

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Latar Belakang Masalah

2.1.1 Definisi Demam Berdarah

Penyakit demam berdarah adalah penyakit demam akut karena infeksi virus yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* dan dapat menyebabkan kematian (Soedarto,2012)

2.1.2 Penyebab Demam Berdarah

Penyebab demam berdarah adalah virus dengue (DEN) yang termasuk genus *flavivirus* family *Flaviviridae*. Terdapat empat serotipe virus DEN yang antigenic berbeda , yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Infeksi salah satu serotipe akan menghasilkan imunitas terhadap serotipe virus tersebut, tetapi hanya memberikan perlindungan beberapa bulan terhadap infeksi serotipe virus lainnya. Infeksi sekunder dengan serotipe virus dengue lainnya atau jika terjadi infeksi ganda (multiple infection) dengan serotipe yang berbeda dapat menimbulkan demam berdarah dengue (DBD) atau dengue shock syndrome (DSS). (Soedarto,2012)

2.1.3 Diagnosis Demam Berdarah

Penderita dengue biasanya mempunyai riwayat pernah mengunjungi daerah endemis karena masa inkubasi 3-14 hari. Demam dengue klasik dimulai

dengan demam mendadak, menggigil, dan nyeri hebat kepala, punggung dan ekstremitas. Gejala klinis demam berdarah :

- ❖ Demam akut, bifasik, berlangsung 2-7 hari
- ❖ Manifestasi perdarahan : uji tourniquet positif, petekia, ekimosis, purpura, perdarahan mukosa,, perdarahan gastrointestinal
- ❖ Trombositopeni $< 100.000/pl$
- ❖ Terjadi perembesan plasma (Hematokrit meningkat $> 20\%$, Hematokrit menurun $> 20\%$ sesudah pemberian cairan yang adekwat)

Beratnya penyakit dapat dipantau dengan memeriksa adanya trombositopeni, hemokonsentrasi dan leukopeni. Derajat demam berdarah:

- ❖ Derajat I : Demam dengan gejala tidak jelas, manifestasi perdarahan hanya dalam bentuk tourniquet positif dan atau mudah memar
- ❖ Derajat II : Manifestasi derajat I ditambah perdarahan spontan, biasanya berupa perdarahan kulit atau perdarahan pada jaringan lainnya
- ❖ Derajat III : Kegagalan sirkulasi berupa nadi tekanan sempit dan lemah, atau hipotensi, dengan gejala kulit dingin dan lembab dan penderita gelisah
- ❖ Derajat IV : Terjadi gejala awal syok berupa tekanan darah rendah dan nadi tidak dapat diukur.(Soedarto,2012)

DBD sebagian besar menyerang anak-anak, berdasarkan jenis kelamin tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara laki-laki dan perempuan. Perempuan lebih dominan dibanding laki-laki. Perempuan lebih berisiko terhadap penyakit yang disebabkan virus dengue ini untuk mendapatkan manifestasi klinik yang lebih berat dibandingkan laki-laki. Hal ini berdasarkan dugaan bahwa dinding kapiler pada wanita lebih cenderung dapat meningkatkan permeabilitas kapiler dibanding dengan laki-laki. (Sari, 2017)

2.1.4 Faktor Penularan Demam Berdarah

Ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Darah yang infeksi terhisap nyamuk, virus memasuki kelenjar liur nyamuk lalu berkembang biak menjadi infeksi dalam waktu 8-10 hari (inkubasi ekstrinsik) dan ditularkan dari penderita ke orang lain yang berkembang biak dengan waktu inkubasi sekitar 45 hari sebelum menimbulkan penyakit dengue. Pola penularan virus dengue yaitu dengue epidemik (virus dengue memasuki suatu daerah terisolasi meskipun melibatkan satu serotipe virus dengue dengan pengendalian epidemic dengue, pemberantasan vektor, faktor iklim dan imunitas) dan dengue hiperendemik (sirkulasi beberapa serotipe virus dengue di suatu daerah hospes yang peka dan vektor penularnya terus menerus dijumpai di daerah dan tidak dipengaruhi musim. (Soedarto, 2012)

2.1.5 Patogenesis Terjadinya Pendarahan Dan Syok

Infeksi virus dengue menyebabkan terbentuknya kompleks antigen-antibodi yang mengaktifasi sistem komplemen, menyebabkan agregasi trombosit dan mengaktifasi sistem koagulasi melalui kerusakan endotel pembuluh darah.

