

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

Darah merupakan jaringan yang terdiri atas dua komponen, plasma dan sel darah. Sel darah terdiri atas tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Volume darah secara keseluruhan adalah satu per dua belas berat badan atau ± 5 liter. Plasma merupakan komponen intraseluler yang berbentuk cair dan berjumlah sekitar 55% dari volume darah, sedangkan sel darah merupakan komponen padat yang terdapat di dalam plasma dengan jumlah 45% dari volume darah (Pearce, 2006).

Komponen padat atau korpuskula terdiri atas eritrosit, trombosit dan leukosit. Sel darah merah atau eritrosit mengandung hemoglobin dan mengedarkan oksigen, selain itu berperan dalam penentuan golongan darah. Biasanya orang yang kekurangan sel darah merah akan menderita penyakit anemia. Keping darah atau trombosit merupakan sel yang bertanggung jawab dalam proses pembekuan darah, dan sel darah putih atau leukosit berperan untuk memusnahkan benda-benda asing dan berbahaya bagi tubuh, serta bertanggung jawab terhadap respon imun. Biasanya orang yang kelebihan sel darah putih, menderita penyakit leukemia, sedangkan yang kekurangan sel darah putih menderita penyakit infeksi (Hilmi, 2009).

Fungsi darah adalah sirkulasi, sebagai alat pengangkut, mengatur keseimbangan cairan tubuh, mengatur panas tubuh, berperan serta dalam mengatur pH cairan tubuh, mempertahankan tubuh dari serangan penyakit infeksi

dan mencegah perdarahan (Mubarokah, 2011). Darah berwarna merah, antara merah terang apabila kaya oksigen sampai merah tua apabila kekurangan oksigen. Warna merah pada darah disebabkan oleh hemoglobin, protein pernapasan (*respiratory protein*) yang mengandung besi dalam bentuk *heme*, yang merupakan tempat terikatnya molekul-molekul oksigen.

Manusia memiliki sistem peredaran darah tertutup yang berarti darah mengalir dalam pembuluh darah dan disirkulasikan oleh jantung. Kemudian darah dipompa oleh jantung menuju ke paru-paru untuk melepaskan sisa metabolisme berupa karbon dioksida dan menyerap oksigen melalui pembuluh arteri pulmonalis, selanjutnya dibawa kembali ke jantung melalui vena pulmonalis. Setelah itu darah dibawa ke seluruh tubuh oleh saluran pembuluh darah aorta. Darah mengedarkan oksigen ke seluruh tubuh melalui saluran halus darah yang disebut pembuluh kapiler. Darah kemudian dibawa kembali ke jantung melalui pembuluh darah *vena cava superior* dan *vena cava inferior*. Darah juga mengangkut bahan-bahan sisa metabolisme, obat-obatan dan bahan kimia asing ke hati untuk diuraikan dan ke ginjal untuk dibuang melalui air seni (Pearce, 2006).

2.2 Antikoagulan

Antikoagulan adalah zat yang digunakan untuk mencegah terjadinya pembekuan pada darah dengan mengikat kalsium atau menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembentukan darah (Ayu, 2013). Terdapat berbagai macam jenis antikoagulan yang digunakan untuk pemeriksaan hematologi, antara lain *Ethylene*

Diamine Tetra Acetate (EDTA), heparin, Natrium sitrat larutan 3,8% dan Natrium florida (NaF). Darah EDTA dalam bentuk garam natrium, kalium atau lithium, yang dapat digunakan untuk berbagai macam pemeriksaan hematologi, seperti penetapan kadar hemoglobin, hitung jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, retikulosit, hematokrit, penetapan laju endap darah menurut Westergren dan Wintrobe, tetapi tidak dapat digunakan pada percobaan hemoragik dan pemeriksaan faal trombosit (Gandasoebrata, 2007).

Pemeriksaan darah menggunakan antikoagulan EDTA banyak digunakan dalam bentuk garam Na_2EDTA atau K_2EDTA . K_2EDTA banyak digunakan karena memiliki daya larut dalam air sekitar 15 kali lebih besar dari Na_2EDTA . EDTA dalam bentuk kering dengan pemakaian 1-1,5 mg EDTA/mL, sedangkan dalam bentuk larutan EDTA 10% pemakaiannya 0,1 mL/ mL darah. Garam EDTA mengubah ion kalium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuk eritrosit juga terhadap leukosit. EDTA mencegah trombosit menggumpal, karena dengan adanya EDTA sangat baik digunakan sebagai antikoagulan pada hitung jumlah trombosit. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1 mL darah (Astarini, 2014).

