

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 larutan koloid cair yang mengandung elektrolit dan merupakan media pertukaran antar sel yang terfikasi dalam tubuh dan lingkungan luar (S. Muslimah, 2016).

Darah merupakan cairan tubuh yang sangat penting bagi manusia karena memiliki banyak fungsi yang dapat menunjang kehidupan manusia. Tanpa adanya darah yang cukup, seseorang dapat mengalami gangguan kesehatan dan bahkan dapat menyebabkan kematian (Yuni, 2015).

Komponen darah terdiri dari 45% komponen padat dan 55% komponen cair. Komponen padat disebut dengan sel darah, sedangkan komponen cair disebut plasma darah. Komponen padat (sering disebut korpuskula) terdiri dari :

1. Sel darah merah atau eritrosit (99%) : mengandung hemoglobin dan berperan dalam transportasi oksigen.
2. Sel darah putih atau leukosit (0,6 - 1,0 %) : berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh dan bertugas memusnahkan benda asing yang dianggap berbahaya.

3. Keping darah atau trombosit (0,2%) : bertanggung jawab dalam proses pembekuan darah (Maharani, 2017, Sadikin, 2013, Sari, 2017 dan Yuni, 2015).

Proses pembentukan dan pematangan sel darah terjadi di dalam sumsum tulang yang disebut juga proses hematopoiesis (Price and Wilson, 2013). Volume darah dalam tubuh manusia sekitar 7% - 10% dari berat badan normal dan berjumlah sekitar 5 liter. Dari jumlah tersebut 55% terdiri dari cairan dan 45% terdiri dari sel darah merah (S Muslimah, 2016 dan Yuni, 2015).

2.1.1.2. Fungsi Darah

Beberapa fungsi darah pada tubuh manusia antara lain :

1. Alat Transportasi Internal
 - a. Mengangkut dan menyebarkan gas oksigen ke seluruh tubuh dan menukar gas karbondioksida dari seluruh tubuh dengan gas oksigen di paru-paru (Respirasi).
 - b. Mengangkut dan menyebarkan sari-sari makanan ke seluruh tubuh.
 - c. Mengangkut hasil oksidasi menuju alat ekskresi untuk dibuang (Sekresi).
 - d. Mengangkut dan menyebarkan air ke seluruh tubuh.
 - e. Regulasi metabolisme, hormon dan enzim atau keduanya
2. Mempertahankan temperatur atau suhu tubuh.
3. Mencegah infeksi dengan sel darah putih, antibody dan sel darah beku
4. Mengatur keseimbangan asam basa tubuh (S Muslimah, 2016 dan Yuni, 2015).

2.1.2. Tinjauan Umum Trombosit

2.1.2.1. Pengertian Trombosit

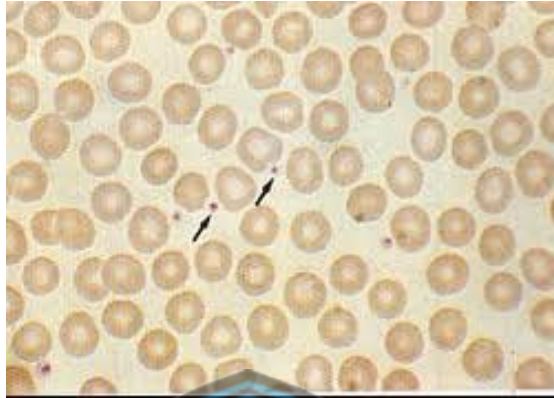
Trombosit yang disebut juga keping darah adalah fragmen atau potongan-potongan kecil sitoplasma megakariosit dan diproduksi di dalam sumsum tulang (Hoffbrand and Moss, 2014, Maharani D.R dkk, 2017 dan Nugraha G, 2015). Megakariosit mengalami pematangan melalui replikasi sinkron endomitotik (yaitu replikasi DNA tanpa pembelahan nukleus atau sitoplasma). Replikasi ini menyebabkan membesarnya volume sitoplasma dikarenakan setiap jumlah lobus nukleus bertambah menjadi dua kali lipat. Setiap megakariosit menghasilkan sekitar 1000-5000 trombosit (Hoffbrand and Moss, 2014 dan Nugraha G, 2015).



Gambar 1. Proses Pembentukan trombosit dari Megakariosit (Nugrah G, 2015).

