

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Umum Tentang Demam Dengue**

##### **1. Pengertian**

Demam dengue adalah penyakit menular akibat infeksi virus Dengue (DENV) dan ditransmisikan (*transmissible*) melalui vektor nyamuk, dengan *Aedes aegypti* sebagai perantara utama dan *Aedes albopictus* sebagai perantara kedua (WHO, 2022). Infeksi virus dengue dapat mendatangkan berbagai gejala klinis (Khoiro *et al.* 2019). Gejala klinisnya seperti demam tinggi (40<sup>0</sup>C), nyeri otot dan sendi, sakit kepala parah, rasa sakit di belakang mata, mual dan muntah, serta timbulnya bintik merah di kulit (WHO, 2023). Penyakit ini berkembang dengan sangat cepat dan seringkali berakibat fatal, karena banyak pasien meninggal dunia akibat keterlambatan pengobatan (Candra, 2019).

Virus dengue memiliki struktur berbentuk bola dan berdiameter sekitar 50 nm. Genomnya berupa RNA untai tunggal RNA (ssRNA +) yang positif karena dapat langsung diterjemahkan menjadi protein dengan berat molekul 11 kilo-basa (Zaki *et al.* 2022), tersusun dari protein struktural yaitu kapsid (C), *premembran*/membran (PrM/M) dan selubung atau *envelope* (E) serta protein non-struktural (NS) (mengkodekan protein NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 (Amir *et al.* 2021).

##### **2. Etiologi**

Demam Dengue adalah penyakit arboviral yang disebabkan oleh virus dengue (DENV) yang termasuk dalam kelompok *Arthropod-Bone Virus*, genus *Flavivirus*, dan famili *Flaviviridae*. Virus ini ditularkan melalui gigitan nyamuk, terutama nyamuk betina *Aedes aegypti* yang terinfeksi (WHO, 2023). Terdapat empat serotipe infeksi dengue yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4, yang berbeda dalam hal antigen dan genetik, dan telah teridentifikasi menyebar ke seluruh dunia serta menyebabkan penyakit pada manusia. Infeksi dengue dapat

menimbulkan gejala klinis yang bervariasi, dari tanpa gejala (*asymptomatic carrier*) hingga kondisi serius seperti demam berdarah parah atau *syndrome syok dengue* (SSD) yang dapat berpotensi mengancam jiwa (Tsheten T *et al.* 2021).

Infeksi disertai salah satu serotipe dengue dapat menghasilkan antibodi spesifik terhadap serotipe tersebut. Namun, antibodi yang diproduksi terhadap serotipe lainnya hanya akan ada dalam jumlah terbatas, sehingga tidak memberikan penjagaan yang adekuat terhadap serotipe lain dan dapat meningkatkan risiko mengalami demam dengue yang parah (WHO, 2022). Pasien dengue primer (yang baru terdiagnosis) dapat mengalami demam dengue karena tingginya virulensi virus dan adanya antibodi terhadap protein non-struktural (NS1) yang bereaksi silang dengan trombosit dan endotel. Kondisi ini menyebabkan terjadi trombositopenia dan disfungsi (kerusakan) endotel pada kasus dengue primer (Utari *et al.* 2018).

### 3. Epidemiologi

Demam Dengue merupakan salah satu penyakit menular berbahaya, seringkali menyebabkan pandemi dan dapat menyebabkan kematian dal. Pertama kali virus ini ditemukan di Asia Tenggara yaitu Filipina, tepatnya Kota Manila tahun 1953 yang kemudian tersebar ke berbagai negara di dunia (Wowor, 2017). Sedangkan, di Indonesia dilaporkan pertama kali di Kota Surabaya tahun 1968 dengan kasus sebanyak 58 dan kematian sebanyak 24 jiwa (41,3%), tetapi pembuktian virologis baru ditemukan tahun 1972. Akhirnya, sejak saat itu penyakit demam berdarah dengue telah menyebar luas ke berbagai wilayah Indonesia, hingga pada tahun 1980 seluruh provinsi di Indonesia telah terjangkit penyakit demam berdarah dengue ini, dan mencapai puncaknya pada tahun 1988 dengan insiden rata-rata mencapai 13,45 % per 100.000 penduduk. Meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk, jumlah kasus dan luas penyebaran demam dengue juga bertambah (Dania, 2016).

#### 4. Patofisiologi

Ketika virus memasuki tubuh melalui gigitan nyamuk, seseorang dapat mengalami gejala dan keluhan terkait viremia seperti demam tinggi, sakit kepala, mual, nyeri otot dan sendi, munculnya bintik merah pada kulit (*petechia*), hiperemia tenggorokan dan gejala lain. Viremia sebagai tahap awal dalam perjalanan penyakit yang dapat menyebabkan kelenjar getah bening dan hati (hepatomegali) mengalami pembesaran. Terjadinya viremia akan memicu respons dari hipotalamus menyebabkan terlepasnya zat seperti bradikinin, serotonin, trombin, dan histamin, yang pada gilirannya menyebabkan meningkatnya suhu tubuh. Selain itu, viremia juga menyebabkan melebarnya pembuluh darah, sehingga cairan dan plasma dalam pembuluh darah pindah ke ruang intersisial, dan terjadi hipovolemia. Trombositopenia bisa terjadi karena produksi trombosit menurun sebagai respons terhadap antibodi yang bertarung melawan virus (Murwani, 2018).

