

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Teoritis

2.1.1 Tinjauan Umum Darah

2.1.1.1 Definisi Darah

Darah adalah suatu suspensi partikel dalam suatu larutan koloid cair yang mengandung elektrolit dan merupakan suatu medium pertukaran antar sel yang terfikasi dalam tubuh dan lingkaran luar. Darah disebut media pertukaran karena fungsinya membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan dan karbondioksida dari jaringan ke paru-paru untuk dikeluarkan, membawa zat nutrisi dari saluran cerna ke jaringan kemudian menghantarkan sisa metabolisme melalui organ seperti ginjal, menghantarkan hormon dan materi materi pembekuan darah (Muslimah S, 2015).

Darah arteri berwarna merah muda karena banyak oksigen yang berikatan dengan hemoglobin dalam sel darah merah sedangkan darah vena berwarna merah tua/gelap karna kurang oksigen dibandingkan dengan darah arteri. pH darah bersifat alkaline dengan pH 7.35 sampai 7.45 (netral 7.0). Volume darah orang dewasa sekitar 4-5 liter darah (Tarwoto, 2008).

Darah diproduksi dalam sumsum tulang dan nodus limpa. Volume darah manusia sekitar 7% - 10% berat badan normal dan berjumlah sekitar 5 liter, jumlah ini berbeda-beda tiap orang. Darah terdiri dari dua komponen yaitu plasma darah dan butir-butir darah. Plasma darah adalah bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah. Butir-butir darah (Blood

corpuscles) terdiri atas tiga elemen yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (platelet) (Handayani W. dkk, 2008).

2.1.1.2 Fungsi Darah

1. Transport internal

Darah membawa berbagai macam substansi untuk fungsi metabolisme

2. Proteksi tubuh terhadap mikroorganisme, yang merupakan fungsi dari sel darah putih

3. Proteksi terhadap cedera dan perdarahan; proteksi terhadap respon peradangan lokal terhadap cedera jaringan. Pencegahan perdarahan merupakan fungsi dari trombosit karena adanya faktor pembekuan, Fibrinolitik yang ada plasma.

4. Mempertahankan temperatur tubuh; darah membawa panas dan bersirkulasi keseluruh tubuh. Hasil metabolisme juga menghasilkan energi dalam bentuk panas (tarwoto, 2008).

2.1.2 Tinjauan Umum Trombosit

2.1.2.1 Definisi Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit, yang merupakan suatu sel yang berasal dari sumsum tulang yang berukuran besar. Megakariosit matang akan ditandai dengan proses replikasi endomitotik inti. Sehingga pada akhirnya, terjadi replikasi inti yang lebih lanjut, sitoplasma menjadi granuler, dan selanjutnya trombosit dibebaskan. Setiap megakariosit menghasilkan sekitar 2000-4000 trombosit. Trombosit berdiameter 1-4 um mempunyai dinding mukopolisakarida yang berfungsi dalam reaksi adesi dan agregasi

trombosit (Enny Rohmawaty, 2003). Jumlah trombosit normal berkisar 150.000-400.000/mm³ dengan proses pematangan selama 7 – 10 hari dalam sumsum tulang. Trombosit berperan penting dalam mengontrol pendarahan. Apabila terjadi cedera vaskuler, trombosit akan mengumpul pada cedera tersebut. Substansi yang dilepaskan dari granula trombosit dan sel darah lainnya menyebabkan trombosit menempel satu sama lainnya sehingga membentuk sumbatan yang dapat menghentikan pendarahan untuk sementara. Sedangkan substansi lain yang dilepaskan dari trombosit untuk mengaktivasi faktor pembekuan dalam plasma darah (Uswatun Khasanah, 2016).

2.1.2.2 Struktur Trombosit

Trombosit berasal dari fragmen sitoplasma megakariosit yang tidak berinti dan terbentuk di sumsum tulang. Trombosit matang berukuran 2-4 um, berbentuk cakram bikonveks. Setelah keluar dari sumsum tulang, sekitar 20-30 % trombosit mengalami sekuestrasi di limpa (Wulandari, 2012). Struktur trombosit dibagi menjadi tiga komponen yaitu membran trombosit, sitoskeleton dan organel. Membran trombosit terbentuk dari lapisan fosfolipid dua lapis dengan distribusi yang asimetris. Membrane 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).

