

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Definisi Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit yang tidak berinti dan terbentuk di sumsum tulang. Trombosit matang berukuran 2-4 μm , berbentuk cakram bikonveks. Setelah keluar dari sumsum tulang, sekitar 20-30 % trombosit mengalami sekuestrasi di limpa (Kosasih, 2008).

Trombosit (keping-keping darah) adalah fragmen sitoplasmik tanpa inti berdiameter 2-4 μm yang berasal dari megakariosit. Jumlah trombosit normal dalam darah tepi adalah 150.000 – 400.000/ μl dengan proses pematangan selama 7-10 hari di dalam sumsum tulang. Trombosit dihasilkan oleh sumsum tulang (stem sel) yang berdiferensiasi menjadi megakariosit. Megakariosit ini melakukan reflikasi inti endomitotiknya kemudian volume sitoplasma akan membesar seiring dengan penambahan lobus inti, kemudian sitoplasma menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk platelet atau keping-keping. Enzim pengatur utama produksi trombosit adalah trombopoetin yang dihasilkan di hati dan ginjal. Trombosit berperan penting dalam hemopoesis dan penghentian perdarahan dari cedera pembuluh darah. Trombosit atau platelet sangat penting untuk menjaga hemostasis tubuh. Abnormalitas pada vaskuler, trombosit, koagulasi, atau fibrinolisis akan mengganggu hemostasis sistem vaskuler yang mengakibatkan perdarahan abnormal / gangguan perdarahan. (Sheerwood, 2011)

Trombosit memiliki zona luar yang jernih dan zona dalam yang berisi organel-organel sitoplasmik. Permukaan trombosit diselubungi oleh reseptor glikoprotein yang digunakan untuk reaksi adhesi dan agregasi yang mengawali pembentukan sumbat hemostasis. Energi yang diperoleh trombosit untuk kelangsungan hidupnya berasal dari fosforilasi oksidatif (dalam mitokondria) dan glikolisis anaerob. (Aster, 2007)

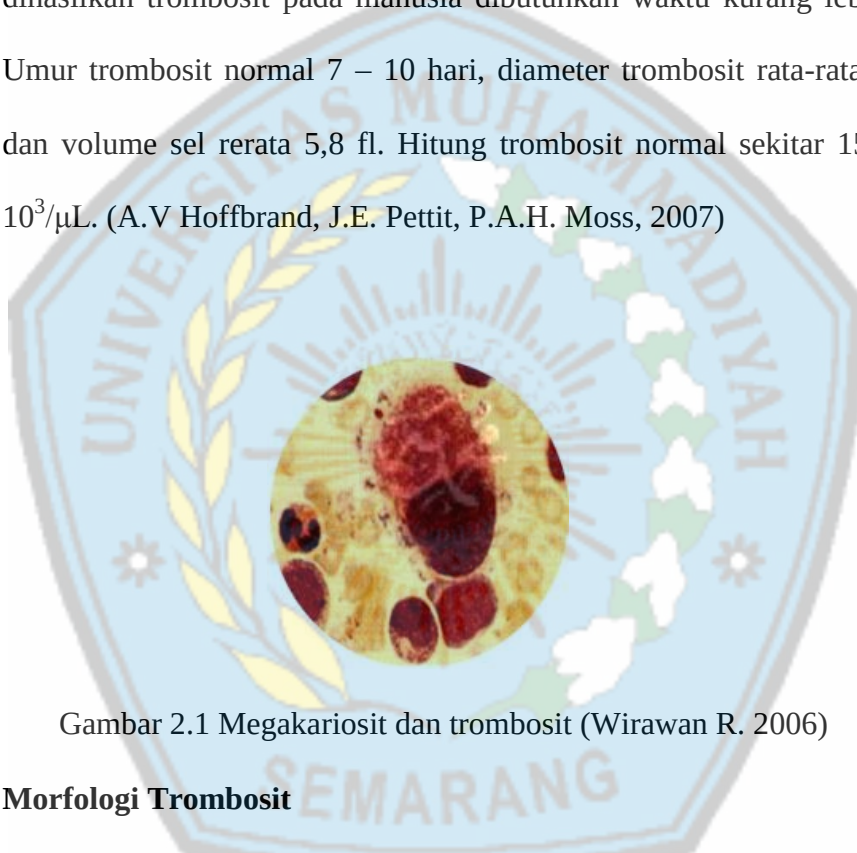
Trombosit merupakan sel kecil yang berdiameter rata rata 1,5-3 μm . Trombosit dihasilkan dan di lepas dari megakariosit yang ada di sumsum tulang dengan waktu maturasi 4-5 hari, dan masa hidup dari sirkulasi 9-10 hari. Jumlah trombosit dalam darah vena orang dewasa normal rata rata 200.000- 500.000 / μL darah. (Bakta, 2007).