Virus yang berikatan dengan antibodi, akan membentuk kompleks virus antibodi. Kompleks ini akan mengaktifkan sistem komplemen saat beredar dalam sirkulasi. Pengaktifan C3 dan C5 menghasilkan C3a dan C5a yaitu peptida yang melepaskan histamin dan bertindak sebagai perantara yang efektif untuk meningkatkan permeabilitas dinding kapiler, sehingga terjadi perpindahan cairan plasma ke ruang ekstraseluler. Hemokonsentrasi yaitu indikator kebocoran (rembesan). Oleh karena itu, penting untuk mengetahui jumlah hematokrit sebagai standar pemberian cairan intravena (Murwani, 2018).

Meningkatnya trombosit setelah pemberian cairan intravena menandakan bahwa kebocoran plasma mulai membaik. Oleh karena itu, kecepatan pemberian cairan intravena perlu dikurangi untuk menghindari komplikasi seperti edema paru dan gagal jantung. Dehidrasi terjadi ketika seseorang tidak mengonsumsi cairan dengan cukup, sehingga dapat terjadi syok atau hipovolemia. Jika tidak ditangani dalam waktu yang lama, dapat

menyebabkan anoksia jaringan, asidosis metabolik, dan akhirnya kematian (Murwani, 2018).

## 5. Patogenesis

Nyamuk *Aedes* yang mengandung virus dengue akan tetap menularkan dan menyebarkan virus selama hidupnya kepada individu yang memiliki imun lemah setiap kali menggigit dan menghisap darah. Apabila virus telah menginfeksi seseorang, virus akan mengarah ke organ sasaran seperti sel kuffer di hati, endotel pembuluh darah, kelenjar getah bening, sumsum tulang serta paru-paru (Lutfiyah, 2017).

Ada 2 konsep teori atau hipotesis mengenai immunopatogenesis demam dengue yang masih kontroversial, yaitu infeksi sekunder (*the secondary heterologous infection hypothesis*) dan *antibody dependent enhancement* (ADE) (Lutfiyah, 2017).

### a. Hipotesis Infeksi Sekunder

Teori ini mengatakan bahwa jika individu mengalami infeksi sekunder oleh salah satu serotipe virus dengue, tubuhnya akan mengembangkan kekebalan (imun) terhadap serotipe tersebut dalam jangka waktu lama. Namun, jika individu tersebut terinfeksi oleh serotipe virus dengue yang berbeda pada infeksi sekunder, maka infeksi yang terjadi cenderung lebih parah (Lutfiyah, 2017).

### b. ADE (*Antibody Dependent Enhancement*)

Teori ini mengatakan bahwa antibodi yang khusus terhadap jenis virus tertentu dapat memberikan perlindungan terhadap penyakit akibat virus tersebut. Namun, jika antibodi tersebut tidak mampu menetralisasi virus, malah dapat menyebabkan penyakit yang lebih parah, bahkan dapat berpotensi fatal atau serius (Lutfiyah, 2017).

## 6. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis infeksi virus dengue sangat bervariasi dari tanpa gejala (asimtomatik) hingga bisa berupa demam tidak jelas, demam dengue, infeksi dengue, dan bahkan *sindrome syok dengue* (simtomatik),

tergantung pada manifestasi klinis yang muncul, yang biasanya melibatkan dua atau lebih gejala.

a. Demam yang tidak berdiferensiasi (demam tidak jelas)

Sering terlihat pada infeksi dengue primer, yang ditandai dengan :

- 1) Ruam makulopapular dapat disertai demam dalam fase *defervescence*.
- 2) Gejala gangguan pernafasan atas
- 3) Gejala gangguan gastrointestinal

b. Demam Dengue (DD)

Paling umum terjadi pada anak-anak usia yang lebih tua, remaja, dan orang dewasa, yang ditandai dengan:

- 1) Demam akut, terkadang dapat juga berupa demam bifasik
- 2) Sakit kepala berat
- 3) Leukopenia
- 4) Trombositopenia
- 5) Ruam kulit umumnya asimtomatik disertai dengan pruritus.
- 6) Saluran gastrointestinal
- 7) Perdarahan yang berat dapat menyebabkan kematian

c. Demam Berdarah Dengue (DBD)

Umum ditemukan pada infeksi dengue sekunder dengan ditandai adanya:

- 1) Demam mendadak tinggi.
- 2) Trombositopenia dan meningkatnya hematokrit (hemokonsentrasi).
- 3) Timbulnya syok hipovolemik (*syndroma shock dengue*) meliputi muntah terus-menerus dan ketidakmampuan untuk minum, nyeri perut parah, letargi, kegelisah, perdarahan, pusing atau lemas, akral pucat, dingin dan basah.
- 4) Hemostasis tidak normal dan kebocoran plasma (Kemenkes RI, 2020).

## **B. Tinjauan Umum Tentang IgG/IgM**

### **1. Definisi**

#### **a) Immunoglobulin M (IgM)**

Imunoglobulin M atau IgM adalah satu dari kelas antibodi yang pertama kali diproduksi ketika terjadi infeksi sebagai respon tubuh. IgM dapat ditemukan di darah, getah bening dan di permukaan sel B. IgM diproduksi segera setelah infeksi sebagai tahap awal respon imun sebagai mekanisme pertahanan yang cepat dan kuat dari serangan patogen (Jatmiko, 2018). Setelah dibentuk, IgM biasanya bertahan selama 1 hingga 3 bulan sebelum akhirnya menghilang. Janin di dalam rahim sudah dapat memproduksi IgM sejak bulan keenam kehamilan. IgM banyak ditemukan dalam darah, tetapi tidak secara normal ada di organ atau jaringan (Telaumbanua, 2020).