Pelekatan kompleks antigen-antibodi pada membrane trombosit merangsang pengeluaran adenosine diphosphate (ADP) yang menyebabkan sel-sel trombosit saling melekat. Oleh sistem retikuloendotel (reticuloendothelial system-RES) kelompok trombosit dihancurkan, sehingga mengakibatkan terjadinya trombositopeni. Agregasi trombosit menimbulkan gangguan fungsi trombosit. Meskipun jumlah trombosit normal tetapi tidak baik cara kerjanya. Penyebab perdarahan masif (memperberat syok terjadi) pada DBD adalah Trombositopeni, Koagulasi Intravaskuler Diseminata (KID) yang menyebabkan factor pembekuan, kelainan fungsi trombosit, dan kerusakan dinding endotel kapiler. (Soedarto,2012)

Dengan terjadinya peningkatan permeabilitas pembuluh darah akibatnya terjadi hypovolemia dan syok. Syok juga terjadi pada infeksi sekunder oleh virus dengue serotipe yang berbeda dari serotipe virus yang menginfeksi pertama kali. Respons antibody yang terjadi menyebabkan terjadinya proliferasi dan transformasi limfosit yang menimbulkan antibody IgG anti dengue yang tinggi titernya dan terjadi replikasi virus di dalam limfosit yang menyebabkan permeabilitas dinding pembuluh darah meningkat sehingga terjadi perembesan plasma ke ruang ekstrasvaskuler dan mengakibatkan potensi virus untuk menimbulkan wabah meningkat. Pada keadaan syok berat dalam waktu 24-48 jam volume plasma berkurang lebih dari 30% yang ditandai dengan peningkatan hematocrit, penurunan natrium, dan terjadi efusi pleura serta asites. (Soedarto,2012)

Jumlah trombosit penyakit DBD pada fase demam mengalami penurunan, bahkan mencapai jumlah terendah pada saat terjadinya syok.

Penurunan jumlah trombosit disebabkan gangguan fungsi dan jumlah trombosit akibat pembentukan kompleks imun sebagai reaksi antigen virus dengue.(Heatubun,2013)

2.2 Darah

2.2.1 Pengertian

Darah merupakan salah satu jaringan dalam tubuh yang berbentuk cair berwarna merah. Darah bergerak dari satu tempat ke tempat lain menyebar ke berbagai kompartemen tubuh dalam sistem kardiovaskuler yang berfungsi untuk memenuhi sel atau jaringan akan nutrient dan oksigen, serta mentranspor sisa metabolisme sel atau jaringan keluar dari tubuh. (Nugraha,2017)

2.2.2 Komponen

Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen selular dan komponen non selular. Komponen selular sering disebut juga korpuskuli, yang membentuk sekitar 45% yang terdiri dari tiga macam atau jenis sel yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit.komponen non selular berupa cairan yang disebut plasma dan membentuk sekitar 55% bagian dari darah. (Nugraha,2017)