Trombosit berukuran sangat kecil sekitar 2-4 μm dan berbentuk bulat atau lonjong (Nugraha G, 2015). Jumlah trombosit normal dalam tubuh orang dewasa antara 150.000 – 400.000 / mm^3 dan usia normal trombosit sekitar 7 – 10 hari. Umur trombosit setelah pecah dari sel asalnya dan masuk dalam darah antara 8 - 14 hari (Anthony, 2011). Produksi trombosit diatur oleh hormon trombopoetin yang diproduksi hepar dan ginjal. Dalam keadaan normal kira-kira sepertiga dari jumlah trombosit yang dikeluarkan oleh sumsum tulang dan tertahan di dalam

limpa. Namun, pada keadaan splenomegali masif jumlah trombosit bisa meningkat sampai 90% (Setiati S. dkk, 2014 dan Hoffbrand and Moss, 2014).



Gambar 2. Trombosit (Yuni, 2015).

2.1.2.2. Fungsi Trombosit

Trombosit berperan penting dalam proses hemostasis yang merupakan mekanisme tubuh untuk mencegah dan menghentikan pendarahan. Trombosit pada keadaan normal bersirkulasi ke seluruh tubuh melalui aliran darah. Namun apabila ada kerusakan pembuluh darah, dalam beberapa detik setelah kerusakan trombosit akan tertarik menuju daerah yang mengalami kerusakan tersebut sebagai respons terhadap kolagen yang terpajang di lapisan subendotel pembuluh darah. Trombosit akan melekat ke permukaan pembuluh darah yang rusak dan mengeluarkan serotonin dan histamin yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh darah (S Muslimah, 2016 dan Yuni, 2015).

Trombosit akan menjaga agar pembuluh darah tetap utuh setelah terjadi luka atau kerusakan dengan membentuk sumbat trombosit. Pembentukan sumbat trombosit ini dilakukan melalui proses adhesi, reaksi pelepasan, agregasi dan fusi trombosit (Handayani E. M, 2017 dan Nugraha G, 2015).

1. Adhesi Trombosit

Adhesi trombosit adalah suatu proses perlekatan trombosit pada bagian pembuluh darah ketika terjadi cedera atau kerusakan pembuluh darah. Dalam proses perlekatan trombosit diperantarai oleh faktor Von Willebrand (VWF). Proses penempelan ini berkaitan dengan kompleks glikoprotein pada membrane permukaan trombosit yaitu Glikoprotein Iba/Ib β /IX/V (Rodak B.F, Fritsma G.A, Keohane E.M, 2012 dan Hoffbrand and Moss, 2014).

2. Reaksi Pelepasan Trombosit

Pengaktifan trombosit menyebabkan pembentukan sinyal intrasel yang berujung pada pembebasan isi granula α . Hal ini memiliki peranan penting dalam pembentukan dan stabilisasi agregat trombosit. Selain itu, ADP yang dibebaskan dari granula padat memiliki peran penting dalam mendorong pengaktifan trombosit.

Trombosit A₂ (TXA₂) adalah yang kedua dari dua umpan-balik positif trombosit terutama yang penting dalam penguatan skunder pada pengaktifan trombosit untuk membentuk agregat trombosit yang stabil.

TXA₂ adalah suatu bahan labil dan berfungsi menurunkan kadar adenosine monofosfat siklik (cAMP) trombosit serta memicu reaksi pelepasan. Tidak hanya memperkuat agregasi trombosit, TXA₂ juga mempunyai efek vasokonstriksi yang kuat (Hoffbrand and Moss, 2014).

