

PEMERIKSAAN LABORATORIUM PADA PENDERITA DEMAM BERDARAH DENGUE*

Purwanto **

Pendahuluan

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) atau Demam Berdarah Dengue (DBD) masih merupakan masalah utama kesehatan masyarakat di Indonesia. Keberhasilan terapi sangat bergantung pada diagnosis yang cepat, pengobatan segera, serta penanganan yang memadai. Gejala klinis infeksi dengue sangat mirip dengan beberapa penyakit demam lainnya, sehingga diagnosis laboratoris yang cepat dan dapat dipercaya sangat dibutuhkan. (Thomas Suroso dkk, 2000).

Diagnosis penderita demam berdarah dilakukan dengan cara anamnesis penderita, baik secara autoanamnesis atau allo anamnesis. Kemudian, dilanjutkan dengan pemeriksaan fisik dan dipertegas dengan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium mempunyai peranan yang penting dalam diagnosis penderita demam berdarah dengue. Namun, diagnosis pasti belumlah dapat ditegakkan mengingat tanda patognomonik baru dapat ditentukan dengan ditemukannya virus dengue pada penderita demam berdarah. Namun, pemeriksaan laboratorium lain dengan akurasi dan presisi tinggi dapat menunjang diagnosis penyakit. (Sumarmo SPS, 1983). Pemeriksaan laboratorium standar yang diajukan oleh WHO (1997) yang diadaptasi oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia untuk DBD adalah Trombositopeni dan Uji

torniquet (Thomas Suroso dkk, 2000). Tulisan berikut akan menguraikan pemeriksaan laboratorium yang lazim dilakukan, selain pemeriksaan standar WHO pada penderita demam berdarah dengue.

Pemeriksaan Darah Tepi

Pemeriksaan darah tepi dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan yang terjadi dalam darah baik secara seluler maupun perubahan komposisi darah.

Jenis pemeriksaan yang dilakukan sebagai berikut:

a. Pemeriksaan Hematokrit (Ht)

Tujuannya, untuk mengetahui adanya hemokonsentrasi yang terjadi pada penderita DBD. Nilai Hematokrit adalah : besarnya volume total sel-sel darah, khususnya eritrosit dibandingkan volume keseluruhan darah dan dinyatakan dalam %. Prinsip pemeriksaannya adalah darah dengan antikoagulan diputar/disentrifuge, kemudian dibandingkan panjang kolom merah dengan kolom total cairan. Ada 2 metode pemeriksaan, yaitu makrohematokrit menggunakan tabung wintrobe dan pemeriksaan mikro hematokrit menggunakan tabung hematokrit. (Riadi Wirawan, Erwin Silman, 1998).

Keuntungan menggunakan metode mikrohematokrit; cepat dan mudah dilakukan. Di samping itu, kesalahan lebih kecil serta volume darah yang

* Diajukan dalam Pelatihan Penatalaksanaan Kasus DBD Kanwil Provinsi Jawa Tengah di RSUP Dr Kariadi Semarang, 17-19 April 2001

** Bag. Patologi Klinik FK UNDIP/RSUP Dr Kariadi Semarang

digunakan lebih sedikit. Nilai rujukan hematokrit menurut Dacie (1975) adalah :

Pria	: $47 \pm 7\%$
Wanita	: $42 \pm 5\%$
Bayi baru lahir	: $54 \pm 10\%$
3 bulan	: $38 \pm 6\%$
3 s.d 6 bulan	: $40 \pm 45\%$
10 s.d 12 tahun	: $41 \pm 4\%$

Pada penderita DBD hematokrit meningkat sampai lebih dari 20 %. Gejala klinis demam mendadak dan tinggi berlangsung 2 s.d 7 hari dengan gambaran/manifestasi perdarahan ditambah peningkatan nilai hematokrit. Dan penurunan jumlah trombosit merupakan pedoman dalam menegakkan diagnosis DBD. Peningkatan nilai hematokrit merupakan petunjuk adanya peningkatan permeabilitas kapiler dan bocornya plasma. Namun, kadar ini dipengaruhi oleh adanya penggantian cairan awal dan perdarahan. Oleh karena itu, perlu dilakukan evaluasi pada perawatan penderita dengan pemeriksaan hematokrit. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan Ht setiap 2 jam sekali selama 6 jam. Apabila hemokonsentrasinya semakin membaik maka diperlambat menjadi setiap 4 jam sampai keadaan klinis pasien membaik.

b. Pemeriksaan Trombosit.

