

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Darah

Darah adalah cairan serologi yang beredar melalui jantung, arteri, kapiler, dan vena, membawa zat makanan dan oksigen ke sel-sel tubuh menyingkirkan karbon dioksida, amoniak, dan bahan sisa lainnya. Cairan ini mengandung plasma, cairan kuning pucat yang mengandung elemen-elemen yang dapat dilihat secara mikroskopik: eritrosit, atau korpuskel darah merah; leukosit, atau korpuskel darah putih, atau trombosit (Dorland, 2010).

##### 2.1.1 Komponen Darah

###### 2.1.1.1 Plasma

Plasma adalah komponen cair dari darah, yang terdiri dari campuran air, gula, lemak, protein, dan garam. Normalnya 55% dari volume darah adalah plasma. Saat jantung memompa darah ke sel di seluruh tubuh, plasma membawa nutrisi untuk sel-sel tersebut dan menyingkirkan produk-produk sisa metabolisme. Plasma juga mengandung faktor *blood clotting*, lipid, vitamins, mineral, hormon, enzim, antibodi, dan protein lainnya (protein yang membantu menjaga keseimbangan cairan tubuh) (Rhoades, 2012).

Komponen dari plasma darah dapat menjadi tiga kategori, yaitu:

1. Nutiren, hormon, gas dan sisa pembuangan dari pernafasan. Kandungan dalam plasma ini adalah substansi yang digunakan atau diproduksi oleh metabolisme sel. Substansi ini termasuk glukosa, lipo protein, asam amino, vitamin, hormon, dan gas pernafasan.

Garam dan ion. Plasma adalah larutan garam. Dalam air, garam dipecah menjadu komponen ion. Ion plasma utama adalah sodium ( $\text{Na}^+$ ), klorida ( $\text{Cl}^-$ ), dan bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ). Selain itu ada pula ion yang lainnya seperti kalsium (Ca), magnesium (Mg), zinc (Zn), dan potasium (K). Ion-ion ini disebut juga sebagai elektrolit. Elektrolit memiliki tiga fungsi yaitu:

- Banyak dibutuhkan untuk proses fisiologis seperti fungsi dari otot dan saraf, dan juga pembentukan tulang.
  - Mereka berperan pada pergerakan air (osmosis) antara beberapa kompartemen di dalam tubuh.
  - Mereka membantu menjaga keseimbangan asam-basa untuk aktivitas seluler (Alters, 2000)
2. Protein. Protein plasma adalah senyawa yang paling berlimpah di plasma. Kebanyakan dari protein plasma di produksi di hati. Tipe dari protein plasma yang utama adalah albumin, globulin, dan fibrinogen. Albumin adalah yang paling berlimpah diantara yang lainnya, kira-kira sebesar 54% dari protein plasma. Albumin tidak melewati pori dari dinding kapiler untuk memasuki cairan intersisiel dan karena itulah diadakan tekanan plasma osmotik dan pengaturan volume darah. Albumin juga berperan sebagai pembawa substansi dan berperan pula sebagai bufer darah. Fibrinogen ada kira-kira sebesar 7% dari protein plasma dan merupakan kunci dari pembekuan darah. Globulin kira-kira sebesar 38% dari plasma darah. Ada tiga tipe dari globulin (Hannon, 2009), yaitu:

- Alfa Globulin. Alfa globulin berfungsi untuk menstansportasi bilirubin dan steroids
- Beta Globulin. Beta globulin berfungsi mentransport zat besi dan tembaga.
- Gamma Globulin. Gamma globulin berfungsi mentransport antibodi dan sistem imun

#### 2.1.1.2 Sel Darah Merah

Sel darah merah adalah sel yang paling berlimpah di darah, terdiri dari 40-45% dari volume darah. Darah merupakan sel yang cukup besar (0,0003 inci), tidak mempunyai inti, dan berbentuk bikonkav. Produksi sel darah merah di kontrol oleh *erythropoietin*, hormon yang utamanya dihasilkan di ginjal. Sel darah merah bermula dari sel *immature* di sumsum tulang dan setelah tepatnya tujuh hari pematangan akan dilepas ke aliran darah.