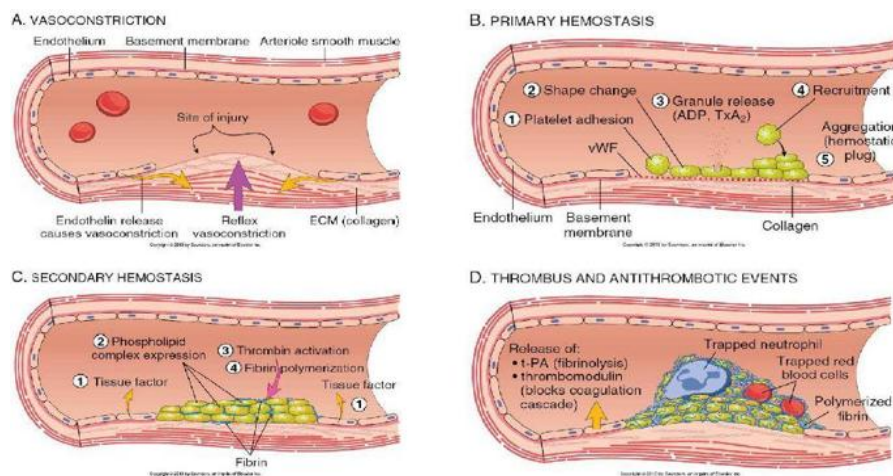
3. Agregasi Trombosit

Ketika terjadi kerusakan yang luas, maka trombosit berkumpul dan berikatan pada daerah tersebut. Proses pembentukan ikatan trombosit ini melalui reseptor GP IIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) aktif dengan jembatan fibrinogen.

Dalam keadaan inaktif, trombosit memiliki sekitar 50 – 80.000 reseptor GPIIb/IIIa yang tidak mengikat fibrinogen, VWF, atau ligan lain. Stimulasi trombosit menyebabkan meningkatnya molekul GPIIb/IIIa, dan memungkinkan terjadi ikatan silang antara trombosit dengan fibrinogen. Agregasi merupakan bagian utama hemostasis, dan hasil akhirnya berupa gumpalan putih atau ikatan antara VWF dengan trombosit Rodak B.F, Fritsma G.A, Keohane E.M, 2012 dan Hoffbrand and Moss, 2014).

4. Fusi Trombosit

Fusi trombosit merupakan gabungan trombosit yang bersifat irreversibel. Proses ini dipicu karena tingginya kadar ADP dan komponen lain yang keluar akibat reaksi pelepasan. Komposisi fibrin akan memperkuat jaringan baru yang terbentuk pada daerah luka.



Gambar 3. Proses Pembentukan Sumbat Trombosit (Hoffbrand and Moss, 2013)

2.1.2.3. Struktur Trombosit

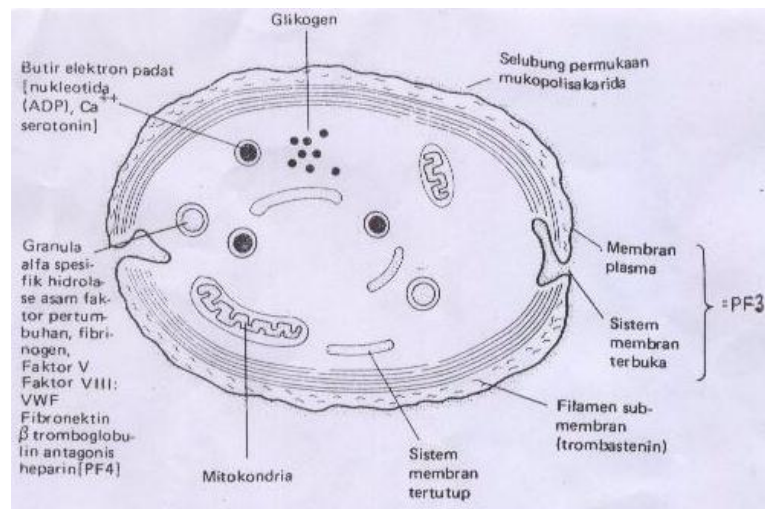
Trombosit merupakan suatu vesikel yang mengandung sebagian dari sitoplasma megakariosit yang terbungkus oleh membrane plasma. Berupa fragmen-fragmen sel granular, berbentuk cakram, tidak berinti, tetapi dilengkapi oleh organel dan sistem enzim sitosol yang berfungsi untuk menghasilkan energi dan mensintesis produk sekretorik yang disimpan didalam granula-granula yang tersebar diseluruh sitosolnya (S Muslimah, 2016).

Ultrastruktur trombosit terdiri atas :

Zona Perifer. Terdiri atas glikokalik, suatu membran ekstra yang terletak di bagian paling luar trombosit dimana di dalamnya terdapat membran plasma dan di bagian dalamnya lagi terdapat sistem kanal terbuka (Setiati S. Dkk, 2014).

Zona Sol-gel. Terdiri dari mikrotubulus, mikrofilamen, sistem tubulus padat (berisi nukleotida adenin dan kalsium). Selain itu terdapat juga trombostenin yang merupakan suatu protein penting untuk fungsi kontraksi.