Selain hemokonsentrasi, maka yang selalu hampir terjadi pada penderita DBD adalah trombositopeni. Penurunan jumlah trombosit di bawah $100.000/\mu\text{l}$ darah biasanya ditemukan antara hari 3--8 hari dari sakitnya. Pemeriksaan trombosit ini mempunyai 2 tujuan, yaitu menghitung jumlah trombosit secara kuantitatif dan mengukur kemampuan fungsi trombosit secara kualitatif, khususnya dalam hubungannya dengan transfusi darah yang nantinya diperlukan. Menghitung jumlah trombosit umumnya dilakukan dengan bilik hitung Neubauer Improved. Prinsip pemeriksaan ini adalah

darah yang diencerkan dalam reagen Rees Ecker, sehingga tinggal trombosit yang terlihat. Kemudian, dihitung jumlah trombosit yang ada dalam volume pengenceran tertentu, dengan melakukan perhitungan terhadap pengenceran dan faktor alat maka dapat dihitung jumlah trombosit per satuan volume. Nilai normalnya adalah $150.000 - 400.000/\mu\text{l}$ darah. Metoda lain, yang sering digunakan untuk menghitung jumlah trombosit adalah dengan cara estimasi, seperti yang dijelaskan oleh Barbara Brown. Caranya, dengan menghitung trombosit pada zona V (even zone) pada preparat darah tepi dengan pengecatan Giemsa, dimana pada setiap lapang pandang besar (perbesaran 100 kali obyektif) trombosit yang ditemukan dikalikan dengan 20.000. Cara estimasi ini mempunyai banyak kelemahannya dan membutuhkan keterampilan dan akurasi yang tinggi. Untuk itu diperlukan persyaratan: pembuatan preparat darah harus baik, dilakukan tepat pada zona V, tidak terdapat kecenderungan agregasi yang berlebihan dari trombosit. (Purwanto AP, 1995) Oleh karena itu, evaluasinya membutuhkan kepakaran yang memadai. Penderita diperbolehkan pulang setelah jumlah trombosit mencapai minimal $50.000/\mu\text{l}$ darah dan fungsi agregasinya baik serta hematokritnya stabil.

c. Pemeriksaan Lekosit.

Umumnya, yang diperiksa dalam pemeriksaan lekosit adalah Limfosit dan Monosit. Agar pemeriksaan dapat dilakukan dengan baik, maka pembuatan preparat darah tepi tersebut harus memenuhi beberapa kriteria. antara lain tipis, rata, tidak sobek-sobek. Caranya dilakukan dengan estimasi jumlah lekosit dari darah tepi dengan pengecatan giemsa. Hasil lebih baik, apabila menggunakan perhitungan pemeriksaan dengan bilik hitung Neubauer Improved.

Pada saat ini pemeriksaan yang dianggap standar adalah menggunakan alat autoanalizer dengan *automatic cell counter*. Prinsip pemeriksaan hitung jumlah lekosit dengan bilik hitung adalah darah *whole blood* ditambah dengan larutan turk, maka sel darah lain akan lisis sehingga yang tertinggal hanya lekosit yang berwarna ungu muda dalam larutan gentian violet, kemudian dihitung pada bilik hitung dengan bantuan mikroskop pembesaran 10 atau 40 kali obyektif. (Imam Budiwiyono, 1995). Nilai rujukan jumlah lekosit adalah 4000-11000/ μ l darah, sedangkan nilai rujukan hitung jenis (*diff.count*) menurut Miller adalah sebagai berikut :