Tidak seperti sel yang lain, sel darah merah tidak memiliki inti sehingga sel darah merah dapat dengan mudah berubah bentuk, dan membantu mereka untuk melewati berbagai pembuluh darah di tubuh. Akan tetapi, meskipun sel darah merah tidak memiliki inti sel dan lebih fleksibel, sel darah merah memiliki batas waktu hidup saat mengalir di dalam pembuluh darah yang paling kecil. Membran sel darah merah rapuh, saat mengalir di dalam pembuluh darah kecil membran sel menjadi rusak, tanpa organel utama seperti inti atau ribosom maka sel darah merah tidak dapat memperbaiki diri. Sel darah merah hanya memiliki waktu 120 hari.

Sel darah merah mengandung protein yang bernama *Haemoglobin*, yang membantu membawa oksigen dari paru ke seluruh tubuh dan membawa kembali karbon dioksida dari seluruh tubuh ke paru untuk di keluarkan. Darah terlihat berwarna merah karena jumlah sel darah merah yang banyak, yang warnanya didapatkan dari *hemoglobin*(Anon,2010).

#### 2.1.1.2.1 Hemoglobin

Hemoglobin adalah struktur utama dari sel darah merah, merupakan 98% dari kandungan protein di sel darah merah. Hemoglobin memberikan warna merah kepada sel darah merah dan darah. Fungsi utama dari hemoglobin adalah mentransport oksigen ( $O_2$ ) dari paru-paru ke sel jaringan tubuh dan membawa karbon dioksida ( $CO_2$ ) dari jaringan tubuh kembali ke paru-paru. Hemoglobin dibagi menjadi menjadi dua bagian yaitu globin dan heme. Globin mengandung empat ikatan protein. Heme mengandung zat besi. Lebih dari  $\frac{2}{3}$  zat besi di tubuh berada di hemoglobin dan protein otot mioglobin. Karena itu zat besi sangat dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin. Bila zat besi yang dibutuhkan tidak ada didalam tubuh, maka produksi hemoglobin akan berkurang, sehingga sel darah merah akan kekurangan hemoglobin. Saat ini terjadi, maka kapasitas oksigen di dalam darah akan berkurang sehingga akan timbul gejala dari anemia seperti lemas dan pucat (Estridge,2000)

#### 2.1.1.3 Sel Darah Putih

Sel darah putih di kenal juga dengan nama leukosit. Mereka dapat dibagi menjadi granulosit dan agranulosit. Granulosit memiliki sitoplasma yang berisi organel yang terlihat seperti butiran-butiran (granul) berwarna bila dilihat dari

mikroskop. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil. Sebaliknya agranulosit tidak terlihat memiliki butiran (granul). Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit (Anon,2010).

#### 2.1.1.3.1 Granulosit

- Neutrofil. Neutrofil memiliki butiran-butiran sitoplasma halus yang dapat dilihat dibawah mikroskop. Neutrofil disebut juga sebagai *Polymorfonuclear* (PMN) karena mereka memiliki berbagai bentuk inti. Peran mereka adalah untuk menghancurkan bakteri dan melepaskan bahan kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri.
- Eosinofil. Eosinofil memiliki butiran-butiran yang besar dan memiliki inti dengan dua lobus. Mereka berfungsi dalam menghancurkan alergen dan bahan mediator inflamasi, dan melepaskan enzim yang menghambat parasit.
- Basofil. Basofil memiliki inti yang pucat dan biasanya tertutup oleh butiran-butiran (granul). Basofil mengeluarkan histamin yang meningkatkan aliran darah jaringan dengan melebarkan pembuluh darah. Basofil juga mengeluarkan heparin yang merupakan anti koagulan untuk meningkatkan mobilitas sel drh merah lain dengan mencegah pembekuan.

#### 2.1.1.3.2 Agranulosit

- Limfosit. Limfosit umumnya terlihat terutama pada jaringan ikat dan sesekali pada lariran darah. Limfosit berfungsi untuk menghancurkan sel kanker, sel yang terinfeksi oleh virus, dan sel asing lainnya. Mereka juga mempresentasikan antigen untuk mengaktifkan sel lain dari sistem imun. Mereka juga berkordinasi dengan aksi sel imun lainnya, mensekresikan antibodi dan memori kekebalan tubuh.
- Monosit. Monosit berfungsi untuk berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag adalah sel fagositik yang besar, dan mencerna patogen, neutrofil mati, dan sel-sel mati. Seperti

limfosit, mereka juga mempresentasikan antigen untuk mengaktifkan sistem imun (Turgeon, 2005).

