BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trombosit

2.1.1 Pengertian Trombosit

Trombosit adalah kepingan darah terkecil dari sel darah. Sel ini berbentuk bulat oval atau gepeng tidak berinti dan mempunyai struktur mirip piringan dengan diameter antara 1 sampai 4 mikron dan volume antara 7- 8 fl. Trombosit dihasilkan dari pecahan fragmen megakariosit, suatu sel muda di dalam sumsum tulang dimana setiap megakariosit menghasilkan 3000 – 4000 trombosit. Trombosit beredar di dalam sirkulasi darah antara 7 – 10 hari. Rentang hidup trombosit dari differensiasi stem sel sampai dihasilkan trombosit memerlukan waktu sekitar 10 hari (Kiswari, 2014). Nilai rujukan trombosit berkisar antara 150.000 – 400.000/ ul darah (Kee, 2008).

2.1.2 Struktur Trombosit

Ultra struktur trombosit dibagi menjadi tiga komponen yaitu membran trombosit, sitoskeleton dan organel. Membran trombosit terbentuk dari lapisan fosfolipid dua lapis dengan distribusi yang asimetris. Membran trombosit mengandung glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor. Melalui reseptor tersebut trombosit berinteraksi dengan zat – zat yang menyebabkan agregasi, zat inhibitor, faktor koagulasi seperti fibrinogen, faktor *Von Willebrand* dan thrombin serta dengan dinding pembuluh darah dan dengan trombosit lainnya (Kosasih, 2008). Selain itu membran trombosit mengalami invaginasi ke dalam membentuk

http://repository.unimus.ac.id

sistem kanalikuler terbuka menghasilkan permukaan reaktif yang luas menyebabkan protein koagulasi plasma dapat diserap secara selektif (Hoffbrand dan Moss, 2016).

Dalam sitoplasma trombosit terdapat beberapa organel berupa mitokondria, cadangan glikogen serta granula penyimpanan berupa granula padat, granula alfa dan lisosom. Granula padat berupa kandungan kalsium tinggi, serotonin, ADP dan ATP. Isi dari granula alfa terbagi menjadi dua kelompok yaitu berupa protein spesifik untuk trombosit dan protein yang berasal dari plasma seperti fibrinogen, fibronektin dan faktor V. Sedangkan lisosom mengandung hydrolase asam beta glukoronidase, katepsin, beta galaktosidase, elastase dan kolagenase. Saat sekresi trombosit, lisosom lebih lambat melepaskan isinya dibanding granula alfa dan granula padat (Kosasih, 2008).

2.1.3 Produksi Trombosit

Trombosit dihasilkan dalam sumsum tulang melalui fragmentasi sitoplasma pada megakariosit. Megakariosit mengalami pematangan melalui replikasi endomitotik yang menyebabkan volume sitoplasma setiap kali jumlah lobus nukleus bertambah menjadi dua kali lipat. Tahap awal terjadi invaginasi membran plasma yang berkembang sepanjang pembentukan megakariosit menjadi anyaman yang bercabang-cabang. Tahap perkembangan tertentu yang bervariasi terutama pada tahap nukleus berjumlah delapan, sitoplasma menjadi granular. Megakariosit berukuran sangat besar dengan satu nukleus berlobus yang terletak di tepi. Trombosit terbentuk dari ujung-ujung perluasan sitoplasma megakarit. Tiap megakariosit menghasilkan sekitar 4000 trombosit. Interval waktu dari

http://repository.unimus.ac.id

differensiasi sel sampai menjadi trombosit adalah sekitar 10 hari (Hoffbrand dan Moss, 2016).