Eosinofil	: 1-4 %
Basofil	: 0-1 %
Stab.	: 2-5 %
Segmen	: 50-70 %
Limfosit	: 20-40 %
Monosit	: 1- 6 %

Hasil pemeriksaan lekosit pada DBD menunjukkan adanya jumlah menurun (lekopeni) pada awal penyakit, namun kemudian dapat normal dengan dominasi dari sel netrofil. Mendekati fase akhir penyakit akan terjadi penurunan jumlah total lekosit bersamaan dengan penurunan sel polimorfonuklear. Ini akan tampak tanda limfositosis yang mana lebih dari 15 % ditemukan limfosit atipik pada akhir fase demam (fase kritis). Dan, pada awal terjadinya shok, terdapat monositosis. Pada pemeriksaan *diff.count* lekosit terjadi pergeseran kekanan (*shift to the right*).

Uji Torniquet

Uji torniquet yang dikenal dengan pemeriksaan Rumpel Leed merupakan salah satu pemeriksaan penyaring untuk mendeteksi kelainan sistem vaskuler dan trombosit. Dengan melakukan bendungan darah pada tekanan tertentu, di lengan atas akan terjadi perdarahan di bawah kulit (petechiae) bila dinding kapiler kurang kuat resistensinya. Hasil positif bila dalam waktu

10 menit timbul 10 atau lebih petechiae di daerah volar lengan. (Dacie JV dan Lewis SM, 1975).

Sebelum percobaan, harap diperhatikan apakah ada bekas gigitan nyamuk pada daerah volar lengan bawah, atau noda hitam yang mungkin menyebabkan hasil menjadi positif palsu. (Thompson RB, 1983).

Pemeriksaan Limfosit Plasma Biru

Pemeriksaan berdasarkan penentuan imunologis, di mana virus penyebab DBD akan memberikan rangsangan bagi tubuh penderita untuk memproduksi antibodi, yaitu berupa imunoglobulin. Jenis imunoglobulin dari virus dapat berupa imunoglobulin G (IgG) dan imunoglobulin M (Ig M) (Russel PK, 1970). Jalur perangsangan tersebut dilakukan melalui stimulasi sel pembentuk imunoglobulin, yaitu limfosit B. Limfosit B akan mengalami perangsangan, sehingga terjadi transformasi blastik yang akan dapat dilihat pada darah tepi berupa munculnya sel limfosit dengan warna plasma biru dengan pengecatan giemsa (LPB = limfosit plasma biru), dan dikenal dengan nama Sel Downey. Sel LPB ini dapat diidentifikasi dalam darah tepi. Pemeriksaan darah tepi dibuat dengan melakukan pemaparan di atas kaca objek dan difiksasi dengan methanol. Kemudian dicat dengan giemsa dan dibersihkan dengan air mengalir, serta dikeringkan di dalam udara ruangan. Evaluasi preparat darah tepi dilakukan saat ada *even zone* (zona V) pada bagian medial dan medio lateral preparat. (Boonpucknavig S, 1979).

Limfosit Plasma Biru (*sensitized lymphocyte*) atau dikenal dengan nama penemunya, yaitu sel Downey, mempunyai 3 bentuk yang merupakan tahapan (fase) dari transformasi blastik sel limfosit B dalam sumsum tulang dalam pembentukan antibodi humoral. (Purwanto AP, 1996).

Jenis sel LPB tersebut adalah :

1. monositoid,
2. plasmositoid, dan
3. blastoid

Nilai yang penting dalam uji laboratoris menggunakan suatu metoda adalah keterandalan dari uji tersebut dalam menentukan nilai prediksi, apakah nilai prediksi positif ataukah nilai prediksi negatif. Sel Downey yang dapat digunakan sebagai salah satu parameter penentuan diagnosis infeksi virus *dengue* bila digunakan standar baku penentuan imunoglobulin dalam darah, (dalam penelitian penulis) menghasilkan nilai statistik sebagai berikut: sensitifitas LPB dibandingkan pemeriksaan antibodi dengue 94,7 %. Sedangkan spesivitas mencapai 66,6 %. Besarnya nilai prediksi positif 81,8 %, sedangkan besarnya nilai prediksi negatif mencapai 88,8 %. (Purwanto AP, 1996).