#### **b) Immunoglobulin G (IgG)**

IgG atau Immunoglobulin adalah salah satu bagian penting dalam sistem kekebalan tubuh, dimana IgG sebagai satu dari lima kelas antibodi yang diproduksi tubuh sebagai respon terhadap zat asing baik bakteri, virus, dan racun. IgG berperan sebagai respon imun adaptif dan mengatur ketahanan yang ditargetkan terhadap penyerang (Jatmiko, 2018). IgG diproduksi 2-3 bulan setelah terinfeksi virus dengue. IgG mempunyai rantai gamma yang berat, terdiri dari empat subkelas yaitu IgG1, IgG2, IgG3 dan IgG4. Setelah IgG diproduksi, konsentrasinya meningkat dalam waktu satu bulan, perlahan menurun, dan tetap pada tingkat rendah selama bertahun-tahun. IgG beredar ke seluruh tubuh dan melimpah di darah, sistem limfatik, serta usus. Molekul ini dibawa melalui aliran darah menuju lokasi antigen dan menghambat antigen tersebut segera setelah terdeteksi (Telaumbanua, 2020).

## 2. Fungsi

### a) Immunoglobulin M (IgM)

IgM memiliki peran penting dalam opsonisasi antigen, yang memfasilitasi proses penghancuran antigen tersebut. Selain itu, IgM juga berkontribusi dalam aktivasi sistem komplemen. Struktur pentamer dari IgM sangat ideal untuk melaksanakan kedua fungsi tersebut. IgM memiliki peran yang signifikan dalam respons imun awal (primer) dan sering kali digunakan dalam diagnosis paparan akut terhadap patogen atau imunogen. Lebih lanjut, IgM cenderung memiliki reaktivitas yang lebih beragam dibandingkan dengan isotipe lainnya, sehingga memungkinkan terjadi reaksi yang cepat terhadap berbagai macam antigen. IgM juga bisa berinteraksi dengan autoantigen, tetapi hanya sedikit terlibat dalam penyakit autoimun (Meliala, 2020).

### b) Immunoglobulin G (IgG)

IgG tersebar luas di seluruh tubuh, dengan konsentrasi tinggi dalam darah, sistem limfatik, dan usus. Ketika terdeteksi, IgG mengalir melalui peredaran darah ke lokasi antigen dan menahannya. IgG ini memiliki efek antimikroba dan antivirus yang kuat, serta mampu menetralkan racun. IgG juga memiliki kemampuan untuk bergerak di antara sel-sel dan menghilangkan mikroba yang masuk ke dalam sel atau kulit. Berkat ukuran dan kapasitasnya yang kecil, IgG adalah menjadi satu-satunya jenis antibodi yang dapat melintasi plasenta dari ibu ke janin, memberikan perlindungan janin terhadap infeksi yang dapat mengancam keselamatan janin sebelum lahir (Benedikta, 2020).

## 3. Diagnosa

Diagnosis ditentukan berdasarkan gejala klinis serta hasil pemeriksaan laboratorium. Salah satu pemeriksaan tersebut melibatkan deteksi dan identifikasi antibodi spesifik terhadap virus dengue, seperti immunoglobulin M (IgM) yang menunjukkan infeksi dengue primer (pertama kali) dan immunoglobulin G (IgG) yang

mengindikasikan infeksi dengue sekunder (kedua kalinya) Mahasurya *et al.* 2017).

Pemeriksaan imunologi untuk IgG/IgM dengue adalah elemen penting untuk penegakan diagnosis dengue. Antibodi yang terwujud sebagai respon terhadap infeksi dengue, seperti antibodi netralisasi, anti-hemaglutinin, dan anti komplemen, digunakan sebagai pembeda antara infeksi primer atau sekunder (Charisma *et al.* 2020). Selain itu, pemeriksaan IgG/IgM juga membantu dalam mendiagnosis demam dengue dan berperan dalam mencegah perkembangan penyakit menuju Sindrom Syok Dengue (SSD) (Mahasurya *et al.* 2017).

#### **4. Proses Produksi Antibodi IgM dan IgG Pada Demam Dengue**

Infeksi virus dengue dapat memicu respon imun tubuh berupa imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG) yang berperan penting. Pada infeksi dengue primer, mulai terbentuk IgM dan dapat teridentifikasi antara hari ke 3-5, sementara pada infeksi dengue sekunder, kadar IgG meningkat dan kemudian tetap berada dalam tubuh manusia dengan titer rendah sepanjang hidup (Surya, 2020).

Ketika virus dengue masuk ke tubuh seseorang, imunoglobulin (terutama IgM) pertama kali diproduksi dan berperan dalam menghilangkan virus tersebut. Jika kadar IgM dalam tubuh cukup tinggi, proses ini dapat membantu meringankan penyakit. Namun, jika kadar IgM rendah, proses pengeliminasian virus tidak maksimal dan infeksi menjadi lebih parah. IgM umumnya akan terus berada dalam sirkulasi darah dan tidak menyebar ke jaringan tubuh, serta memiliki kemampuan tinggi untuk menggumpalkan berbagai partikel yang mengikat komplemen. IgM menunjukkan aviditas yang tinggi terhadap antigen dengan multi determinan antigen. Jika terdeteksi kadar IgM rendah dan biasanya tidak melebihi kadar IgG (Wila & Nusa, 2020).