2.1.4 Fungsi Trombosit

Trombosit mempunyai peranan penting dalam pembentukan bekuan darah. Trombosit dalam keadaan normal bersirkulasi ke seluruh tubuh melalui aliran darah. Terjadi kerusakan di suatu pembuluh, trombosit akan menuju ke daerah tersebut sebagai respon terhadap kolagen yang terpajan di lapisan sub endotel pembuluh. Trombosit melekat pada permukaan yang rusak dan mengeluarkan zat yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh. Fungsi lain dari trombosit adalah mengubah bentuk dan kualitas setelah berikatan dengan pembuluh darah yang cedera. Trombosit akan menjadi lengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit yang secara efektif menambal daerah yang luka (Handayani, 2008). Pembentukan dan stabilitas sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahapan yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

a. Adhesi

Apabila pembuluh darah luka, maka sel endotel akan rusak sehingga jaringan ikat dibawah endotel akan terbuka menimbulkan adhesi trombosit yaitu suatu proses dimana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen. Proses perlekatan trombosit sangat bergantung pada protein plasma yang disebut faktor *Willebrand's* yang disintesis oleh sel endotel dari magakariosit. Faktor ini berfungsi sebagai jembatan antara trombosit dengan jaringan sub endotel. Adhesi trombosit berhubungan dengan peningkatan daya lekat sehingga

http://repository.unimus.ac.id

trombosit berlekatan satu sama lain serta dengan endotel atau jaringan yang cedera sehingga terbentuk sumbat hemostasis primer.

b. Agregasi

Disamping melekat pada permukaan asing, trombosit juga akan melekat pada trombosit lain. Proses ini disebut sebagai agregasi trombosit. Agregasi awal terjadi akibat kontak permukaan dan pembebasan ADP dari trombosit yang melekat di permukaan endotel. Proses ini disebut sebagai agregasi primer. Selanjutnya trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat *irreversibel*. Selain ADP, untuk agregasi trombosit diperlukan ion kalsium dan fibrinogen. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan di antara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Mula-mula ADP akan terikat dengan reseptornya di permukaan trombosit. Interaksi ini menyebabkan reseptor untuk fibrinogen terbuka sehingga memungkinkan ikatan antara fibrinogen dengan reseptor tersebut. Kemudian ion kalsium akan menghubungkan fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit.

c. Reaksi pelepasan

Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat. Akibat dari perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya. Proses ini disebut sebagai reaksi pelepasan yang memerlukan adanya energi. Zat agregator lain seperti thrombin, kolagen, epinefrin dan tromboxan A2 dapat menyebabkan reaksi pelepasan. Tergantung zat yang merangsang, akan dilepaskan bermacam-macam

http://repository.unimus.ac.id

substansi biologik yang terdapat di dalam granula padat dan granula alfa. Trombin dan kolagen menyebabkan pelepasan isi granula padat, alfa dan lisosom. Dari granula padat dilepaskan ADP, ATP, ion kalsium, serotonin, epinefrin dan nor epinefrin. Dari granula alfa dilepaskan fibrinogen, faktor *Willebrand's*, faktor V, faktor 4, beta tromboglobulin. Sedangkan dari lisosom dilepaskan bermacam-macam enzim hydrolase asam (Setiabudy, 2009)

2.2 Kelainan jumlah Trombosit

2.2.2 Trombositosis

Trombositosis adalah meningkatnya jumlah trombosit di atas normal pada peredaran darah yaitu lebih dari 400.000/µl darah. Trombositosis dapat bersifat primer atau sekunder.

2.2.1 Trombositopenia

Dalam keadaan normal jumlah trombosit berkisar antara 150.000 – 400.000/ ul darah. Apabila jumlah trombosit kurang dari normal maka keadaan ini disebut trombositopenia. Menurut Bakta (2007) penyebab trombositopenia pada dasarnya dapat dibagi menjadi 4 golongan besar yaitu gangguan produksi trombosit oleh megakariosit di dalam sum-sum tulang, penghancuran trombosit di dalam darah tepi akibat autoimun, ganguan distribusi dan pengenceran yang terjadi akibat tranfusi.