Meski, belum terdapat jawaban yang memuaskan, namun dipercaya bahwa Limfosit Plasma Biru ini merupakan respon antibodi anamnestic terhadap virus dengue dan merupakan limfosit yang memproduksi Ig G anti dengue. Hal ini sesuai dengan laporan Russe, dkk (1979) dan Ikeuchi, dkk (1980) bahwa pada penderita infeksi virus dengue, antibodi Ig G antidengue adalah sangat predominan. Sehingga, bisa dikatakan bahwa Limfosit Plasma Biru adalah sel yang memproduksi antibodi, yaitu antibodi B Limfosit. Hal ini didukung oleh adanya penemuan oleh Boonpucknavig, dkk (1976) bahwa Limfosit T dijumpai jumlahnya menurun, sedangkan Limfosit B justru meningkat pada penderita Demam Berdarah Dengue.

Pemeriksaan Koagulasi

Jika terjadi luka yang mengenai pembuluh darah, sehingga darah keluar dari pembuluh darah, maka akan terjadi serangkaian reaksi untuk menghentikan perdarahan yang disebut hemostatis. Pembuluh darah akan mengalami vaso konstriksi secara reflektoris, sehingga darah yang mengalir ke tempat luka berkurang.

Pada DHF terjadi perubahan resistensi pembuluh darah dan endotel pada

permukaan dalam pembuluh darah mengalami kerusakan, sehingga jaringan subendotel terpapar. Dengan terpaparnya jaringan subendotel, maka trombosit akan melekat pada jaringan subendotel.

Peristiwa perlekatan trombosit ke jaringan subendotel ini disebut adhesi trombosit. Proses adhesi ini memerlukan faktor *von Willebrands* yang disintesis oleh endotel pembuluh darah. Adhesi trombosit ini, selanjutnya diikuti dengan agregasi trombosit dan reaksi pelepasan yang bertujuan untuk membuat sumbat trombosit. Agregasi trombosit, merupakan perlekatan sesama trombosit. Pada reaksi pelepasan, dikeluarkan beberapa zat trombosit misalnya Adenosin diphosphate (ADP), serotonin, dan tromboksan A₂. Zat-zat ini dapat merangsang agregasi trombosit. Selain itu serotonin dan tromboksan A₂ juga bersifat *vaso konstriktor*. Sumbatan trombosit yang terbentuk, mula-mula bersifat permeabel.

Selain menyebabkan trombosit teraktivasi, adanya kerusakan endotel juga menyebabkan sistem koagulasi terangsang. Sistem koagulasi terdiri atas 13 faktor koagulasi yang sebagian besar adalah protein yang disintesis di hati. Beberapa faktor koagulasi yaitu protrombin, F VII, FIX dan FX memerlukan vitamin K pada proses pembentukannya.

Aktivisasi sistem koagulasi baik melalui jalur ekstrinsik, maupun jalur intrinsik akan menghasilkan terbentuknya bekuan fibrin dari fibrinogen. Dengan terbentuknya fibrin maka sumbatan trombosit yang semula bersifat semi permeabel menjadi non permeabel. (Rifkind Richard A, 1980).