2.3 Trombosit

2.3.1 Pengertian Dan Morfologi

Trombosit disebut juga keping darah atau platelet yaitu fragmen atau potongan-potongan kecil dari sitoplasma megakariosit, jumlah didalam tubuh orang dewasa antara 150.000-400.000 keping/mm³. Trombosit merupakan komponen penting dalam respon hemostasis yang saling berkaitan erat dengan

komponen-komponen hemostasis lainnya, trombosit berukuran sangat kecil sekitar 2-4 μm dengan bentuk bulat dan lonjong. Dapat bergerak aktif karena mengandung protein rangka sel yang dapat menunjang perpindahan trombosit secara cepat dari keadaan tenang menjadi aktif jika terjadi kerusakan pembuluh darah. (Nugraha,2017) Sebenarnya, trombosit tidak dapat dipandang sebagai sel utuh karena ia berasal dari sel raksasa yang berada di sumsum tulang, yang dinamakan megakariosit. Dalam pematangannya, megakariosit ini pecah menjadi 3000-4000 serpihan sel, yang dinamai sebagai trombosit. Trombosit berbentuk seperti cakram bikonveks (dalam keadaan inaktif) dengan diameter 2-3 μm dan volume 8-10 fl. (Kurniawati,2016)

2.3.2 Proses Pembentukan Trombosit

Sel trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit sumsum tulang. Prekursor megakariosit, megakarioblast, muncul melalui proses diferensiasi dari sel induk hemopoetik. Megakariosit mengalami pematangan dengan replikasi inti endomitotik yang sinkron, memperbesar volume sitoplasma sejalan dengan penambahan lobus inti menjadi kelipatan duanya. (Prianita,2018)

Pada berbagai stadium dalam perkembangannya (paling banyak pada stadium inti delapan), sitoplasma menjadi granular dan trombosit dilepaskan. Produksi trombosit mengikuti pembentukan mikrovesikel dalam sitoplasma sel yang menyatu membentuk membran pembatas trombosit. Setiap sel megakariosit menghasilkan 1000 - 1500 trombosit. Sehingga diperkirakan akan dihasilkan 35.000 sel/ mm^3 trombosit per hari. Interval waktu semenjak diferensiasi sel induk sampai produksi trombosit berkisar sekitar 10 hari. (Prianita,2018)

Trombopoetin adalah pengatur utama produksi trombosit, dihasilkan oleh hati dan ginjal. Trombosit mempunyai reseptor untuk trombopoetin (c-MPL) dan mengeluarkannya dari sirkulasi, karena itu kadar trombopoetin tinggi pada trombositopenia akibat aplasia sumsum tulang. Trombopoetin meningkatkan jumlah dan kecepatan maturasi megakariosit. Jumlah trombosit mulai meningkat 6 hari setelah dimulainya terapi dan tetap tinggi selama 7-10 hari. Interleukin-11 juga dapat meningkatkan trombosit dalam sirkulasi. (Prianita,2018)

2.3.3 Faktor Yang Dapat Mempengaruhi Jumlah Trombosit

Beberapa faktor yang mempengaruhi pemeriksaan hitung jumlah trombosit meliputi tehnik pengambilan darah, cara kerja dan perhitungan. Darah diambil dari kapiler cenderung memberikan hasil lebih rendah terhadap hitung jumlah trombosit, pengambilan darah yang terlalu lama dapat menurunkan jumlah trombosit saling menggumpal, penambahan antikoagulan yang tidak tepat, penundaan pemeriksaan lebih dari 1 jam. Masalah klinis:

1. Penurunan Jumlah

ITP, myeloma multiple, kanker (tulang, saluran gastrointestinal, otak), leukemia (limfositik, mielositik, monositik), anemia (aplastic, defisiensi zat besi, perniosis, defisiensi asam folat, sel sabit), penyakit hati (sirosis, hepatitis aktif kronis), SLE, DIC, penyakit ginjal, eklamsia, demam reumatik akut, penyakit menular.