Trombositopenia dibagi menjadi 4 derajat yaitu derajat 1 bila jumlah trombosit 75.000 – 150.000/µl darah, derajat 2 bila jumlah trombosit 50.000 - < 75.000/µl darah, derajat 3 bila jumlah trombosit 25.000 - > 50.000/µl darah dan derajat 4 bila jumlah trombosit kurang dari 25.000/µl darah (Alvina, 2010).

http://repository.unimus.ac.id

Diagnosa trombositopenia biasanya dibuat dengan menggunakan alat hitung trombosit otomatis. Namun hasil penghitungan ini perlu diverifikasi dengan pemeriksaan sediaan apus darah tepi. Ketepatan dan ketelitian hasil hitung jumlah trombosit sangat penting dilakukan. Pencocokan dengan sediaan apus darah tepi juga dapat mengungkapkan kemungkinan penyebab lain dari hitung trombosit yang tampak rendah (Sacher, 2004).

2.3 Pemeriksaan hitung jumlah trombosit

Hitung jumlah trombosit dapat dilakukan dengan metode otomatis dan manual. Cara manual dapat dilakukan dengan metode langsung menggunakan bilik hitung dan tidak langsung pada sediaan apus darah tepi (Umarani, 2016).

2.3.1 Metode Otomatis

Seiring dengan kemajuan teknologi dan meningkatnya permintaan pemeriksaan hematologi, saat ini sebagian besar laboratorium klinik menggunakan alat *hematologi analyser*. Alat ini digunakan untuk mengukur serta menghitung sel-sel darah dengan cara otomatis berdasarkan impedansi aliran listrik atau berkas cahaya terhadap sel-sel yang dilalui. *Hematologi analyser* biasa digunakan untuk pemeriksaan hematologi rutin yang meliputi hitung sel eritrosit, lekosit, trombosit dan pemeriksaan hemoglobin. Prinsip reaksi pada alat hemotologi otomatis bervariasi diantaranya adalah *impedansi* dan *flowcytometri.*

2.3.1.1 Metode *Impedansi*

Prinsip pengukuran *impedansi* didasarkan pada perubahan hambatan listrik pada celah yang telah diketahui ukurannya (*aperture)* ketika sebuah partikel dalam cairan konduktif melewati celah ini. Sel-sel darah disuspensikan ke dalam

http://repository.unimus.ac.id

sejumlah cairan konduktif secara elektrik. Kemudian dengan adanya sistem *focusing hydrodinamik*, sel-sel darah tadi diatur sedemikian rupa sehingga dapat melewati celah *aperture* satu demi satu. Ketika sel melewati celah, akan terbentuk sinyal yang jumlahnya sebanding dengan jumlah sel yang melewati celah. Besar sinyal yang terbentuk sebanding dengan dengan besar volume sel. Sel yang berukuran 2-20 fl akan dihitung sebagai trombosit. Lebih dari 20 fl dihitung sebagai eritrosit dan lebih dari 36 fl dihitung sebagai lekosit. Aspirasi darah dibagi menjadi dua volume terpisah. Satu volume dicampur dengan larutan pengencer dan dialirkan ke dalam *celbath* untuk dihitung jumlah eritrosit dan trombosit. Volume darah lainnya dicampur dengan larutan pengencer dan reagen *Lytic* yang berfungsi untuk melisiskan sel darah merah. Hitung lekosit dilakukan sebagai sisa sel yang melewati celah. Impedansi listrik digunakan terutama di laboratorium hematologi untuk menghitung sel-sel darah seperti lekosit, eritrosit dan trombosit.

Kelemahan metode impedansi adalah kemungkinan dua sel melewati celah secara bersamaan. Selain itu sel yang telah diukur akan kembali ke area pengukuran yang mengakibatkan sel akan dihitung dua kali oleh detektor (McPherson & Pincus, 2017).

