

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

Darah merupakan salah satu jaringan dalam tubuh yang berbentuk cair berwarna merah. Karena sifat darah yang berbeda dengan jaringan lain, mengakibatkan darah dapat bergerak dari satu tempat ke tempat lain sehingga dapat menyebar ke seluruh kompartemen tubuh (Nugraha, 2015). Darah juga merupakan komponen esensial makhluk hidup yang berada dalam ruang vaskuler, karena perannya sebagai media komunikasi antar sel ke berbagai bagian tubuh dengan dunia luar karena fungsinya membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan dan karbondioksida dari jaringan ke paru-paru untuk dikeluarkan, membawa zat nutrient dari saluran cerna ke jaringan kemudian mengantarkan sisa metabolisme melalui organ sekresi seperti ginjal, menghantarkan hormon dan materi-materi pembekuan darah (Desmawati, 2013).

Menurut Nugraha (2015), darah terdiri atas dua komponen utama yaitu:

1. Komponen non-seluler

Komponen non-seluler berupa cairan yang disebut plasma. Plasma membentuk sekitar 55 % bagian dari darah. Dalam plasma terkandung berbagai macam molekul makro dan mikro, baik yang bersifat larut air (hidrofilik) maupun tidak larut air (hidrofobik), organik maupun anorganik serta atom-atom maupun ionik. Plasma yang tidak mengandung faktor pembekuan darah disebut dengan serum. Plasma darah terdiri dari air, protein, karbohidrat, lipid, asam amino, vitamin, mineral dan lain sebagainya. Komponen tersebut ikut mengalir dalam

sirkulasi bersama darah, baik bebas atau diperantai oleh molekul lain agar dapat terlarut di dalam plasma (Nugraha, 2015).

2. Komponen seluler

Komponen seluler sering disebut juga korpuskuli, yang membentuk sekitar 45 % yang terdiri dari tiga macam yaitu:

a) Eritrosit yaitu sel darah merah (*Red Blood Cell/RBC*)

Eritrosit atau sel darah merah adalah sel yang berbentuk cakram bikonkaf, tidak berinti, tidak bergerak, berwarna merah karena mengandung hemoglobin, eritrosit berdiameter 7,5 μm dan tebal 2,0 μm . Jumlah di dalam tubuh paling banyak kira-kira mencapai 4,5-5 juta/ mm^3 dan memiliki bentuk yang bersifat elastic agar bisa berubah bentuk ketika melalui berbagai macam pembuluh darah yang dilaluinya.

b) Leukosit yaitu sel darah putih (*White Blood Cell/WBC*)

Leukosit atau sel darah putih memiliki ukuran lebih besar dari eritrosit, tidak berwarna dan dapat melakukan pergerakan dengan adanya kaki semu dengan masa hidup 13-20 hari. Jumlah leukosit paling sedikit di dalam tubuh adalah sekitar 4.000-11.000/ mm^3 .

c) Trombosit yaitu keping darah (*platelet*)

Trombosit disebut juga keping darah yaitu fragmen atau potongan dari sitoplasma megakariosit. Dalam tubuh orang dewasa jumlah trombosit sekitar 150.000-400.000/ mm^3 .

B. Trombosit

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 (Nugraha, 2015). Trombosit berukuran sangat kecil sekitar 2-4 μm dengan bentuk bulat atau 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 (Desmawati, 2013). Pada trombosit juga terdapat glikoprotein yang menyelubungi permukaan trombosit yang berfungsi dalam reaksi perlekatan selama proses pembentukan sumbat trombosit (Nugraha, 2015).

Trombosit terbentuk dari ujung-ujung sitoplasma megakariosit yang pecah, setiap megakariosit menghasilkan 1000-5000 trombosit. Pembentukan trombosit dari sel punca memakan waktu 10 hari. Masa hidup trombosit dalam aliran darah adalah 7-10 hari. proses pembentukan trombosit dipengaruhi oleh hormon trombopoietin yang dihasilkan oleh hati dan ginjal (Nugraha, 2015).

Trombosit memiliki peran dalam membentuk sumbatan terhadap cedera vaskuler dengan cara melakukan perlekatan terhadap dinding pembuluh darah yang rusak (adhesi), melakukan perlekatan pada trombosit lain (agregasi) sehingga menjadi pengumpulan trombosit dan reaksi pelepasan (sekresi). Trombosit yang mengalami adhesi dan agregasi akan mengalami perubahan bentuk, structural dan fungsional yang disertai dengan reaksi biokimia yang

terjadi selama aktivasi trombosit disertai dengan pelepasan molekul yang akan berperan dalam hemostasis (Nugraha, 2015).

