

Original article

Morfologi Sel Darah Merah Itik Manila yang Dipapar pada Berbagai Konsentrasi Larutan NaCl Hipotonis

Morfology of Muscovy Duck Red Blood Cells in that exposed by Various Concentrations of NaCl Hypotonic Solution

Anisa Rahma^{1*}, Mokhammad Fahrudin², Koekoeh Santoso³

¹Sub-Divisi Farmasi Veteriner, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

²Divisi Anatomi, Histologi dan Embriologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

³Divisi Fisiologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

*Corresponding author: drh_anisa_rahma91@apps.ipb.ac.id

Diterima: 01-12-22 | Disetujui: 19-01-23 | Terbit online: 10-03-23

Cara mensitasi artikel ini: Rahma, A., Fahrudin, M. & Santoso, K. (2023). Morfologi sel darah merah itik manila yang dipapar pada berbagai konsentrasi larutan NaCl hipotonis. *Jurnal Veteriner dan Biomedis*, 1(1), 9–14. doi: [www.doi.org/10.29244/jvetbiomed.1.1.9-14](https://doi.org/10.29244/jvetbiomed.1.1.9-14).

Abstrak

Bentuk sel darah merah dapat dipengaruhi oleh pemberian larutan yang memiliki konsentrasi berbeda. *ImageJ* dapat dimanfaatkan untuk mengukur perubahan morfologi sel darah merah. Analisis morfologi sel darah merah 3 ekor bebek diberi perlakuan NaCl dengan konsentrasi bertingkat (NaCl 0.6%, NaCl 0.7%, NaCl 0.8%, dan NaCl 0.9%). Sampel natif darah diamati pada menit ke- 2, -4, -6, -8, dan -10. Sel darah merah diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 kali. Data hasil pengamatan diolah menggunakan *imageJ* untuk menganalisis sirkularitas serta perubahan dimensi. Hasil penelitian memperlihatkan terjadi peningkatan sirkularitas dan nilai dimensi sel darah merah pada konsentrasi 0.6% menit ke-2, konsentrasi 0.7% menit ke-4, dan pada konsentrasi 0.8% pada menit ke-8. Hal ini menggambarkan bahwasanya terjadi perubahan bentuk sel darah merah yang ditandai dengan adanya peningkatan sirkularitas dan dimensi sel darah merah ketika sel darah merah dipapar pada konsentrasi NaCl yang berbeda-beda.

Kata kunci: *imageJ*, morfologi, NaCl, sel darah merah, sirkularitas.

Abstract

The shape area of red blood cell could be influenced by exposure of solution with different concentration. ImageJ software could be utilized to detect the change of red blood cell morphology. Morphological analysis of red blood cells of 3 muscovy duck were exposed to different concentrations of NaCl (0.6%, 0.7%, 0.8%, and 0.9%) to detect its morphological change. Blood samples were observed microscopically at magnification of 40× objective at 2, 4, 6, 8, and 10 minutes after exposure to NaCl solution. The data were then analyzed using ImageJ software to measure its circularity and dimension. The result of this study revealed that circularity and dimension of red blood cells increased at 2 minutes after exposure to 0.6% NaCl, 4 minutes after exposure to 0.7% NaCl, and 8 minutes after exposure to 0.8% NaCl. This study concludes that the morphology of red blood cells of muscovy duck after exposure to various concentrations of NaCl solution was influenced by concentration of the NaCl solutions.

Keywords: circularity, imageJ, morphology, NaCl, red blood cell.



Lisensi

Lisensi Internasional Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0.

1. Pendahuluan

Profil sel darah merah sangat penting dalam menggambarkan kondisi fisiologis tubuh yang berkaitan dengan kesehatan. Profil sel darah merah yang baik akan menunjukkan kondisi fisiologis yang baik [1]. Morfologi dari sel darah merah seorang pasien sangat membantu para dokter dalam mendeteksi suatu penyakit. Ukuran dan bentuk sel darah merah akan berbeda dipengaruhi oleh spesies hewan dan jenis kelaminnya [2]. Unggas memiliki sel darah merah berbentuk elips dengan inti di bagian tengah.