2.3.1.2 Metode *Flowcytometri*

Adalah metode pengukuran jumlah dan sifat komponen sel dalam medium cairan bergerak. Setiap sel melewati celah satu persatu yang kemudian melalui sinar laser menimbulkan sinyal elektronik yang dicatat oleh instrumen sebagai karakteristik sel yang bersangkutan. Prinsip kerja *flowcytometri* adalah sejumlah sel disuspensikan ke dalam suatu cairan konduktif. Sel-sel tersebut diberi tekanan

http://repository.unimus.ac.id

hydrodinamik sehingga dapat melewati suatu lorong satu demi satu. Ketika sel sampai di suatu titik lorong, sel akan ditembak dengan sinar laser. Kemudian hasil tembakan sinar laser akan dibaca oleh detektor (McPherson & Pincus, 2017).

Salah satu kelebihan alat hematologi otomatis adalah efisiensi waktu. Pemeriksaan menggunakan alat otomatis dapat dilakukan dengan cepat. Beberapa parameter dapat dilakukan secara bersamaan. Selain itu volume sampel yang dibutuhkan lebih sedikit. Kelebihan lainnya adalah ketepatan hasil yang dikeluarkan yang sudah melalui pemantapan mutu internal laboratorium.

Selain memiliki kelebihan, alat hematologi otomatis juga mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat menghitung sel yang abnormal dan biaya perawatan yang tidak murah.

2.3.2 Metode Manual

2.3.2.1 Metode Manual Langsung

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode manual langsung dapat dilakukan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* baik metode *Rees Ecker* maupun *Brecher Cronkite*. Metode *Rees Ecker* darah diencerkan dengan larutan BCB (*Brilliant Cresyl Blue*) sehingga trombosit akan tampak. terang kebiruan. Secara mikroskopik trombosit tampak mengkilat berwarna biru muda berbentuk bulat, agak lonjong, atau koma yang tersebar dengan ukuran lebih kecil dari eritrosit. Sedangkan pada metode *Brecher Cronkite*, darah diencerkan dengan larutan ammonium oksalat 1% yang bertujuan untuk melisiskan sel darah merah sehingga yang tersisa adalah trombosit. Kemungkinan kesalahan pada metode *Rees`Ecker* berkisar 16-25% sedangkan pada metode *Brecher Cronkite* adalah 8-

http://repository.unimus.ac.id

10%. Penyebab kesalahan dapat terjadi karena teknik pengambilan sampel, pengenceran darah yang tidak akurat dan penyebaran trombosit yang tidak merata (Kiswari, 2014).

2.3.2.2 Metode Manual Tidak Langsung

Hitung trombosit tidak langsung dapat dilakukan dengan metode *Barbara Brown* yaitu dengan menghitung jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi. Trombosit dihitung dalam 1000 eritrosit.

Pembuatan sediaan apus darah tepi sangat penting dalam bidang hematologi. Apus darah tepi dapat memberikan petunjuk tentang keadaan hematologik seperti kelainan pada morfologi sel-sel darah (Kiswari, 2014). Pembuatan sediaan apus yang berkualitas tinggi merupakan prasyarat mutlak untuk diagnosis morfologis yang bermakna. Ketrampilan teknis yang diperlukan dapat diperoleh melalui latihan yang cukup lama. Saat membuat sediaan apus darah, hal yang perlu diperhatikan adalah bahwa hanya 2/3 atau 3/4 bagian kaca objek yang digunakan untuk apusan darah. Ketebalan lapisan sediaan apus harus dibuat sedemikian rupa sehingga sebagian eritrosit yang berdampingan dapat terpisah. Sediaan apus dengan lapisan yang terlalu tebal tidak memungkinkan analisis sel karena sel-sel tidak cukup tersebar (Freund, 2011).