Darah EDTA harus segera dilakukan, atau disimpan dalam lemari es dengan suhu 4°C. Darah EDTA yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam memberikan nilai hematokrit lebih tinggi. Pembuatan sediaan apus darah tepi dapat menggunakan darah EDTA yang disimpan dengan waktu paling lama 2 jam. Darah EDTA dapat disimpan paling lama 24 jam dalam lemari es, kecuali untuk jumlah trombosit dan hematokrit (Gandasoebrata, 2007).

Antikoagulan heparin bersifat seperti antitrombin, tidak mempengaruhi bentuk eritrosit dan leukosit. Heparin dapat digunakan sebagai larutan maupun dalam bentuk kering dengan konsentrasi penggunaan 1 mg heparin untuk 10 mL darah. Sedangkan pada antikoagulan natriumsitrat dalam larutan 3,8% digunakan untuk pemeriksaan laju endap darah (LED) metode Westergren dengan perbandingan 1 volume antikoagulan dengan 4 volume darah, misalnya 0,4 mL sitrat dan 1,6 mL darah. Natriumsitrat tidak dapat digunakan untuk pemeriksaan eritrosit, leukosit dan trombosit (Gandasoebrata, 2007). Antikoagulan NaF digunakan dalam bentuk serbuk dengan perbandingan 10 mg untuk 1 mL darah (Ayu, 2013).

2.3 Tabung Vacutainer

Tabung reaksi hampa udara yang terbuat dari plastik atau kaca adalah tabung vacutainer yang digunakan untuk mengambil darah apabila dilekatkan dengan jarum darah akan mengalir ke dalam tabung kemudian berhenti mengalir ketika jumlah volume telah tercapai. Tabung vacutainer yang berisi antikoagulan K₂EDTA telah direkomendasi oleh NCCLS untuk pemeriksaan hematologi.

Warna tutup pada tabung vacutainer dibedakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium yaitu Tabung tutup merah, tutup kuning, tutup hijau terang, tutup biru, tutup hijau, tutup biru gelap, tutup abu-abu terang, tutup hitam, tutup merah muda, tutup putih, tutup kuning dengan warna hitam di bagian atas dan tutup ungu atau lavender, digunakan pada pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (*crossmatch*), berisi EDTA (Riswanto, 2009).

2.4 Trombosit

Trombosit adalah sel darah yang dipakai tubuh dalam proses pembekuan saat tubuh mengalami luka terutama apabila luka tersebut tidak mampu ditutup oleh vasokonstriksi pembuluh darah. Trombosit berasal dari sel darah yang tidak berinti yang dihasilkan oleh sumsum tulang dengan cara melepaskan diri (fragmentasi) dari sitoplasma sel induknya (megakariosit) melalui rangsangan suatu bahan stimulator humoral yang disebut trombopoetin, kadarnya akan meningkat pada kasus trombositopenia (Wahyuni, 2011). Megakariosit berasal dari megakarioblas melalui proses diferensiasi sel asal hemapoetik. *Precursor myeloid* paling awal yang membentuk megakariosit (Suharyanti, 2011).

Trombosit memiliki ukuran lebih kecil dari eritrosit dan leukosit, dan mudah pecah apabila tersentuh benda kasar. Diameter rata-rata 1-2 μm dan volume sel rata-rata 5,8 fl. Jumlah trombosit dalam tubuh sekitar 200.000 – 300.000 keping/ mm^3 darah, masa hidup sekitar 8-10 hari. Setelah itu keping darah menuju ke limpa untuk dihancurkan. Sisa sel trombosit tersebut akan dimakan oleh makrofag (Slamet, 2010). Pengamatan trombosit menggunakan mikroskop elektron terbagi menjadi 4 zona dengan masing-masing zona memiliki fungsi khusus. Keempat zona tersebut adalah zona perifer yang berguna untuk adhesi dan agregasi, zona gel menunjang struktur dan mekanisme kontraksi, zona organel yang berperan dalam pengeluaran isi trombosit serta zona membran yang keluar dari isi granula saat pelepasan. Fungsi trombosit adalah sumbatan mekanis selama respon hemostatik normal terhadap luka, hal tersebut terjadi karena fungsi trombosit, yaitu adhesi, agregasi, dan fusi trombosit (Suharyanti, 2011).