Morfologi dari sel darah merah dapat dipengaruhi oleh pemberian larutan dengan tekanan osmosis berbeda. Plasma darah unggas memiliki tekanan osmosis normal 0,85%. Pemberian larutan dengan konsentrasi lebih rendah (hipotonis) dan lebih tinggi (hipertonis) menyebabkan perubahan bentuk sel. Larutan hipotonis mengakibatkan sel menggembung karena adanya pergerakan dari pelarut ke dalam sel yang merupakan bentuk homeostasis untuk mempertahankan tekanan osmosis dari sel tersebut. Cairan antar kompartemen mengalami pergerakan yang ditentukan oleh perbedaan tekanan osmosis antara sel dengan cairan di sekitarnya. Pergerakan terjadi sampai osmolalitas masing-masing kompartemen menjadi sama [3]

Saat ini, analisis tentang morfologi sel darah merah yang dilakukan oleh para dokter dan petugas laboratorium masih dilakukan secara konvensional [2]. Akan tetapi, perubahan ukuran sel tidak dapat terlihat jelas hanya dengan menggunakan mikroskop. Oleh sebab itu, diperlukan suatu teknologi untuk memudahkan analisis ukuran sel. Perkembangan akan kemudahan, kepraktisan, dan keakuratan ini sangat dibutuhkan terutama dalam analisis sel darah merah. Teknologi yang sedang berkembang adalah dengan menggunakan pengolahan gambar. Pemanfaatan perangkat lunak *imageJ* yang digabung dengan kamera *Dino-eye* untuk membantu melihat perubahan morfologi sel. Kamera *Dino-eye* dimanfaatkan untuk memperlihatkan gambaran sel darah merah dengan bantuan komputer yang dihubungkan dengan mikroskop sementara perangkat lunak *imageJ* digunakan dalam hal analisis data. Perangkat lunak *imageJ* juga dapat digunakan untuk perhitungan ukuran sel darah merah secara otomatis [4].

Penggunaan perangkat lunak diharapkan akan membantu diagnosis, mengingat pembacaan yang

dilakukan oleh petugas pada preparat ulas sangat subjektif. Dengan bantuan perangkat lunak ini, gambar dari preparat bisa diambil dengan segera dan identifikasi dilakukan melalui gambar. Diagnosis juga dapat dilakukan secara bersama-sama sambil melihat gambar yang telah diambil sehingga hal ini akan lebih mengurangi faktor kesalahan dalam pembacaan preparat ulas [5].

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran nilai dimensi dan sirkularitas dari sel darah merah bebek untuk melihat pengaruh pemberian larutan hipotonis pada sel darah merah bebek. Nilai Sirkulariti merupakan derajat kebundaran dari sel darah merah, nilai sirkulariti akan mendekati satu apabila objek yang diteliti bulat Nilai dimensi merupakan perbandingan diameter pendek dengan diameter panjang sel darah merah [6].

2. Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan sel darah merah unggas yang berasal dari 3 ekor itik manila jantan. Darah diambil melalui vena brachialis menggunakan jarum suntik G27 yang sudah diberi antikoagulan EDTA, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Darah yang terdapat di dalam tabung reaksi diambil menggunakan pipet leukosit, kemudian dicampur dengan larutan NaCl konsentrasi (0.9%, 0.8%, 0.7% dan 0.6%) dengan perbandingan 1:10. Selanjutnya, darah itik yang sudah dicampur larutan NaCl dibuat preparat natif. Preparat diamati di bawah mikroskop pada menit ke-2, -4, -6, -8, dan -10 setelah penambahan pengencer. Gambar preparate diambil dengan menggunakan kamera *Dino-eye* yang sudah dihubungkan dari mikroskop ke laptop.

Gambar yang telah didapat dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *imageJ*. Perangkat lunak *imageJ* yang sudah di-*install* pada laptop dibuka dan dilakukan kalibrasi terlebih dahulu. Kalibrasi skala gambar dilakukan dengan gambar skala mikrometer (ukuran 100 μm) kemudian angka kalibrasi ini digunakan untuk menganalisis sel darah merah yang diperoleh dengan menggunakan *Dino-eye*. Setelah dikalibrasi, dilakukan analisis terhadap gambar yang akan diukur perubahan morfologinya, untuk dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *imageJ*. Dengan menggunakan perangkat lunak *imageJ*, sirkularitas serta ukuran diameter panjang dan diameter pendek sel darah merah itik dapat ditampilkan secara otomatis. Ukuran

dari diameter panjang dan diameter pendek dapat dianalisis dengan memanfaatkan sumbu mayor dan minor dari sel darah merah yang diamati dengan *imageJ* [7].

