

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasmik tanpa inti berdiameter 2-4 milimeter yang berasal dari megakariosit. Hitung trombosit normal dalam darah tepi adalah 150.000 – 400.000/ μ l dengan proses pematangan selama 7-10 hari di dalam sumsum tulang. Trombosit dihasilkan oleh sumsum tulang (*stem cell*) yang berdiferensiasi menjadi megakariosit. Megakariosit melakukan replikasi inti endomitotiknya kemudian volume sitoplasma membesar seiring dengan penambahan lobus inti menjadi kelipatannya. Sitoplasma kemudian menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk platelet atau keping-keping (Hadinegoro, 2006).

Trombosit memiliki zona luar yang jernih dan zona dalam yang berisi organel-organel sitoplasmik. Permukaan diselubungi reseptor glikoprotein yang digunakan untuk reaksi adhesi dan agregasi yang mengawali pembentukan sumbat hemostasis. Membran plasma dilapisi fosfolipid yang dapat mengalami invaginasi membentuk sistem kanalikuler (Hadinegoro, 2006).

Membran plasma memberikan permukaan reaktif luas sehingga protein koagulasi dapat diabsorpsi secara selektif. Area sub membran, suatu mikrofilamen pembentuk sistem skeleton, yaitu protein kontraktil yang bersifat lentur dan berubah bentuk. Sitoplasma mengandung beberapa granula, yaitu: granula densa, granula a, lisosome yang berperan selama reaksi pelepasan yang

kemudian isi granula disekresikan melalui sistem kanalikuler. Energi yang diperoleh trombosit untuk kelangsungan hidupnya berasal dari fosforilasi oksidatif (dalam mitokondria) dan glikolisis anaerob (Hoffbrand, 2005).

Trombosit berfungsi khusus dalam mekanisme hemostasis. Fungsi tersebut antara lain mencegah kebocoran darah spontan pada pembuluh darah kecil dengan cara adhesi, sekresi, agregasi, dan fusi (hemostasis). Sitotoksis sebagai sel efektor penyembuhan jaringan (Hoffbrand, 2005).

2.2 Pemeriksaan Hitung Trombosit

Pemeriksaan jumlah trombosit dapat dilakukan secara langsung dan tidak langsung. Pemeriksaan secara langsung dilakukan dengan metode Rees Ecker, Brecher Cronkite, dan metode *Automatic Cell Counter*. Metode Rees Ecker dengan cara darah diencerkan dengan larutan BCB (*Brilliant Cresyl Blue*), sehingga trombosit akan tercatat terang kebiruan. Trombosit dihitung dengan bilik hitung di bawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metode *Rees Ecker* 16-25% (Gandasoebrata, 2013).

Metode Brecher Cronkite dengan cara darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisisikan sel darah merah. Trombosit dihitung pada bilik hitung menggunakan mikroskop *fase kontras*. Kemungkinan kesalahan *Brecher Cronkite* 8-10%. Metode *Automatic Cell Counter* merupakan metode otomatis menggunakan prinsip *flow cytometri*. Prinsip tersebut memungkinkan sel-sel masuk *flow chamber* untuk dicampur dengan *diluent* kemudian dialirkan melalui *apertura* yang berukuran kecil yang memungkinkan sel lewat satu per satu. Aliran yang keluar dilewatkan medan listrik untuk kemudian sel dipisah-

pisahkan sesuai muatannya. Teknik dasar pengukuran sel dalam *flow cytometri* ialah impedansi listrik (*electrical impedance*) dan pendar cahaya (*light scattering*). Teknik impedansi berdasar pengukuran besarnya resistensi elektronik antara dua elektroda. *Automatic cell counter* memiliki kelemahan tidak dapat menghitung trombosit yang abnormal, antara lain trombosit yang bergerombol, trombosit besar (*giant*) serta adanya kotoran. Hal ini menyebabkan *cross check* menggunakan sediaan apus darah tepi masih diperlukan (Koeswardani., 2001).

Hitung trombosit cara tak langsung dilakukan dengan metode Fonio dan estimasi jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi. Metode Fonio dilakukan menggunakan darah kapiler dicampur dengan larutan magnesium sulfat 14% kemudian dibuat sediaan apus darah tepi dan dilakukan pengecatan giemsa. Jumlah trombosit dihitung dalam 1000 eritrosit, jumlah mutlak trombosit dapat diperhitungkan dari jumlah mutlak eritrosit. Cara ini lebih kasar daripada cara langsung (Gandasoebrata, 2013).