Pada infeksi dengue sekunder, titer antibodi IgG meningkat secara cepat, yang sering menyebabkan gejala klinis yang lebih parah. Hasil tes positif untuk IgG mengindikasikan adanya infeksi berulang atau infeksi



sebelumnya. Dalam serum orang dewasa yang sehat, IgG menyumbang sekitar 80% dari total antibodi. IgG memiliki kemampuan untuk melintasi jaringan plasenta dan menyediakan perlindungan khusus kepada bayi terhadap infeksi setelah melahirkan selama beberapa minggu pertama. Selain itu, IgG lebih mudah memasuki pembuluh darah dan menyebar ke jaringan ekstrasvaskuler (Wila & Nusa, 2020).

## 5. Hubungan Demam Dengue Dengan IgG/IgM

Pemeriksaan serologi untuk IgM dan IgG adalah salah satu komponen penting dalam identifikasi virus dengue. Antibodi yang diproduksi dalam infeksi dengue yaitu antibodi netralisasi, antihemaglutinin, dan antikomplemen, digunakan untuk mengidentifikasi dan mengelompokkan infeksi dengue primer dan sekunder (Charisma *et al.* 2020).

Proses respons imun yang memainkan peran penting dalam infeksi dengue melibatkan respons imun seluler dari limfosit T. Limfosit T, baik T helper (CD4+) maupun T sitotoksik (CD8+), diaktifkan oleh stimulus sitokin seperti IFN atau infeksi virus pada makrofag. Sel T CD4+ mengaktifkan limfosit B untuk memproduksi immunoglobulin (terutama IgM dan IgG) dari sel plasma dari limfosit B. Respons imun utama dalam infeksi ini mencakup IgM dan IgG. Pada tahap awal infeksi dengue, produksi immunoglobulin, terutama IgM bereperan penting dalam mengeliminasi virus. Jika kadar IgM cukup tinggi, dapat mengurangi keparahan penyakit. Namun, jika kadar IgM rendah, proses eliminasi virus menjadi tidak efektif, yang mengakibatkan infeksi akan menjadi lebih parah (Telaumbanua, 2020).

## 6. Pemeriksaan

Pemeriksaan IgG dan IgM adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi antibodi dalam tubuh yang terbentuk sebagai respons terhadap infeksi atau vaksinasi. IgG (Immunoglobulin G) dan IgM (Immunoglobulin M) adalah dua jenis antibodi yang memiliki peran

berbeda dalam sistem kekebalan tubuh. Berikut adalah beberapa metode pemeriksaan IgG dan IgM:

- a) ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) yaitu suatu teknik laboratorium yang umum digunakan untuk mengukur dan mendeteksi zat seperti antibodi, protein, hormon dan antigen dimana menggunakan kekhususan antibodi untuk menangkap molekul target dan menggunakan perubahan warna yang dimediasi enzim untuk menunjukkan keberadaan dan jumlah zat target (Santosa, 2020).
- b) *Western Blot* biasa disebut *Immunoblotting*, yaitu teknik analisis yang umum digunakan untuk mendeteksi dan mengukur protein spesifik dalam sampel. Dalam metode ini, protein dipisahkan menggunakan elektroforesis gel, ditransfer ke membran dan kemudian dideteksi menggunakan antibodi (Olson & Nardin, 2022).
- c) *Immunofluorescence Assay* (IFA) yaitu teknik yang digunakan untuk menggambarkan keberadaan dan distribusi protein atau antigen spesifik dalam sampel biologis menggunakan antibodi berlabel fluoresensi. Metode ini menggabungkan spesifisitas antibodi dengan sensitivitas mikroskop fluoresensi, memungkinkan untuk mendeteksi serta menemukan lokasi molekul target dalam suatu sel atau jaringan (Olson & Nardin, 2022).
- d) *Rapid Test* (Tes Cepat) yang menggunakan prinsip imunokromatografi, yaitu antibodi dalam spesimen akan bereaksi dengan antigen yang berada pada kaset/ strip rapid tes dengan menghasilkan garis warna. Kelebihan dari teknik ini adalah hasil yang dikeluarkan cepat (dalam hitungan menit), mudah untuk dilakukan tanpa memerlukan peralatan laboratorium yang rumit (Olson & Nardin, 2022).

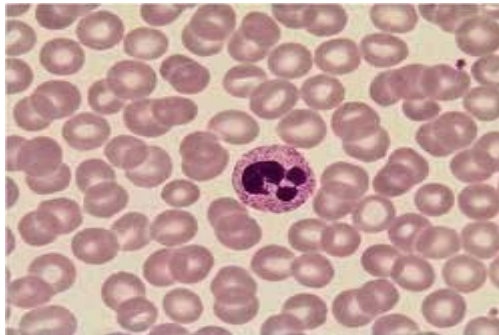
## C. Tinjauan Umum Tentang Neutrofil

### 1. Pengertian Neutrofil



Gambar 1. Sel Neutrofil Batang

(Sumber: Yusniawati, 2020)



Gambar 2. Sel Neutrofil Segmen

(Sumber: Yusniawati, 2020)