Adhesi trombosit terjadi setelah luka pembuluh darah, trombosit melekat diri pada jaringan ikat subendotelial yang terbuka. Fungsi vital ini tergantung sebagian pada faktor VII (*AHF: Anti Haemophilic Factor / factor von willebrand*) yang merupakan bagian fraksi utama molekul faktor VII, setelah melekat pada jaringan ikat subendotel, trombosit akan melepaskan isi granula antara lain, *adenosin difosfat* (ADP), nukleotida, serotonin, fibrinogen, enzim lisosin, dan faktor penralisir heparin (Slamet, 2010). Agregasi trombosit terjadi karena ADP yang dilepaskan menyebabkan banyak trombosit beragregasi (berkelompok) pada luka vaskuler. ADP menyebabkan trombosit membengkak dan mempermudah membran trombosit yang berdekatan untuk melekat satu sama lain. Proses dari agregasi trombosit ini mengakibatkan pembentukan masa trombosit yang cukup besar untuk menyumbat daerah luka (Slamet, 2010).

Proses terjadinya mekanisme agregasi karena perlekatan antar sesama trombosit yang dalam keadaan tidak aktif trombosit tidak akan melekat karena glikoprotein pada permukaan trombosit mengandung molekul asam sialat yang mengakibatkan permukaan bermuatan negatif sehingga trombosit saling tolak menolak. Agregasi trombosit dapat dirangsang oleh berbagai induktor salah satunya ADP (Sotianingsih, 2001). Respon trombosit tergantung dari kekuatan induktor. Reaksi induktor berinteraksi dengan reseptor pada membran trombosit. Setiap reseptor mengontrol sejumlah transmitter yang akan dilepaskan ke dalam sitoplasma. Salah satu transmitter yang dikontrol oleh reseptor adalah ion Ca. Kadar transmitter yang dikontrol oleh berbagai induktor berbeda tergantung kekuatan induktor. Jika diurutkan berdasarkan kadar transmitter dari yang rendah

sampai yang tinggi maka urutan respon trombosit adalah perubahan bentuk, agregasi trombosit, pelepasan asam arakhidonat, sekresi dari granula padat dan sekresi dari granula kemudian sekresi hidrolase asam.

Berdasarkan kekuatan dari induktor dapat dibedakan atas lemah, sedang dan kuat. Induktor lemah adalah ADP dan adrenalin, induktor sedang adalah Tromboksan A₂ (TxA₂), sedang induktor kuat adalah trombin dan kolagen. Agregasi yang diinduksi oleh ADP memerlukan kation divalent seperti Ca atau Mg dan fibrinogen yang berfungsi sebagai kofaktor. Mula-mula ADP berikatan dengan reseptor dan menginduksi perubahan bentuk trombosit dari cakram menjadi bulat dengan tonjolan pseudopodi. Kemudian reseptor untuk fibrinogen yang (GP 11b dan GP IIIa) terbuka dan fibrinogen akan melekat pada reseptor dan menjadi jembatan antar trombosit. Struktur fibrinogen berupa 2 domain D pada bagian lateral dan domain E pada bagian sentral. Oleh karena itu, pada tahap awal terjadinya agregasi 2 trombosit melekat pada sepasang domain D dari molekul fibrinogen yang sama (Suharyanti, 2011).

Agregasi trombosit yang bersifat *reversible* apabila kadar ADP yang digunakan sebagai induktor kecil. Kadar ADP lebih tinggi maka akan terjadi pelepasan asam arakhidonat yang selanjutnya akan diubah menjadi prostaglandin G₂ (PGG₂), PGH₂ dan TxA₂ yang akan menimbulkan sekresi ADP dari granula sehingga terjadi agregasi yang *irreversible*. Struktur fibrilar untuk merangsang kolagen. Setelah kolagen melekat pada reseptor pada membran trombosit, terjadi interaksi antara permukaan trombosit dengan fibrilar kolagen yang akan memberi signal untuk mobilisasi ion Ca. Selanjutnya, asam arakhidonat akan dilepaskan dan

terbentuk TxA₂ yang akan merangsang sekresi ADP dari granula sehingga terjadi agregasi trombosit *irreversible* (Wirawan, 2006).