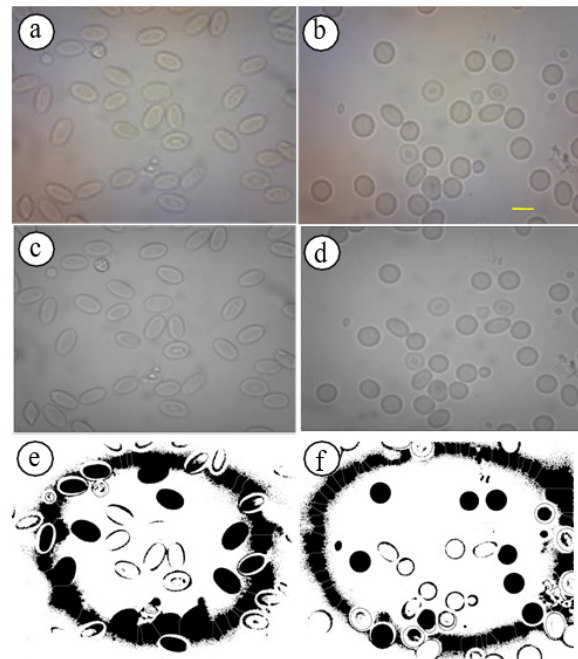
Nilai sirkularitas dan dimensi hasil citra diolah menggunakan Microsoft Excel 2007. Selanjutnya dianalisis dengan piranti lunak SPSS 18 dengan metode *Two Way Anova*. Kemudian dilakukan uji lanjut untuk melihat adanya perbedaan nyata menggunakan uji Duncan, dengan tingkat kepercayaan 95%. Hubungan antara sirkularitas, dimensi dengan konsentrasi NaCl dan waktu pemaparan ditentukan dengan analisis regresi.

3. Hasil

Pada **Gambar 1**, dapat dilihat terjadinya perubahan bentuk pada sel darah merah karena pemberian larutan hipotonis. Sel darah merah yang awalnya memiliki tampilan 2 dimensi elips pada saat menit ke-2 mengalami perubahan bentuk menjadi bulat pada menit ke-8 dengan pemberian konsentrasi yang sama. Hal ini memperlihatkan bahwa waktu paparan sel darah merah terhadap larutan hipotonis mempengaruhi ukuran sel darah merah.

Pada **Tabel 1**, dapat dilihat bahwa setelah sel darah merah itik yang dipapar dengan konsentrasi NaCl yang rendah memiliki nilai sirkularitas yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa larutan hipotonis mengakibatkan sel darah merah itik mengalami perubahan bentuk dari elips menjadi lebih membulat. Perubahan ini tidak hanya dipengaruhi oleh konsentrasi larutan NaCl saja, tetapi juga dipengaruhi oleh waktu paparan sel darah merah terhadap larutan NaCl.

Pada **Tabel 1**, dapat dilihat pada konsentrasi 0.7% sirkularitas tertinggi terdapat pada menit ke-6 kemudian sel mulai mengecil kembali. Pada konsentrasi 0.8% sel darah merah itik memiliki sirkularitas tertinggi pada menit ke-8 dan pada menit ke-10 ukuran sel darah merah mengecil kembali. Sirkularitas sel darah merah itik terlihat stabil pada konsentrasi 0.9%. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nyata pengaruh waktu antara menit ke-2, -4, dan -6 terhadap menit ke-8 dan ke-10. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa nilai sirkularitas dipengaruhi oleh waktu.