2.1.2.3 Fungsi Trombosit

Trombosit mempunyai fungsi utama yaitu pembentukan sumbat mekanis sebagai respon hemostatik normal terhadap luka vaskular. Proses pembentukan sumbatan tersebut melalui adesi, pembebasan, agregasi dan fusi, serta aktivitas prokoagulannya (Enny Rohmawati, 2003). Trombosit melekat kepermukaan yang rusak dan mengeluarkan beberapa zat (serotonin dan histamin) yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh. Fungsi lain dari trombosit yaitu untuk mengubah bentuk dan kualitas setelah berikatan dengan pembuluh yang cedera. Trombosit akan melengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit yang secara efektif akan menutupi daerah yang luka (Handayani. dkk, 2008).

Menurut DEPKES RI III tahun 1989:

1. Sebagai sumbatan dalam proses hemostasis
2. Menghasilkan zat kimia tertentu yang menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah
3. Mempertahankan integritas pembuluh darah (daya tahan kapiler, kontraksi kapiler)
4. Sebagai fagositosis (pertahanan non spesifik)
5. Sebagai alat transport disubstansi tertentu
6. Melindungi dinding pembuluh darah bagian dalam
7. Sebagai sumber pembentukan protrombin
8. Pembekuan darah dan retraksi bekuan

Pembentukan dan stabilitas sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahapan yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit dan reaksi pelepasan (Setiabudy, 2009).

a. Adhesi Trombosit

Bila terjadi perlukaan pada pembuluh darah, maka trombosit akan melekatkan diri pada jaringan ikan subendotelial yang terbuka. Proses melekatnya trombosit pada permukaan yang bukan sesamanya disebut fungsi adhesi trombosit. Fungsi vital ini tergantung dari sebagian pada Faktor VIII protein dan plasma yang dikenal sebagai faktor Von Willebrand yang merupakan bagian dari fraksi utama molekul faktor VIII, faktor VIIIIR : AG (antigen yang berhubungan dengan faktor VIII). Adhesi juga tergantung pada glikoprotein membrane permukaan trombosit yang tidak terdapat pada syndrome Bernard-Soulier (Muslimah, S, 2016).

b. Reaksi Pelepasan

Proses adhesi menyebabkan fosforilasi protein dan mobilisasi kalsium internal. Sehingga pada tahap ini trombosit akan berubah bentuk jauh dari sifat-sifat aslinya yang membentuk tonjolan-tonjolan yang akan membuat perlekatan semakin kuat. bersamaan dengan ini trombosit akan mengeluarkan zat (ADP, Serotonin dan Tromboksan A₂) yang akan mengaktifkan trombosit-trombosit disekitar perlukaan dan ikut tertarik untuk membantu penumpukkan trombosit sebagai proses penyumbatan (Hani Rahayu, 2016).

c. 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 dipermukaan endotel. Proses ini disebut agregasi primer. Selanjutnya trombosit pada agregasi primer akan mengeluarkan ADP sehingga terjadi agregasi trombosit sekunder yang bersifat irreversible. Selain ADP, untuk agregasi trombosit diperlukan ion kalsium dan fibrinogen. Agregasi trombosit terjadi karena adanya pembentukan ikatan diantara fibrinogen yang melekat pada dinding trombosit dengan perantara ion kalsium. Mula mula ADP akan terikat dengan reseptor tersebut. Kemudian ion kalsium akan menghubungkan fibrinogen tersebut sehingga terjadi agregasi trombosit (setiabudy, 2009).

d. Fusi Trombosit

Konsentrasi tinggi ADP, enzim-enzim yang dibebaskan selama reaksi pelepasan dan trombastin bersama-sama menyebabkan fusi irreversible trombosit yang beragregasi pada tempat luka vascular. Trombin yang juga mendorong fusi trombosit, dan pembentukan fibrin memperbesar stabilitas sumbatan platelet yang sedang berkembang faktor pertumbuhan yang ditemukan dalam granula spesifik trombosit merangsang sel otot polos pembuluh darah untuk memperbanyak diri dan inti dapat mempercepat kesembuhan vaskuler setelah luka (Muslimah, 2016).