2. Peningkatan Jumlah

Polisitemia vera, trauma (pembedahan, fraktur,), pasca splenektomi, kehilangan darah akut (memuncak pada 7-10 hari), karsinoma metastatic,

embolisme pulmonary, dataran tinggi, tuberculosis, retikulosi, latihan fisik berat. (Gilang Nugraha, 2017 dan Lasut, 2014)

2.3.4 Fungsi Dan Sifat Trombosit

Trombosit memiliki fungsi dalam membentuk sumbatan terhadap cedera vaskuler dengan cara melakukan perlekatan terhadap dinding pembuluh darah yang rusak (adhesi), melakukan perlekatan trombosit dengan trombosit (agregasi), sehingga terjadi pengumpulan trombosit dan reaksi pelepasan (sekresi) yang akan berperan dalam hemostasis. (Nugraha, 2017) Trombosit sukar dihitung karena mudah sekali pecah dan sukar dibedakan dengan kotoran kecil, dan cenderung melekat pada permukaan asing (bukan endotel utuh) dan membentuk gumpalan (Gandasoebrata, 2001).

2.3.5 Pemeriksaan Hitung Trombosit Cara Otomatis Menggunakan Hematology Analyzer

Pemeriksaan trombosit termasuk salah satu pemeriksaan hematologi yang banyak diminta di laboratorium klinik. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya kebutuhan akan data tersebut dalam upaya membantu menegakkan diagnosis. Dengan meningkatnya permintaan pemeriksaan hitung sel darah maka pemeriksaan hitung sel trombosit cara manual tidak lagi dapat memenuhi kebutuhan tersebut. Walaupun demikian, hitung sel darah cara manual masih dipertahankan. Hal ini disebabkan hitung sel trombosit manual masih merupakan metode rujukan. Dimana hitung sel secara manual biayanya murah dibandingkan harga sebuah pemeriksaan hitung sel trombosit secara autoanalyzer yang cukup mahal. (Chairani, 2018)

Alat analisis hematologi Sysmex XN-550 adalah anggota seri XN-L dan bagian dari keluarga XN. Parameter standar XN-550 adalah CBC dan DIFF (termasuk granulosit imatur), dan parameter opsionalnya adalah RET (retikulosit) dan BF (cairan tubuh). Throughput XN-550 adalah hingga 60 sampel/jam (dengan lisensi mempercepat opsional hingga 70 sampel/jam), dan volume aspirasi adalah 25 μ L untuk mode biasa dan 70 μ L untuk mode BF. (<https://www.dovermed.co.il/sysmex-xn-550>)

2.3.6 Pengaruh Suhu Dan Penundaan Terhadap Jumlah Trombosit

Darah yang diambil dari kapiler cenderung memberikan hasil hasil lebih rendah terhadap hitung jumlah trombosit, pengambilan darah yang terlalu lama atau pencampuran dengan antikoagulan terlalu lama dapat menurunkan jumlah trombosit karena trombosit menggumpal, penambahan antikoagulan yang tidak tepat, penundaan pemeriksaan lebih dari 1 jam. (Nugraha, 2017) Jenis pemeriksaan trombosit darah dengan antikoagulan K2/K3-EDTA stabil pada suhu kamar selama 2 jam. (Siregar, 2018) Trombosit kecil sekali sehingga sukar dibedakan dari kotoran kecil, trombosit mudah pecah dan cenderung saling melekat pada permukaan asing. Sebagai bahan pemeriksaan dipakai darah dengan antikoagulan sodium ethylenediamine tetraacetate yang masih dalam batas waktu yang diijinkan artinya tidak lebih dari 3 jam setelah pengambilan darah. (Setiabudy, 2007)