Neutrofil adalah jenis leukosit darah perifer yang jumlahnya melimpah di dalam tubuh, memiliki umur yang cukup singkat dalam sirkulasi yaitu hanya 10 jam. Ada dua jenis neutrofil yaitu neutrofil batang (stab) sebanyak 2-6% dan neutrofil segmen (polimorfonuklear) sebanyak 50-70% dalam darah (Yusniawati, 2020). Perbedaannya yaitu bentuk inti yang berbeda sedangkan ciri-ciri lainnya sama. Neutrofil batang adalah bentuk muda dari neutrofil segmen dimana umumnya disebut sebagai neutrofil tapal kuda karena intinya berbentuk seperti tapal kuda. Selama proses pematangan, inti sel tersebut akan membentuk segmen dan berubah menjadi neutrofil segmen, yang memiliki granula spesifik lebih kecil mengandung fosfatase alkali serta zat-zat bakterisidal yang dikenal fagositin. Jumlah neutrofil segmen yaitu sebanyak 3-6 segmen, jika

jumlahnya lebih dari 6 segmen, maka disebut dengan neutrofil hipersegmen (Kiswari, 2014). Sel neutrofil memiliki sitoplasma luas berwarna pink pucat dan granula halus berwarna ungu (Sirait, 2020).

Ukuran neutrofil sekitar 14 $\mu$ m, memiliki inti padat khas dengan bentuk batang seperti tapak kuda pada neutrofil batang dan inti padat dengan bentuk segmen (polimorfonuklear) yang terdiri dari 2-5 lobus (segmen) dengan bentuk beragam. Bentuknya, dihubungkan satu sama lain melalui benang kromatin dan sitoplasma yang terlihat, pucat, dengan garis batas yang tidak beraturan mengandung banyak granula. Granula pada neutrofil berbentuk butiran halus dan tipis dengan sifat netral, yang menyebabkan campuran warna asam (eosin) dan warna basa (biru metilen) pada granula, menghasilkan warna ungu atau merah muda yang pudar (Nugraha G, 2015).

## **2. Fungsi Neutrofil**

Leukosit yang paling banyak jumlahnya dalam tubuh adalah neutrofil. Neutrofil disebut juga "*soldier of the body*" yaitu sel pertama yang dikirim ke daerah atau jaringan yang terpapar infeksi bakteri atau radang karena memiliki kemampuan fagositosis. Neutrofil memainkan peran penting ketika terjadi disfungsi (kerusakan) jaringan yang ada kaitannya dengan penyakit non-infeksi (Farida Giyartika, 2020). Fungsi neutrofil sebagai sistem pertahanan (imun) tubuh terhadap invasi senyawa asing utamanya terhadap bakteri maka terjadi peningkatan neutrofil segmen dalam keadaan infeksi akut sehingga jumlah leukosit menjadi meningkat (Siregar, 2019). Sebuah sel neutrofil dapat menelan 5 hingga 10 bakteri dan memiliki umur sekitar 6 hingga 10 jam (Nugraha G, 2015). Ketika tubuh mengalami infeksi akut, sel neutrofil yang berfungsi sebagai bagian dari sistem pertahanan tubuh akan meningkat jumlahnya, sehingga menyebabkan peningkatan jumlah total leukosit (Siregar, 2019).

### 3. Peran Neutrofil Terhadap Demam Dengue

Neutrofil merupakan salah satu jenis leukosit merupakan unit sistem pertahanan tubuh seluler. Jumlah leukosit dalam tubuh di kondisi normal berkisar 4.000-10.000 sel/mm. Neutrofil dikenal sebagai leukosit granular polimorfonuklear (PMN) adalah leukosit paling melimpah yang menempel di dinding pembuluh darah, dan merupakan bagian dari innate immunity (memiliki daya lekat dengan kompleks imun). Neutrofil bekerja dan menyebar dalam sirkulasi darah dan siap datang ke jaringan ketika terjadi mekanisme inflamasi akut dimana makrofag memanggil neutrofil dengan mengeluarkan hormon sitokin sebagai sinyal karena mampu mendeteksi adanya *pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)* dan *damage-associated molecular patterns (DAMPs)* (Rosales, 2018) yang menunjukkan lokasi terjadi inflamasi atau peradangan dalam tubuh sehingga terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada darah tepi (Baseler LJ *et al.* 2016).

Pada awal infeksi, neutrofil mengenali virus atau sel yang menginfeksi dan menyusup ke tempat infeksi. Neutrofil dengan cepat direkrut dari darah tempat infeksi dan dimobilisasi untuk berdiferensiasi dan bermigrasi keluar dari sumsum tulang dalam jumlah besar ke seluruh epitel tulang ke tempat infeksi kemudian neutrofil akan memfagositosis mikroorganisme yang menyerang dengan menangkap dan menghancurkannya. Setelah itu, neutrofil menggunakan zat antimikroba atau hidrolase yang kuat untuk membunuh atau menonaktifkan patogen. Pada infeksi virus, neutrofil yang teraktivasi melepaskan sitokin pro-inflamasi, seperti *tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )*, IL-6, IL-8, dan IFN untuk merekrut dan mengaktifkan lebih banyak neutrofil serta membatasi replikasi virus dan mencegah perkembangan penyakit menjadi lebih parah (Pulendran *et al.* 2015). Neutrofil disebut granulosit karena menggunakan enzim lisozim yang melimpah untuk melakukan degradasi intraseluler guna mencerna mikroba, serta memanfaatkan radikal bebas. Selain itu, neutrofil berfungsi sebagai mediator peradangan, dan dalam kondisi

tertentu seperti kanker, neutrofil memainkan peran yang signifikan. (Rosales, 2018).