2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil hitung jumlah trombosit

2.4.1 Pra Analitik

Faktor yang mempengaruhi hasil hitung jumlah trombosit pada tahap pra analitik dapat terjadi seperti pada pemilihan sampel darah. Penggunaan darah kapiler akan diperoleh hasil sedikit lebih rendah bila dibandingkan dengan darah

http://repository.unimus.ac.id

vena. Khasanah (2016) dalam penelitiannya mendapatkan hasil perbedaan bermakna antara sampel darah vena dan kapiler pada hasil hitung jumlah trombosit. Faktor lain adalah pengambilan darah yang terlalu lama dan tidak segera mencampur darah dengan antikoagulan, homogenisasi darah antikoagulan yang kurang smpurna juga dapat menyebabkan trombosit saling melekat bahkan terjadi bekuan. Selain itu perbandingan volume darah dengan antikoagulan harus sesuai ketentuan. Perbandingan yang tidak tepat dapat menyebabkan kesalahan pada hasil. Volume darah terlalu sedikit dan antikoagulan berlebih kemungkinan trombosit akan membesar dan mengalami disintegrasi. Sebaliknya jika volume darah terlalu banyak dan antikoagulan sedikit dapat mengakibatkan terjadinya jendalan. Darah yang tidak segera diperiksa atau penundaan pemeriksaan yang terlalu lama juga dapat menyebabkan perubahan jumlah trombosit (Sujud dkk, 2015).

2.4.2 Analitik

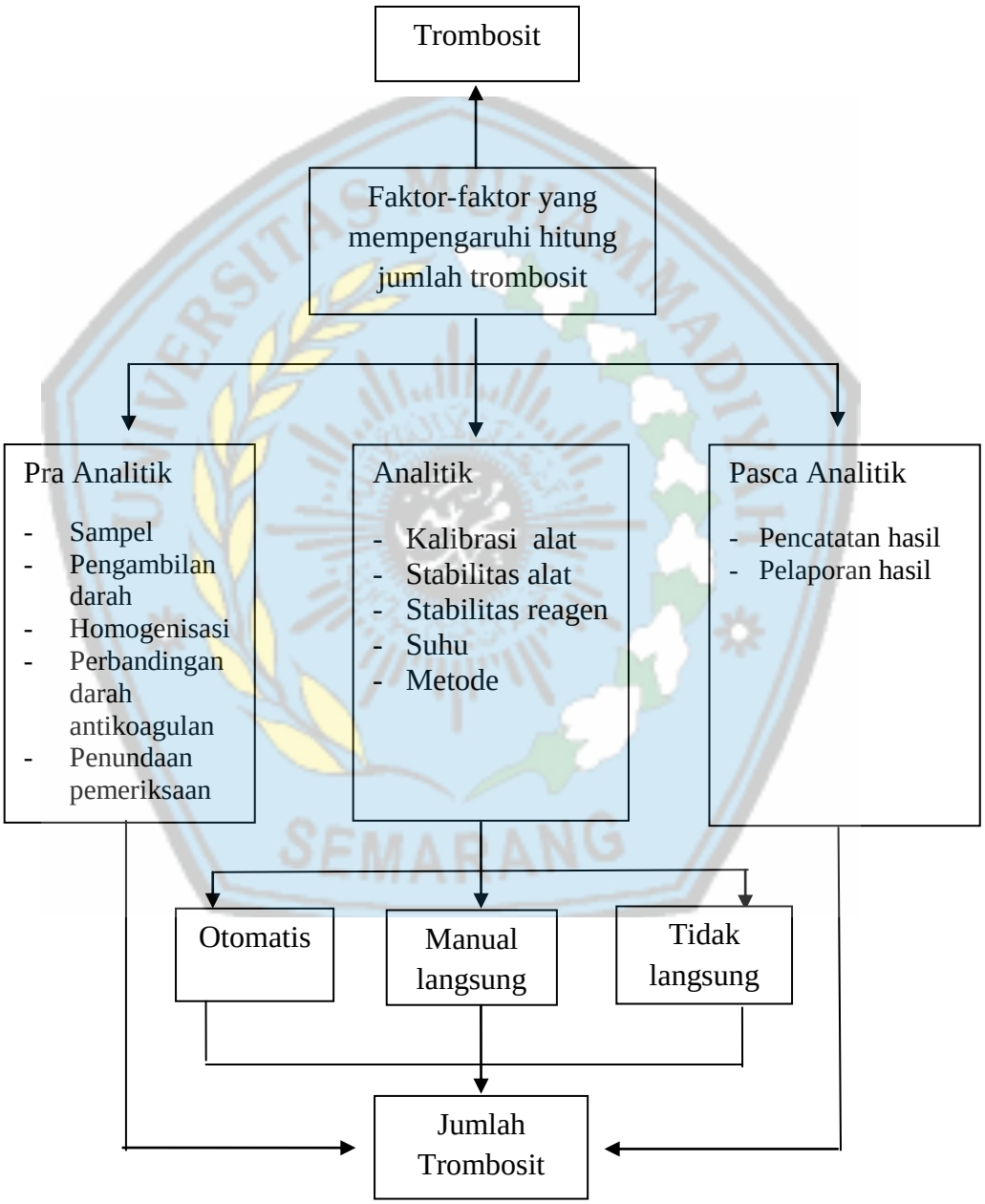
Tahap analitik adalah proses pengerjaan sampel sampai diperolehnya hasil pemeriksaan. Kesalahan analitik dalam bidang hematologi dapat terjadi berupa kesalahan sistematik atau acak. Kesalahan sistematik dapat diakibatkan oleh kesalahan dalam sistem pengujian dan metode, umumnya disebabkan oleh prosedur kalibrasi yang tidak tepat, kurang optimalnya komponen alat, kerusakan reagensia. Kesalahan acak biasanya diakibatkan tidak stabilnya *instrument*, perubahan suhu dan variasi operator (Sukorini, 2010).