Zona Organela. Terdiri dari granula padat, mitokondria, granula α dan organela (lisosom dan retikulum endoplasmik). Granula padat mengandung adenosin difosfat (ADP), adenosin trifosfat (ATP), serotonin dan kalsium. Granula α lebih banyak mengandung faktor pembekuan, Von Willebrand (VWF), *platelete-derived growth factor* (PDGF) dan protein lain. Lisosom mengandung enzim-enzim hidrolitik (Setiati S. dkk, 2014 dan Hoffbrand and Moss, 2014).



Gambar 4. Ultrastruktur Trombosit (Hoffbrand and Moss, 2014)

2.1.3. Cara Menghitung Trombosit

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk mengetahui jumlah trombosit adalah pemeriksaan hitung jumlah trombosit. Trombosit susah untuk dihitung karena mudah sekali pecah sehingga sulit sekali dibedakan dengan kotoran kecil, bukan endotel utuh (cenderung melekat pada permukaan asing) dan menggumpal-gumpal.

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu :

2.1.3.1. Cara Langsung

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit secara langsung adalah pemeriksaan hitung jumlah trombosit menggunakan kamar hitung (*counting chamber*).

Kelebihan dari pemeriksaan cara langsung adalah mudah dan sederhana. Sedangkan kekurangannya adalah pengamatan dengan mata seseorang sangat dipengaruhi oleh kemampuan dan ketahanan pengamat serta membutuhkan waktu yang cukup lama (Maharani, 2017).

Metode pemeriksaan hitung jumlah trombosit cara langsung antara lain sebagai berikut :

1. Metode *Rees Ecker* (Mikroskop Cahaya)

Metode pemeriksaan ini menggunakan darah yang diencerkan dengan larutan *Rees Ecker* yang mengandung BCB (*Briliant Cresyl Blue*) yang akan mewarnai trombosit, kemudian dimasukkan kedalam bilik hitung. Pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop dan trombosit akan tampak refraktif dan mengkilat berwarna biru muda, berbentuk bulat, lonjong atau koma, tersebar atau menggerombol. Keuntungan dari metode ini adalah cepat, trombosit akan tersebar merata dan trombosit terlihat kontras dengan latar belakang sehingga mudah dihitung. Kesalahan pada metode *Rees Ecker* ini 16 – 25% (Sari I.P, 2017).

2. Metode *Brecher-Cronkite* (Mikroskop Fase Kontras)

Metode pemeriksaan ini menggunakan darah yang diencerkan dengan larutan Amonium Oksalat 1%. Larutan ammonium oxalate 1% ini berfungsi untuk melisis eritrosit dan bayangan lekosit hilang.

Kelebihan dari metode ini adalah lebih terlihat jelas dan harga relative lebih murah. Sedangkan kekurangannya adalah mudah terkontaminasi dan dengan latar belakang jernih sehingga trombosit sukar dibaca.

Metode pemeriksaan *Brecher-Cronkite* (Fase Kontras) ini merupakan metode manual yang paling baik. Kesalahan pada metode *Brecher-Cronkite* 8 – 10% (Gandasoebrata, 2010 dan Hastutik M, 2017).

Waktu inkubasi yang diperlukan pada kedua metode di atas adalah selama 10 menit di dalam cawan petri. Manfaat dari inkubasi ini adalah untuk

mengendapkan trombosit dan untuk mencegah terjadinya penguapan reagen. Apabila inkubasi kurang dari 10 menit, pengendapan trombosit belum sempurna sehingga berpengaruh terhadap hasil hitung jumlah trombosit karena trombosit masih bergerak.

Waktu inkubasi yang terlalu lama juga dapat berpengaruh terhadap hasil hitung jumlah trombosit karena terdapat trombosit yang pecah dan kemungkinan sampel dalam kamar hitung akan kering.

2.1.3.2. Cara Tidak Langsung (Fanio)

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit tidak langsung adalah dengan menghitung jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi yang telah diwarnai dengan pewarna *wright* atau *giemsa*. Jumlah trombosit dihitung per 1000 eritrosit.

Kelebihan cara ini adalah dalam mengungkapkan ukuran dan morfologi trombosit. Sedangkan kekurangan metode ini adalah distribusi trombosit yang tidak merata di dalam apus darah dapat menyebabkan perbedaan yang mencolok dalam perhitungan jumlah trombosit. Kekurangan lain dari metode ini adalah tidak praktis, selain kita menghitung jumlah trombosit, kita juga harus menghitung jumlah eritrosit (Gandasoebrata, 2010 dan Sacher, 2004).