Kelainan hematologi yang umum terjadi pada infeksi dengue meliputi leukopenia, trombositopenia, dan gangguan koagulasi. Di tahap demam, jumlah leukosit bisa saja normal atau didominasi neutrofil kemudian mengalami penurunan dari hari ketiga hingga hari kedelapan. Leukopenia dan trombositopenia biasanya terjadi bersamaan pada hari ketiga demam. Dalam infeksi dengue, leukopenia menunjukkan bahwa demam mulai mereda setelah 24 jam dan pasien memasuki fase kritis. Selama fase awal demam infeksi dengue, kadar neutrofil akan meningkat, lalu jumlahnya menurun hingga mencapai titik terendah pada akhir fase demam (Java *et al.* 2018).

#### **4. Nilai Normal Neutrofil**

- a) Neutrofil Batang : 0-5% / $\mu$ l
  - b) Neutrofil Segmen : 50-70%/ $\mu$ l
- (RSUD Kota Kendari, 2024)

### **D. Tinjauan Umum Tentang Metode Pemeriksaan**

#### **1. Cara Manual Menggunakan Mikroskop**

Cara menghitung jumlah leukosit secara manual (absolut), digunakan larutan pengencer seperti larutan Turk, yang terdiri dari larutan asam asetat 2% dengan penambahan gentian violet 1%, menghasilkan warna ungu muda. Gentian violet ditambahkan untuk mewarnai leukosit. Larutan ini dapat memisahkan eritrosit dan trombosit tanpa mempengaruhi leukosit. Selain itu, digunakan larutan HCL yang dapat menyebabkan leukosit tidak terwarnai, sehingga sulit untuk melakukan perhitungan, tetapi larutan ini dapat melisis eritrosit dan trombosit sehingga hanya leukosit yang tetap utuh (Oktafiani, 2019).

## 2. Cara Automatik Menggunakan *Hematology Analyzer*

### a. Definisi *Hematology Analyzer*

*Hematology analyzer* adalah instrumen yang bisa digunakan untuk melakukan pemeriksaan darah secara menyeluruh dengan cara otomatis mengukur dan menghitung sel darah berdasarkan hambatan listrik atau intensitas cahaya saat sel-sel tersebut melewatinya. Metode ini juga dapat diterapkan untuk memeriksa komponen-komponen darah (Hidayah, 2020).



Gambar 3 : Alat *Hematology Analyzer*

Sumber : (Dokumentasi Pribadi)

### b. Prinsip *Hematology Analyzer*

Prinsip dasar dari pemeriksaan darah lengkap adalah melakukan pengukuran dan perhitungan langsung terhadap sel darah berdasarkan impedansi arus/intensitas cahaya yang dilewatinya (Syarifah, 2019). Metode ini juga melibatkan pengukuran dan penyerapan sinar akibat interaksi dengan larutan atau sampel yang sedang diperiksa. Instrumen ini beroperasi berdasarkan prinsip *flowcytometer*, yang merupakan metode untuk mengukur jumlah dan sifat sel-sel yang dibungkus oleh cairan tertentu dan dialiri melalui celah sempit satu persatu, yang kemudian dihitung jumlahnya serta ukurannya (Setiawati, 2020).

c. Kelebihan dan Kekurangan *Hematology Analyzer*

1) Kelebihan alat *Hematology Analyzer* yaitu:

Ketika ukuran sampel darah sedikit untuk dianalisis, perangkat mekanisasi dapat menggunakan berbagai mode dan prosedur untuk pemeriksaan, seperti darah utuh dan prapengenceran. Salah satu kelebihan dari penggunaan *hematology analyzer* adalah tidak memerlukan sampel dalam jumlah besar, efisiensi waktu yang tinggi karena pemeriksaan hanya membutuhkan waktu singkat karena proses dilusi, *hemolyzing*, perhitungan, *display* dan *print out* dilakukan secara otomatis. Hal ini membuat pemeriksaan menjadi cepat dan efisien serta mendapatkan hasil yang akurat karena sudah melalui pengendalian kualitas internal laboratorium yang baik (ketepatan hasil) (Hidayah, 2020).

2) Kelemahan alat Hematologi Analyzer yaitu:

Kelemahan dari alat ini adalah ketidakmampuannya untuk menghitung sel-sel abnormal, seperti pada kasus dimana jumlah sel bisa terpengaruh karena beberapa sel yang memiliki bentuk tidak normal mungkin tidak terhitung. Hal ini dapat menyebabkan hasil hitung leukosit atau trombosit menjadi rendah. Selain itu, sebelum pemeriksaan sampel harus dilakukan menggunakan bahan kontrol, perawatan alat yang khusus, termasuk pemantauan suhu ruang secara berkala, serta penyimpanan reagen yang tepat. Tahapan pra-analitik, analitik dan pasca analitik juga harus diperhatikan karena semuanya dapat memengaruhi kinerja alat otomatisasi (Hidayah, 2020).



## **E. Tinjauan Umum Tentang Trombosit**

### **1. Definisi**

Trombosit adalah sel kecil, tidak berinti dan dapat beredar dalam darah selama kurang lebih 7 hingga 10 hari setelah terbentuk. Trombosit asalnya dari megakariosit, yaitu sel besar poliploid yang terdapat di sumsum tulang dan terbentuk dari sel induk hematopoetik. Megakariosit menghasilkan proplatelet yang kemudian mengeluarkan sejumlah besar trombosit ke dalam sirkulasi darah setelah mengalami pematangan endoplasma (Raadsen *M et al.* 2021). Bentuknya bervariasi, bisa bulat atau lonjong dengan ukuran berkisar antara 2- 4 mikron. Ukurannya yang kecil menjadikan trombosit dengan mudah untuk masuk ke dalam sirkulasi darah yang sempit dan menempatkan dirinya secara optimal untuk menjaga keutuhan pembuluh darah (Durachim & Astuti, 2017). Trombosit sering disebut keping darah (platelet), memiliki kemampuan untuk bergerak karena mengandung protein struktural sel yang memungkinkan bertransisi cepat dari kondisi istirahat ke kondisi aktif jika pembuluh darah mengalami kerusakan (Nugraha, 2017).

