

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

2.1.1 Pengertian

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang dalam keadaan fisiologik selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi, dan mekanisme hemostasis (Bakta, 2006).

2.1.2 Komponen

Darah terdiri dari dua komponen utama, yaitu plasma darah dan butir-butir darah (*blood corpuscle*). Plasma darah merupakan bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit, dan protein darah.

Butir-butir darah (*blood corpuscle*), terdiri dari sel darah putih (leukosit) atau *white blood cell* (WBC), sel darah merah (eritrosit) atau *red blood cell* (RBC), dan sel pembeku darah (*platelet*) atau trombosit. Sel pembeku darah atau trombosit merupakan salah satu dari komponen darah yang tidak memiliki inti yang berasal dari sitoplasma megakariosit (Bakta, 2006).

2.2 Trombosit

2.2.1 Pengertian dan Morfologi

Trombosit adalah fragmen sitoplasmik tanpa inti berdiameter 2-4 mikrometer 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, kemudian sitoplasma menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk platelet atau keping-keping (Sheerwood, 2012)

Trombosit berperan penting dalam mengontrol perdarahan. Apabila terjadi cedera vaskuler, trombosit berkumpul pada cedera tersebut. Substansi yang dilepaskan dari granula trombosit dan sel darah lainnya menyebabkan trombosit menempel satu sama lain sehingga membentuk sumbatan yang dapat menghentikan perdarahan untuk sementara. Substansi lain dilepaskan dari trombosit untuk mengaktifasi faktor pembekuan dalam plasma darah. (Muttaqim A, 2009)

2.2.2 Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah trombosit

Sebanyak 68% kesalahan terbesar ada pada tahap pra analitik termasuk diantaranya cara pengambilan sampel, penggunaan antikoagulan, dan penundaan pemeriksaan sampel.

Penundaan pemeriksaan sering terjadi, dan disebabkan karena tenaga medis yang kurang, volume pekerjaan yang padat, atau masalah teknis yang terjadi pada saat pemeriksaan. Menurut prosedur darah EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetat) stabil selama 2 jam pada suhu kamar, atau disimpan dalam lemari es 4°C selama 24 jam. Hal ini tentu akan berpengaruh terhadap hasil dan keakuratan pemeriksaan, salah satu diantaranya adalah perhitungan jumlah trombosit.

2.2.3 Fungsi Trombosit

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis sebagai respon hemostatik normal terhadap luka vaskuler, melalui reaksi adhesi, pelepasan, agregasi dan fusi serta aktivitas prokoagulannya. Nilai normal trombosit bervariasi sesuai metode yang dipakai. Jumlah trombosit normal menurut Deacie adalah $150 - 400 \times 10^9 / L$. Menurut metode Rees Ecker jumlah normal trombosit $140 - 340 \times 10^9 / L$, bila menggunakan *Coulter Counter* jumlah normal trombosit $150 - 350 \times 10^9 / L$ (Wirawan, 2006).

2.2.4 Sifat Trombosit

1. Adhesi yaitu sifat trombosit yang mudah melekat pada permukaan benda asing
2. Agregasi yaitu sifat trombosit yang saling melekat satu sama lain
3. Aglutinasi yaitu sifat trombosit yang mudah menggumpal
4. Disentrigasi yaitu sifat trombosit yang mudah pecah mati

2.2.5 Struktur Trombosit

Ukuran trombosit bervariasi sekitar 1- 4 mikrom sebagian sel berbentuk ringan dan tidak berinti. Garis tengah trombosit $0,75 - 2,25 \text{ mm}$. Meskipun trombosit ini tidak berinti tetapi masih dapat melakukan sintesis protein, walaupun sangat terbatas, karena didalam sitoplasma masih terdapat sejumlah RNA (Sacher RA, McPherson RA, 2012).

