglutinasi. Kekuatan atau daya reaksi aglutinasi yang dihasilkan pada pemeriksaan golongan darah dipengaruhi oleh kemampuan dari antisera (antibodi) berikatan atau bereaksi dengan sel darah merah (antigen). Faktor-faktor yang memengaruhi reaksi tersebut

diantaranya, muatan ion sel darah merah, suhu, pH, kesegaran serum dan sel-sel darah merah, rasio antibodi terhadap antigen dan kekuatan ion (Raehun, 2019).