2.1.2.4 Kelainan Trombosit

1. Penyakit *Von Willebrand*

Penyakit *von willebrand* adalah suatu kekurangan atau kelainan pada faktor *von willebrand* didalam darah yang sifatnya diturunkan. Faktor *van willebrand* adalah suatu protein yang mempengaruhi fungsi trombosit. Merupakan kelainan trombosit hereditier (keturunan) yang paling sering ditemukan faktor *von willebrand* ditemukan dalam plasma, trombosit dan dinding pembuluh darah, jika faktor ini hilang atau jumlahnya kurang maka tidak akan terjadi penyumbatan pembuluh darah yang terluka (proses melekatnya trombosit kedinding pembuluh yang mengalami cidera) sebagai akibatnya pendarahan tidak segera berhenti sebagaimana mestinya (Muslima, 2016).

2. Purpura Trombositopeni Idiopatik (PTI)

Purpura trombositopeni idiopatik disebut juga *autoimmune thrombocytopenic purpura*, *morbus wirlhof* atau *purpura hemorrhagica*, merupakan kelainan perdarahan (bleeding disorder) yang didapat sebagai akibat dari penghancuran trombosit yang berlebihan, yang ditandai dengan trombositopenia (trombosit $<100.000/\mu\text{l}$), purpura, gambaran darah tepi yang umumnya normal, dan tidak ditemukan penyebab trombositopenia lainnya.

3. Sindrom Bernard Soulier

merupakan hilangnya protein dipermukaan trombosit. Penyakit ini merupakan penyakit autosomal resesif berkaitan dengan kecendrungan mengalami pendarahan, ditemukan adanya giant platelets, dan jumlah

trombosit yang menurun. ditandai dengan mudah memar dan perdarahan hebat saat cidera. Kerusakan yang terjadi hanya terbatas pada lini megakariosit/trombosit. sindrom ini jarang ditemukan dan diperkirakan hanya sekitar 100 kasus yang terpublikasikan baik di Jepang, Eropa, maupun Amerika Utara (Muslimah, 2016).

2.1.3 Faktor Faktor Yang Mempengaruhi Hasil Pemeriksaan Trombosit

2.1.3.1 Faktor Patologis

1. Perbandingan volume darah dengan antikoagulan tidak sesuai dapat menyebabkan kesalahan pada hasil :

- a. Jika volume terlalu sedikit (1-1,5 mg Na₂EDTA/ml darah untuk Na₂EDTA kering 10 ul/ml darah untuk EDTA cair), sel-sel eritrosit mengalami krenasi, sedangkan trombosit membesar dan mengalami desintergrasi. Dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun.
- b. Jika volume terlalu banyak (1-1,5 Mg Na₂EDTA/ml darah untuk Na₂EDTA kering dan 10 ul/ML darah untuk EDTA cair) dapat menyebabkan terbentuknya jendalan yang berakibat menurunnya jumlah trombosit (Muslimah, 2016).

2. Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dengan penundaan pemeriksaan lebih dari 1 jam menyebabkan penurunan jumlah trombosit (Gandasoebrata, 2010).

3. Penggunaan darah kepiler menyebabkan hitung trombosit cenderung lebih rendah (Gandasoebrata, 2010).

4. Pengambilan sampel darah yang lamban menyebabkan trombosit saling melekat (Agregasi) sehingga jumlahnya menurun (negatif palsu).

5. Tidak segera mencampur darah dengan anti koagulan atau pencampuran yang kurang adekuat juga dapat menyebabkan agregasi trombosit, bahkan terjadi bekuan (Gandasoebrata, 2010)

6. Kesalahan pengambilan darah vena

- a. Menggunakan spoit yang basah
- b. Membendung terlalu lama atau terlalu keras, akibatnya hemokonsentrasi
- c. Terjadi bekuan darah dalam spuit karena lambannya bekerja
- d. Terjadi bekuan dalam wadah karena tidak dicampur semestinya dengan antikoagulan yang digunakan (Gandasoebrata, 2010).