Apabila pembuluh darah luka, maka sel endotel akan rusak sehingga jaringan ikat dibawah endotel akan terbuka. Hal ini akan mencetuskan adesi trombosit yaitu suatu proses dimana trombosit melekat pada permukaan asing terutama serat kolagen (Setiabudy, 2009). Faktor von Willebrand (VWF) terlibat dalam adhesi trombosit pada dinding pembuluh darah dan pada trombosit lain (agregasi). VWF juga membawa faktor VII dan dulu dikenal sebagai antigen yang terkait dengan faktor VIII. VWF dikode oleh suatu gen pada kromosom 12 dan disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. VWF disimpan dalam badan Weibel-Palade pada sel endotel dan dalam granula α yang spesifik untuk trombosit. Pelepasan VWF dari sel endotel terjadi dibawah pengaruh beberapa hormon. Stress dan olahraga atau pemberian infus adrenalin atau desmopresin (1-deamino-8-D-arginin vasopresin, DDAVP) menyebabkan peningkatan yang cukup besar dalam kadar VWF dalam darah (Hoffbrand and Moss, 2013).

Disamping melekat pada permukaan asing, trombosit akan melekat pada trombosit lain dan proses ini disebut sebagai agregasi trombosit. Selama proses agregasi, terjadi perubahan bentuk trombosit dari bentuk cakram menjadi bulat disertai dengan pembentukan pseudopodi. Akibat perubahan bentuk ini maka granula trombosit akan terkumpul di tengah dan akhirnya akan melepaskan isinya. Masa agregasi trombosit melekat pada endotel yang akan membentuk suatu sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah. Walaupun masih permeabel terhadap cairan, sumbat trombosit mungkin dapat menghentikan perdarahan pada pembuluh darah kecil (Setiabudy, 2009).

C. Hemostasis

Hemostasis adalah suatu proses penghentian pendarahan secara spontan sebagai respon terhadap pembuluh darah yang rusak. Jika terjadi luka disekitar pembuluh darah yang rusak, maka akan terjadi proses penghentian pendarahan dan perbaikan jaringan sebagai respon tubuh terhadap cedera melalui proses hemostasis dengan tahapan vasokonstriksi, hemostasis primer (pembentukan *platelet plug*), hemostasis sekunder (pembentukan *benang fibrin*), dan hemostasis tersier (*fibrinolisis*). Setelah melalui proses vasokonstriksi, maka tahap selanjutnya adalah hemostasis primer. Pada hemostasis primer ini trombosit akan mengalami adhesi pada jaringan ikat subendotel terutama kolagen. Hemostasis sekunder terjadi ketika fibrin dibentuk untuk ditambahkan pada masa trombosit dan pematangan (retraksi) bekuan yang diinduksi oleh trombosit. Proses pembentukan fibrin dalam membentuk bekuan darah melibatkan jalur intrinsik dan ekstrinsik (Nugraha, 2015)

Tabel 1.
Karakteristik setiap faktor koagulasi

Nomor faktor	Nama Deskriptif	Bentuk Aktif
I	Fibrinogen	Subunit fibrin
II	Protrombin	Serin protease
III	Faktor jaringan (<i>tissue factor</i> , TF)	Reseptor/kofaktor*
V	Faktor labil	Kofaktor
VII	Prokonvertin	Serin protease
VIII	Faktor antihemofilik	Kofaktor
IX	Faktor Christmas	Serin protease
X	Faktor Stuart – Power	Serin protease
XI	<i>Plasma thromboplastin antecedent</i>	Serin protease
XII	Faktor Hagemen	Serin protease
XIII	<i>Fibrin stabilizing factor</i> Prakalikein faktor Fletcher) HMWK (faktor Fitzgerald)	Transglutaminase Serin protease Kofaktor*

*Aktif tanpa modifikasi proteolitik
(Nugraha, 2015)

