

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Demam Berdarah Dengue**

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu dari klasifikasi derajat penyakit yang disebabkan oleh virus dengue. DBD disebabkan oleh Virus Dengue yang termasuk dalam genus Flavivirus, keluarga Flaviviridae. Flavivirus merupakan virus dengan diameter 30 nm terdiri dari asam ribonukleat rantai tunggal yang dikelilingi oleh nukleokapsid ikosahedral dan terbungkus oleh selaput lipid dengan berat molekul  $4 \times 10^6$ . Virus dengue berbentuk batang, bersifat termolabil, sensitif terhadap inaktivasi oleh dietil eter dan natrium dioksikolat, virus ini stabil pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  (Suhendro, 2014).

Infeksi virus dengue dapat bersifat asimtomatik berupa demam yang tidak khas, demam dengue, atau DBD dengan rembesan plasma yang dapat menimbulkan syok. Penyebaran penyakit DBD terdapat di daerah tropis dan sub tropis. Infeksi dengue di Indonesia merupakan penyakit endemik yang merata di seluruh wilayah (Depkes, 2011).

DBD adalah suatu penyakit yang parah dan sering bersifat fatal, dan merupakan penyakit dengan manifestasi demam yang disebabkan oleh virus dengue. DBD memperlihatkan semua gejala yang dialami oleh pasien demam dengue, namun disertai tanda perdarahan (tes *tourniquet* positif dan perdarahan spontan), trombositopenia, tanda yang menunjukkan peningkatan permeabilitas vaskular (hemokonsentrasi atau efusi cairan di rongga dada), abnormalitas

hemostasis. DBD pada kasus yang parah, pasien dengan sindrom renjatan (*dengue shock syndrome, DSS*) dapat mengalami kehilangan protein yang didasari oleh mekanisme imunopatologis (Martin, 2009).

Masa inkubasi virus *dengue* dalam manusia (inkubasi intrinsik) berkisar antara 3 sampai 14 hari sebelum gejala muncul. Gejala klinis rata-rata muncul hari keempat sampai hari ketujuh, sedangkan masa inkubasi ekstrinsik (di dalam tubuh nyamuk) berlangsung sekitar 8-10 hari (Kurane, 2007). Manifestasi klinis mulai dari infeksi tanpa gejala demam, DD dan DBD ditandai dengan demam tinggi terus menerus selama 2-7 hari, pendarahan diatesis seperti uji *tourniquet* positif, trombositopenia dengan jumlah trombosit  $\leq 100 \times 10^9/L$  dan kebocoran plasma akibat peningkatan permeabilitas pembuluh (WHO, 2009).

Tiga tahap presentasi klinis diklasifikasikan sebagai demam, beracun dan pemulihan. Tahap beracun, yang berlangsung 24-48 jam, adalah masa paling kritis, dengan kebocoran plasma cepat yang mengarah ke gangguan peredaran darah. Terdapat empat tahapan derajat keparahan DBD, yaitu derajat I, II, III dan IV. Derajat I ditandai dengan demam disertai gejala tidak khas dan uji *torniquet* positif. Derajat II yaitu derajat I ditambah perdarahan spontan di kulit atau perdarahan lain. Derajat III ditandai adanya kegagalan sirkulasi yaitu nadi cepat dan lemah serta penurunan tekanan nadi ( $<20$  mmHg), hipotensi (sistolik menurun sampai  $<80$  mmHg), sianosis di sekitar mulut, akral dingin, kulit lembab dan pasien tampak gelisah. Derajat IV yang ditandai dengan syok berat (*profound shock*) yaitu nadi tidak dapat diraba dan tekanan darah tidak terukur (Hadinegoro, 2001)

Pemeriksaan darah untuk pasien diduga demam dengue adalah melalui pemeriksaan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah trombosit dan hapusan darah tepi untuk melihat adanya limfositosis relatif disertai gambaran limfosit plasma biru. Diagnosis pasti diperoleh dari hasil isolasi virus dengue (*cell culture*) ataupun deteksi antigen virus RNA dengue dengan teknik RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*). Teknik tersebut lebih rumit, sehingga saat ini tes serologis yang mendeteksi adanya antibodi spesifik terhadap dengue berupa antibodi total, Imunoglobulin M maupun Imunoglobulin G. Pasien diduga DBD mengalami kebocoran plasma yang dibuktikan dengan ditemukannya peningkatan hematokrit  $\geq 20\%$  dari hematokrit awal. Peningkatan hematokrit umumnya dimulai pada hari ke-3 demam (WHO, 2009).