B. Trombopoiesis

Trombosit dibentuk di sumsum tulang dari megakariosit, yaitu sel yang sangat besar dalam susunan hemopoietik dalam sumsum tulang belakang yang memecah menjadi trombosit, baik dalam sumsum tulang atau segera setelah memasuki darah, khususnya ketika mencoba untuk memasuki kapiler paru. Konsentrasi normal trombosit dalam darah adalah antara 150.000 - 350.000/ μL . (Guyton dan Hall, 2008)

Trombosit dihasilkan di dalam sumsum tulang dengan cara melepaskan diri (fragmentasi) dari perifer sitoplasma sel induknya (megakariosit) melalui rangsangan trombopoetin. Megakariosit berasal dari megakarioblas yang timbul dari proses diferensiasi sel asal hemapoetik Precursor mieloid paling awal yang membentuk megakariosit.

Megakariosit matang, dengan proses replikasi endomitotik inti secara sinkron, volume sitoplasmanya bertambah besar pada waktu jumlah inti bertambah dua kali lipat, sitoplasma menjadi granular dan selanjutnya trombosit dibebaskan. Trombosit yang dihasilkan oleh tiap megakariosit adalah 4000 trombosit. Interval waktu dari diferensiasi sel asal sampai dihasilkan trombosit pada manusia dibutuhkan waktu kurang lebih 10 hari. Umur trombosit normal 7 – 10 hari, diameter trombosit rata-rata. 1 - 2 μm dan volume sel rerata 5,8 fl. Hitung trombosit normal sekitar $150 - 400 \times 10^3/\mu\text{L}$. (A.V Hoffbrand, J.E. Pettit, P.A.H. Moss, 2007)

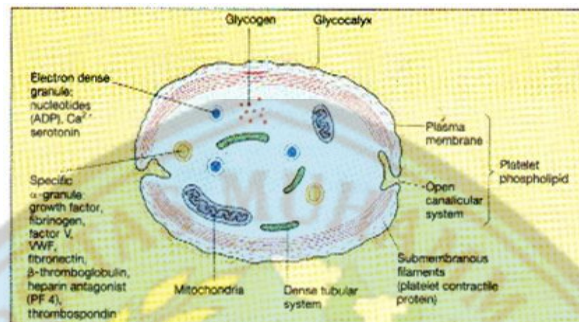


Gambar 2.1 Megakariosit dan trombosit (Wirawan R. 2006)

C. Morfologi Trombosit

Morfologi trombosit berbentuk bulat atau oval, seperti cakram bikonveks berukuran 1-4 μm , tidak berinti, sitoplasma biru dengan granula ungu kemerahan. Nilai normal trombosit adalah 250.000/mm³ (atau sekitar $250 \times 10^9/\text{L}$) dengan kisaran antara 150.000 hingga 400.000/ mm³. Trombosit dapat dibagi menjadi 4 zone dengan masing-masing zone mempunyai fungsi khusus. Keempat zone adalah zone perifer yang berguna untuk adhesi dan

agregasi, zone sol gel menunjang struktur dan mekanisme kontraksi, zone organel yang berperan dalam pengeluaran isi trombosit serta zone membran yang keluar dari isi granula saat pelepasan. (Maha, 2010)



Gambar 2.2 Struktur trombosit (Wirawan R. 2006)

D. Sirkulasi Trombosit

Volume rata-rata trombosit 5,8fl. Volume berkurang saat matang di dalam sirkulasi. Trombosit muda mempunyai waktu 24 sampai 36 jam di dalam limfa setelah dibebaskan dari sumsum tulang. Sepertiga dari pengeluaran trombosit oleh sumsum tulang dapat dijerat dalam satu waktu dalam satu limfa normal. (Hoffbrand, dkk., 2007)

Trombosit merupakan struktur yang aktif. Waktu paruh hidupnya di dalam darah 8-12 hari, setelah itu proses fungsionalnya berakhir. Trombosit kemudian diambil dari dalam sirkulasi setelah waktu paruh trombosit berakhir. (Guyton dan Hall, 2008)

E. Struktur Trombosit

Trombosit mempunyai banyak ciri khas yang fungsional sebagai sebuah sel, walaupun tidak mempunyai inti dan tidak dapat memproduksi.