Gambar 1. Sel darah merah itik dalam NaCl 0.8% a. tipe RGB menit ke-2, b. tipe RGB menit ke-8, c. tipe *gray-scale* menit ke-2, d. tipe *gray-scale* menit ke-8, e. hasil *fill holes* menit ke-2, f. hasil *fill holes* menit ke-8. Skala pada gambar: 100µm

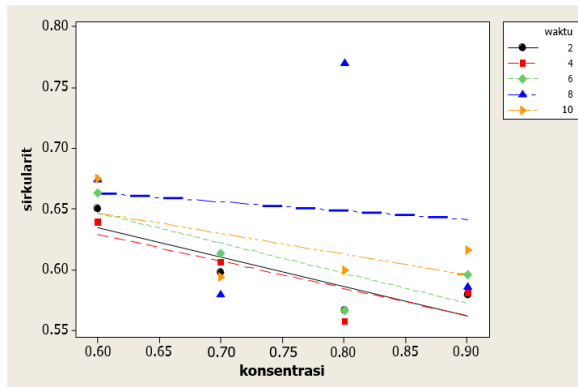
Tabel 1. Sirkularitas sel darah merah itik setelah dipapar pada berbagai konsentrasi NaCl dan waktu yang berbeda

Menit ke-	Nilai sirkularitas sel darah merah pada konsentrasi NaCl (%)			
	0.6	0.7	0.8	0.9 (kontrol)
2	0.650±0.018 ^{a,q}	0.598±0.022 ^{b,c,q}	0.566±0.025 ^{b,q}	0.579±0.027 ^{c,q}
4	0.639±0.023 ^{a,q}	0.606±0.019 ^{b,c,q}	0.557±0.014 ^{b,q}	0.581±0.021 ^{c,q}
6	0.663±0.020 ^{a,q}	0.613±0.019 ^{b,c,q}	0.566±0.023 ^{b,q}	0.596±0.026 ^{c,q}
8	0.674±0.017 ^{a,r}	0.579±0.023 ^{b,c,r}	0.770±0.013 ^{b,r}	0.586±0.020 ^{c,r}
10	0.675±0.017 ^{a,s}	0.594±0.027 ^{b,c,s}	0.600±0.023 ^{b,s}	0.616±0.021 ^{c,s}

Keterangan: *Superscript* (a, b, c) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata sirkularitas darah akibat perubahan konsentrasi pada ($P < 0.05$). *Superscript* (q, r, s) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata sirkularitas darah akibat perubahan konsentrasi pada ($P < 0.05$).

Jika diamati dalam bentuk grafik linear maka dapat dilihat hubungan antara sirkularitas sel darah merah dengan waktu pemaparan seperti pada **Gambar 2**. Hubungan antara nilai sirkularitas dengan konsentrasi pada menit ke-2 memiliki koefisien determinasi (R^2) adalah 0.73 dengan persamaan garis lurus $y = 0.782 - 0.245x$. Berarti setiap perubahan konsentrasi NaCl sebesar satu satuan akan mengakibatkan perubahan nilai sirkularitas sebanyak 0.245. Menit ke-4 memiliki nilai $R^2 = 0.67$, dengan persamaan linear $y = 0.763 - 0.223x$. Nilai koefisien determinasi menit ke-6 adalah 0.62

dengan persamaan garis lurus $y = 0.795 - 0.246x$. Pada menit ke-8 dengan persamaan garis lurus $y = 0.707 - 0.073x$ didapatkan nilai $R^2 = 0.01$, kecilnya nilai R^2 yang didapat menunjukkan bahwasanya kurangnya korelasi antara nilai konsentrasi dan sirkularitas. Persamaan dapat dikatakan terkorelasi secara linear apabila nilai R^2 semakin mendekati 1 [9]. Persamaan linear pada menit ke-10 yaitu $y = 0.749 - 0.171x$ dengan $R^2 = 0.35$, nilai R^2 kurang dari 0.5 menunjukkan lemahnya korelasi dari kedua peubah. Berdasarkan persamaan linear dapat diartikan bahwasanya semakin rendah konsentrasi NaCl yang diberikan maka semakin besar nilai sirkularitas yang diperoleh. Selain dengan memperhatikan nilai sirkularitas, perubahan bentuk sel darah merah itik ini juga dapat dilihat dari nilai dimensi seperti yang disajikan pada **Tabel 2**.



Gambar 2. Korelasi linier sirkularitas sel darah merah itik pada konsentrasi NaCl (%) dan waktu pengamatan pascapengenceran (menit) yang berbeda.