Menurut Darmayanti dkk, 2014 menyatakan tidak terdapat perbedaan bermakna pada hasil pemeriksaan jumlah trombosit pada sampel darah yang

langsung diperiksa dengan yang ditunda selama 1 jam, 2 jam, dan 3 jam menggunakan alat hematology analyzer BC 2600. Perbandingan jumlah trombosit yang langsung diperiksa mempunyai rata-rata sebesar $292,83 \times 10^3/\mu\text{L}$, sedangkan yang ditunda selama 1 jam rata-ratanya sebesar $295,89 \times 10^3/\mu\text{L}$, 2 jam rata-ratanya sebesar $290,39 \times 10^3/\mu\text{L}$, dan 3 jam rata-ratanya sebesar $290,67 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Menurut Sujud dkk, 2015 menyatakan ada perbedaan jumlah trombosit darah EDTA yang segera diperiksa dan penundaan selama 1 jam. Jumlah minimal hitung trombosit pada darah EDTA yang segera diperiksa setelah pengambilan sampel (0 jam) adalah 166.000 sel/mm³ dan maksimal adalah 481.000 sel/mm³. Jumlah minimal hitung trombosit pada darah EDTA setelah waktu penundaan selama 1 jam adalah 160.000 sel/mm³ dan maksimal adalah 480.000 sel/mm³. Selisih rerata hitung jumlah trombosit darah EDTA yang segera diperiksa dan setelah waktu penundaan selama 1 jam adalah 2,32%. Penelitian ini berlaku untuk hasil pemeriksaan pada jumlah trombosit yang normal, sehingga untuk kasus kelainan jumlah trombosit seperti trombositopenia perlu penelitian lebih lanjut. Pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan jumlah trombosit diusahakan dilakukan dengan benar dan harus segera diperiksa dalam waktu kurang dari 1 jam setelah pengambilan darah. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan penurunan jumlah trombosit, tetapi jika terdapat suatu sebab pemeriksaan untuk tidak bisa dilakukan segera maka sampel boleh disimpan pada suhu 4-8°C.

Menurut Widyastuti, 2018 menyatakan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna Jumlah Trombosit darah yang segera diperiksa, ditunda 4 jam pada suhu 22°C dan 28°C. Darah EDTA yang ditunda lebih dari 1 jam menyebabkan hasil

trombosit rendah karena trombosit mempunyai sifat mudah sekali menempel dengan lainnya (agregasi), menempel pada benda asing(adhesi), mudah menggumpal (aglutinasi) dan mudah pecah (disentrifugasi). Menyarankan dilakukan penelitian jumlah trombosit pada suhu 2°C atau sampel yang disimpan dalam lemari es.

2.4 Antikoagulan EDTA

Antikoagulan adalah zat yang ditambahkan ke dalam darah dengan tujuan untuk menghambat atau mencegah proses pembentukan bekuan darah dengan cara mengikat atau mengendapkan ion kalsium dan menghambat pembentukan thrombin dari protombin. EDTA (Ethylene Diamine Tetracetic Acid) memiliki rumus kimia $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2]_2$ dan merupakan antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi. EDTA tersedia dalam bentuk kering yaitu garam di-kalium (K_2EDTA) dan garam di-natrium (Na_2EDTA) atau bentuk cair yaitu tri-kalsium (K_3EDTA). (Nugraha, 2017)

Kelebihan penggunaan EDTA sebagai antikoagulan karena sifat zat aditifnya yang tidak merubah morfologi sel dan menghambat agregasi trombosit dengan lebih baik dari antikoagulan lainnya. Kekurangan EDTA yaitu sifatnya yang sulit larut dibanding antikoagulan lainnya, oleh sebab itu pencampuran EDTA dilakukan berkali-kali sebanyak 8-10 kali dengan cara inversi (membolak-balikkan tabung), tetapi garam kalium memiliki kelarutan 15 kali lebih besar dalam darah dibandingkan dengan garam natrium, oleh sebab itu K_3EDTA lebih sering digunakan dalam laboratorium karena kelarutannya sangat tinggi sehingga menghasilkan spesimen yang memiliki gumpalan lebih sedikit. (Nugraha, 2017)