2.1.3.2 Faktor Laboratoris

1. Faktor Pra Analitik

Faktor pra analitik merupakan tahapan penentuan suatu kualitas sampel yang digunakan pada tahap-tahap selanjutnya. Pada tahap ini meliputi : Ketatausahaan, persiapan penderita, pengumpulan spesimen dan penanganan spesimen. Kesalahan pada proses Pra analitik dalam pemeriksaan laboratorium dapat memberikan kontribusi sekitar 62% dari total keseluruhan jumlah pemeriksaan laboratorium (Muslimah, 2016).

a. Persiapan Pasien

Ada beberapa sumber kesalahan yang kurang terkontrol dari proses pra analitik yang dapat mempengaruhi pemeriksaan laboratorium seperti aktivitas fisik, puasa, diet, stres, efek posisi, menstruasi, kehamilan, gaya hidup (konsumsi alkohol, rokok, kopi dan obat – obatan), usia, jenis kelamin, pasca transfusi, pasca donasi, pasca operasi dan sebagainya. karena hal hal yang

disebutkan memiliki pengaruh yang kuat terhadap beberapa pemeriksaan hematologi, untuk itu pasien harus selalu mempertimbangkan sebelum dilakukan pengambilan sampel.

b. Persiapan Pengumpulan Sampel

Spesimen yang akan diperiksa di laboratorium sebaiknya memenuhi persyaratan jenis sesuai jenis pemeriksaan, volume mencukupi, kondisi yang baik: tidak lisis, segar/tidak kadaluwarsa, pemakaian antikoagulan dan pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat identitas benar sesuai dengan data pasien (Muslimah, 2016).

c. Pengambilan Spesimen

Hal yang perlu diperhatikan dalam pengambilan spesimen adalah:

1. Teknik atau cara pengambilan spesimen harus sesuai (SOP) yang berlaku.
2. Cara menampung spesimen dalam wadah/penampung yang perlu diperhatikan yaitu:
 - a) Seluruh sampel harus masuk kedalam wadah (sesuai kapasitas).
 - b) Wadah harus dapat ditutup rapat dan diletakkan dalam posisi berdiri untuk mencegah spesimen tumpah
 - c) Darah harus segera dimasukkan kedalam tabung setelah pengambilan
 - d) Sampel berupa cairan harus dimasukkan melalui dinding tabung dengan hati hati agar tidak terjadi hemolisis
 - e) Pastikan jenis antikoagulan dan volume darah yang ditambahkan tidak keliru
 - f) Hemogenisasi segera darah yang menggunakan antikoagulan.

Sumber – sumber kesalahan pada pengambilan spesimen darah:

- a. Pemasangan tourniquet terlalu lama
- b. Pengambilan darah terlalu lama (tidak sekali tusuk dapat) yang menyebabkan trombosit menurun
- c. Pengambilan darah lewat jalur infus, sehingga menyebabkan eritrosit, leukosit dan trombosit menurun.
- d. Keterlambatan homogenisasi dengan antikoagulan yang menyebabkan terbentuknya bekuan darah (Muslimah, 2016).

2. Analitik

Pemeriksaan Laboratorium, pemeliharaan dan kalibrasi alat, kualitas reagen serta pemeriksaan.

3. Pasca Analitik

Kegiatan pencatatan dan pelaporan hasil dilaboratorium.

2.1.4 Metode Pemeriksaan Trombosit

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit terdiri dari dua metode yaitu metode manual dan metode otomatis. metode manual dihitung dengan cara tabung dan pipet thoma (rees ecker). Pemeriksaan dengan pipet thoma digunakan alat hemositometer yang terdiri dari kamar hitung, kaca penutupnya dan dua macam pipet. Mutu kamar hitung serta pipet-pipetnya harus memenuhi syarat-syarat ketelitian tertentu.

2.1.4.1 Kamar Hitung

Bilik hitung yang dipakai ialah yang memakai garis bagi “*Improved Neubauer*”. Luas seluruh kamar yang dibagi adalah 9 mm² dan kamar ini

dibagi menjadi sembilan kamar besar yang luasnya masing-masing 1 mm^2 . Kamar besar di empat sudut dibagi menjadi 16 kamar sedang dengan ukuran $1/4 \times 1/4 \text{ mm}^2$. Sedangkan kamar besar ditengah dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan ukuran $1/5 \times 1/5 \text{ mm}^2$. Tiap kamar sedang itu dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil, dengan demikian jumlah kamar kecil seluruhnya 400 buah, masing masing luasnya $1/20 \times 1/20 \text{ mm}^2$. Tinggi kamar hitung, yaitu jarak antara permukaan yang bergaris-garis dan kaca penutup yang berpasangan adalah $1/10 \text{ mm}^2$ (Gandasoebrata, 2010).

