



**PERBEDAAN JUMLAH RETIKULOSIT TROMBOSIT PADA PREPARAT DARAH APUS PASIEN
DEMAM BERDARAH DENGUE DIBANDING ORANG NORMAL**

ARTIKEL

Disusun dalam rangka memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh

Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

Aulia Yuma Hardono

G2A002032

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2006

HALAMAN PENGESAHAN

Artikel Karya Tulis Ilmiah ini telah dipertahankan di depan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 26 Juli 2006 dan telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Tim Penguji,

Penguji

Dosen Pembimbing

dr. K. Heri Nugroho HS Sp.PD
NIP. 132316268

dr. Nyoman Suci W Sp.PK, M.Kes
NIP. 132163891

Ketua Penguji

dr. Kisdjamiatun M.Sc
NIP.131916041

The Difference of Reticulated Platelets Counts on Blood Smear Examination of Dengue Hemorrhagic Fever Patient Compared With Normal Person

Aulia Yuma Hardono ¹⁾ dan Nyoman Suci W ²⁾

¹⁾ Student in Medical Faculty Of Diponegoro University Semarang

²⁾ Teaching Staff In Clinical Pathology Departement in Medical Faculty Of Diponegoro University Semarang

ABSTRACT

Background : Reticulated platelets are platelets which still have RNA in their bodies and can be count on blood smear examination. The percentage of reticulated platelets is equal with the examination of megakaryocyte in bone marrow for thrombopoietic evaluation. An elevating numbers of reticulated platelets in blood smear examination indicate an elevating thrombopoietic process in the bone marrow. The evaluation of platelets in Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is very important to diagnose and observe the patient. By examining the numbers of reticulated platelets, we could know bone marrow response to thrombocytopenia in DHF.

Method : This study was descriptive analytic research with a cross sectional approach. Sample was divided into 2 groups. Group I was 32 normal persons and Group II was 32 Dengue Hemorrhagic Fever patient. The numbers of platelets was count using the automatic hematology analyzer and the numbers of reticulated platelets in blood smear examination using *Barbara Brown* method.

Results : The mean numbers of reticulated platelets in Group I was $19,200 \pm 1,623.36 / \text{mm}^3$ and the mean numbers of reticulated platelets in Group II was $24,000 \pm 16,059.86\text{mm}^3$.

The percentage of reticulated platelets in Group I was $7.76 \pm 1.64 \%$, group II was $44.93 \pm 39.46 \%$

Conclusion : This research shows a significant elevating numbers ($p < 0,05$) of reticulated platelets count on blood smear examination on Dengue Hemorrhagic Fever patients compared with normal persons which are correlates with a good thrombopoietic response of bone marrow's patient.

Key Words : Reticulated Platelets, Thrombocytopenia, Dengue Hemorrhagic Fever (DHF).

Perbedaan Jumlah Retikulosit Trombosit Pada Preparat Darah Apus Pasien Demam Berdarah Dengue Dibanding Orang Normal

Aulia Yuma Hardono ¹⁾ dan Nyoman Suci W ²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang

²⁾ Staf Pengajar Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

ABSTRAK

Latar Belakang : Retikulosit trombosit adalah trombosit yang masih memiliki RNA dan dapat dihitung pada preparat darah apus. Persentase retikulosit trombosit sebanding dengan pemeriksaan megakariosit di sumsum tulang untuk evaluasi trombopoiesis. Peningkatan jumlah retikulosit trombosit pada preparat darah apus mengindikasikan peningkatan trombopoiesis di sumsum tulang. Evaluasi jumlah trombosit pada Demam Berdarah Dengue (DBD) sangat penting untuk mendiagnosa dan mengobservasi pasien. Dengan melakukan pemeriksaan jumlah retikulosit trombosit pada kita dapat mengetahui respon sumsum tulang terhadap trombositopenia pada DBD.

Metoda: Penelitian deskriptif analitik menggunakan pendekatan *Cross Sectional*. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok: Kelompok I yaitu 32 orang normal, dan kelompok II yaitu 32 orang pasien DBD. Jumlah trombosit dihitung menggunakan *automatic hematology analyzer* dan jumlah retikulosit trombosit pada preparat darah apus menggunakan metode *Barbara Brown*.