Induktor fisiologis yang paling kuat dan mampu untuk merangsang perubahan bentuk, pelepasan bentuk, pelepasan arakhidonat, agregasi dan sekresi dari berbagai granula merupakan trombin. Agregasi trombosit dapat terjadi melalui 3 jalur yaitu jalur pertama sekresi ADP dan jalur kedua pembentukan TxA₂. Jalur ketiga adalah agregasi trombosit yang terjadi setelah perangsangan dengan thrombin kadar tinggi walaupun jalur ADP dan TxA₂ dihambat. Perantara jalur ini adalah *Platelet Activating Factor (PAF)*. PAF dilepaskan oleh basophil yang telah disensitisasi oleh antigen sehingga PAF juga merupakan perantara yang penting pada peradangan dan reaksi alergi (Suharyanti, 2011). Selanjutnya reaksi fusi trombosit terjadi pada enzim-enzim yang dibebaskan selama reaksi pelepasan dan konsentrasi fusi trombosit menyebabkan fusi *irreversibel* trombosit yang beragregasi pada tempat luka vaskuler. Faktor pertumbuhan yang terdapat dalam granula trombosit merangsang sel-sel otot polos pembuluh darah untuk memperbanyak diri sehingga dapat mempercepat kesembuhan luka (Slamet, 2010).

Trombosit sulit dihitung karena mudah sekali pecah dan sulit dibedakan dengan kotoran, selain itu karena sifatnya yang mudah sekali melekat pada permukaan asing dan membentuk gumpalan. Cara yang sering dipakai untuk menghitung jumlah trombosit adalah dengan cara langsung. Pada perhitungan jumlah trombosit dengan cara langsung dengan otomatis (*automatic cell counter*). Cara manual dapat dilakukan dengan metode *Rees Ecker* atau *Brecher Cronkite*

sedangkan cara tak langsung dengan metode Fonio (Gandasoebrata, 2001). Pada metode *Rees Ecker*, dapat diencerkan dengan larutan BCB (*BriliantCresyl Blue*), trombosit akan berwarna kebiruan. Jumlah trombosit dihitung dengan bilik hitung menggunakan mikroskop (Koeswardani, 2001). Metode *Brecher – Cronkite*, darah diencerkan dengan ammonium oksalat 1% yang berfungsi untuk melisis eritrosit, jumlah trombosit dihitung dengan bilik hitung menggunakan mikroskop (Koeswardani, 2001).

Kelainan trombosit yang sering dijumpai adalah trombosit besar (*giant platelet*) yang memperlihatkan ukuran yang besar dari pada ukuran normal. Kelainan ini dijumpai pada trombositopenia, leukemia mieloblastik akut, pasca splenektomi pada pasien dengan defisiensi piruvat kinase. Juga dapat dijumpai pada trombosit menggerombol (*clump*), pada sediaan apus dari spesimen darah kapiler, trombosit akan terlihat menggerombol dan menyebar. Apabila sediaan darah terlihat menggerombol dan menyebar harus dikonfirmasi apakah pengambilan darah dan pencampuran darah sudah dilakukan dengan benar. Apabila tidak bermasalah, hal tersebut mengindikasikan keadaan patologis (Astarini, 2014).

2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Trombosit

Faktor yang mempengaruhi pemeriksaan trombosit adalah faktor praanalitik, analitik dan pasca analitik. Beberapa faktor pengganggu terhadap hitung jumlah trombosit, antara lain jumlah trombosit meningkat dijumpai pada dataran tinggi, setelah olahraga, trauma dan dalam musim dingin. Sedangkan nilai trombosit

menurun dijumpai pada wanita yang sebelum menstruasi dan selama kehamilan. Penurunan jumlah trombosit dikenal dengan trombositopenia. Kriteria penggolongan berat ringannya trombositopenia dikembangkan oleh *National Cancer Institute* (NCI). Kriteria tersebut menggolongkan berat ringannya trombositopenia sebagai derajat 1 jika jumlah trombosit sekitar 75.000-150.000/ μL , derajat 2 jika jumlah <75.000/ μL , derajat 3 jika jumlah <50.000/ μL dan derajat 4 apabila jumlah trombosit <25.000/ μL .