Jadi, hemostasis merupakan hasil kerja antara vaskuler, trombosit, dan sistem koagulasi. Peran vaskuler adalah vaso konstriksi untuk mempersempit aliran darah, sehingga perdarahan berkurang. Peran trombosit adalah membentuk sumbat trombosit sedangkan sistem koagulasi berperan dalam membentuk fibrin yang akan memperkuat sumbat trombosit. Pada DBD,

di mana terjadi perdarahan meluas, maka penggunaan trombosit (utility) dalam upaya penghentian darah menjadi meningkat, sehingga jumlahnya akan menurun. Pemeriksaan terhadap trombosit pada DBD dianjurkan untuk tidak hanya menilai jumlah trombositnya saja, tetapi dilanjutkan dengan pemeriksaan fungsi trombosit (kualitatif).

Pemeriksaan laboratorium yang menunjang perubahan koagulasi ini adalah (Thompson RB, 1983) :

- a. pemeriksaan Rumpel Leed, menunjukkan hasil positif, adanya lebih dari 10 petekie per 2,5 m². Gejala perdarahan lain dapat ditemukan adanya purpura, ekimosis, epistaksis, perdarahan gusi, hematemesis, dan / melenas.
- b. pemeriksaan *clotting time* (waktu penjudalan) dan *bleeding time* (waktu perdarahan), akan memberikan hasil memanjang
- c. pemeriksaan Trombosit, baik secara kuantitatif maupun kualitatif terhadap Trombositopeni akan terjadi karena pemakaian trombosit dalam mekanisme pembekuan darah. Karena, adanya koagulopati maka dapat terjadi kemungkinan koagulasi intravaskuler diseminata.
- d. pemeriksaan faktor-faktor koagulasi untuk melihat faktor ekstrinsik (PPT), factor intrinsik (PTTK) atau jalur bersama (trombin time). Hasilnya, akan memanjang karena adanya penurunan faktor II, IV, V, VII, VIII, IX, XII.
- e. pemeriksaan kadar fibrinogen, maupun penghambat faktor koagulasi seperti AT III dan antiplasmin (*plasmin inhibitor*).

Penentuan Transfusi Darah

Di rumah sakit, penderita DBD yang mengalami perdarahan seringkali memerlukan transfusi trombosit untuk mempertahankan jumlah trombosit, sehingga dapat berfungsi sebagai komponen sel beku darah yang berguna dalam mengurangi perdarahan. Namun, penentuan kapan seseorang sudah perlu dilakukan

transfusi; pada penurunan jumlah trombosit sampai berapa belumlah dicapai kesepakatan. Oleh karena itu, yang sering dipergunakan sebagai patokan adalah gejala klinis yang terjadi. Ada pendapat yang mengatakan bahwa sebelum perdarahan itu terlihat secara fisik maka belum perlu dilakukan transfusi trombosit. Secara laboratoris, untuk mengatasi hal ini dilakukan pendekatan laboratorium dengan pemeriksaan *clumping trombosit* menggunakan preparat *buffy coat*, di samping menentukan jumlah trombosit. (AP Pradana, 2000).

Preparat *buffy coat* dibuat menggunakan darah EDTA dan tabung mikropipiler, serta gelas objek. Caranya, menggunakan tabung mikropipiler seperti pada pemeriksaan hematokrit sebanyak 2 tabung. Kemudian, setelah disentrifugasi maka bagian tabung dipotong menjadi dua pada batas warna putih dan merah. Masing-masing potongan dibuat preparat darah tepi, sehingga ada bagian plasma dan bagian sel. Dari preparat darah tepi dievaluasi, apakah terdapat sedikit atau banyak (semikuantitatif) trombosit yang mengalami agregasi (*clumped platelets*) atau yang tersebar (*scattered platelets*). Dari evaluasi ini, dapat disimpulkan apakah sampel darah dari penderita itu mudah terjadi perdarahan spontan, oleh karena keadaan trombositopenia. Pemeriksaan ini merupakan modifikasi pemeriksaan *Thrombocyte Aggregation Test* (TAT) dengan cara nephelometri yang disederhanakan.