D. Sistem Pembekuan Darah

Proses pembekuan darah terdiri dari rangkaian reaksi enzimatik yang melibatkan protein plasma yang disebut sebagai faktor pembekuan darah, fosfolipid dan ion kalsium. Faktor pembekuan darah dinyatakan dalam angka Romawi yang sesuai dengan urutan ditemukannya (lihat Tabel 1). Faktor pembekuan beredar dalam darah sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim bila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim. Mula-mula faktor pembekuan darah bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai enzim. Proses pembekuan darah dimulai melalui dua jalur

yaitu jalur intrinsic yang dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan F.XII, F.XI, F.IX, F.VIII, HMWK, PK, *platelet factor* dan ion kalsium, serta jalur ekstrinsik yang dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan melibatkan F.VII, ion kalsium. Kedua jalur ini kemudian akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan F.X, F.V, PF.3, protrombin dan fibrinogen. Jalur intrinsic meliputi fase kontak dan pembentukan kompleks aktivator F.X. Jalur ekstrinsik terdiri dari reaksi tinggal dimana F.VII akan diaktifkan menjadi F.VIIa dengan adanya ion kalsium dan tromboplastin jaringan yang dikeluarkan oleh pembuluh darah yang luka. Jalur bersama meliputi pembentukan *prothrombin converting complex* (protrombinase), aktivasi protrombin dan pembentukan fibrin (Setiabudy, 2009).

E. Pemeriksaan Trombosit

Cara paling cepat dan sederhana untuk menilai jumlah trombosit adalah dengan memeriksa apusan darah yang diwarnai. Pemeriksaan ini memiliki keunggulan dalam memeriksa ukuran dan morfologi trombosit, tetapi kekurangannya adalah bahwa penyebarannya tidak merata di dalam apusan dapat menyebabkan perbedaan mencolok dalam perhitungan konsentrasi trombosit. Sebagai petunjuk praktis adalah bahwa hitung trombosit adekuat apabila apusan mengandung per dua puluh sel eritrosit, atau dua sampai tiga trombosit per lapang pandang besar. Pemeriksaan apusan harus selalu dilakukan apabila hitung trombosit rendah karena penggumpalan trombosit dapat menyebabkan hasil perhitungan menjadi rendah palsu (Sacher and McPherson, 2004). Metode hitung trombosit yang biasa digunakan yaitu:

1. Hitung trombosit manual

Pada cara manual, mula-mula darah diencerkan dengan larutan pengencer lalu diisikan kedalam kamar hitung dan jumlah trombosit dihitung dibawah mikroskop. Untuk larutan pengencer dapat dipakai larutan Rees Ecker atau larutan ammonium oksalat 1 %. Cara manual mempunyai ketelitian dan ketepatan yang kurang baik, karena trombosit kecil sekali sehingga sukar dibedakan dari kotoran kecil (Setiabudy, 2009). Apabila hitung trombosit diketahui rendah, dapat digunakan faktor pengenceran yang lebih kecil. Penyebab utama kesalahan selain faktor teknis atau pengenceran yang tidak akurat adalah pencampuran yang belum merata dan adanya perlekatan atau agregasi (Sacher and McPherson, 2004).

2. Penghitung elektronik

Penghitung sel otomatis mampu mengukur secara langsung hitung trombosit selain menghitung sel darah merah dan sel darah putih. Sebagian besar alat ini menggunakan sampel dengan antikoagulan EDTA. Alat ini menghitung sel darah merah dan trombosit bersamaan, namun keduanya dibedakan berdasarkan ukuran. Partikel yang lebih kecil dihitung sebagai trombosit dan partikel yang lebih besar dihitung sebagai eritrosit. Dengan perhitungan menggunakan metode elektronik ini, pemeriksaan eritrosit bisa dilakukan lebih cepat dan lebih banyak trombosit. Teknik ini dapat mengalami kesalahan apabila hasil perhitungan sel darah putihnya melebihi $100.000/\mu\text{L}$, terjadi fragmentasi eritrosit yang berat, cairan pengencer terkontaminasi partikel-partikel eksogen, sampel plasma sudah terlalu lama didiamkan sewaktu pemrosesan dan apabila trombosit saling melekat (Sacher and McPherson, 2004).