Dimensi sel darah merah itik yang terlihat pada **Tabel 2**, sesuai dengan nilai sirkularitas yang disajikan pada **Tabel 1**. Nilai dimensi meningkat karena terjadinya peningkatan nilai rasio diameter pendek dan diameter panjang, sehingga sel terlihat mengalami perubahan bentuk. Rasio nilai dimensi juga mengalami peningkatan dan penurunan akibat pengaruh waktu walaupun secara statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P > 0.05$). Dari **Tabel 2** dapat dilihat bahwasanya pada konsentrasi NaCl 0.6% nilai dimensi tertinggi terdapat pada menit ke-2. Sementara untuk konsentrasi NaCl 0.7% nilai dimensi tertinggi terdapat pada menit ke-4 dan untuk konsentrasi NaCl 0.8% terdapat pada menit ke-8. Akan tetapi pada konsentrasi NaCl 0.9% tidak terdapat pengaruh waktu terhadap dimensi sel darah merah. Hasil ini menggambarkan bahwasanya ketika sel darah merah dipapar pada konsentrasi NaCl rendah, maka perubahan bentuk yang terjadi akan semakin

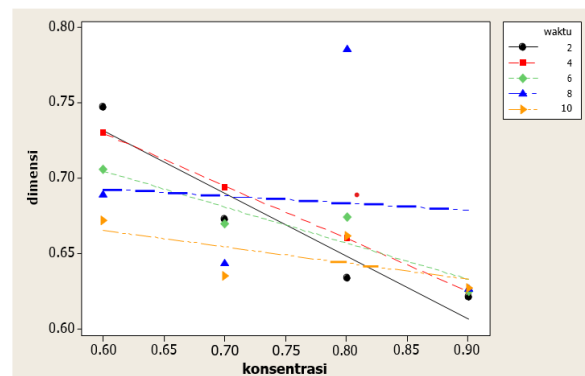
cepat. Korelasi perubahan bentuk dimensi sel darah merah itik dengan konsentrasi dapat dilihat pada **Gambar 3**.

Tabel 2. Dimensi sel darah merah setelah dipapar pada berbagai konsentrasi NaCl dan waktu yang berbeda

Menit ke-	Dimensi sel darah merah pada konsentrasi NaCl (%)			
	0.6	0.7	0.8	0.9 (kontrol)
2	0.747±0.016 ^a	0.673±0.015 ^b	0.634±0.016 ^{ab}	0.621±0.012 ^c
4	0.730±0.013 ^a	0.694±0.014 ^b	0.660±0.012 ^{ab}	0.625±0.017 ^c
6	0.706±0.015 ^a	0.670±0.010 ^b	0.674±0.010 ^{ab}	0.625±0.010 ^c
8	0.689±0.016 ^a	0.643±0.017 ^b	0.785±0.035 ^{ab}	0.626±0.015 ^c
10	0.672±0.014 ^a	0.635±0.017 ^b	0.662±0.016 ^{ab}	0.627±0.014 ^c

Keterangan: *Superscript* (a, b, c) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada ($P < 0.05$).

Rasio sel darah merah yang berbentuk sirkular merupakan jumlah sel darah merah yang memiliki nilai sirkularitas mendekati 0.7 pada konsentrasi dan menit tertentu berbanding dengan jumlah sel darah merah yang ditemukan pada konsentrasi dan menit tersebut. Dari **Tabel 3** dapat dilihat bahwa pada konsentrasi NaCl 0.6% sel darah merah sudah mengalami perubahan bentuk pada menit ke-2 dengan persentase 73.8% sel yang berbentuk sirkular. Sementara konsentrasi NaCl 0.7% memiliki jumlah sel berbentuk sirkular tertinggi pada menit ke-4. Sedangkan konsentrasi NaCl 0.8% peningkatan jumlah sel yang sirkular terjadi pada menit ke-8. Pada konsentrasi NaCl 0.9% juga ditemukan sejumlah sel yang sirkular akan tetapi dalam persentase yang sangat rendah. Walaupun jumlah sel yang berbentuk sirkular berubah setiap waktu, akan tetapi berdasarkan analisis secara statistik sebaran jumlah sel yang berbentuk sirkular ini tidak berbeda nyata ($P > 0.05$).