Hasil : Rerata jumlah retikulosit trombosit pada Kelompok I adalah $19.200 \pm 1.623,36 / \text{mm}^3$ dan rerata jumlah retikulosit trombosit pada Kelompok II adalah $24.000 \pm 16.059,86\text{mm}^3$.

Persentase retikulosit trombosit pada Kelompok I adalah $7,76 \pm 1,64 \%$ dan persentase jumlah retikulosit trombosit pada Kelompok II adalah $44,93 \pm 39,46 \%$

Kesimpulan : Penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan bermakna ($p < 0,05$), jumlah retikulosit trombosit pada preparat darah apus pasien Demam Berdarah Dengue dibandingkan dengan orang normal yang berkorelasi dengan respon trombopoiesis sumsum tulang yang baik dari pasien tersebut.

Kata Kunci : Retikulosit trombosit, trombositopenia, Demam Berdarah Dengue (DBD).

PENDAHULUAN

Trombosit adalah sel darah tak berinti berasal dari pelepasan sitoplasma megakariosit di sumsum tulang. Fungsi utama trombosit ialah sebagai koagulan (pembekuan) darah dengan pembentukan sumbat mekanis sebagai respon hemostatik normal terhadap cedera vaskuler. Keadaan berkurangnya jumlah trombosit di bawah nilai normal, yaitu kurang dari $150 \times 10^9/L$ disebut sebagai trombositopenia. Trombositopenia erat kaitannya dengan komplikasi perdarahan, mulai perdarahan ringan hingga perdarahan hebat yang mengancam jiwa.^{1,2}

Patofisiologi trombositopenia secara umum disebabkan oleh 3 penyebab : defisiensi produksi, akselerasi destruksi dan distribusi abnormal. Diagnosis etiologi trombositopenia karena distribusi abnormal relatif mudah, yaitu apabila ditemukan tanda dan gejala hipersplenisme. Diagnosis etiologi trombositopenia karena defisiensi produksi atau akselerasi destruksi sulit dibedakan. Evaluasi pertama kali ialah dengan evaluasi preparat darah hapus (morfologi, kesesuaian hitung trombosit dengan estimasi) dan evaluasi jumlah dan morfologi megakariosit pada preparat sumsum tulang untuk menilai trombopoiesis (proses pembentukan trombosit).³⁻⁵

Defisiensi produksi / hipoplasia sumsum tulang disebabkan ketidakmampuan sumsum tulang memproduksi trombosit (penurunan trombopoiesis) yang ditandai penurunan jumlah megakariosit sumsum tulang sedangkan destruksi trombosit perifer menyebabkan peningkatan trombopoiesis ditandai peningkatan jumlah megakariosit sumsum tulang sebagai respon homeostasis sumsum tulang normal terhadap penurunan trombosit. Salah satu penyakit infeksi penyebab trombositopenia dengan insidensi tinggi di Indonesia adalah Demam Berdarah Dengue.⁶⁻⁹

Etiologi trombositopenia pada DBD adalah akibat terbentuknya kompleks virus antibodi yang merangsang terjadinya agregasi trombosit. Agregat tersebut melewati RES sehingga dihancurkan. Trombositopenia pada DBD disebabkan adanya peningkatan destruksi trombosit di perifer. Hal ini pun didukung sebagai etiologi trombositopenia oleh Sutaryo(2004) walaupun menurut Hadinegoro (2001) ada hal lain yang menjadi penyebab yaitu adanya supresi sumsum tulang oleh virus dengue tersebut sehingga trombopoiesis akan menurun.^{9,10}

Kienast dan Schmidz (1990) menemukan bahwa persentase retikulosit trombosit sebanding dengan laju trombopoiesis. Peningkatan retikulosit trombosit pada darah perifer mengindikasikan peningkatan trombopoiesis,

sebaliknya apabila terjadi penurunan kadar retikulosit trombosit di perifer, mengindikasikan penurunan trombopoiesis. Persentase retikulosit trombosit di sirkulasi dapat menggambarkan laju trombopoiesis dan sangat bermanfaat sebagai prediksi fungsi hemostasis pasien DBD tersebut mampu mengkompensasi adanya trombositopenia.¹¹