2.1.4.2 Kaca Penutup

Hendaknya memakai kaca penutup yang khusus diperuntukkan bagi kamar hitung. Kaca penutup untuk menghitung jumlah trombosit dengan tehnik fasekontrast lebih tipis daripada yang dipakai oleh mikroskop biasa.

2.1.4.3 Pipet

Pipet thoma untuk pengenceran trombosit adalah pipet thoma eritrosit, terdiri dari sebuah pipa kapiler yang bergaris bagi dan membesar pada salah satu ujung menjadi bola. dalam bola itu terdapat sebutir kaca berwarna merah. Pada pertengahan pipa kapiler ada garis bertanda angka “0,5” dan pada sisi atasnya terdapat garis bertanda “1,0”. Kemudian diatasnya lagi terdapat angka yaitu “101”. Perhatikan bahwa angka-angka tersebut bukanlah menandakan satu volume yang mutlak melainkan perbandingan volume. Yang penting dalam menentukan ialah pengenceran darah yang terjadi dalam pipet itu. Seandainya yang lebih dulu diisap darah sampai garis tanda “0,5”

kemudian larutan pengencer sampai garis tanda “101”, maka darah dalam bola pipet itu diencerkan 200 kali (Gandasoebrata R., 2010).

2.1.4.4 Hitung Trombosit

Salah satu pemeriksaan laboratorium pada trombosit adalah hitung jumlah trombosit. Namun saat ini trombosit masih sukar dihitung lantaran trombosit mudah sekali pecah dan sulit sekali dibedakan dengan kotoran kecil. Trombosit dapat dihitung dengan beberapa cara yaitu dengan cara langsung dengan larutan Rees Ecker atau Amonium Oksalat 1%, dan cara tidak langsung dengan menggunakan metode Fonio, serta cara otomatis. Jumlah trombosit dalam keadaan normal adalah 150.000 – 450.000 per ul darah (Gandasoebrata, 2010).

2.1.5 Pemeriksaan Trombosit

2.1.5.1 Cara Langsung

a. Larutan Rees Ecker

Darah diencerkan dengan larutan yang terdiri dari BCB (Brilliant Cresyl Blue), sehingga trombosit akan terwarnai terang kebiruan, akan tetapi eritrosit tidak dilisiskan (Gandasoebrata, 2010).

b. Larutan Amonium Oksalat 1%

Darah diencerkan dengan ammonium oksalat 1% yang melisiskan sel darah merah, trombosit dihitung dengan *Hemositometer* dan mikroskop fase kontras. Penggunaan ammonium oksalat 1% lebih akurat dibandingkan larutan sitrat dalam melisiskan sel darah merah (Gandasoebrata, 2010).