Gambar 3. Korelasi linier dimensi sel darah merah itik pada konsentrasi NaCl (%) dan waktu pengamatan pascapengenceran (menit) yang berbeda.

Tabel 3. Rasio sel darah merah yang memiliki bentuk sirkular setelah dipapar pada berbagai konsentrasi NaCl dan waktu yang berbeda

Menit ke-	Konsentrasi NaCl (%)			
	0.6	0.7	0.8	0.9 (kontrol)
2	73.8 ^a	29.8 ^b	5.9 ^b	5.3 ^b
4	58.7 ^a	32.6 ^b	11.4 ^b	10.4 ^b
6	54.5 ^a	20 ^b	13.6 ^b	0 ^b
8	45.1 ^a	14.3 ^b	47.9 ^b	9.8 ^b
10	22.9 ^a	18.5 ^b	23.8 ^b	4.4 ^b

Keterangan: *Superscript* (a, b, c) yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada ($P < 0.05$)

4. Pembahasan

Darah merupakan suatu parameter dalam menilai kondisi fisiologis tubuh. Sel darah merah memiliki peranan yang sangat penting di dalam tubuh makhluk hidup salah satunya untuk membawa oksigen yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup suatu organisme [1]. Ukuran dan bentuk dari sel darah merah memberikan indikasi permukaan yang tersedia untuk pertukaran gas. Ukuran dari sel darah merah sendiri dapat berubah karena pengaruh cairan yang konsentrasinya lebih rendah (hipotonis) sebab cairan hipotonis dapat merusak membran sel darah merah [9].

Larutan NaCl yang diberikan dapat masuk ke dalam sel darah merah setelah melalui membran sel. Ketika larutan NaCl berhasil masuk ke dalam sel, larutan tersebut telah berhasil melewati membran. Selain memiliki membran, sel juga memiliki kerangka. Kerangka sel dikenal dengan nama sitoskeleton. Sitoskeleton tersusun atas tiga serabut yaitu mikrofilamen, mikrotubulus, dan filamen antara [10]. Deformabilitas dan stabilitas membran sel darah merah tergantung pada sitoskeleton dan isi sel. Kejadian internal tertentu pada membran sitoskeleton atau molekul hemoglobin bisa mengubah sifat membran dan bentuk sel. Perubahan morfologi sel dapat dilihat dari nilai sirkularitas dan dimensinya. Sirkularitas merupakan derajat kebundaran dari sel darah merah, nilai sirkularitas akan mendekati satu apabila objek yang diteliti bulat. Nilai sirkularitas akan berubah karena transformasi bentuk, rotasi, dan translasi. Perubahan bentuk sel darah merah itik ini juga dapat dilihat dari nilai dimensi seperti yang disajikan pada **Tabel 2**. Nilai dimensi didapat dengan membandingkan

nilai diameter pendek dengan diameter panjang sel darah merah [11].

Tanggapan dari sel darah merah itik terhadap larutan hipotonis dibagi dalam 2 fase yaitu fase cepat awal yang merupakan fase pembengkakan sel dan fase yang lebih lambat (fase regulasi) di mana sel-sel menyusut kembali sampai mencapai volume isotoniknya [12]. Kemampuan sel untuk menyusut kembali ke ukuran semula ini membuat presentasi sel yang memiliki bentuk sirkular berubah berdasarkan waktu. Hal ini dapat dilihat dari rasio sel darah merah yang mengalami perubahan bentuk dalam setiap menitnya, seperti pada **Tabel 3**. Hakikatnya tidak semua sel darah merah mengalami perubahan bentuk pada saat yang sama dengan pemberian konsentrasi yang sama. Hal ini karena sel darah merah memiliki responnya masing-masing. Sel darah merah dikelompokkan ke dalam kelompok sirkular jika memiliki nilai sirkularitas ≥ 0.7 [6].