#### 2.1.1.4 Platelet

Platelet disebut juga dengan nama *trombosit*. Platelet adalah fragmen kecil dari sumsum tulang. Platelet memiliki beberapa fungsi: mengeluarkan vasokonstriktor yang menyempitkan pembuluh darah dan menyebabkan spasme vaskular saat ada pembuluh darah yang rusak, membentuk platelet *plug* sementara untuk menghentikan pendarahan, mensekresi prokoagulan untuk meningkatkan pembekuan darah, melarutkan bekuan darah bila mereka tidak diperlukan lagi, mencerna dan menghancurkan bakteri, mensekresi bahan kimia yang menarik neutrofil dan monosit ke situs peradangan, dan mengeluarkan faktor pertumbuhan untuk menjaga lapisan pembuluh darah.

Tiga fungsi utama yang tercantum diatas mengacu pada mekanisme haemostatis penting dimana platelet berfungsi selama terjadi pendarahan: spasme vaskular, pembentukan platelet *plug*, dan pembekuan darah.

##### 1. Spasme vaskular

Penyempitan pembuluh darah dengan cepat dan merupakan perlindungan yang paling cepat terhadap kehilangan darah. Cedera merangsang reseptor nyeri. Beberapa reseptor langsung innervate pembuluh darah di dekatnya dan menyebabkan mereka untuk menyempitkan. Setelah beberapa menit, mekanisme lain mengambil alih. Cedera pada otot polos pembuluh darah itu sendiri menyebabkan vasokonstriksi yang tahan lama di mana trombosit melepaskan bahan kimia yang disebut serotonin vasokonstriktor. Ini mempertahankan spasme pembuluh darah cukup lama untuk mekanisme haemostatic lain untuk ikut bekerja.

##### 2. Pembentukan Platelet *Plug*

Dalam kondisi normal, trombosit biasanya tidak melekat pada dinding pembuluh darah yang tidak rusak, karena lapisan pembuluh cenderung halus dan dilapisi dengan penolak platelet. Ketika pembuluh darah rusak, platelet mengeluarkan ekstensi berduri panjang untuk melekat pada dinding pembuluh begitu pula dengan platelet lainnya. Ekstensi ini

kemudian berkontraksi dan menarik dinding kapal bersama-sama. Massa platelet terbentuk dikenal sebagai platelet *plug*, dan dapat mengurangi atau menghentikan pendarahan kecil.

### 3. Pembekuan darah (koagulasi)

Ini adalah pertahanan terakhir dan paling efektif terhadap perdarahan. Selama perdarahan, penting bagi darah untuk membeku dengan cepat untuk meminimalkan kehilangan darah, tetapi sama penting bagi darah tidak menggumpal dalam pembuluh yang tidak rusak. Koagulasi merupakan proses yang sangat kompleks yang bertujuan pembekuan darah pada jumlah yang tepat. Tujuan koagulasi adalah untuk mengkonversi fibrinogen protein plasma menjadi fibrin, yang merupakan protein lengket yang melekat pada dinding pembuluh darah. Sel-sel darah dan platelet menjadi menempel fibrin, dan massa yang dihasilkan membantu untuk menutup kerusakan pembuluh darah. Pembentukan fibrin adalah yang membuat koagulasi begitu rumit, karena melibatkan banyak reaksi kimia dan faktor koagulasi banyak (Turgeon, 2005)

#### 2.1.2 Proses Pembentukan Darah

##### 2.1.2.1 *Hematopoiesis*

Hematopoiesis adalah proses regulasi produksi sel darah secara terus-menerus termasuk pembaharuan sel, proliferasi, diferensiasi, dan maturasi. Proses ini akan menghasilkan formasi, pengembangan, dan spesialisasi dari semua fungsi sel darah yang dilepas dari sumsum tulang ke peredaran darah. Pada manusia dewasa, hematopoiesis terutama terjadi di sumsum tulang. Pada masa pengembangan janin, hematopoiesis terjadi di area yang berbeda.