## 2.2 Hematokrit

Hematokrit adalah perbandingan bagian dari darah yang mengandung eritrosit terhadap volume seluruh darah atau eritrosit dalam seluruh volume darah yang dihitung dalam %. Semakin tinggi persentase hematokrit berarti konsentrasi darah semakin kental, diperkirakan banyak plasma darah yang keluar dari pembuluh darah yang berlanjut ke keadaan shock hipovolemik (Sutedjo, 2013). Nilai normal hematokrit pada anak 33-38%, laki-laki dewasa 40-48%, perempuan dewasa 37-43%. Nilai hematokrit digunakan untuk mengetahui ada tidaknya anemia dan menghitung indeks eritrosit (Riswanto, 2013). Peningkatan hematokrit terjadi pada pasien yang mengalami kehilangan darah akut, anemia, leukemia, penyakit Hodgkins, *limfosarcoma*, *mieloma multiple*, gagal ginjal kronik, dan sirosis hepatis. Selain itu peningkatan hematokrit dapat terjadi pada kondisi

malnutrisi, defisiensi vitamin B dan C, kehamilan, *Sistemik Lupus Eritematosus* (SLE), *arthritis reumatoid*, dan ulkus peptikum. Penurunan kadar hematokrit terjadi pada hipovelemia, dehidrasi, polisitemia vera, diare berat, asidosis diabetikum, emfisema paru, iskemik cerebral, eklamsia, efek pembedahan, dan luka bakar (Sutedjo, 2013).

Pengukuran hematokrit dapat dilakukan secara manual dan otomatis. Pengukuran manual dengan metode makrohematokrit dan mikrohematokrit, sedangkan pengukuran otomatis menggunakan *hematology autoanalyzer*. Prinsip pemeriksaan hematokrit cara manual yaitu darah yang mengandung antikoagulan disentrifuse dan total sel darah merah dapat dinyatakan sebagai persen atau pecahan desimal (Simmons, 1989).

Prinsip metode makrohematokrit adalah darah vena dengan antikoagulan dimasukkan ke dalam tabung wintrobe dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terjadi pepadatan sel darah merah pada bagian bawah tabung. Tinggi kolom sel darah merah diukur dan dibaca sebagai nilai hematokrit yang dinyatakan dalam persen. Bahan pemeriksaan metode makro adalah darah vena (Gandasoebrata, 2013).

Metode mikrohematokrit menggunakan bahan pemeriksaan darah kapiler atau darah vena. Cara mikrohematokrit menggunakan tabung kapiler yang panjangnya 75 mm dan diameter dalam 1 mm. Tabung kapilet atau mikrokapiler ada dua jenis antara lain tabung yang dilapisi antikoagulan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  atau heparin dibagian dalamnya, dan tabung kapiler tanpa antikoagulan. Tabung dengan antikoagulan heparin memiliki tanda garis melingkar warna merah, dipakai

apabila menggunakan darah tanpa antikoagulan seperti darah kapiler. Tabung kapiler tanpa antikoagulan memiliki tanda garis melingkar warna biru, dipakai apabila menggunakan darah dengan antikoagulan seperti darah vena. Metode mikrohematokrit menggunakan sentrifugasi mikrohematokrit yang mencapai kecepatan jauh lebih tinggi, sehingga lamanya pemusingan dapat dipersingkat (Widman, 2005).

Pemeriksaan hematokrit baik metode makro maupun metode mikro terdapat lapisan *buffy coat* yang letaknya diantara lapisan sel darah merah dan plasma. Lapisan ini terdiri dari lekosit dan trombosit yang berwarna kelabu kemerahan atau keputih-putihan. Keadaan normal tingginya lapisan *buffy coat* 0,1 mm sampai dengan 1 mm. Tinggi 0,1 mm kira-kira sesuai dengan 1000 lekosit/mm<sup>3</sup>. Metode mikrohematokrit merupakan teknik yang banyak digunakan di laboratorium. Metode ini cepat dan sederhana, namun pemusingan harus dikontrol agar sentrifugalnya optimal, dan tabung harus diletakkan dengan hati-hati serta dibaca terhadap skala pembanding (Sadikin, 2002).

Pengukuran hematokrit secara otomatis dilakukan menggunakan instrument *autohematology analyzer*. Alat ini mengukur hematokrit dari volume sel rata-rata dan hitung sel darah merah. Metode *analyzer* lebih unggul dari mikropipiler, karena dapat mengeluarkan hasil dengan cepat. Pemeriksaan hematokrit secara manual membutuhkan waktu 20 menit, namun pemeriksaan dengan *autohematology analyzer* hanya memerlukan waktu  $\pm 1$  menit. Volume sampel pemeriksaan yang dibutuhkan sedikit, dan hasil yang dikeluarkan sudah

melalui *quality control* yang dilakukan *intern* laboratorium. Kelemahannya harga alat cukup mahal, dan penggunaannya terbatas (Riswanto, 2013).