Struktur trombosit terdiri dari membran- membran trombosit yang kaya akan fosfolipid, diantaranya adalah factor trombosit 3 yang meningkatkan pembekuan selama hemostatis. Fosfolipid membrane ini berfungsi sebagai suatu permukaan untuk berinteraksi dengan Protein-protein plasma yang berperan dalam proses

koagulasi darah. Sitoplasma trombosit mengandung mikrofilamen, terdiri dari trobostenin yaitu suatu protein kontraktif mirip dengan aktinmiosin yang berperan dalam kontraksi jaringan otot. Mikrotubulus yang membentuk suatu kerangka internal juga ditemukan di sitoplasma. Struktur ini terletak dibawah membrane plasma membentuk struktur tubular berupa pita melingkar seperti mikrotubulus pada sel lain. Mikrotubulus dan mikrofilamen yang membentuk sitoskeleton trombosit bertanggung jawab mempertahankan bentuk, serta mempermudah reaksi pelepasan trombosit.

Bagian dalam trombosit terdapat kalsium, nukleotida terutama Adenosin Difosfat (ADP), Adenosin Trifosfat (ATP), Serotonin dan granula alfa yang mengandung protein spesifik. Granula padat lebih sedikit jumlahnya dan mengandung ADP, ATP, 5-hidroksitriptamin (5-HT) dan kalsium. Granula padat merupakan bagian integral dari fungsi normal trombosit, yang diperkirakan terjadi sistem tubulus internal yang disebut sistem bulus padat. Faktor trombosit 4 dan b-tromboglobulin adalah zat-zat dalam keadaan normal hanya terdapat pada trombosit utuh, Selain itu trombosit masih mempunyai mitokondria, butir glikogen yang berfungsi sebagai cadangan energi (Sacher RA, MsPheerson RA, 2012).

2.2.6 Pemeriksaan Hitung Trombosit Secara Langsung

1. Metode Rees Ecker

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).

2. Metode Brecher Cronkite

Darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisiskan sel darah merah, trombosit dihitung pada bilik hitung menggunakan mikroskop *fase kontras*. Kemungkinan kesalahan *Brecher Cronkite* 8-10% .

3. Metode *Automatic Cell Counter*

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 (Koeswardani., 2001).

Teknik pendar cahaya akan menghamburkan, memantulkan atau membiaskan cahaya yang berfokus pada sel, oleh karena tiap sel memiliki granula dan indek bias berbeda maka akan menghasilkan pendar cahaya berbeda dan dapat teridentifikasi. Alat yang menggunakan teknik ini ialah *hematology analyzer cell*, namun *automatic cell counter* masih terdapat kelemahan yaitu apabila ada trombosit yang bergerombol, trombosit besar (*giant*) serta adanya kotoran, pecahan eritrosit, pecahan leukosit sehingga *cross check* menggunakan sediaan apus darah tepi sangat berarti (Koeswardani., 2001).

2.2.7 Cara Otomatis Menggunakan *Hematology Analyzer*

Alat *hematology analyzer* merupakan alat untuk serangkaian pemeriksaan hematologi yang dapat memberikan hasil lebih cepat. Alat hematologi otomatis memiliki beberapa kelebihan diantaranya efisiensi waktu, volume sampel yang digunakan sedikit, ketepatan hasil, dimana hasil yang dikeluarkan alat *hematology analyzer* ini sudah melalui *quality control* yang dilakukan oleh intern laboratorium (Sysmex 2016).

Kekurangan *hematology analyzer*, yaitu tidak dapat menghitung sel abnormal sehingga hitung jumlah trombosit akan rendah karena ada beberapa sel abnormal tidak dapat dihitung. Alat perlu mendapat perawatan dan perhatian khusus seperti, suhu ruangan harus dilakukan kontrol secara berkala, reagen dalam penyimpanan yang baik, sampel dijaga supaya tidak terjadi aglutinasi. Sampel darah yang digunakan adalah sampel darah yang sudah ditambahkan antikoagulan, karena darah yang menggumpal jika terhisap akan merusak alat (Sysmex).

2.3 Pengaruh Suhu dan Penundaan Terhadap Jumlah trombosit

Spesimen yang tidak langsung diperiksa dapat disimpan dengan memperhatikan jenis pemeriksaan yang akan diperiksa. Penyimpanan spesimen sedapat mungkin dihindarkan, artinya darah segera diperiksa setelah berhasil ditampung atau diambil (Nurrachmat, 2005).