*Yolk sac* adalah situs awal dari hematopoiesis. Seiring dengan bertumbuhnya janin, produksi darah terjadi di hati, kemudian limfa, lalu yang terakhir adalah sumsum tulang. Sumsum tulang dapat meningkatkan produksi dari sel-sel darah saat dibutuhkan. Untuk meningkatkan kompensasi hematopoiesis dengan efektif, dapat dicapai dengan ekspansi dari jaringan hematopoietik yang aktif ke daerah sumsum tulang yang normalnya tidak aktif (Cotter, 2001)

### 2.1.2.2 *Eritropoiesis*

Eritropoiesis adalah proses produksi dari sel darah merah. Eritropoiesis adalah diferensiasi dari hemapoietic stem cell menjadi sel darah merah yang dewasa. Sel yang melalui tahapan proses eritropoiesis, potensi mereka untuk berdiferensiasi untuk menjadi limfoid atau sel hematopoietik lainnya akan dibatasi. Sehingga mereka akan meningkat untuk berdiferensiasi menjadi sel darah merah (Turgeon, 2005)

### 2.1.2.3 *Leukopoiesis*

*Leukopoiesis* adalah proses pembentukan dan pengembangan dari sel darah putih. Neutrofil, basofil, dan eosinofil diproduksi di jaringan myeloid pada sumsum tulang. Limfosit dan monosit normalnya berasal dari hemositoblas pada jaringan limfoid dan sedikit di produksi di sumsum tulang (Anon, 2009)

Mereka memiliki reseptor untuk *colony-stimulating faktor* (CSF). Setiap CSF merangsang jenis *white blood cell* (WBC) yang berbeda untuk mengembangkan dalam menanggapi kebutuhan spesifik. Limfosit matang dan makrofag mengeluarkan beberapa jenis CSF dalam menanggapi infeksi dan tantangan kekebalan lainnya. Sumsum tulang merah menyimpan granulosit dan monosit sampai mereka dibutuhkan dalam aliran darah. Namun, leukosit yang beredar tidak tinggal dalam darah untuk waktu yang lama. Granulosit beredar selama 4-8 jam dan kemudian bermigrasi ke dalam jaringan di mana mereka tinggal selama 4-5 hari. Monosit perjalanan dalam darah selama 10-20 jam, kemudian bermigrasi ke dalam jaringan dan berubah menjadi berbagai makrofag yang dapat hidup selama beberapa tahun. Limfosit bertanggung jawab untuk jangka tern kekebalan dan dapat bertahan dari beberapa minggu sampai beberapa dekade. Mereka terus daur ulang dari darah ke cairan jaringan ke getah bening dan akhirnya kembali ke darah (Anon,2010).

### 2.1.2.4 *Thrombopoiesis*

*Thrombopoiesis* mengacu pada produksi trombosit dalam darah. Ini dimulai ketika haemocytoblast mengembangkan reseptor untuk hormon thrombopoietin yang diproduksi oleh hati dan ginjal. Ketika reseptor berada di tempat, haemocytoblast berubah menjadi megakaryoblast. Kemudian menjadi megakariosit, yang memecah menjadi fragmen kecil yang masuk ke aliran darah.

Sekitar 25-40% dari trombosit disimpan dalam limpa dan dirilis sesuai kebutuhan. Sisanya beredar bebas dalam darah yang hidup selama sekitar 10 hari (Anon,2010).

## 2.2 Darah Sebagai Bukti Fisikal

Nilai darah sebagai sebuah bukti tidak bisa di remehkan. Darah adalah salah satu dari bukti fisikal yang paling sering ditemukan pada tempat kejadian perkara, kurang lebih 80% dari kasus yang terjadi. Itu dikarenakan darah sangat mudah tercecer pada hampir semua bentuk tindak kekerasan. Penyelidikan terhadap bercak darah akan sangat berguna untuk mengungkap tindakan kriminal. Namun, untuk menggunakan darah itu sebagai bukti kita harus menjawab pertanyaan apakah bercak tersebut adalah darah? Darimana asal bercak darah tersebut, manusia atau hewan?