Apabila ditemukan trombositopenia pada pemeriksaan jumlah trombosit, maka diperlukan pengetahuan seorang dalam pemeriksaan dalam menentukan apakah orang tersebut benar-benar menderita trombositopenia atau karena kasus trombositopenia palsu (*pseudothrombocytopenia*). Kasus tersebut disebabkan karena trombosit yang diperiksa menggumpal karena terpapar oleh antikoagulan EDTA, sehingga perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan sediaan apus darah tepi. Mekanisme terjadinya trombositopenia disebabkan karena gangguan produksi trombosit pada sumsum tulang.

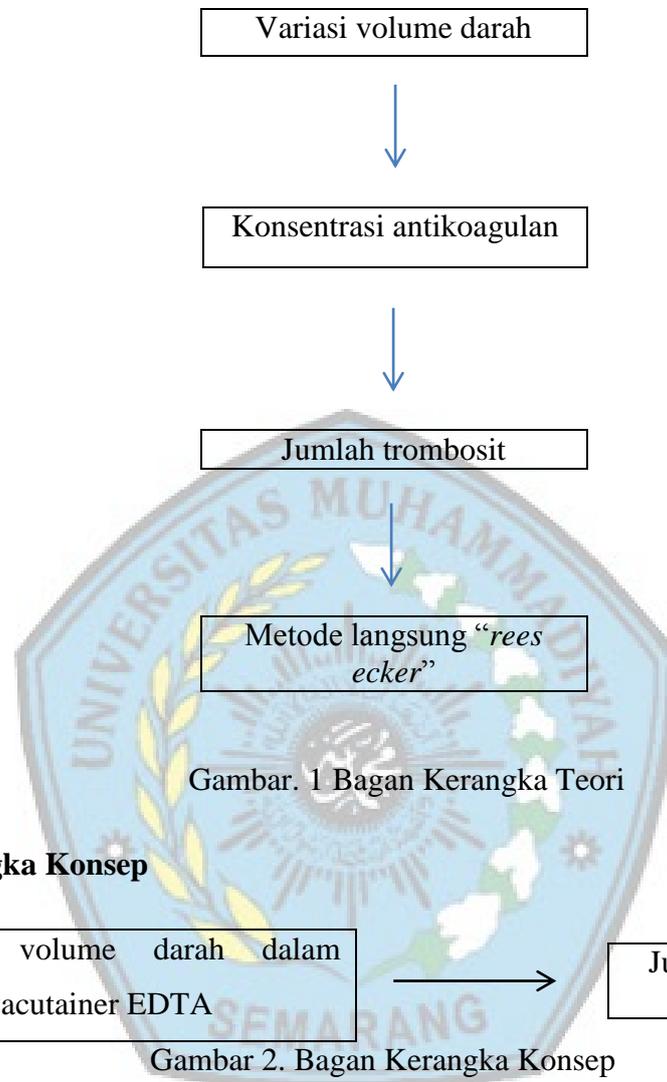
Pasien dengan penurunan jumlah trombosit atau trombositopenia sampai dibawah 20.000/ mm^3 maka gejala klinis yang akan muncul seperti petekia, perdarahan hidung dan pendarahan setelah pencabutan gigi. Apabila kurang dari 5000/ mm^3 , dapat menyebabkan perdarahan sistem saraf pusat dan gastrointestinal yang fatal. Sedangkan pada peningkatan jumlah trombosit atau trombositosis memiliki gejala seperti anemi ringan, leukositosis (Suddarth, 2002).

Kelebihan konsentrasi antikoagulan EDTA juga dapat menyebabkan trombosit dapat meningkat ataupun turun. Hal tersebut dapat terjadi karena sel

membengkak kemudian disintegrasi membentuk fragmen dalam ukuran yang sama dengan trombosit, kemudian dibaca kembali oleh alat hitung otomatis sehingga menyebabkan peningkatan palsu. Akan tetapi apabila disintegrasi membentuk fragmen dalam ukuran yang berbeda dengan ukuran trombosit akan menyebabkan penurunan palsu. Oleh karena itu ketepatan dalam perbandingan pemberian takaran antikoagulan EDTA dengan volume darah harus benar-benar diperhatikan (Wirawan, 2004).



2.6 Kerangka Teori



Gambar. 1 Bagan Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. Bagan Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Terdapat perbedaan jumlah trombosit pada variasi volume darah.