Persyaratan penyimpanan beberapa spesimen untuk beberapa pemeriksaan harus memperhatikan jenis spesimen, antikoagulan atau pengawet dan wadah serta stabilitasnya. Beberapa cara penyimpanan spesimen, yaitu disimpan pada suhu kamar, disimpan dalam lemari es dengan suhu 2-8°C, dapat diberikan bahan

pengawet, atau spesimen darah sebaiknya disimpan dalam bentuk serum atau lisat (Witono, 2008).

Sampel darah yang digunakan untuk hitung jumlah trombosit sebaiknya darah kapiler segar atau darah vena yang ditambahkan antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan. Pemeriksaan jumlah trombosit dengan darah EDTA sebaiknya dilakukan segera, hanya kalau perlu boleh disimpan dalam lemari es suhu 4°C. Batas kritis pemeriksaan darah EDTA yang disimpan pada lemari es suhu 4°C untuk jumlah trombosit adalah 1 jam (Gandasoebrata, 2013).

2.4 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan 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 (Riswanto, 2013). Antikoagulan-antikoagulan dalam pemeriksaan hematologi adalah EDTA, Natrium sitrat, heparin dan oksalat (Riswanto, 2013).

Antikoagulan EDTA umumnya 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. EDTA yang biasa digunakan adalah dinatrium (Na_2EDTA), dan dipotasium (K_2EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya digunakan dalam bentuk kering (Riswanto, 2013).

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

2.5 Pengaruh Antikoagulan EDTA Terhadap Jumlah Trombosit

Batas waktu pemeriksaan hematologi menggunakan darah EDTA untuk trombosit adalah 1 jam. Na_2EDTA dalam bentuk serbuk digunakan dengan perbandingan 1,5 mg Na_2EDTA per mililiter darah. Perbandingan pemberian EDTA dengan darah yang tidak tepat maka akan memberikan hasil tidak sesuai dengan kenyataan (Tiez, Brown dalam Nurrachmat, 2005). Garam EDTA bersifat hiperosmolar, sehingga dapat menyebabkan hitung jumlah trombosit menurun (Wirawan, 2006).

Perbandingan larutan EDTA 10% dengan volume darah kurang dari seharusnya maka darah dapat mengalami pembekuan. Pemakaian EDTA berlebihan akan menyebabkan trombosit membesar dan mengalami disintegrasi. Darah EDTA harus segera dicampur setelah pengambilan untuk menghindari pengelompokan trombosit dan pembentukan bekuan (Riswanto, 2013).