Bercak darah yang sudah mengering memiliki kenampakan bermacam-macam, tidak hanya merah, namun dapat juga berubah menjadi abu-abu, biru, atau kehijauan. Adapula beberapa yang menyerupai benda-benda lain seperti karat yang tercampur dengan air atau cat. Bercak darah yang tercampur dengan cairan, *grease*, atau tanah dapat pula memperlihatkan penampilan yang tidak seperti bercak darah. Karena itu dibutuhkan pemeriksaan laboratoium untuk menentukan apakah bercak tersebut adalah darah atau tidak. Setelah terkonfirmasi bahwa bercak itu benar darah, maka dilanjutkan dengan tes untuk membedakan spesies. Bila darah tersebut bukan berasal dari manusia, maka bisa ditentukan spesies dari hewan tersebut. Bila darah itu berasal dari manusia, dalam keadaan tertentu dapat ditentukan dari bagian mana darah itu berasal. Bila darah ditemukan dalam bentuk cairan, bisa ditentukan apakah darah tersebut berasal dari vena, fetal, atau menstrual (Layle, 2008)

Setelah darah dipastikan berasal dari manusia, langkah selanjutnya adalah melihat bukti bercak darah ini dapat dikaitkan dengan seorang individu. Tehnik serologikal sudah digunakan untuk identifikasi beberapa sistem pengelompokan darah. Beberapa sistem diantaranya yaitu, sistem ABO. Sistem ABO yang di identifikasi oleh seorang ahli biologi Austria bernama Karl Lansteiner tahun 1901 dikategorikan menjadi empat grup besar yang berdasarkan ada atau tidaknya antigen A dan antigen B pada permukaan sel darah merah. Sistem lainnya adalah sistem Rhesus yang ditemukan oleh



Landsteiner dan ahli imunologi Amerika bernama Alexander Wiener pada tahun 1931. Pada test serologikal yang dilakukan saat itu didapatkan 85% dari populasi manusia mempunyai antigen Rhesus pada sel darah merah mereka, yang di golongankan Rhesus positif. Individu yang kekurangan antigen tersebut di golongankan menjadi Rhesus negatif (Jackson, 2004)

### **2.2.1 Pemeriksaan Laboratorium Forensik Darah**

Prosedur pemeriksaan darah di laboratorium Forensik meliputi langkah-langkah sebagai berikut:

#### **2.2.1.1 Persiapan**

Bercak darah yang menempel pada suatu objek dapat di kerok kemudian dicampurkan dengan larutan fisiologis, atau langsung direndam dalam larutan garam fisiologis bila menempel pada pakaian.

#### **2.2.1.2 Pemeriksaan Penyaringan (*presumptive test*)**

Pemeriksaan Penyaringan atau Presumptive Test adalah sebuah tes yang dapat digunakan untuk menentukan adanya darah, air mani, atau obat-obatan. Ada banyak tes penyaring yang dapat dilakukan untuk membedakan apakah bercak tersebut berasal dari darah atau bukan, karena hanya yang hasilnya positif saja yang dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.

Hasil positif menyatakan bahwa bercak tersebut mungkin darah sehingga perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut. Sedangkan hasil negatif pada kedua reaksi tersebut memastikan bahwa bercak tersebut bukan darah. Pemeriksaan ini dibagi menjadi dua kategori yaitu:

#### **1. Tes yang menyebabkan perubahan warna (Color Test)**

- Reaksi Benzidine (Test Adler)

Benzidine test pada forensik pertama kali dilakukan dilakukan oleh Oskar dan Rudolf Adler pada tahun 1904. Pemeriksaan ini sederhana, sangat sensitif dan cukup bermakna. Jika ternyata hasilnya negatif maka dianggap tidak perlu untuk melakukan pemeriksaan lainnya. Tetapi, pada pertengahan tahun 1970, diketahui benzidine sangat bersifat karsinogenik, sehingga lebih banyak yang

menggunakan tes yang lebih aman tetapi tetap bisa diandalkan seperti tes Kastel-Meyer.

Hasil: pada saat di praktikan dengan bercak darah, akan terjadi perubahan warna. Warna akan berubah menjadi biru dan perlahan-lahan akan berubah menjadi warna coklat.

- Reaksi Phenolphthalein (Kastle-Meyer Test)

Prosedur test identifikasi yang sekarang ini, mulai banyak menggunakan Phenolphthalein. Reaksi dari tes ini berdasarkan dari hemoglobin pada darah. Peroksidase adalah enzim yang meningkatkan proses oksidase beberapa senyawa dengan menggunakan peroksida. Salah satu senyawa tersebut adalah phenolphthalein.