Pemeriksaan Kimia Klinik

Pada pemeriksaan kimia klinik akan ditemukan pula berbagai indikator perubahan akibat penyakit DBD. Hal yang sering ditemukan adalah (Widmann FK, 1983) :

Albuminuria yang sifatnya ringan dan sementara, karena perubahan permeabilitas kapiler glomerulus. Darah dalam tinja, baik yang bersifat darah samar maupun profus.

Serum protein menunjukkan adanya hipoproteinemia/hipoalbuminemia karena adanya kebocoran plasma. Hiponatremia juga terjadi karena adanya gangguan keseimbangan elektrolit. Kadar SGOT dan SGPT akan ditemukan meningkat ringan, karena adanya pembesaran hati akibat radang. Asidosis metabolik yang umumnya terjadi pada kasus shock berkepanjangan Urea nitrogen (BUN) juga meningkat pada stadium terminal kasus shock yang berkepanjangan.

Penutup

Gambaran gejala penyakit demam berdarah dengue bervariasi, sehingga WHO menyusun kriteria diagnostik secara klinis dan laboratoris. Penyakit ini berbahaya dan seringkali berakibat fatal, sehingga perlu didiagnosis secara dini. Mengingat penyakit ini sudah menyebar keseluruh propinsi yang ada di Indonesia, maka suatu pemeriksaan laboratorium yang tepat dan cepat sangat diperlukan untuk menunjang diagnosis dan tindak lanjut terhadap penderita demam berdarah dengue. Untuk itu, diperlukan sarana prasarana dan keterampilan laboratoris yang memadai, agar kasus DBD dapat tertangani dengan baik.

Daftar Pustaka

1. AP Pradana, Pemeriksaan Clumping Trombosit dengan Preparat Buffy coat, bagian Patologi Klinik FK UNDIP/RSUP Dr Kariadi, unpublished, Semarang, 2000.
2. Boonpucknavig S. et al., Immuno fluorescent Staining of the Surface of Lymphocyte in suspension from Patient with Dengue Haemorrhagic Fever, *Am. J. Path.* 85 : 37, 1979.
3. Dacie JV and Lewis SM. *Practical Haematology*, fifth ed., Churchill Livingstone, Britain, 1975.
4. Imam Budiwiyo, Prinsip Pemeriksaan Preparat Darah Tepi, Workshop Pembacaan Preparat Darah hapus pada Keganasan Hematologi, Bagian Patologi Klinik FK UNDIP, Semarang, 1995.
5. Purwanto AP, Nilai Prediksi Pemeriksaan Sel Downey Darah Tepi pada Penderita Demam Berdarah Dengue, Seminar Hasil Penelitian FK UNDIP/RSUP Dr Kariadi 2 Oktober 1996.
6. Purwanto AP, Sampling pada Pemeriksaan Darah Tepi dan Mikroskopis Urin, Seminar Pemeriksaan Darah Tepi dan Mikroskopis Urin, Bagian Patologi Klinik FK UNDIP/RSUP Dr Kariadi, Semarang, 1995.
7. Riadi Wirawan, Erwin Silman, *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*, Bagian Patologi Klinik FK UI, Jakarta, 1988.
8. Rifkind Richard A et al. *Fundamental of Hematology*, second edition, Year Book Medical Publisher Inc, 1980.
9. Russel PK et al. Pathogenesis of the Dengue Shock Syndrome : Evidence of an immunologic mechanism, *Proc. Int. Symposium on Immunopathology*, p. 426, 1970.
10. Sumarmo SPS, *Demam Berdarah Dengue pada Anak*, UI Press, Jakarta, 1983.
11. Thomas Suroso, dkk, *Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue*, WHO dan DEPKES RI, Jakarta, 2000.
12. Thompson RB. *A Short Textbook of Haematology*, fifth edition, Pitman Publishing Limited, London, 1983.
13. Widmann, FK; *Clinical Interpretation of Laboratory Test*, 9th edition, F.A.Davis Company, Philadelphia, 1983.
14. World Health Organization, *Dengue Haemorrhagic Fever : Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*, 2nd ed., Geneva:WHO, 1997.