2.4.1 Pengaruh Antikoagulan EDTA Terhadap Hitung Jumlah Trombosit

Darah EDTA harus segera dicampur setelah pengumpulan untuk menghindari pembentukan gumpalan trombosit dan pembentukan bekuan mikro. Jumlah EDTA serbuk biasanya digunakan 1 mg dalam 1 ml darah, sedangkan EDTA cair dengan konsentrasi 10% digunakan dengan menambahkan 10 μ L EDTA ke dalam 1 mL darah. Bila jumlah EDTA yang diberikan kurang dari takarannya, darah akan mengalami koagulasi. Sebaliknya, bila EDTA berlebihan, eritrosit mengalami krenasi, trombosit membesar dan mengalami disintegrasi yaitu trombosit membengkak sehingga tampak adanya trombosit raksasa yang pada akhirnya mengalami fragmentasi membentuk fragmen-fragmen yang masih dalam rentang pengukuran trombosit oleh alat hitung sel otomatis sehingga dapat menyebabkan peningkatan palsu jumlah trombosit. (Nugraha, 2017)

2.5 Kesalahan Hitung Jumlah Trombosit

2.5.1 Tahap Pra Analitik

Tahap pra analitik atau tahap persiapan awal, dimana tahap ini sangat menentukan kualitas sampel yang nantinya akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja berikutnya:

1. Ketatausahaan (penulisan identitas pasien, blanko permintaan pemeriksaan, wadah spesimen)
2. Persiapan penderita
 - ❖ Lokasi pengambilan darah pada pemasangan infus (hasil rendah palsu akibat pengenceran), terjadi memar, adanya udem dan

hematoma, luka parut, lengan mastektomi (hasil tinggi palsu), transfuse (hasil tinggi palsu), lengan dengan kanula, fistula atau cangkakan vaskuler

- ❖ Pada proses phlebotomi menusuk disaat alcohol 70% belum kering mencegah hemolysis), Tourniquet membebat lengan lebih dari satu menit (mengakibatkan hemokonsentrasi), pencampuran dengan koagulan kurang homogeny
- ❖ Factor : trauma (lebih encer)

3. Pengumpulan specimen : specimen harus memenuhi syarat

- ❖ Jenis sesuai jenis pemeriksaan
- ❖ Volume mencukupi
- ❖ Kondisi baik : tidak lisis, segar
- ❖ Pemakaian antikoagulan tepat
- ❖ Ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat
- ❖ Identitas benar sesuai dengan data pasien

4. Penanganan sampel : suhu penyimpanan dan waktu tunda.
(Nugraha,2017 dan Siregar,2018)

2.5.2 Tahap Analitik

Tahap Analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memperhatikan:

1. Reagen
2. Peralatan
3. Kontrol dan bakuan

4. Metode analitik
5. Ahli Teknologi. (Siregar, 2018)

2.5.3 Tahap Pasca Analitik

Tahap Pasca Analitik merupakan tahap terakhir dari rangkaian proses pengujian di laboratorium. Tahap pasca analitik perlu memperhatikan:

1. Perhitungan
2. Cara menilai (kesesuaian pencatatan dan pelaporan hasil, ada bukti verifikasi)
3. Ketatausahaan (kesalahan penulisan hasil uji laboratorium dengan angka dan satuan yang digunakan, pencantuman nilai normal, pencantuman keterangan yang penting, dokumentasi/arsip)
4. Penanganan informasi (pemberian informasi waktu tes, penyampaian hasil).
(Siregar,2018)

2.6 Suhu

2.6.1 Suhu Kamar

Suhu yang terlihat pada thermometer yang diletakkan dalam ruang ber AC adalah 20-25°C. (Departemen Kesehatan RI, 2008)

2.6.2 Suhu Lemari Es

Suhu yang terlihat pada thermometer yang diletakkan pada lemari es adalah 2-8 °C. (Departemen Kesehatan RI, 2008)

2.7 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan hasil jumlah trombosit darah EDTA yang segera diperiksa dengan yang ditunda 4 jam pada suhu kamar dan suhu lemari es.