Hasil: saat darah, phenolphthalein, dan hidrogen peroksida bercampur, hemoglobin dalam darah menyebabkan peroksida bereaksi dengan phenolphthalein dan menghasilkan warna merah muda yang gelap (Layle, 2008)

2. Tes yang menyebabkan cahaya berpendar (*Fluorescence Test*)

- Luminol Test

Tes luminol bergantung pada reaksi oksodasi dari luminol. Keuntungan dari tes luminol ini adalah tes ini sangat sensitif dan bisa dan dapat mengungkapkan darah walau ada hanya sedikit. Luminol juga dapat mendeteksi darah di area yang sudah di bersihkan, bahkan pada dinding yang sudah di cat ulang.

Hasil: Larutan alkali yang mengandung luminol dan agen oksidasi seperti hidrogen peroksida disemprotkan pada bercak darah. Bercak darah mengandung beberapa produk degradasi dari hemoglobin, khususnya hematin. Saat berinteraksi dengan formula luminol, hematin mengkatalisis penguraian dari hidrogen peroksida dan oksidasi luminol sehingga menimbulkan cahaya berpendar (Roda, 2010)

### 2.2.1.3 Pemeriksaan Konfirmasi (*confirmation test*)

Setelah didapatkan hasil bahwa suatu bercak tersebut adalah darah maka selanjutnya di lakukan tes konfirmasi, apakah darah itu berasal dari manusia atau berasal dari hewan. Banyak tes yang berbeda yang digunakan untuk mengkonfirmasi bahwa bercak itu darah. Pemeriksaan meyakinkan darah diputuskan berdasarkan terdapatnya pigmen atau kristal hematin (hemin), dan hemakhromogen (Layle, 2008). Berikut adalah macam tes konfirmasi untuk darah:

1. Pemeriksaan Mikroskopik.

Pemeriksaan mikroskopik digunakan untuk melihat morfologi dari sel darah merah dan sel darah putih.

Cara pemeriksaan: Darah yang masih basah atau mengering di taruh pada kaca objek, kemudianditambahkan satu tetes larutan garam faal, dan ditutup dengankaca penutup kemudian dilihat dibawah mikroskop (Rao, 1999)

2. Tes kristal (crystal Test)

Tes ini berdasarkan kandungan besi di dalam hemoglobin untuk membentuk suatu kristal yang berwarna tertentu bila dipadukan dengan suatu reagen tertentu. Tes tersebut antara lain Tes Teichmann dan Tes Takayama.

- a. Tes Teichmann

Pada tahun 1853, Teichmann melaporkan bahwa dengan memanaskan darah dengan asam asetat glasial dan ditambah dengan adanya garam, kristal akan terbentuk. Hasil positif ini karena kombinasi dari halogen dengan ferriprotoporphyrin. Kristal-kristal tersebut belah ketupat dengan warna kecoklatan.

Cara pemeriksaan: Kristal NaCl ditempatkan pada bercak di kaca sediaan. Tambahkan dua atau tiga tetes dari asam asetat glasial pada kaca penutup. Taruh kaca penutup pada kaca sediaan. Panaskan kaca sediaan dengan hati-hati. Asam asetat glasial akan menyebabkan klorida bereaksi dengan hemoglobin darah untuk menghasilkan kristal hemoglobin-klorida.

Hasil: Pada pemeriksaan dibawah mikroskop akan ditemukan kristal

berwarna coklat dengan bentuk belah ketupat (Sicar, 2008)

#### b. Tes Takayama

Tes ini dilakukan pada tahun 1912 oleh Masao Takayama di Jepang. Apabila heme sudah dipanaskan dengan menggunakan pyridine dalam kondisi basa dengan tambahan sedikit gula, maka akan terbentuk kristal pyridine ferriprotoporphyrin dengan warna merah muda (James, 2005). Warna merah muda yang dihasilkan didapatkan dari reaksi ferrous iron hemoglobin ketika bertemu dengan pyridine (Anon, 2007). Sensitivitas tes ini adalah 0,001ml darah atau 0,1mg hemoglobin. Hasil negatif belum tentu menandakan tidak adanya darah, bisa jadi akibat kesalahan teknis. Bercak darah masih dapat terdeteksi positif hingga usia 20 tahun (Winchester, 1998).

Cara pemeriksaan: Dua tetes reagen Takayama (Piridin dan Glukosa) pada kaca penutup ditambahkan pada bercak pada kaca sediaan dan hangatkan sedikit untuk melihat reaksinya.