Prinsip pemeriksaan *autohematology analyzer* adalah *flow cytometri* yang memungkinkan sel-sel masuk *flow chamber* untuk dicampur dengan *diluent* kemudian dialirkan melalui *apertura* 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. Teknik pendar cahaya menghamburkan, memantulkan atau membiaskan cahaya yang berfokus pada sel. Setiap sel memiliki granula dan indek bias berbeda maka akan menghasilkan pendar cahaya berbeda dan dapat teridentifikasi (Koeswardani, 2001).

Spesimen atau bahan pemeriksaan hematokrit adalah darah lengkap (*whole blood*) yang diperoleh dari darah vena maupun darah kapiler. Darah lengkap yaitu darah yang sama bentuk atau kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah. Pembuluh darah vena adalah pembuluh berdinding tiga lapis seperti arteri, tetapi lapisan tengah berotot lebih tipis, kurang kuat, lebih mudah kempes dan kurang elastis dibandingkan dengan arteri. Pengambilan darah vena dilakukan pada vena *difossa cubiti*, tempat pengambilan harus diperiksa dengan seksama antara lain letak dan ukuran vena (Gandasoebrata, 2013).

### 2.3 Darah EDTA

Darah EDTA adalah darah vena dengan penambahan antikoagulan EDTA untuk menghindari terjadinya pembekuan (Riswanto, 2013). Antikoagulan EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetate*) merupakan antikoagulan yang baik dan sering digunakan untuk pemeriksaan hematokrit. EDTA digunakan dalam bentuk garam  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  atau  $\text{K}_2\text{EDTA}$ .  $\text{K}_2\text{EDTA}$  lebih banyak digunakan karena daya larut dalam air kira-kira 15 kali lebih besar dari  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . EDTA dalam bentuk kering dengan pemakaian 1-1,5 mg EDTA/mL. Pemakaian larutan EDTA 10% adalah 0,1 mL/mL darah. Garam-garam EDTA akan mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. Tiap 1 miligram EDTA menghindarkan membekunya 1 mililiter darah. Darah EDTA dibuat dengan cara mengalirkan 2 ml darah vena pada tabung atau botol yang telah berisi 2 mg EDTA kemudian botol / tabung ditutup dan darah segera dicampur dengan antikoagulan EDTA selama 60 detik atau lebih (Gandasoebrata, 2013).

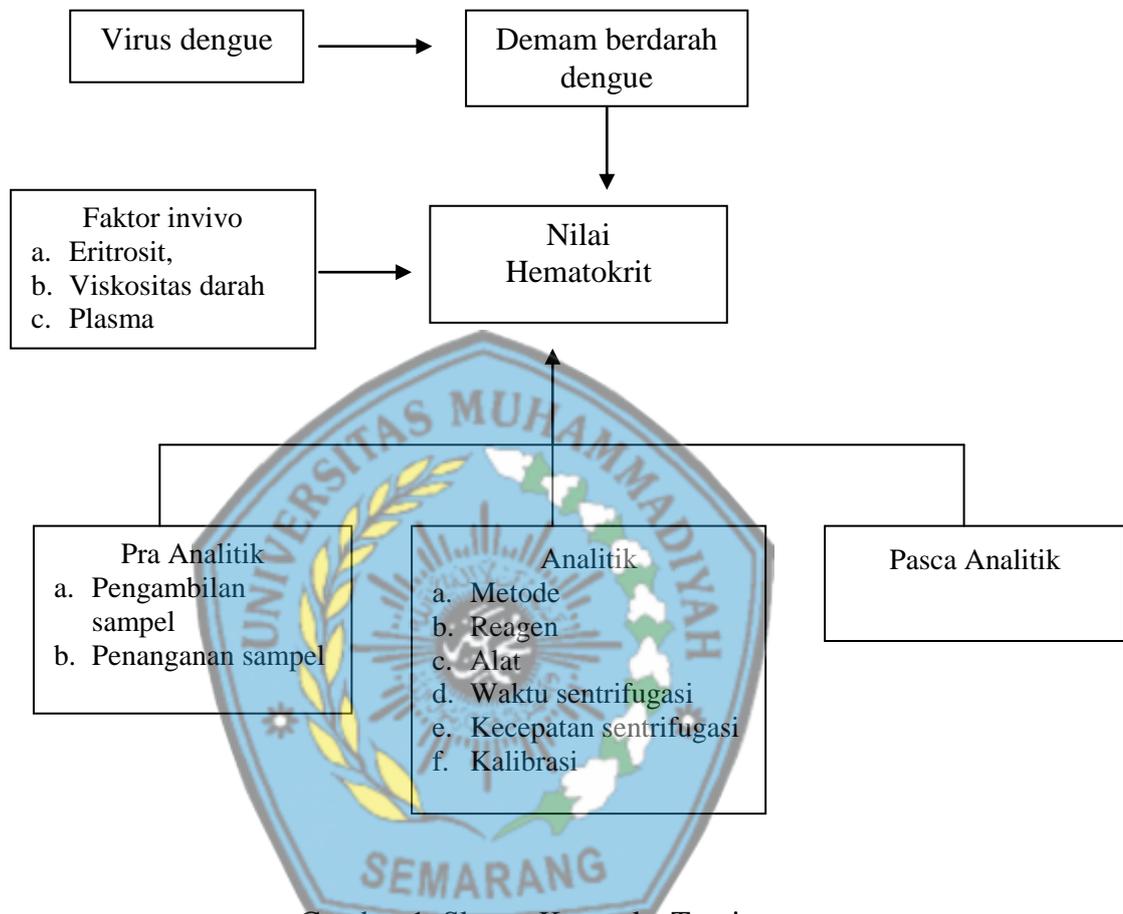
### 2.4 Faktor-faktor Berpengaruh Terhadap Pemeriksaan Hematokrit