2.6 Kesalahan Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit diantaranya :

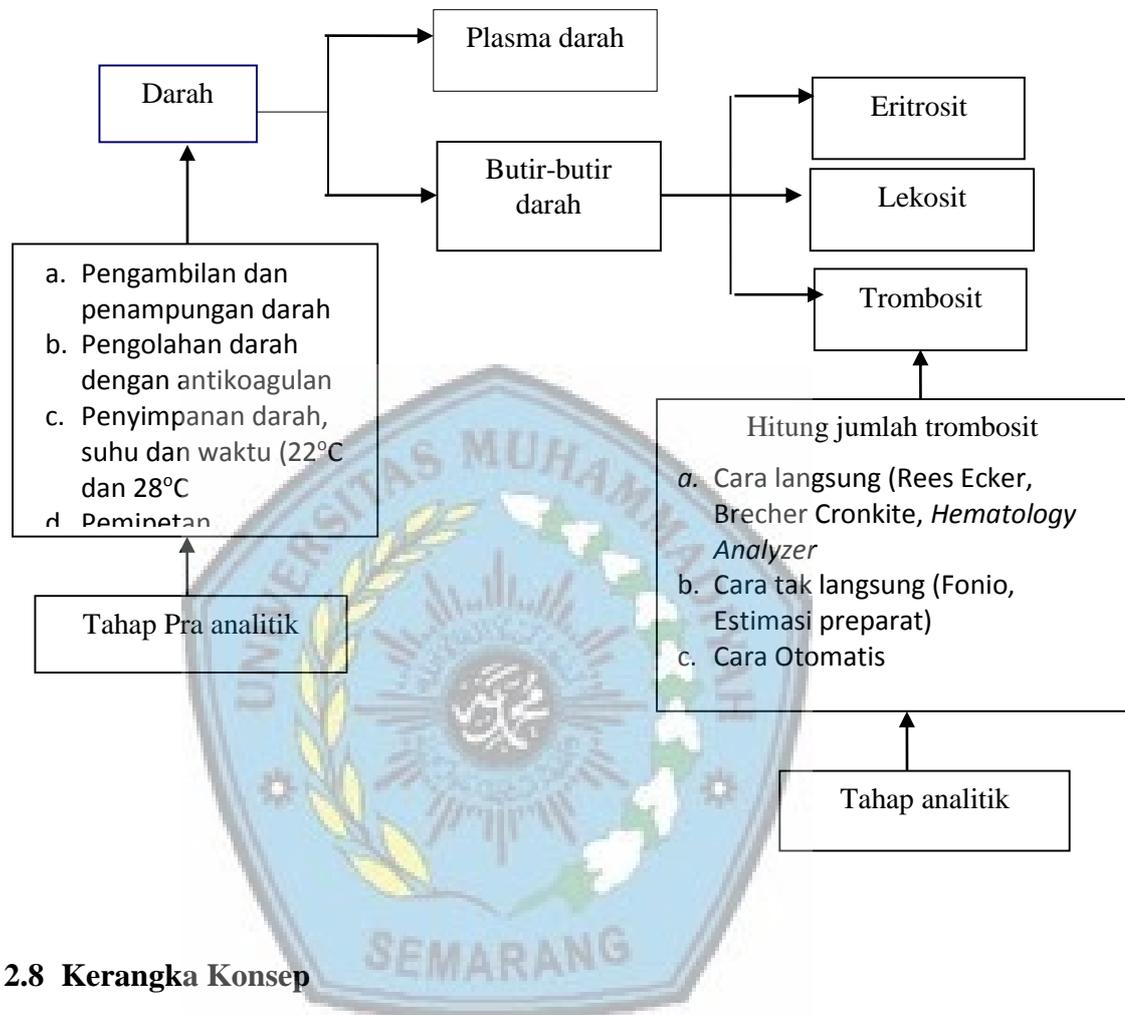
1. Tahap Pra Analitik atau tahap persiapan awal, dimana tahap ini sangat menentukan kualitas sampel yang nantinya akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja berikutnya. Tahap pra analitik meliputi :

- a. Kondisi pasien, 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.
 - b. Pengambilan sampel idealnya dilakukan waktu pagi hari. Teknik atau cara pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai *Standard Operating Procedure (SOP)* yang ada.
 - c. Spesimen yang akan diperiksa volume mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar atau tidak kadaluwarsa, tidak berubah warna, tidak berubah bentuk, pemakaian antikoagulan atau pengawet tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat dan identitas sesuai dengan data pasien
 - d. Persiapan pemeriksaan seperti pengenceran tidak tepat, larutan pengencer tercemar darah atau lainnya, alat yang dipergunakan seperti pipet, *hematology analyzer*
 - e. Sampel disimpan pada suhu AC lebih dari 2 jam atau lemari es lebih dari 6 jam.
2. Tahap Analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan.
 3. Tahap Paska Analitik atau tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar – benar valid atau benar (Budiwiyono, 2002).
 4. Selalu memperhatikan suhu penyimpanan dan batas waktu penyimpanan.

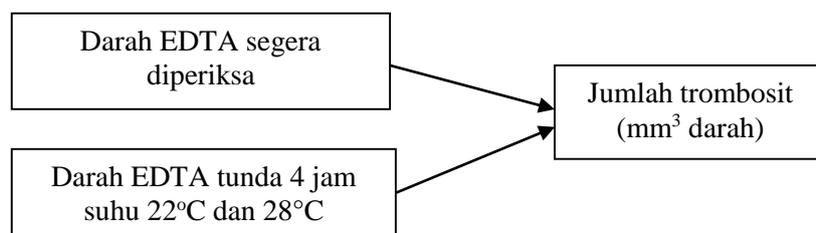
5. Harus memperhatikan spesimen yang akan di periksa.
6. Harus memperhatikan alat yang akan di pakai dan alat tersebut harus rutin di kalibrasi sehingga hasil yang dikeluarkan dapat di pertanggung jawabkan .



2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep



2.9 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan jumlah trombosit darah EDTA segera diperiksa dengan ditunda 4 jam suhu 22°C dan 28°C.