F. Antikoagulan

Menurut Nugraha (2015) antikoagulan adalah zat yang ditambahkan kedalam darah untuk mencegah proses pembekuan darah dengan cara mengikat ion kalsium dan menghambat pembentukan thrombin dari protrombin. Antikoagulan diberikan berdasarkan keperluan pemeriksaan karena sifat zat aditifnya memiliki pengaruh yang berbeda terhadap spesimen darah. Ada beberapa antikoagulan yang sering digunakan di laboratorium yaitu :

1. EDTA (*Ethylen Diamine Tetracetic Acid*)

EDTA merupakan antikoagulan yang sering digunakan untuk pemeriksaan hematologi. EDTA tersedia dalam bentuk kering yaitu garam di-kalium (K_2EDTA) dan garam di-natrium (Na_2EDTA) atau bentuk cair yaitu tri-kalium (K_3EDTA). Kelebihan penggunaan antikoagulan EDTA adalah karena sifat zat aditifnya yang tidak merubah morfologi sel dan menghambat agregasi trombosit dengan lebih baik dibandingkan dengan antikoagulan lainnya. Namun kekurangannya adalah karena sifatnya yang lebih sukar terlarut dibandingkan dari antikoagulan lainnya, maka dari itu pencampuran harus dilakukan sebanyak 8-10 kali dengan cara membolak-balikkan tabung. K_3EDTA lebih sering digunakan karena memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan jenis EDTA lainnya, sehingga akan menghasilkan spesimen yang memiliki gumpalan lebih sedikit. EDTA mencegah koagulasi dengan cara mengikat ion kalsium sehingga membentuk garam kalsium yang tidak larut, dengan demikian ion kalsium yang berperan dalam koagulasi menjadi tidak aktif, sehingga proses pembekuan darah tidak terjadi. EDTA harus segera dicampur setelah pengambilan spesimen

sehingga mencegah terjadinya penggumpalan trombosit dan pembentukan bekuan mikro (*microclot*).

2. Natrium Sitrat

Natrium sitrat yang digunakan dalam bentuk larutan memiliki konsentrasi 3,2 % dan 3,8 %. Natrium sitrat menghambat koagulasi dengan cara mengendapkan ion kalsium, sehingga menjadi bentuk yang tidak aktif. Spesimen yang didapat harus segera dilakukan pencampuran dengan antikoagulan natrium sitrat untuk mencegah terjadinya koagulasi dan bekuan darah dalam spesimen yang akan memberikan hasil invalid terhadap pemeriksaan koagulasi. Penggunaannya dengan menambahkan satu bagian natrium sitrat 3,2 % kedalam sembilan bagian darah, sedangkan natrium sitrat 3,8 % penggunaannya satu bagian natrium sitrat 3,8 % kedalam empat bagian darah. Pencampuran dilakukan dengan cara membolak-balikkan tabung sebanyak 4-5 kali secara lembut dan perlahan, pencampuran yang dilakukan berulang-ulang dan terlalu kuat dapat menyebabkan trombosit akan saling menggumpal dan mempersingkat waktu pembekuan.

3. Oksalat

Antikoagulan oksalat tersedia dalam bentuk natrium oksalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$), kalium oksalat ($\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$) dan ammonium oksalat ($[\text{NH}_4]_2\text{C}_2\text{O}_4$). Oksalat bekerja sebagai antikoagulan dengan cara mengikat ion kalsium, umumnya bersifat toksik dan berbahaya. Antikoagulan oksalat yang umum digunakan adalah kalsium oksalat yang dikombinasikan dengan Natrium Florida (NaF) untuk pemeriksaan glukosa dalam darah, NaF merupakan antiglikolitik yang mencegah metabolisme glukosa dengan cara menghambat kerja enzim Phosphofenol piruvat dan urease

sehingga kadar glukosa dalam darah tetap stabil. Penggunaan natrium oksalat dengan cara menambahkan satu bagian oksalat kedalam sembilan bagian darah. Pencampuran dilakukan dengan cara membolak balikkan tabung sebanyak 8-10 kali, kelebihan penambahan oksalat dapat menyebabkan hemolisis.

4. Heparin

Heparin merupakan antikoagulan yang jarang digunakan untuk pemeriksaan hematologi karena harganya yang relative mahal, tetapi menjadi antikoagulan pilihan karena tidak mengubah komposisi darah. Terdapat tiga macam heparin yang digunakan dalam laboratorim, yaitu ammonium heparin, lithium heparin dan sodium heparin. Konsentrasi penggunaan natrium atau kalium heparin adalah 2 mg untuk 10 mL darah. Pencampuran dilakukan dengan cara membolak balikkan sebanyak enam kali. Heparin tidak dianjurkan untuk pemeriksaan apusan darah tepi karena menyebabkan latar belakang berwarna gelap