Beberapa faktor yang dapat berpengaruh terhadap pemeriksaan hematokrit adalah faktor *invivo* dan *invitro*. Faktor *invivo* antara lain eritrosit, viskositas darah, dan plasma. Faktor eritrosit sangat penting pada pemeriksaan hematokrit karena merupakan sel yang diukur dalam pemeriksaan. Efek samping viskositas darah adalah semakin besar persentase sel darah akan semakin tinggi hematokrit dan makin banyak pergeseran diantara lapisan-lapisan darah. Pergeseran lapisan darah tersebut menentukan viskositas. Viskositas darah meningkat secara drastis

ketika hematokrit meningkat. Plasma hemolisis dapat berpengaruh terhadap pemeriksaan hematokrit (Riswanto, 2013).

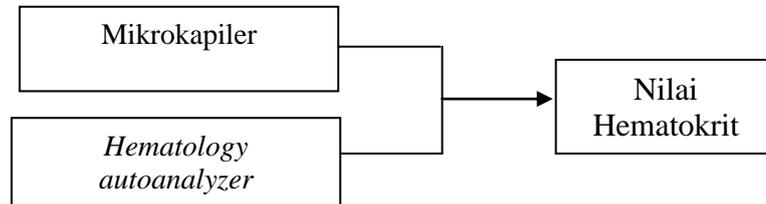
Faktor *invitro* antara lain teknis pemeriksaan yang meliputi pengambilan dan penanganan sampel darah, pemasangan torniquet, penggunaan tabung kapiler, sentrifugasi dan pembacaan. Sampel darah yang diambil pada daerah lengan yang terpasang jalur intra-vena, nilai hematokrit cenderung rendah karena terjadi hemodilusi yang menyebabkan peningkatan kadar plasma darah, sehingga darah menjadi encer, dan menyebabkan nilai hematokrit menurun. Pemasangan torniquet terlalu lama berpotensi menyebabkan hemokonsentrasi, sehingga nilai hematokrit meningkat dikarenakan oleh penurunan kadar plasma darah akibat kebocoran vaskuler. Hemokonsentrasi menyebabkan kadar plasma menurun sehingga darah menjadi kental sehingga nilai hematokrit menjadi tinggi. Penempatan tabung kapiler pada sentrifus yang kurang tepat dan penutup yang kurang rapat dapat menyebabkan hasil pembacaan hematokrit tinggi palsu. Kecepatan putar sentrifus dan pengaturan waktu harus tepat, agar eritrosit memadat secara maksimal. Pemakaian sentrifus mikrohematokrit dalam waktu lama mengakibatkan alat menjadi panas sehingga terjadi hemolisis dan dapat menunjukkan nilai hematokrit rendah palsu. Selain itu bahan pemeriksaan menjadi tidak tercampur secara homogen. Tabung hematokrit yang digunakan tidak bersih dan kering juga dapat berpengaruh pada pemeriksaan hematokrit, kesalahan juga dapat terjadi pada pembacaan nilai hematokrit yang tidak tepat (Riswanto, 2013).

## 2.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

## 2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan nilai hematokrit darah EDTA menggunakan metode mikrokapiler dibanding dengan *hematology autoanalyzer*.