Pada saat diberikan cairan hipotonis, sel darah merah akan menggembung karena tekanan osmosis di dalam sel lebih tinggi dibandingkan lingkungannya sehingga cairan dari lingkungan berpindah ke dalam sel dan menyebabkan sel membengkak. Pada konsentrasi yang masih dapat ditoleransi oleh sel, sel hanya akan membengkak. Akan tetapi, pada konsentrasi dimana sel tidak dapat lagi melakukan osmoregulasi, sel akan pecah. Sel darah merah normal mempunyai membran yang sangat kuat untuk menampung banyak bahan material di dalamnya sehingga perubahan bentuk tidak akan merenggangkan membran sel secara hebat dan sel tidak pecah seperti yang akan terjadi pada sel lainnya. Sitoskeleton merupakan kerangka dari membran sel. Keberadaan sitoskeleton berpengaruh terhadap kekuatan membran sel. Pada sitoskeleton, terdapat komponen yang disebut mikrofilamen. Komponen mikrofilamen berfungsi menjaga bentuk sel sepanjang mikrotubulus. Kemampuan sel darah merah unggas dalam mempertahankan bentuk sel mengakibatkan sel darah merah itik tidak mengalami hemolisis di dalam larutan hipotonis [9,13].

5. Kesimpulan

Sel darah merah itik memiliki kemampuan untuk mempertahankan bentuk sel-nya, serta tidak mudah mengalami hemolisis jika dipapar dengan larutan hipotonis. Melalui pemaparan larutan hipotonis juga diketahui bahwa yang bahwa

semakin hipotonis larutannya semakin kesulitan sel darah merah itik mempertahankan bentuknya.

Daftar Rujukan

- [1] Shawaludin A, Ismoyowati & Indrasanti D. (2013). Jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan hematokrit pada berbagai jenis itik lokal terhadap penambahan probiotik dalam ransum. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1, 1001- 1013.
- [2] Warni E. (2009). Penentuan morfologi sel darah merah (eritrosit) berbasis pengolahan citra dan jaringan syaraf tiruan. *Jurnal Ilmiah Elektrikal Enjiniring*, 7, 1-9.
- [3] Nowaczewski S. & Kontecka H. (2011). Haematological indices, size of erythrocytes and haemoglobin saturation in broiler chickens kept in commercial condition. *Animal Science Paper and Report*, 30, 181-190.
- [4] Ramadhani D. (2013). Otomatisasi pendeteksian sel blast dan sel metafase dengan perangkat lunak pengolahan citra sumber terbuka. Tersedia pada: <http://www.jurnal.uui.ac.id>. [diunduh pada: 2014 Agustus 15].
- [5] Habibzadeh M. (2011). Counting of RBCs and WBCs in noisy normal blood smear microscopic images. *Medical Imaging*, 79, 63.
- [6] Rodrigues JM, Johansson JMA, Edeskar T. 2014. Particle shape determination by two-dimensional image analysis in geotechnical engineering. [internet]. [diunduh 21 Agustus 2014]. Tersedia pada : juan.rodriguez@ltu.se.
- [6] Igathinathane C., Pordesimo L.O., Columbus E.P, Batchelor W.D. & Methuku S.R. (2007). Shape identification and particles size distribution from basic shape parameters using image]. *Computer and Electronic in Agriculture*, 63, 168- 182
- [7] Prasetyowati R. (2012). Regresi Linear. Tersedia pada: www.uny.ac.id. [diunduh pada: 2015 Januari 23].
- [8] Sacher R. & Pherson R. (2002). *Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium*. Bram, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Widmanns clinic interpretation of laboratory test*, 11th Edition.
- [9] Mustahib. 2007. Sitoskeleton. Tersedia pada: <http://www.sitoskeleton.biologi.telengkap.com>. [diunduh pada: 2013 Februari 17].
- [10] Richards R.S., Roberts T.K., Mathers R.H. & McGregor N.R. (2000). Erythrocyte morphology in rheumatoid arthritis an chronic fatigue syndrome a preliminary. *Jurnal of Chronic Fatigue Syndrome*, 6, 23-35.
- [11] Floyd M.K. (1971). The response of duck erythrocytes to nonhemolytic hypotonic media. *Jurnal of General Fisiology*, 58, 396-412.
- [12] Komariah M. (2009). *Metabolisme eritrosit* (Makalah ilmiah). Sumedang (ID) Fakultas keperawatan Universitas Padjajaran.
- [13] Guntari T.M., Yuda H.B. & Teguh B. (2012). Pengaruh penangkaran terhadap profil eritrosit lumba-lumba hidung botol dari perairan laut jawa. *Jurnal Sains Veteriner*, 30, 0126-0421.