Trombosit akan beroperasi apabila berinteraksi dengan dinding endotel. Pada orang dewasa, trombosit umumnya berkisar antara 150.000-400.000/ $\mu$ L. Kondisi di mana jumlah trombosit di bawah normal disebut Trombositopenia, sementara jika jumlahnya melebihi batas normal disebut Trombositosis. Limpa berfungsi untuk memisahkan trombosit yang mengalami kerusakan dari peredaran darah dan menukarnya dengan trombosit yang baru (Durachim & Dewi, 2018).

### **2. Fungsi Trombosit**

Fungsi utama trombosit adalah berkontribusi dalam pembekuan darah. Ketika terjadi luka atau cedera, trombosit akan bersatu di area yang terkena stimulasi kolagen yang terbuka kemudian trombosit mendatangi tempat yang luka, lalu membuat pembuluh darah menyempit (mengurangi aliran darah) dan akan memicu pembentukan benang-benang fibrin

kemudian menyatu dan membentuk seperti jaring-jaring untuk menutupi luka dan menghentikan pendarahan. Selain itu, trombosit dapat berkontribusi dalam imun tubuh baik infeksi bakteri atau virus dengan cara menelan patogen tersebut, bekerja sama dengan sel-sel kekebalan tubuh lainnya (Fatimah, 2021).

Pendarahan parah mungkin terjadi jika tidak ada trombosit atau jika jumlah trombosit dalam tubuh rendah. Berbagai respons trombosit, seperti adhesi, sekresi, agregasi, fusi, dan aktivitas prokoagulan, berperan penting demi kelancaran fungsi trombosit (Durachim & Dewi, 2018).

### **3. Nilai Normal Trombosit**

- a. Rendah : < 150.000/ $\mu$ L
- b. Normal : 150.000-450.000/ $\mu$ L
- c. Tinggi : >450.000/ $\mu$ L

(RSUD Kota Kendari, 2024)

### **4. Kelainan Pada Trombosit**

- a. Trombositosis

Trombositosis merujuk pada kondisi di mana terdapat peningkatan jumlah trombosit yang signifikan, melebihi batas normal yaitu >400.000/ $\mu$ L dalam darah. Keadaan ini dapat terjadi baik secara primer maupun sekunder. Tingginya jumlah trombosit biasanya terkait dengan infeksi, inflamasi, keganasan, gangguan pada tulang dan sumsum tulang, atau kondisi penyakit lainnya (Durachim & Dewi, 2018).

- b. Trombositopenia

Trombositopenia adalah keadaan menurunnya jumlah trombosit dalam darah di bawah batas minimum dengan nilai normal <150.000/ $\mu$ L. Kondisi ini juga dikenal sebagai defisiensi trombosit. Jumlah normal trombosit pada orang sehat berkisar antara 150.000-450.000/ $\mu$ L. Trombositopenia dapat mempengaruhi individu dari segala usia, dan penderita cenderung lebih rentan terhadap pendarahan dibandingkan dengan orang sehat. Keadaan ini bisa ada sejak lahir

(trombositopenia neonatus). Penyebab trombositopenia bisa berasal dari beberapa faktor, seperti berkurangnya produksi trombosit, distribusi trombosit yang tidak normal, atau meningkatnya tingkat perusakan trombosit. Selain itu, yang menyebabkan trombositopenia adalah mekanisme autoimun di mana tubuh seseorang membuat antibodi yang melawan trombositnya sendiri. Kemungkinan lainnya yaitu termasuk menurunnya produksi megakariosit di sumsum tulang (Durachim & Dewi, 2018).

Trombositopenia yaitu salah satu gangguan darah, umum terjadi di kasus dengue. Trombosit akan menurun selama periode demam dan sampai pada titik terendahnya selama fase syok. Namun, selama proses pemulihan, jumlah trombosit bisa meningkat dengan cepat dan biasanya kembali ke nilai normal dalam rentang waktu 7 hingga 10 hari setelah penyakit muncul. Trombositopenia dan disfungsi (kerusakan) trombosit diduga menjadi penyebab utama perdarahan pada demam dengue (Durachim & Dewi, 2018).

## **5. Hubungan Trombosit Dengan Demam Dengue**

Pada pasien demam dengue, sering terjadi penurunan trombosit atau trombositopenia. Trombositopenia terjadi karena proses terbentuknya trombosit (trombopoiesis) tidak cukup dalam mengimbangi penggunaan trombosit baik secara fisiologis maupun patologis. Pada infeksi dengue, ada banyak faktor penyebab trombositopenia, termasuk berkurangnya pembentukan trombosit di sumsum tulang, munculnya respon antigen-antibodi dan pengaktifan sistem komplemen sehingga terjadi akumulasi sel imun IgM dan IgG pada permukaan sel trombosit, yang pada gilirannya memungkinkan sistem retikuloendotelial untuk menghancurkan trombosit (Fitriastri, *et al.* 2015) dan agregasi trombosit karena pengaktifan endotel akibat infeksi virus. Endotel yang aktif memicu interaksi trombosit pada aliran darah dengan kolagen dalam lapisan sub-endotel, menyebabkan

agregasi trombosit dan berkontribusi pada trombositopenia (De Azerado *et al.* 2015).