Sitoplasma didalamnya terdapat beberapa faktor aktif seperti (1) molekul aktif dan myosin, sama seperti yang terdapat dalam sel-sel otot, juga protein kontraktil lainnya yang dapat menyebabkan trombosit berkontraksi; (2) sisa-sisa retikulum endoplasma dan apparatus golgi yang mensintesis berbagai enzim dan menyimpan sejumlah besar ion kalsium; (3) mitokondria dan sistem enzim yang mampu membentuk *adenosine trifosfat* (ATP) dan *adenosine difosfat* (ADP); (4) sistem enzim yang mensintesis prostaglandin, yang merupakan hormon setempat yang menyebabkan berbagai jenis reaksi pembuluh darah dan reaksi jaringan setempat lainnya; (5) suatu protein penting yang disebut faktor stabilisasi fibrin; (6) faktor pertumbuhan yang dapat menyebabkan penggandaan dan pertumbuhan sel endotel pembuluh darah dan fibroblast, sehingga dapat menimbulkan pertumbuhan seluler yang akhirnya memperbaiki dinding pembuluh yang rusak (Guyton dan Hall, 2008).

Permukaan membran sel trombosit terdapat lapisan glikoprotein yang menyebabkan trombosit menghindari perlekatan pada endotel normal dan melekat pada daerah dinding pembuluh darah yang terluka, terutama sel-sel endotel yang rusak, dan bahkan melekat pada jaringan kolagen yang terbuka di bagian pembuluh darah. Membran sel trombosit juga mengandung banyak fosfolipid yang berperan dalam mengaktifkan berbagai hal dalam proses pembekuan darah (Guyton dan Hall, 2008)

F. Fungsi Trombosit

Trombosit pada waktu bersinggungan dengan permukaan pembuluh yang rusak, maka sifat-sifat trombosit segera berubah secara drastis yaitu trombosit mulai membengkak, bentuknya menjadi irregular dengan tonjolan-tonjolan yang mencuat dari permukaannya; protein kontraktilnya berkontraksi dengan kuat dan menyebabkan pelepasan granula yang mengandung berbagai faktor aktif; trombosit menjadi lengket sehingga melekat pada serat kolagen; mensekresi sejumlah besar ADP; dan enzim-enzimnya membentuk tromboksan A₂, yang juga disekresikan ke dalam darah. ADP dan tromboksan kemudian mengaktifkan trombosit yang berdekatan, dan karena sifat lengket dari trombosit tambahan ini maka akan menyebabkan melekat pada trombosit semula yang sudah aktif sehingga membentuk sumbat trombosit. Sumbat ini mulanya longgar, namun biasanya dapat berhasil menghalangi hilangnya darah bila luka di pembuluh darah yang berukuran kecil. Benang-benang fibrin terbentuk dan melekat pada trombosit selama proses pembekuan darah, sehingga terbentuklah sumbat yang rapat dan kuat. (Guyton dan Hall, 2008)

G. Cara Menghitung Trombosit

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan adalah hitung jumlah trombosit, dimana trombosit sukar di hitung karena mudah sekali pecah, sukar di bedakan dengan kotoran kecil, cenderung melekat pada permukaan asing (bukan endotel utuh) dan menggumpal-gumpal.. Jumlah trombosit dalam keadaan normal adalah 200.000 - 500.000 / μ l. (Gandasoebrata, 2007)

Automatic Hematology Analyzer CELL-DYN Sapphire merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter untuk pemeriksaan kuantitatif maksimum 19 parameter dan 3 histogram yang meliputi WBC (White Blood Cell atau leukosit), sel tengah (monosit, basofil, eosinofil), limfosit, granulosit, persentase limfosit, persentase sel tengah, persentase granulosit, RBC (Red Blood Cell), HGB (Hemoglobin), MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin), MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), RDW-CV, RDW-SD, HCT (Hematocrit), PLT (Platelet), MPV (Mean Platelet Volume), PDW (Platelet Distribution Width), PCT (Plateletcrit), WBC Histogram (White Blood Cell Histogram), RBC (Red Blood Cell Histogram), PLT Histogram (Platelet Histogram). (CELL-DYN SAPPHERE, 2012)