2.1.3.3. Cara Automatik

Cara otomatis yaitu menghitung jumlah trombosit dengan menggunakan alat *analyzer* atau alat analisis sel darah automatic. Sebagian besar alat *analyzer* menghitung trombosit dan eritrosit secara bersamaan, tetapi keduanya dibedakan berdasarkan ukurannya. Partikel yang lebih kecil dihitung sebagai trombosit dan partikel yang lebih besar dihitung sebagai eritrosit.

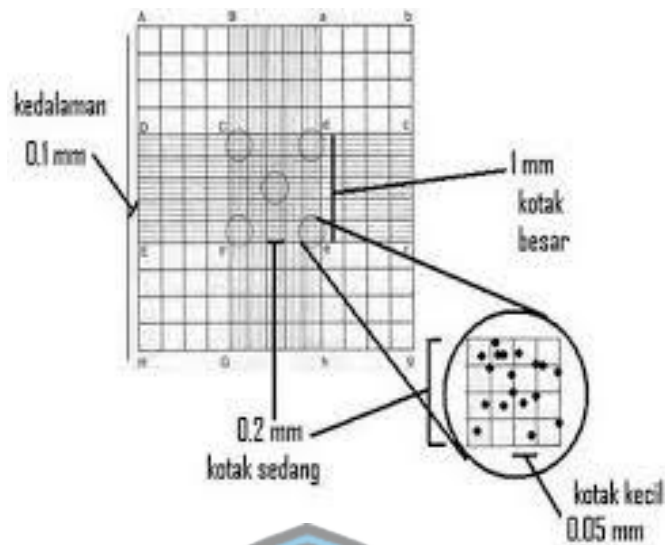
Cara pemeriksaan menggunakan alat *analyzer* ini dapat menghitung sel darah secara cepat. Akan tetapi cara ini juga dapat mengalami kesalahan apabila jumlah leukosit lebih dari 100.000/mm³, adanya fragmentasi eritrosit yang cukup berat, larutan pengencer tidak bebas partikel, sampel yang digunakan terlalu lama didiamkan sebelum dilakukan pemeriksaan atau apabila adanya perlekatan trombosit (Sujud dkk, 2015 dan Sari I.P, 2017).

2.1.4. Kamar Hitung Improved Neubauer

Luas seluruh kamar hitung adalah 9 mm² dan kamar ini dibagi menjadi 9 kamar besar dengan luas 1 mm². Kamar besar yang berada di empat sudut masing-masing dibagi menjadi 16 kamar sedang dengan luas 1/4 x 1/4 mm². Sedangkan kamar besar yang berada ditengah dibagi menjadi 25 kamar sedang dengan luas 1/5 x 1/5 mm². Setiap kamar sedang yang berada ditengah dibagi menjadi 16 kotak kecil dengan luas 1/20 x 1/20 mm². Jarak antara dasar kamar hitung dengan penutup kamar hitung merupakan tinggi kamar hitung yaitu 1/10 mm (Gandasoebrata, 2010).

Maka volume setiap kamar yaitu:

1. 1 Kamar Kecil = $1/20 \times 1/20 \times 1/10 = 1/4000 \text{ mm}^3$
2. 1 Kamar Sedang (Tengah) = $1/25 \times 1/25 \times 1/10 = 1/250 \text{ mm}^3$
3. 1 Kamar Sedang (Sudut) = $1/4 \times 1/4 \times 1/10 = 1/160 \text{ mm}^3$
4. 1 Kamar Besar = $1 \times 1 \times 1/10 = 1/10 \text{ mm}^3$
5. Seluruh Kamar = $3 \times 3 \times 1/10 = 9/10 \text{ mm}^3$



Gambar 5. Kamar Hitung Improved Neubauer (google search, 2018)

2.1.5. Faktor-faktor yang mempengaruhi hitung jumlah trombosit

2.1.5.1. Faktor Patologis

Faktor yang menyebabkan jumlah trombosit menurun (trombositopenia) antara lain alergi, infeksi virus, penggunaan obat anti radang non-steroid (ibuprofen, aspirin), gangguan kolagen seperti lupus eritematosus, transfuse darah dan pembedahan, penyakit hati, perawatan radiasi untuk kanker, kemoterapi dan sinar x (Riyanto A, 2009).