Retikulosit trombosit ialah trombosit yang mengandung peningkatan kadar RNA, sebagaimana pada retikulosit eritrosit. Saat trombosit dilepaskan oleh sumsum tulang, trombosit mengandung sisa-sisa (*residual*) RNA yang akan terdegradasi secara bertahap saat trombosit bersirkulasi, sehingga trombosit muda yang baru saja masuk ke sirkulasi dapat diidentifikasi dari peningkatan sisa RNA. Retikulosit trombosit juga dapat tercat menggunakan cat yang terikat pada RNA seperti retikulosit eritrosit, antara lain Thiazole Orange. Pengecatan Thiazole Orange mempunyai korelasi yang sangat baik dengan New Methylene Blue yang biasa digunakan untuk pengecatan retikulosit eritrosit.¹²⁻¹⁴

Prinsip pengecatan retikulosit trombosit sama dengan pengecatan retikulosit eritrosit konvensional menggunakan preparat darah apus, maka akan dilakukan pemeriksaan retikulosit trombosit pada preparat darah apus menggunakan metode pemeriksaan retikulosit eritrosit konvensional pada darah apus. Alternatif metode tersebut lebih murah dibanding pemeriksaan menggunakan *flowcytometer* yang telah dibuktikan dalam penelitian Nyoman (2005) bahwa metode pemeriksaan retikulosit trombosit menggunakan preparat darah apus dapat juga memberikan gambaran hasil yang hampir sama dengan *flowcytometer* dan dapat dilakukan pada laboratorium kecil, termasuk laboratorium Puskesmas.¹⁵⁻¹⁷

METODA

Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian dilakukan selama 4 bulan di RS dr. Kariadi Semarang dan Laboratorium Patologi Klinik FK UNDIP / RS dr. Kariadi. Pengambilan sampel secara *consecutive random sampling*.

Kelompok I merupakan kelompok kontrol adalah probandus normal dengan pemeriksaan darah rutin normal, hematokrit normal dan jumlah trombosit $150-400 \times 10^9/L$. Kelompok II ialah pasien DBD sesuai kriteria diagnosa WHO 1997. Probandus akan dieksklusi apabila mengalami splenektomi sebelumnya atau mendapat transfusi trombosit 48 jam sebelum pengambilan sampel darah.

Pemeriksaan jumlah trombosit dari darah tepi menggunakan *automatic hematology analyzer*. Metode pembuatan preparat retikulosit trombosit menggunakan cat New Methylene Blue sebagaimana metode

pembuatan preparat darah apus untuk pemeriksaan retikulosit eritrosit. Pembacaan retikulosit trombosit pada preparat darah apus menggunakan metode *Barbara Brown*. Persentase retikulosit trombosit merupakan persentase jumlah retikulosit trombosit terhadap jumlah trombosit.

Analisa statistik menggunakan SPSS 13 dengan uji parametrik uji t tidak berpasangan karena dengan tes Saphiro-Wilk sampel dinyatakan distribusinya normal.

HASIL

Selama 4 bulan penelitian, diperoleh 32 orang probandus normal (jumlah trombosit 150.000– 400.000 / mm³) dan 32 orang pasien DBD.

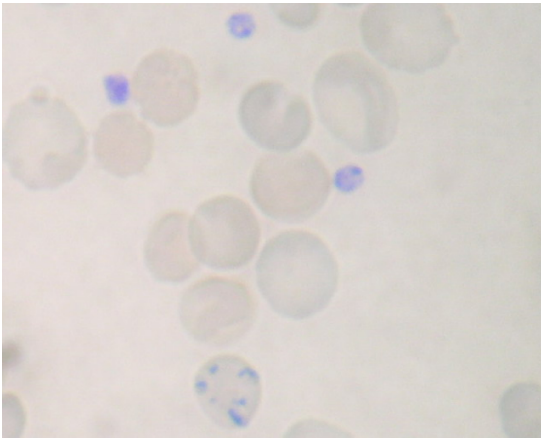
Seluruh hasil pembacaan preparat darah apus oleh peneliti telah dikonfirmasi kepada ahli yang lebih kompeten dalam bidang ini. Dengan melakukan uji reabilitas pemeriksa I dan II.

$$\text{Rumus } R = 1 - \frac{\text{Observed Disagreement}}{\text{Chance} - \text{expected Disagreement}}$$

Didapatkan hasil $R = 0,89$ (hampir sempurna), sehingga terdapat nilai kesepakatan yang baik dan pembacaan preparat darah apus tersebut lebih bernilai obyektif.