Reagen yang digunakan antara lain adalah diluent sebagai larutan pengencer dan sebagai medium penghantar, reagen lyse yang dapat melisis eritrosit, rinse diformulasikan untuk membilas/mencuci bak dan tabung pengukur serta untuk menetapkan miniskus yang tepat pada tabung pengukur, pembersih E-Z (enzimatik) adalah enzim isotonik untuk membersihkan larutan dalam bak. (CELL-DYN SAPPHERE, 2012)

Automatic Hematology Analyzer CELL-DYN Sapphire adalah unit tunggal yang meliputi suatu penganalisis spesimen yang berisi perangkat keras untuk aspirasi dilusi dan menganalisis setiap spesimen darah secara keseluruhan serta bagian modul data yang meliputi komputer, monitor, keyboard, printer dan disk drives. Alat ini menggunakan mode sampler

terbuka untuk menghisap sampel darah dari tabung EDTA yang kemudian dilarutkan dan dicampurkan sebelum pengukuran masing-masing parameter dilakukan.

Keuntungan pemeriksaan trombosit secara otomatis antara lain adalah dapat menghemat waktu, penggunaan sampel yang lebih sedikit, data segera diperoleh tetapi harga alat dan reagen yang mahal dan hasil pemeriksaan bisa menunjukkan 19 parameter pemeriksaan sekaligus, dapat menyimpan maksimal 10.000 hasil pemeriksaan sampel, dalam 1 jam dapat untuk melakukan 100 kali pemeriksaan. (CELL-DYN SAPPHIRE, 2012)



Gambar 2.3 Automatic hematology Analyzer CELL-DYN Sapphire
(CELL-DYN Sapphire, 2012)

H. Metode Impedansi

Prinsip kerja dari metode impedansi adalah larutan elektrolit (diluent) yang telah dicampur dengan sel-sel darah dihisap melalui *Aperture*. Bilik pengukuran terdapat dua elektroda yang terdiri dari elektroda internal dan elektroda eksternal, yang terletak dekat dengan *Aperture*. Kedua elektroda tersebut dilewati arus listrik yang konstan.

Sel-sel darah akan melalui aperture yang mengakibatkan hambatan antara kedua elektroda tersebut akan naik sesaat dan terjadi perubahan tegangan yang sangat kecil sesuai dengan nilai tahanannya dan diterima *Detection Circuit*. Sinyal tegangan tersebut kemudian akan dikuatkan atau diperbesar pada rangkaian amplifier, lalu dikirim ke rangkaian elektronik. Rangkaian elektronik didalamnya terdapat rangkaian *Threshold Circuit* yang berfungsi untuk menghilangkan sinyal *noise* yang diakibatkan oleh gangguan listrik, debu, sisa cairan dan partikel yang lebih kecil atau lebih besar dari sel darah yang diukur.

Nilai puncak didapatkan dengan cara sinyal dikirim ke *A/D Converter*, kemudian data yang diperlukan disimpan pada memori untuk setiap nilai maksimum. Data tersebut akan dikoreksi oleh CPU dan akan ditampilkan pada layar LCD.

Jumlah sinyal untuk setiap ukuran sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. Sel RBC dan PLT yang dihitung memiliki ukuran yang berbeda sehingga CPU dapat membedakan penghitungan untuk setiap jenis sel. Sedangkan ketiga jenis sel WBC yang dihitung memiliki ukuran sel yang hampir sama sehingga CPU menggunakan histogram untuk membedakan populasi ketiga jenis sel WBC.

Terkadang terdapat dua sel atau lebih yang melewati aperture secara bersamaan. Peristiwa ini disebut *Coincidence* Apabila larutan sampel sudah cukup diencerkan dan dicampur, *Coincidence* ini dapat diprediksi secara statistik dengan tingkat keakuratan yang tinggi. Perangkat lunak didalamnya

terdapat tabel koreksi untuk kompensasi hal ini. (CELL-DYN Sapphire, 2012)

I. Metode Optik

Sel-sel yang terkena sumber cahaya dapat menyerap cahaya atau menyebarkannya ke arah yang berbeda. Prinsip hamburan cahaya inilah yang digunakan pada teknologi alat CELL-Dyn Sapphire untuk menganalisis sel.