Supresi sumsum tulang, terjadinya destruksi, dan penurunan masa hidup trombosit adalah komponen yang terkait dengan trombositopenia dalam kasus infeksi DEN-V (Huy & Toan, 2022). Pada tahap awal infeksi (<5 hari), sumsum tulang menunjukkan penurunan jumlah sel dan aktivitas megakariosit, dan setelah fase ini, terjadi peningkatan yang signifikan hematopoiesis dan megakariopoiesis. Mekanisme trombopoiesis juga mungkin terjadi sebagai respons kompensasi terhadap trombositopenia. Adanya penyatuan fragmen C3g, antibodi terhadap virus dengue, pemakaian trombosit selama fase koagulopati, dan penyimpanan di perifer menyebabkan destruksi (kerusakan) trombosit. Selain itu, fungsi trombosit yang terganggu dapat terjadi melewati proses disfungsi sekresi ADP, serta meningkatnya kadar PF4 dan b-tromboglobulin, dimana PF4 sebagai penanda degranulosit trombosit (Ojha *et al.* 2017).

## 6. Metode Pemeriksaan Jumlah Trombosit

Menurut Durachim & Dewi (2018) Jumlah trombosit dapat dihitung dengan menggunakan berbagai metode, yaitu:

### 1) Metode langsung

#### a. Metode *Rees Ecker*

Metode ini terdiri dari 2 cara, yaitu menggunakan pipet *Thoma* dan cara tabung. Meskipun prinsip pemeriksaannya sama, perbedaannya terletak pada pengenceran yang dikerjakan dalam tabung dan untuk mengukur perbandingan darah dan pengencer digunakan mikropipet. Sel darah yang sudah diencerkan dihitung lalu pada kamar hitung dengan volume yang telah ditentukan. Untuk trombosit, darah diencerkan menggunakan larutan *Rees Ecker* dalam pipet *Thoma*, lalu ditetesi di dalam kamar hitung. Jumlah trombosit dapat dihitung berdasarkan volume tertentu dan

dikonversi dengan faktor untuk menentukan jumlah sel trombosit per mikroliter darah (Saputri, 2018).

## 2) Metode Tidak Langsung

### a. Metode *Fonio*

Perhitungan jumlah trombosit secara tidak langsung dilakukan menggunakan sediaan apus darah tepi yang telah diwarnai dengan Giemsa. Metode ini berfungsi sebagai *Cross Check* terhadap metode langsung. Dalam metode tidak langsung, trombosit dihitung dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 1000x. Perhitungan dilakukan dengan mengukur kadar trombosit terhadap seribu eritrosit pada apusan darah tepi, yang diterapkan juga pada volume darah/mm<sup>3</sup> darah. Oleh karena itu, perhitungannya melibatkan kadar trombosit per 1000 eritrosit dalam apusan darah tepi yang dikali dengan jumlah eritrosit per milimeter kubik darah.

## 3) Metode Otomatisasi

### a. *Hematology Analyzer*

#### 1) Metode *Impedans*

Instrumen otomatisasi yang menggunakan metode impedansi untuk mengukur atau mengkalkulasi sel berdasarkan ukurannya. Dalam metode ini, perhitungan dilakukan dengan mempertimbangkan ukuran setiap sel. Ketika sel-sel darah melewati lubang, mereka secara individual mengganggu aliran listrik. Tingkat gangguan yang ditimbulkan pada aliran listrik berbanding lurus dengan ukuran sel yang diuji (Durachim & Dewi, 2018).

#### 2) Metode *Flowcytometri*

Mengukur jumlah sel dan karakteristiknya dibungkus oleh aliran fluida untuk melalui celah sempit. Proses ini memungkinkan sel-sel untuk melewati secara individual, melewati sinar laser di mana absorbansi dari setiap sel diukur

dari berbagai sudut, memungkinkan identifikasi granula, diameter sel, dan kompleksitas intraseluler. Salah satu perangkat yang menerapkan teknik ini adalah Hematology Analyzer (Mardella, 2020).

Hematology analyzer mempunyai beberapa kelebihan dan kekurangan, yaitu:

- a. Kelebihan penggunaan hematology analyzer adalah tidak memerlukan sampel dalam jumlah besar, dan dapat menghemat waktu secara signifikan. Proses seperti dilusi, *hemolyzing*, perhitungan, *display* dan *printout* dikerjakan otomatis dalam waktu singkat. Hal ini membuat prosedur pemeriksaan menjadi efektif dan efisien, dan dapat mengeluarkan hasil akurat dan tepat, karena adanya pengendalian kualitas internal laboratorium yang baik (Hidayah, 2020).
- b. Kekurangan penggunaan hematology analyzer meliputi kebutuhan untuk menggunakan bahan kontrol saat pemeriksaan sampel, serta semua tahapan pemeriksaan di laboratorium berdampak signifikan pada kinerja alat otomatisasi. Selain itu, alat ini tidak mampu untuk menghitung sel-sel abnormal. Hal ini bisa menyebabkan hasil perhitungan leukosit atau trombosit menjadi rendah, terlebih bila bentuk sel tidak normal (Hidayah, 2020).