http://repository.unimus.ac.id

2.4.3 Pasca Analitik

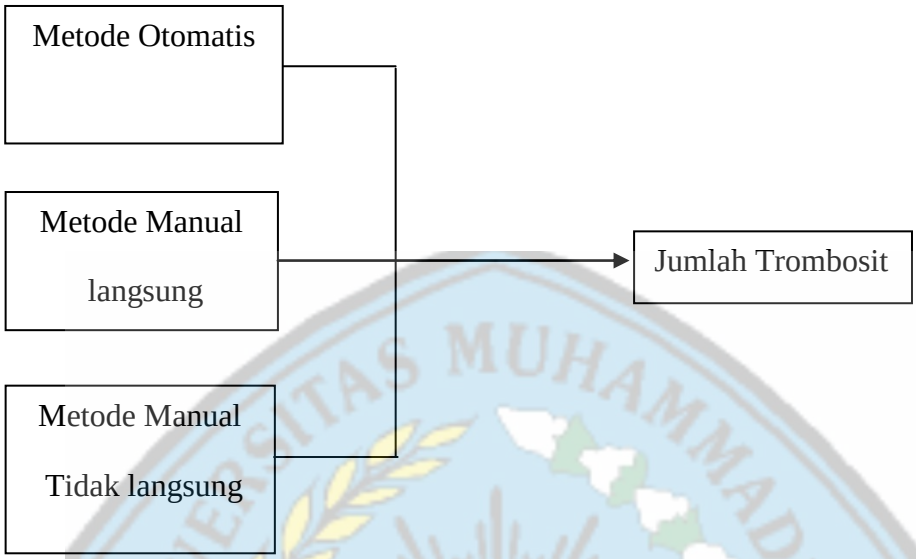
Kesalahan pada tahap pasca analitik dapat terjadi bila keliru dalam memasukkan data sampel, salah mencatat dan melaporkan hasil pemeriksaan.

2.5 Kerangka Teori



http://repository.unimus.ac.id

2.6 Kerangka Konsep



2.7 Hipotesis

Ada perbedaan antara hitung jumlah trombosit metode otomatis, manual langsung dan tidak langsung pada sampel trombositopenia.

http://repository.unimus.ac.id