Sel-sel darah diencerkan ke dalam suspensi yang kemudian dilewatkan melalui *optical flow cell*, yaitu perangkat kecil dengan prinsip hidrodinamik fokus yang memungkinkan sel tunggal berinteraksi dengan cahaya. Cahaya akan mengenai sel darah dalam *fluid stream*, sebagian akan diserap dan sebagian lainnya akan tersebar. Satu perangkat detektor disekitar aliran sel akan mengukur cahaya yang tersebar tersebut dan sistem pada alat akan mengkombinasikan semua cahaya yang tersebar tersebut, sehingga profil dari tiap sel dapat dideteksi tergantung pada karakteristik tiap sel tersebut, yang memungkinkan membedakan jenis sel yang berbeda dan memilah mereka ke dalam kelompok-kelompok.

Automatic Hematology Analyzer CELL-DYN Sapphire menggunakan cahaya monokromatik dari laser biru sebagai sumber cahaya dengan panjang gelombang adalah 488 nm, yang membuatnya tidak hanya baik dan tepat untuk mengukur cahaya yang dipendarkan, tetapi juga baik juga untuk fluoresensi. Alat ini memiliki empat detektor cahaya tersebar dan tiga detektor fluoresensi. Empat detektor cahaya ditempatkan pada sudut yang

berbeda, masing-masing mengukur aspek yang berbeda dari sel-sel darah.
(CELL-DYN Sapphire, 2012)

J. Hal-hal lain yang mempengaruhi hitung jumlah trombosit

Hal-hal yang dapat mempengaruhi pemeriksaan jumlah trombosit secara otomatis dapat berasal dari beberapa faktor antara lain adalah :

(1) Faktor metode.

Perbedaan metode pengukuran jumlah trombosit yang digunakan oleh masing-masing alat *automatic hematology analyzer* tentunya akan berpengaruh dalam hal menentukan hasil pemeriksaan jumlah trombosit. Pengukuran jumlah trombosit menggunakan metode optik dinilai mempunyai tingkat akurasi yang lebih baik dibandingkan dengan pengukuran jumlah trombosit menggunakan metode impedansi. Metode optik lebih akurat dikarenakan pada metode optik pengukuran jumlah sel dilakukan berdasarkan dari ukuran sel serta morfologi sel, berbeda dengan metode impedansi yang hanya melakukan pengukuran jumlah sel berdasarkan pada ukuran sel saja.

(2) Waktu pemeriksaan

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit yang ditunda lebih dari 1 jam menyebabkan menurunnya jumlah trombosit. Disebabkan oleh trombosit yang mudah sekali pecah, proses agregrasi trombosit dan proses adhesi menyebabkan trombosit saling bergabung sehingga terlihat seperti sel lain atau kotoran jika di baca pada alat hematolizer. (Gandasoebrata, 2007)

(3) Suhu

Suhu yang tepat untuk menyimpan darah guna pemeriksaan trombosit adalah temperatur 40°C, di suhu ini trombosit lebih stabil dan tidak mudah pecah, proses agregasi trombosit akan melambat dan tidak terjadi adhesi. (Gandasoebrata, 2007)

(4) Antikoagulan

Perbandingan antikoagulan dan darah harus sesuai dengan prosedur, jika tidak dapat menyebabkan kesalahan pada hasil yang didapat, jika volume antikoagulan terlalu sedikit, dapat menyebabkan trombosit membesar dan mengalami disintegrasi, sel eritrosit mengalami krenasi, sehingga membuat jumlah trombosit menurun. Volume antikoagulan terlalu banyak, dapat menyebabkan terbentuknya bekuan yang membuat jumlah trombosit menurun. (Sugiati, 2013)