Faktor yang menyebabkan jumlah trombosit berlebih (trombositosis) antara lain keadaan setelah pemberian epinefrin, kemoterapi sitotoksik (pengobatan defisiensi vitamin B12 atau folat), pemulihan sumsum tulang, defisiensi besi, penyakit peradangan kronis (penyakit kolagen vaskuler, penyakit radang usus), infeksi kronis (tuberkulosis, osteomielitis) (Sacher R.A dan Mc Pherson R.A, 2004).

2.1.5.2. Faktor Pra Analitik

Faktor pra analitik merupakan tahap penentu kualitas sampel yang akan digunakan untuk tahap-tahap selanjutnya (Riswanto, 2013). Kesalahan pra analitik dapat memberikan kontribusi sekitar 62% dari total kesalahan pemeriksaan laboratorium (Mengko R, 2013). Tahap pra analitik diantaranya yaitu :

1. Persiapan pasien

Keadaan pasien sebelum pengambilan sampel yang kurang terkontrol dan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium antara lain : aktivitas fisik, puasa, diet, stress, efek posisi, menstruasi, kehamilan, gaya hidup (konsumsi alkohol, rokok, kopi, obat), usia, jenis kelamin, pasca transfusi, pasca donasi, dan pasca operasi (Riswanto, 2013).

2. Persiapan pengambilan sampel

Beberapa hal yang perlu diperhatikan sebelum melakukan pengumpulan sampel antara lain identitas sampel sesuai dengan data pasien, pemakaian antikoagulan yang sesuai (Riswanto, 2013).

3. Pengumpulan sampel

Kesalahan-kesalahan pada proses pengambilan sampel antara lain :

- a. Penggunaan tourniquet yang terlalu lama atau terlalu keras dapat mengakibatkan terjadinya hemokonsentrasi.
- b. Proses pengambilan darah yang terlalu lamban menyebabkan trombosit saling melekat sehingga jumlah trombosit menurun palsu.

c. Sampel darah yang diperoleh tidak segera dicampurkan dengan antikoagulan atau pencampuran yang kurang adekuat dapat menyebabkan terjadinya perlekatan trombosit dan bahkan dapat menyebabkan bekuan (Riswanto, 2013 dan Gandasoebrata, 2010).

d. Penggunaan antikoagulan yang tepat

Jumlah antikoagulan yang seharusnya ditambahkan untuk setiap mili liter (ml) darah adalah 1 – 1,5 gr Na_2EDTA kering atau 10 μl EDTA cair. Apabila jumlah EDTA terlalu sedikit, sel-sel eritrosit akan mengalami krenasi sedangkan trombosit akan membesar dan mengalami disintegrasi, sehingga jumlah trombosit menjadi menurun. Sebaliknya apabila jumlah antikoagulan yang terlalu banyak, dapat menyebabkan terbentuknya jendalan yang membuat jumlah trombosit menurun.

4. Waktu Pemeriksaan

Penundaan pemeriksaan trombosit lebih dari 24 jam menyebabkan turunnya jumlah trombosit karena sifat trombosit yang sangat mudah pecah, adanya proses adhesi dan agregasi yang menyebabkan trombosit saling bergabung atau menggumpal sehingga terlihat tidak seperti trombosit (Gandasoebrata, 2010).

5. Suhu

Suhu yang sesuai dalam menyimpan darah untuk pemeriksaan trombosit adalah temperatur 4°C , pada suhu ini trombosit lebih stabil dan tidak mudah pecah, proses agregasi trombosit akan melambat dan tidak terjadi adhesi (Gandasoebrata, 2010).

2.1.5.3. Faktor Analitik

Tahapan analitik dalam pemeriksaan ini dipengaruhi oleh kesalahan acak atau kesalahan sistematis. Kesalahan acak (*random error*) adalah kesalahan yang terjadi tanpa diprediksi meliputi instrumen yang tidak stabil, pipetasi dan waktu inkubasi. Kesalahan sistematis merupakan suatu kesalahan yang disebabkan dalam penggunaan metode pemeriksaan, prosedur kalibrasi yang tidak tepat dan kerusakan pada reagen.

1. Proses pemeriksaan sampel

Proses pemeriksaan sampel mulai dari pemipetan sampel, pengocokan (proses homogenisasi) dan waktu inkubasi. Waktu inkubasi yang berbeda memungkinkan berpengaruh terhadap jumlah trombosit karena trombosit memerlukan waktu untuk mengendap secara optimal (Sukroni dkk, 2010).