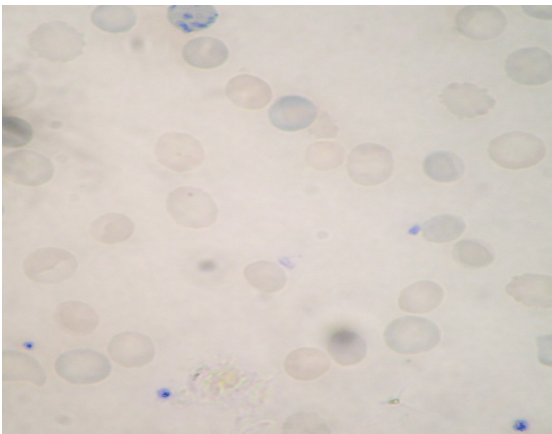
Retikulosit trombosit pada preparat darah apus dengan pengecatan New Methylene Blue tampak sebagai sel trombosit yang bergranula nyata dengan warna granula biru – gelap (gambar 1 dan gambar 2)

Gambar 1. Retikulosit trombosit, retikulosit eritrosit dan trombosit pada preparat darah apus pada orang normal



A B C

Gambar 2. Retikulosit trombosit,retikulosit eritrosit dan trombosit pada preparat darah apus pada pasien DBD



A B C

Keterangan :

A = Retikulosit Eritrosit

B = Retikulosit Trombosit, , tampak jelas granula pada sitoplasma

C = Trombosit

Rerata jumlah retikulosit trombosit pada preparat darah apus probandus normal ialah $19.200 \pm 1.623,36$ /mm³ dan rerata jumlah retikulosit trombosit pada preparat darah apus pasien DBD ialah $24.000 \pm 16.059,86$ mm³.

Persentase retikulosit trombosit preparat darah apus pada probandus normal ialah $7,76 \pm 1,64$ % dan persentase retikulosit trombosit preparat darah apus pada pasien DBD adalah $44,93 \pm 39,46$ %

Rangkuman hasil pemeriksaan jumlah trombosit dan retikulosit trombosit probandus normal dan

trombositopenia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan jumlah trombosit dan retikulosit trombosit probandus normal dan pasien DBD

	Probandus Normal	Pasien DBD
Trombosit		
Rerata ± SD	259.044 ± 62.654	53.409 ± 40.694,74
Range	157.000 - 378.000	6.000 - 99.000
Retikulosit trombosit		
<u>Absolut</u>		
Rerata ± SD	19.200 ± 1.623,36	24.000 ± 16.059,86
Range	16.000 - 20.000	4.000 - 52.000
<u>% hitung total</u>		
Rerata ± SD	7,76 ± 1,64	44,93 ± 39,46
Range	5,29 - 10,68	30,41 - 98,36

Analisis uji beda dilakukan antara kelompok probandus normal dan kelompok pasien DBD. Uji statistik yang digunakan ialah uji parametrik uji t tidak berpasangan karena distribusi sampel normal.

Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dalam jumlah retikulosit trombosit pada pasien DBD dibandingkan dengan orang normal. Jumlah retikulosit trombosit antara kelompok probandus normal dan kelompok pasien DBD, $p = 0,000$. Persentase retikulosit trombosit antara kelompok probandus normal dan kelompok pasien DBD, $p = 0,000$.