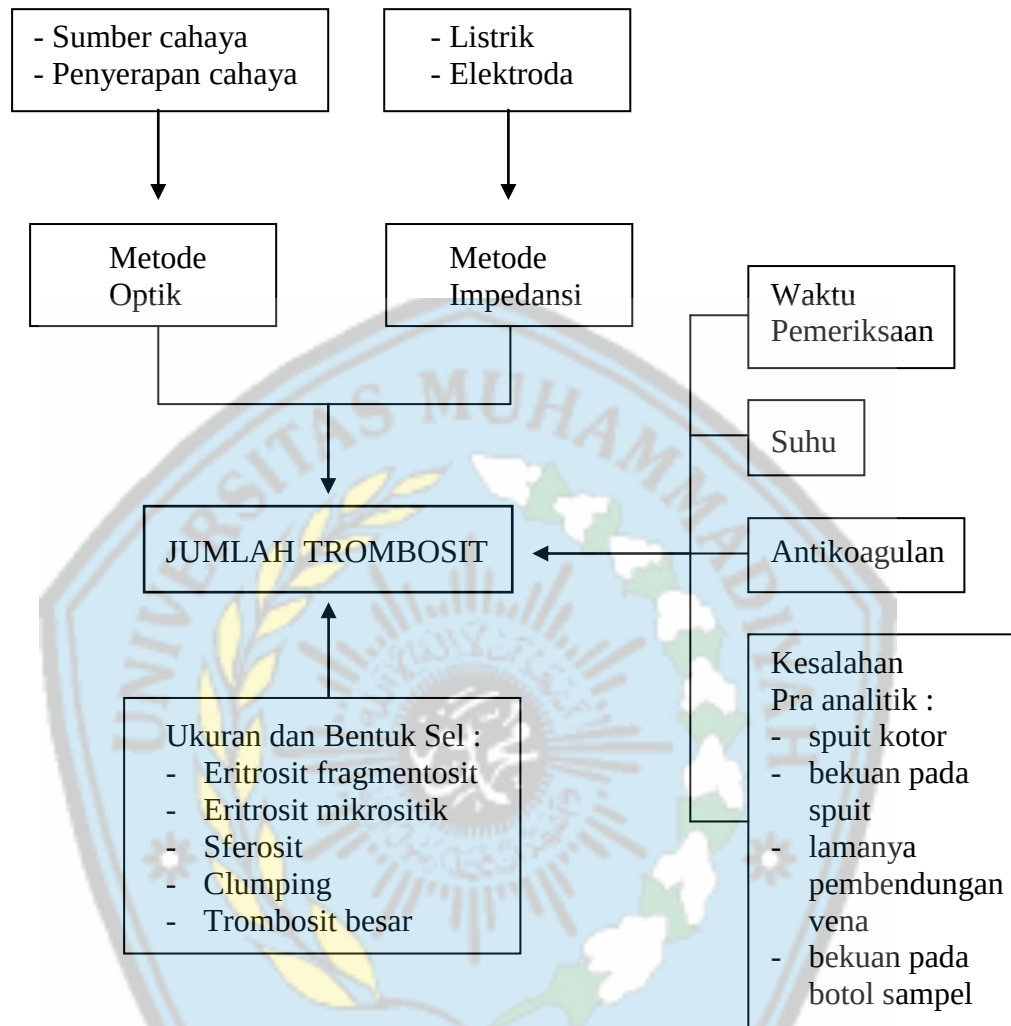
(5) Kesalahan pra analitik, saat pengambilan sampel darah vena

- a. spuit yang basah atau kotor
- b. terjadi bekuan di dalam spuit karena faktor pembekuan
- c. membendung vena terlalu lama yang menyebabkan hemokonsentrasi
- d. terjadi bekuan di dalam botol sampel karena belum homogen dengan antikoagulan (Sugiati, 2013).

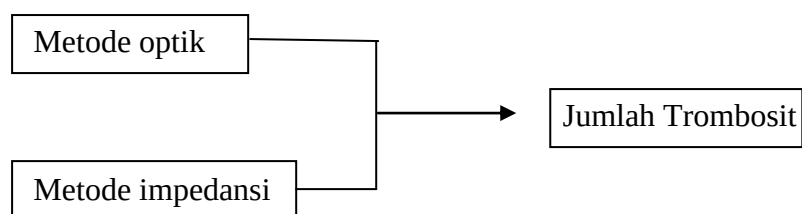
(6) Ukuran dan bentuk sel

- a. eritrosit fragmentosit
- b. eritrosit mikrositik
- c. sferosit, clumping dan trombosit besar

K. Kerangka Teori



L. Kerangka Konsep



M. Hipotesis

Ada perbedaan hasil antara hitung jumlah trombosit metode optik dan metode impedansi.