2. Pemeliharaan dan kalibrasi alat

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan yang tidak terpelihara atau tidak terkalibrasi dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, hasil menjadi lebih tinggi atau bahkan menjadi lebih rendah.

3. Kualitas reagen

Reagen yang akan digunakan untuk pemeriksaan sampel harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatnya termasuk cara penyimpanan, cara penggunaan dan waktu kadaluarsanya. Pemakaian yang sudah rusak baik karena kadaluarsa ataupun karena penyimpanan pada suhu yang salah dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (Handayani E.M, 2017).

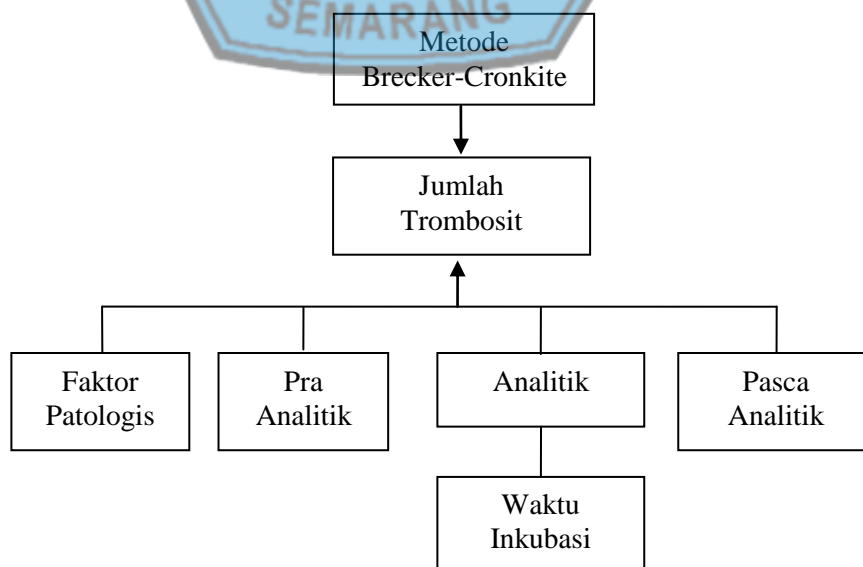
4. Petugas pemeriksa sampel

Petugas pemeriksa juga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan. Proses pencampuran sampel yang belum sempurna, proses penghisapan sampel dengan alat penghisap tidak sampai dasar tabung atau hanya pada permukaan sampel saja dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. diperlukan petugas pemeriksa yang terlatih dan berpengalaman (Nurrachmat H, 2005).

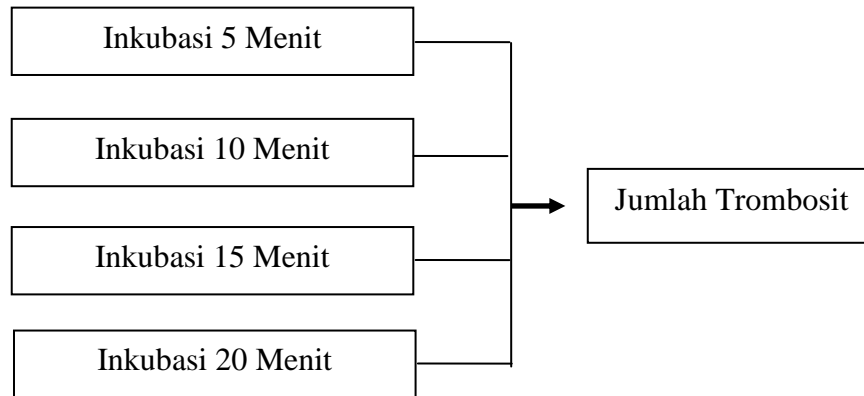
2.1.5.4. Faktor Pasca Analitik

Proses pasca analitik adalah tahap akhir dari pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid atau dapat dipertanggungjawabkan. Kegiatan pencatatan dan pelaporan hasil di laboratorium dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan karena dapat mengakibatkan kesalahan dalam penyampaian hasil pemeriksaan sehingga harus dilakukan dengan cermat dan teliti (Depkes RI, 2008).

2.2. Kerangka Teori



2.3. Kerangka Konsep



2.4. Hipotesis

Terdapat perbedaan hasil hitung jumlah trombosit metode *Brecher-Cronkite* dengan waktu inkubasi 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 20 menit.