Metode estimasi jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi (SADT) dengan prinsip, semua hasil hitung trombosit baik normal maupun abnormal yang diperiksa secara langsung harus dilakukan *cross check* dengan sediaan apus darah tepi. *Cross check* sediaan apus darah tepi bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hitung trombosit secara langsung dan estimasi (Gandasoebrata, 2013).

2.3 Spesimen

Bahan pemeriksaan adalah darah lengkap, yang dapat diperoleh dari pembuluh darah kapiler dan pembuluh darah vena. Pembuluh darah vena adalah pembuluh darah yang membawa darah rendah oksigen (teroksigenasi atau miskin oksigen) kecuali untuk vena paru, yang membawa darah beroksigen dari paru-paru kembali ke jantung. Pembuluh darah vena berfungsi membawa darah kembali ke jantung. Katup pada vena terdapat di sepanjang pembuluh darah yang berfungsi untuk mencegah darah tidak kembali lagi ke sel atau jaringan (Syarifuddin, 2009).

Pengambilan darah vena untuk orang dewasa dilakukan pada *vena difossa cubiti*, sedangkan pada anak-anak atau bayi darah dapat diambil dari *vena jugularis eksterna*, *vena femoralis* bahkan dapat diambil dari *sinus sagittalis superior*. Pengambilan darah vena perlu dilakukan dengan hati-hati dan seksama, karena bahaya yang dapat terjadi jauh lebih besar daripada pengambilan darah kapiler. Dalam pengambilan sampel darah vena perlu diperhatikan tempat yang akan digunakan untuk pengambilan antara lain letak dan ukuran vena (Gandasoebrata, 2013).

Kesalahan proses pengambilan darah vena menggunakan spuit antara lain jarum basah, pembendungan terlalu lama atau terlalu keras sehingga mengakibatkan hemokonsentrasi, terjadi bekuan dalam spuit karena lambatnya bekerja, dan terjadi bekuan dalam botol karena darah tidak tercampur merata dengan antikoagulan (Gandasoebrata, 2013). Kesalahan proses pengambilan darah vena menggunakan tabung vacum antara lain pencabutan jarum *vacutainer*

sebelum tabung vakum berhenti mengisap sehingga perbandingan takaran antikoagulan EDTA dan volume darah menjadi tidak tepat (Charles, 2006).

2.4 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan EDTA adalah zat yang mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat (khelasi) atau mengendapkan (presipitasi) kalsium, atau dengan cara menghambat pembentukan thrombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan. Antikoagulan EDTA tersedia dalam bentuk garam natrium dan kalium, mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi kalsium (Ca) dalam darah. EDTA memiliki keunggulan dibanding antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi sel-sel darah, sehingga ideal untuk pengujian hematologi termasuk hitung jumlah trombosit (Riswanto, 2013).

EDTA yang digunakan dalam praktek laboratorium ada tiga macam, yaitu dinatrium (Na_2EDTA), dipotasium (K_2EDTA) dan tripotasium (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA digunakan dalam bentuk cair. K_2EDTA paling baik dan dianjurkan oleh ICSH (*International Council for Standardization in Hematology*) dan CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Pemakaiannya 1 mg K_2EDTA untuk 1 ml darah. Pemakaian dalam bentuk cair dapat dilakukan dengan membuat larutan 10%, pemakaiannya 1 ml EDTA 10% untuk 5 ml darah (1:5).

Antikoagulan Na_2EDTA bentuk serbuk masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Pengukuran dipermudah dengan membuat menjadi larutan 10%, dengan konsentrasi 1,4 – 2,0 mg/ml darah (Narayanan, 2000).

Tabung darah dan tabung hampa udara (*vacutainer tube*) berisi EDTA bertutup lavender (ungu) atau pink. Tabung EDTA berisi serbuk K₂EDTA direkomendasikan oleh ICSH. Penggunaan tabung *vacutainer* pada pengambilan darah vena tidak perlu menggunakan *sprit*. Kondisi vakum mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan takaran antikoagulan dengan volume darah dapat menjadi tepat. Pengolahan spesimen untuk pemeriksaan hematologi cukup dengan menambahkan antikoagulan pada darah (Nurrachmat, 2005).