Hasil: Dalam pemeriksaan dibawa mikroskop akan didapatkan kristal Pyridine ferriprotoporphyrin berwarna merah muda. Tes ini dianggap memiliki hasil negatif apabila tidak terbentuk kristal dalam waktu 30 menit (Sicar, 2008).

#### 2.2.1.4 Tes Diferensiasi Spesies

Tes diferensiasi spesies digunakan untuk menentukan apakah darah itu adalah darah manusia atau darah binatang. Tes ini dilihat berdasarkan reaksi antara antigen dan antibodi. Teknik ini sudah ada sejak tahun 1901 oleh profesor Paul Uhlenhuth (1870-1957) dengan mencetuskan metode precipitin. Tes ini menggunakan antiserum yang bereaksi secara spesifik dengan antigen manusia. Dengan begitu akan tercipta antibodi yang spesifik terhadap antigen manusia dan hasilnya akan menentukan apakah darah ini adalah darah manusia atau bukan. Tes yang paling sering dilakukan untuk darah manusia adalah tes precipitin cincin atau *anti-human serum* dan tes difusi ganda Ouchterlony atau *anti-human hemoglobin* (Eckert, 1993).

- Tes Presipitin Cincin / *anti-human serum*

Cara pelaksanaan:

- Antiserum anti-human ditempatkan pada tabung reaksi
- Sampel darah dilarutkan dengan cairan dan dituangkan dengan hati-hati ke dalam tabung reaksi.

Hasil: Darah akan mengambang diatas antiserum yang padat. Bila sampel darah adalah darah manusia maka akan terjadi hal diatas dan akan muncul pita putih tipis di muka cairan. Bila darah bukan darah manusia maka tidak akan terlihat cincin endapan putih.

▪ Tes Difusi Ganda / *anti-human hemoglobin*

Cara pelaksanaan:

- Menggunakan gel agar plate
- Buat lubang pada agar
- Letakan antiserum ditengah lubang dan letakan sampel yang akan diperiksa di letakan di sekelilingnya.
- Masing-masing larutan akan berdifusi ke luar dari berbagai arah
- Ini akan membentuk beberapa garis kontak antara larutan sentral dengan larutan disekelilingnya.

Hasil: Bila sampel adalah darah manusia maka akan terbentuk garis endapan tipis di sepanjang garis kontak. Bila sampel bukan darah manusia maka tidak akan terbentuk reaksi itu (Layle, 2008)

### 2.2.1.5 Tes Penentu Golongan Darah

Tes penentu golongan darah adalah tes untuk menentukan apakah golongan darah yang ditemukan pada bercak darah atau barang bukti sama dengan golongan darah dari korban. Tes ini terdiri dari :

a. Sistem ABO

Sistem yang ditemukan Karl Landsteiner pada tahun 1900 ini merupakan sistem standar yang masih sering digunakan, terlebih saat transfusi darah. Prosedurnya yaitu darah diambil kemudian

ditetesi serum Anti A, serum Anti B dan keduanya. Proses penggumpalan dan tidak menggumpalnya darah menjadi dasar identifikasi apakah pemilik bergolongan darah A, B, AB atau O.(Eckert,1993)

b. Sistem Rhesus (Rh)

Sistem Rhesus (Rh) ditemukan oleh Karl Landsteiner dan Alexander Wiener pada tahun 1940. Sistem Rh merupakan salah satu dari cara penggolongan darah terkompleks karena melibatkan 45 antigen berbeda pada permukaan sel darah merah yang di kontrol oleh dua gen terhubung kromosom. Awalnya menggunakan anti serum monyet, jika darah yang dipakai menggumpal maka tergolong Rh+, dan jika sebaliknya maka tergolong Rh-. Meskipun sistem ini sudah mulai ditinggalkan, namun masih amat penting terutama pada tes kehamilan.(O'Neil,2013).

c. Sistem MN

Penggolongan darah ini didasarkan pada dua molekul spesifik yang terletak di permukaan sel darah merah. Sebuah lokus gen tunggal yang merupakan tempat dua variasi alel berada, menentukan golongan darah ini. Individu M adalah homozigot untuk satu alel, Individu N adalah homozigot untuk alel lainnya. Sedangkan individu dengan golongan MN adalah heterozigot. Penggolongan darah ini tidak menimbulkan penggumpalan pada manusia, karena manusia tidak memiliki anti M dan anti N. Penggumpalan baru akan terjadi bila antigen tersebut disuntikkan pada kelinci.(Anon,2013)