PEMBAHASAN

Pemeriksaan retikulosit trombosit sebagai evaluasi trombositopenia pertama kali dilakukan oleh Kienast dkk (1990). Lee (1986) memperlihatkan New Methylene Blue yang biasa digunakan untuk pengecatan retikulosit eritrosit konvensional menggunakan preparat darah apus dapat juga digunakan pada pengecatan retikulosit trombosit.^{11,14}

Kienast dan Scmitz (1990) menemukan bahwa persentase retikulosit trombosit sebanding dengan laju trombopoiesis. Peningkatan retikulosit trombosit pada darah perifer mengindikasikan peningkatan trombopoiesis, sebaliknya apabila terjadi penurunan kadar retikulosit trombosit di perifer, mengindikasikan penurunan trombopoiesis. Persentase retikulosit trombosit pada preparat darah apus dapat menggambarkan laju trombopoiesis dan sangat bermanfaat sebagai prediksi fungsi sumsum tulang pasien DBD tersebut mampu mengkompensasi adanya trombositopenia.¹¹

Retikulosit trombosit pada preparat darah apus dengan pengecatan New Methylene Blue tampak sebagai granula nyata berwarna biru – gelap.

Gambaran granula tersebut serupa dengan gambaran retikulosit eritrosit pada pengecatan eritrosit konvensional pada preparat darah apus.¹²⁻¹⁴

Pasien DBD memperlihatkan peningkatan jumlah retikulosit trombosit preparat darah apus maupun persentase dibanding probandus normal. Terdapat perbedaan bermakna $p < 0,05$. Jumlah retikulosit trombosit preparat darah apus absolut ($p = 0,000$) dan persentase retikulosit trombosit ($p = 0,000$) antara kelompok normal dengan kelompok pasien DBD.

Berbagai teori telah dinyatakan oleh para ahli demi menjelaskan patogenesis penyakit DBD. Namun belum ada teori yang mampu berdiri sendiri dalam menjelaskan DBD secara jelas. Selama ini teori-teori tersebut terus diperdebatkan dan dipertanyakan kebenarannya. Dari sekian banyak teori yang bermunculan ternyata hasil penelitian ini cukup mendukung salah satu teori patogenesis DBD yaitu Teori Hematopatologi. Teori ini menyatakan bahwa terjadi proses angiopati trombopati dan koagulopati pada DBD (Sutaryo, 1991).⁹

Pada teori hematopatologi, angiopati atau kerusakan pembuluh darah khususnya sel-sel endotel mengaktifkan mekanisme alamiah dari tubuh yaitu dengan meningkatkan jumlah trombosit untuk melekat pada daerah yang rusak sehingga tidak terjadi kebocoran plasma yang lebih lanjut. Pada pasien DBD dimana gangguan utamanya antara lain pada disfungsi endotel yang besar kemungkinan akan berujung pada shock akibat kebocoran plasma yang meningkat, jelas adanya bahwa akan terjadi peningkatan penggunaan trombosit untuk mengatasi permeabilitas kapiler yang meningkat tersebut.^{9,18,19}

Masa hidup trombosit dalam sirkulasi berkisar 7 – 12 hari. Sedangkan pada fase akut DBD masa hidup trombosit dalam sirkulasi berkurang karena trombosit cenderung beragregasi akibat terbentuknya kompleks imun antigen-antibodi sehingga agregat yang terbentuk akan lebih mudah mengalami destruksi di hepar dan limpa

(Mitrakul,1987). Penelitian Malasit *et al.*,(1990) menemukan hubungan antara trombosit dengan komplemen C3. Fragmen dari C3 terdapat pada permukaan membran trombosit. Semakin banyak fragmen C3 yang melekat semakin berat penyakitnya. Diduga kejadian tersebut berakibat pada penurunan fungsi dan jumlah trombosit. ¹⁸⁻²¹

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah dan persentase retikulosit trombosit preparat darah apus pada pasien DBD dibandingkan dengan orang normal, mengindikasikan bahwa terdapat peningkatan trombopoiesis pada pasien DBD sehingga respon sumsum tulang terhadap trombositopenia baik.