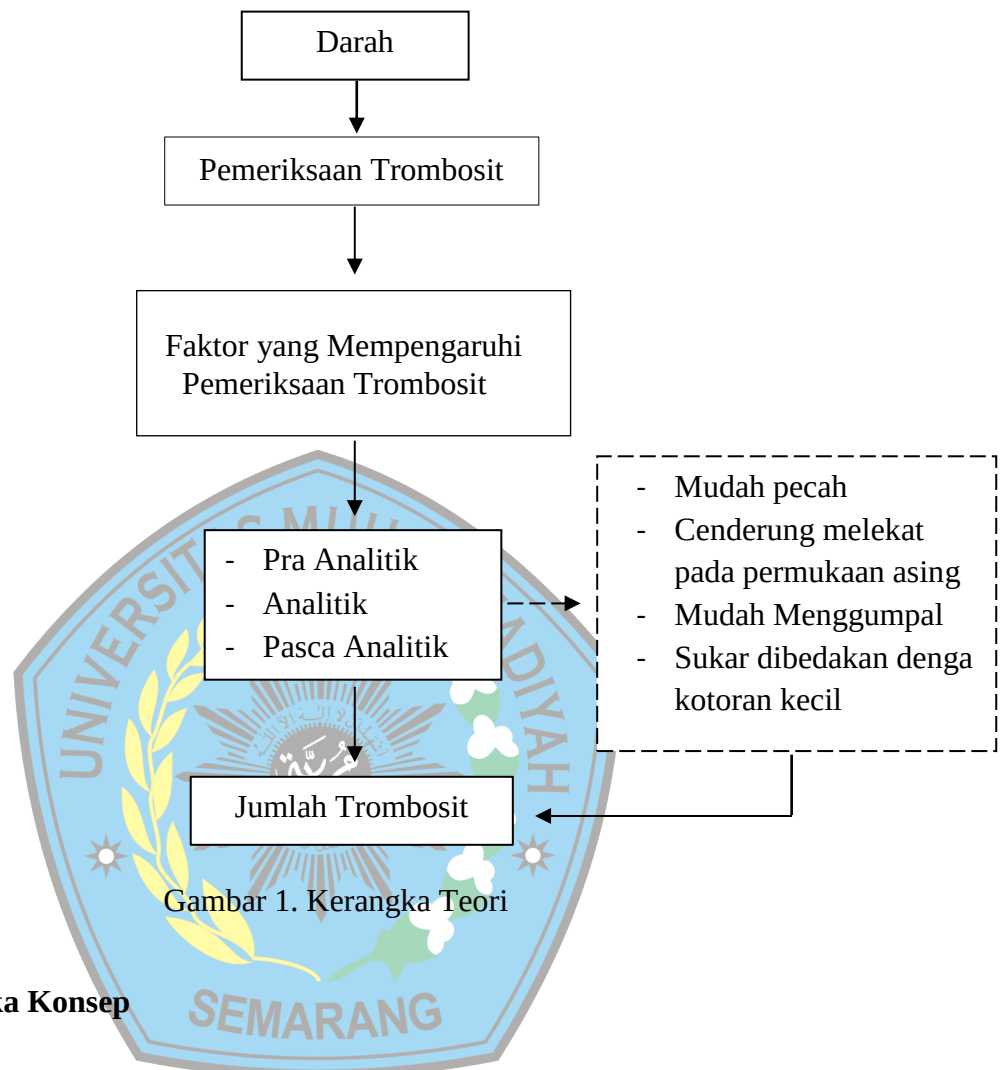
2.1.5.2 Cara Tak Langsung

Mula-mula darah kapiler pada ujung jari dicampur dengan magnesium sulfat 14%, kemudian dibuat Sediaan Apus Darah Tepi (SADT), kemudian dilakukan pengecatan Giemsa. Jumlah trombosit dihitung dalam 1000 eritrosit (Gandasoebrata, 2010).

2.1.5.3 Cara Automatik

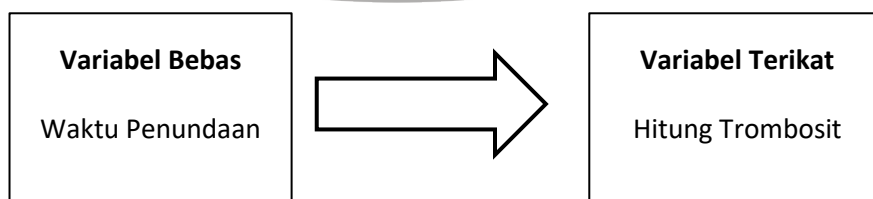
Menghitung jumlah trombosit dengan menggunakan alat otomatis (*Sysmex KX-21*), yang mana prinsipnya adalah impedansi, teknik ini berdasarkan pengukuran besarnya resistensi elektronik antara dua elektrode. Cara otomatis menggunakan alat *Hematology Analyser* lebih banyak trombosit yang dapat dihitung namun teknik ini dapat menimbulkan kesalahan jika jumlah leukosit melebihi $100.000/\text{mm}^3$, terdapat fragmentasi eritrosit berat, larutan pengencer tidak bebas partikel, sampel plasma dibiarkan terlalu lama sebelum dilakukan pemeriksaan sehingga trombosit melekat satu dengan yang lainnya (Adisti W, 2016).

2.2 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan jumlah trombosit yang segera diperiksa dan ditunda pada sampel *Whole Blood*