### 2.3 Media Pembusukan

Media pembusukan yang akan dilibatkan dalam penelitian ini adalah tanah, air, dan udara bebas. Ketiga media ini dipilih berdasarkan kebiasaan yang dilakukan para pelaku kejahatan dalam usahanya menghilangkan bukti berupa noda darah yang ada. Pada media tanah, usaha yang biasa dilakukan adalah

mengubur barang bukti. Pada media air, usaha yang biasa dilakukan adalah dengan mencuci atau bahkan hanya menghanyutkannya di aliran sungai. Pada media udara termasuk jarang dilakukan, kecuali pada peristiwa kejahatan yang pelakunya secara tidak sengaja meninggalkan barang bukti di tempat atau menyembunyikan di lingkungan sekitar pelaku tanpa terpapar media tanah ataupun air. Berdasarkan rumus Casper, perbandingan kecepatan pembusukan pada media tanah:air:udara adalah 1:2:8, yang berarti pada media tanah, objek lebih terlindung dari paparan faktor-faktor luar sehingga lebih lama mengalami pembusukan. (Idries, 1977) Berikut akan dijelaskan mengenai profil dari masing-masing media pembusukan:

### 2.3.1 Tanah

Tanah memiliki 6 bagian yang bila diurutkan dari lapisan atas ke bawah dimulai dengan lapisan O yang mengandung 20% bahan organik, lapisan A yang disebut sebagai mineral horizon, lapisan B yang merupakan zona illuvial atau akumulasi, lapisan E yang merupakan lapisan paling terang, perbatasan lapisan A dan B (seringkali tidak terbentuk sempurna), lapisan C yang kaya akan material dasar seperti *glacial till* atau sedimentasi danau, dan yang paling bawah adalah lapisan R yaitu *bedrock* yang keras. Pada kasus kriminalitas, pelaku mengubur sedalam lapisan O atau lapisan A. Kedua lapisan ini tergolong kaya mineral dan bahan organik sehingga mempermudah bahan biologis untuk terurai atau membusuk. (Anon, 2014)

### 2.3.2 Air

Air yang digunakan dalam penelitian bukanlah air bersih atau aquades, hal ini dimaksudkan untuk meniru tindakan pelaku yang membuang atau mencuci barang bukti tidak pada air bersih. Kandungan air sungai pada umumnya sudah terkontaminasi bahan rumah tangga, bahan kimia, dan berbagai macam kotoran hasil buangan. Tingginya bahan kimia dan bahan organik dari hasil buangan memengaruhi tonisitas air, dan kecepatan bercak darah untuk terurai atau mengalami pembusukan, mengingat rapuhnya sifat darah apabila ia berada di luar pembuluh darah. Apabila sel darah merah terpapar suasana air yang hipertonic, maka sel darah akan mengkerut dan rusak, namun bila

terpapar suasana air yang hipotonik, maka sel darah akan membengkak kemudian pecah atau dikenal dengan hemolisis (Gallik, 2011). Umumnya air yang tercemar akan semakin bersifat hipertonik, sehingga bercak darah pada kain akan dengan mudah mengalami pengerutan atau krenasi.

### 2.3.3 Udara

Udara bebas memiliki komposisi nitrogen 78%, oksigen 20,9%, argon 0,9%, karbon dioksida 0,035% dan gas lainnya.(Mackenzie F.T.,1995) Komposisi ini belum dipengaruhi oleh polusi udara dari kendaraan bermotor maupun asap pabrik. Bila tanpa pengaruh luar komposisi gas selain oksigen seperti disebutkan di atas, maka setelah terkena pengaruh luar komposisi tersebut akan berubah. Sifat darah yang mengikat oksigen dan hancur setelah mengikat karbon dioksida akan mempengaruhi kondisi bercak darah jika kondisi udara menjadi kaya akan karbon dioksida, ditambah lagi dengan faktor kelembaban udara di tempat itu. Darah yang menempel akan lebih cepat hancur jika fungsi yang pada awalnya mengikat oksigen menjadi lebih banyak mengikat karbondioksida. Hal ini akan membuat sel darah merah mengerut atau krenasi dan lebih cepat mengering.