Penggunaan EDTA *vacutainer* yang tidak tepat dengan melakukan pencabutan jarum *vacutainer* sebelum tabung vakum berhenti menghisap. Akibatnya perbandingan antikoagulan EDTA dan volume darah menjadi tidak tepat sehingga terjadi peningkatan palsu jumlah trombosit (Charles, 2006).

2.5 Sumber Kesalahan Pemeriksaan Hematologi

Tahap pra analitik atau persiapan awal, merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja berikutnya. Tahap pra analitik meliputi kondisi pasien, pengambilan sampel, dan spesimen. Sebelum pengambilan spesimen form permintaan laboratorium diperiksa. Identitas pasien harus ditulis dengan benar (nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis dan sebagainya) disertai diagnosis atau keterangan klinis. Identitas harus ditulis dengan benar sesuai dengan data pasien .

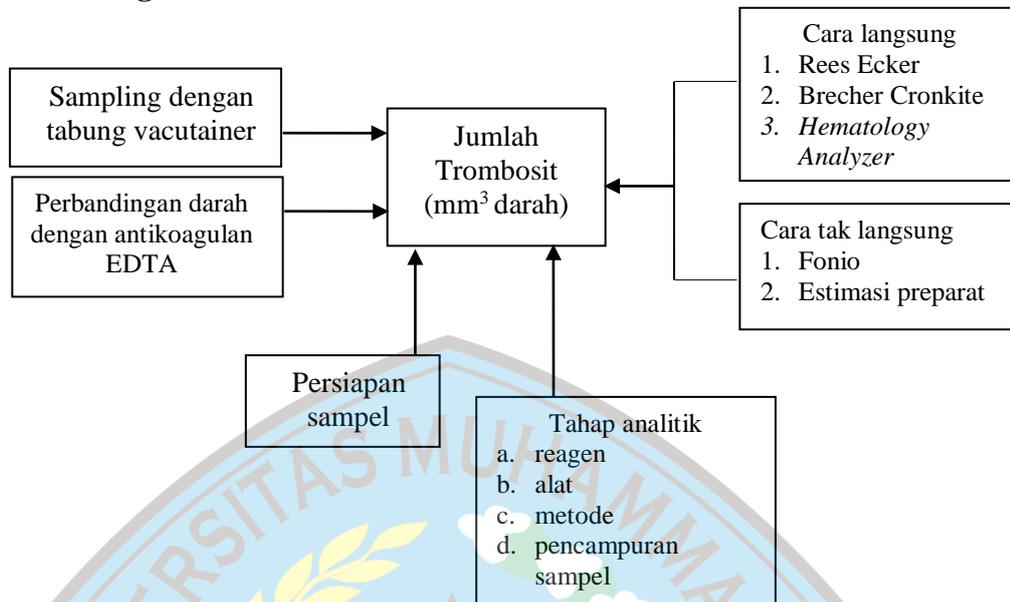
Teknik atau cara pengambilan spesimen dilakukan dengan benar sesuai *Standard Operating Procedure* (SOP). Spesimen yang akan diperiksa volume

mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar atau tidak kadaluwarsa, tidak berubah warna, dan tidak berubah bentuk. Identitas sampel sesuai dengan data pasien.

Tahap analitik merupakan tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan. Tahap paska analitik atau tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid (Budiwiyono, 2002).

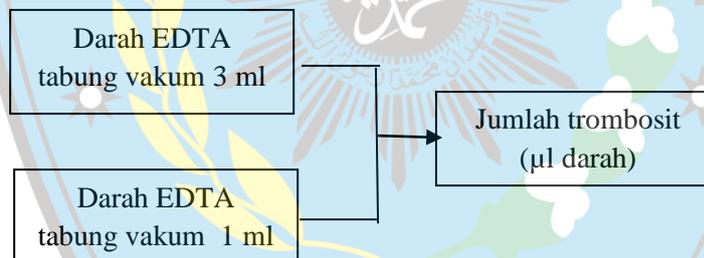


2.6 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Ada perbedaan jumlah trombosit sampel darah 3 ml dan 1 ml menggunakan tabung vakum.