SIMPULAN DAN SARAN

Terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah retikulosit trombosit & persentase retikulosit trombosit preparat darah apus pasien DBD dibandingkan dengan orang normal. Adanya peningkatan jumlah dan persentase retikulosit trombosit pada pemeriksaan preparat darah apus pasien DBD pada sampel penelitian ini menggambarkan bahwa trombositopenia yang terjadi bukanlah akibat supresi sumsum tulang. Melainkan mungkin karena terjadi peningkatan penggunaan dan destruksi trombosit dalam sirkulasi. Perlu dilakukan pengembangan dari penelitian ini dengan tingkat ketelitian yang lebih tinggi untuk pengukuran jumlah retikulosit trombosit dengan menggunakan *flowcytometer*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- dr. Nyoman Suci W Sp.PK M.Kes, selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah, yang telah meluangkan waktu dan perhatiannya dalam memberikan bimbingan untuk menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.
- Bapak, mama, adik citra tercinta dan seluruh keluarga besar yang telah memberikan dorongan moril dan materiil.
- Seluruh dosen serta residen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNDIP dan staf laboratorium Patologi Klinik RS.dr.Kariadi.
- Sahabat-sahabat ku yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jandl JH. Blood, textbook of hematology. Boston; Little, Brown and Co., 1996 ; 1307 –10
2. Dacie SJV, Lewis SM. Practical haematology 7th ed. Singapore : Longman Singapore Publisher Ltd., 1991 ; 55-61
3. Wallach J. Interpretation of diagnostic test, a synopsis of laboratory medicine. Boston : Little Brown, 1992.
4. Hillman RS, Ault KA. Hematology in clinical practice, a guide to diagnosis and management. New York; Mc Graw-Hill Co., 1998 ; 437-57
5. Levine SP. Thrombocytopenia, pathophysiology and classification. In : Lee GR, Foestre J, Luken J et al eds. Wintrobe clinical haematology 10th ed. Baltimore : Williams and Wilkins, 1993 ; 1579-82
6. Hoffbrand AV, Petit JE. Hematologi. Alih Bahasa Iyan D. Jakarta : EGC, 1996; 201-219
7. Liesner RJ, Mascin SJ. ABC of clinical haematology : platelet disorders. <http://www.bmj.com> . 2000.
8. Goodnight SH, Disorders of hemostasis and trombosis, a clinical guide. Colorado, McGraw-Hill companies, 2001; 3-97
9. Sutaryo. Dengue. Yogyakarta. Medika FK UGM, 2004; 86-96
10. Hadinegoro, H Sri Rejeki , Tata Laksana DBD di Indonesia. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Republik Indonesia. Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan, 2001.

11. Kienazst J, Scmitz G. Flow Cytometry Analysis of Thiazole Orange Uptake by Platelets : A diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorder. *Blood* 75,1. 1990 ; 116-211
12. Anonim, Reticulated Platelets and Thrombopoiesis. <http://www.zappa.mmcricri.org/crd/reticplt.html>. 2004.
13. Ault KA, Reticulated Platelets and Thrombopoiesis. <http://www.MMCRI.com>
14. Lee Lg, Chen CH, Chiu LA. Thiazole orange : a new dye for reticulocyte analysis. *Cytometry* 7, 586, 1986.
15. Mazzal, Manual of clinical hematology 3rd ed. Lippincott Williams and wilkins, 2002 ; 181-195
16. Koeswardani R, Boentoro R, Budiman D. Flowcytometry dan aplikasi alat hitung sel darah otomatis Technicon H-1 dan H-3. *Medika*, 2001 ; 524-30
17. Suci W Nyoman, Budiwiyono I, Purwanto. Pemeriksaan retikulosit trombosit preparat darah apus dibanding pemeriksaan megakariosit sumsum tulang sebagai prediksi trombopoiesis pada pasien trombositopenia.Semarang, 2005.(in press).
18. Anonim, Work Group on Tropical Infectious Disease. Medical Faculty Diponegoro University. Semarang, 1991.
19. Pusponogoro, Hardiono D. Standar Pelayanan Medis Kesehatan Anak. Edisi I 2005. Badan Penerbit IDAI, 2005.
20. Mitrakul C. Bleeding Problems in Dengue Haemorrhagic Fever:platelets and coagulation changes.*SEAMEOTROPMED* 18,1987; 407-12
21. Malasit P,*et al*. Surface associated complement fragments (C3g) on platelets from patients with Dengue infection.*International Symposium on Dengue ang Dengue Hemorrhagic Fever*. Bangkok, 1990.