

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DARAH

2.1.1 Definisi Darah

Darah merupakan jaringan yang terdiri dari dua komponen, plasma dan sel darah. Plasma merupakan komponen intra seluler yang berbentuk cair dan berjumlah sekitar 55 % dari volume darah, sedangkan sel darah merupakan komponen padat yang terdapat didalam plasma dengan jumlah 45% dari volume darah (Evelyn C, 2006). Komponen padat atau sering disebut korpuskula ini terdiri dari:

1. Sel darah merah atau eritrosit (99 %) Eritrosit mengandung hemoglobin dan berperan dalam mengedarkan oksigen.
2. Keping darah atau trombosit (0,6 - 1,0 %) Trombosit bertanggung jawab dalam proses pembekuan darah
3. Sel darah putih atau lekosit (0,2 %) Lekosit berperan penting dalam sistem imun dan mempunyai tugas untuk memusnahkan benda asing yang dianggap berbahaya (Wikipedi, -).

2.1.2 Fungsi Darah

Dalam sirkulasi darah berfungsi sebagai media transportasi, pengaturan suhu dan memelihara keseimbangan cairan. Warna darah berasal dari hemoglobin, protein pernapasan yang mengandung heme yang merupakan tempat melekatnya oksigen (Evelyn, 2006).

2.2 TROMBOSIT

2.2.1 Definisi Trombosit

Trombosit adalah bagian dari beberapa sel-sel besar dalam sumsum tulang belakang yang berbentuk cakram bulat, oval, bikonveks tidak berinti dan hidup sekitar 10 hari. Jumlah trombosit antara 150.000 – 400.000 mililiter, sekitar 30 – 40 % terkonsentrasi dalam limpa dan sisinya bersirkulasi dalam aliran darah perifer. Trombosit berperan penting dalam pembekuan darah.

Trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit, suatu megakarioblas dalam sumsum tulang. Megakariosit matang ditandai proses replikasi endometotik dan makin besarnya jumlah sitoplasma. Sehingga pada akhirnya sitoplasma menjadi granula dan terjadi pelepasan trombosit. Setiap megakariosit mampu menghasilkan 3.000 – 4.000 sel trombosit. Waktu diferensiasi dari sel asal (stem cell) sampai dihasilkan trombosit memerlukan waktu sekitar 10 hari. Umur trombosit pada sirkulasi darah perifer 7 - 10 hari.

2.2.2 Fungsi Trombosit

Trombosit Berperan penting dalam pembentukan pembekuan darah. Trombosit dalam keadaan normal bersikulasi ke seluruh tubuh melalui aliran darah. Namun dalam beberapa detik setelah kerusakan suatu pembuluh, trombosit tertarik ke daerah tersebut sebagai respon terhadap kolagen yang terpajan di lapisan sub endotel pembuluh. Trombosit melekat ke permukaan yang rusak dan mengeluarkan beberapa zat (serotonin dan histamin) yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh. Fungsi lain dari trombosit yaitu untuk mengubah bentuk dan kualitas setelah berikatan dengan pembuluh yang cedera.

Trombosit akan menjadi lengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit yang secara efektif akan menutupi daerah yang luka (Handayani W.dkk, 2008).

Menurut DEPKES RI III tahun 1989 :

1. Sebagai sumbatan dalam proses hemostasis
2. Menghasilkan zat kimia tertentu yang menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah
3. Mempertahankan integritas pembuluh darah (daya tahan kapiler, kontraksi kapiler)
4. Sebagai fagositosis (pertahanan non spesifik)
5. Sebagai alat transport di substansi tertentu.
6. Melindungi dinding pembuluh darah bagian dalam.
7. Sebagai sumber pembentukan protrombin.
8. Pembekuan darah dan retraksi bekuan

2.2.3 Sifat Fisis Trombosit

1. Adhesi yaitu sifat trombosit yang mudah melekat pada permukaan asing.
2. Agregasi yaitu sifat trombosit yang saling melekat satu sama lain.
3. Aglutinasi yaitu sifat trombosit yang mudah menggumpal
4. Disentrigasi yaitu sifat trombosit yang mudah pecah / mati

2.2.4 Struktur Trombosit

Struktur trombosit dibagi menjadi 3 komponen, yaitu :

(kosasih, 2008 ; Ulva, 2012)

1. Membran trombosit

Terbentuk dari lapisan fosfolipid dua lapis (bilayer) dengan distribusi fosfolipid yang asimetris. Membran trombosit mengandung glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor. Melalui reseptor tersebut, trombosit berinteraksi dengan zat yang menyebabkan agregasi, zat inhibitor, faktor koagulasi seperti fibrinogen, faktor von Willebrand (VWF) dan thrombin, serta dengan dinding pembuluh darah dan dengan trombosit lain.

2. Sitoplasma

Sitoplasma dalam trombosit terdapat beberapa organel : mitokondria, cadangan glikogen, serta granula penyimpanan : granula padat (*dense bodies*), granula dan lisosom. Isigranula : 2 kelompok

- a. Protein spesifik untuk trombosit : β -*thromboglobulin* (β TG), platelet faktor 4 (PF4)
- b. Protein yang berasal dari plasma, misalnya fibrinogen, fibronektin dan factor V (Kosasih, 2008 : Ulva, 2012)

Isi granula padat:

- 1) Kandungan kalsium tinggi
- 2) Serotonin
- 3) Adenosine difosfat (ADP)
- 4) Adenosine trifosfat (ATP). ADP dalam granula padat lebih banyak dibandingkan dengan ATP (3 : 2)

3. Lisosom

Mengandung hidrolase asam : β -glukuronidase, katepsin, β -galaktosidase, elasta dan kolagenase. Sekresi trombosit, lisosom lebih lambat melepaskan isinya dibanding granula dan granula padat, dan diperlukan inhibitor yang lebih kuat dan menginduksi penglepasan isi lisosom.

2.2.5 Faktor – faktor yang mempengaruhi jumlah trombosit

2.2.5.1 Faktor Patologis

1. Trombosit sequestrasi

Sepertiga dari total trombosit secara fisiologis didestruksi oleh limpa. Pada kondisi splenomegali, lebih dari 90% trombosit terdestruksi oleh limpa, sehingga menyebabkan trombositopenia. Penyakit seperti sirosis hepatis dengan hipertensi portal atau infiltrate tumor pada limpa dapat menyebabkan destruksi trombosit oleh limpa secara signifikan. Meskipun nilai trombosit dapat rendah, fungsi trombosit biasanya normal pada destruksi akibat splenomegali kecuali kelainan hematologik atau penyakit keganasan (Stone DJ, 1997).

2. Gangguan produksi trombosit

Kondisi ini terdapat pada leukemia, kelainan hematologik lainnya, metastasis kanker, mielosupresi agen kemoterapi. Kondisi lain juga dapat ditemukan pada penggunaan obat tertentu, terutama pada golongan thiazide diuretic, ethanol, gold, dan obat golongan sulfa dapat secara selektif menghambat produksi platelet (Stone DJ, 1997).

3. Percepatan destruksi trombosit

Percepatan destruksi trombosit adalah kasus yang disebabkan oleh non imunologi atau imunologi. Penyebab non immunologi seperti DIC, vaskulitis dan prostetik katup jantung. Penyebab immunologi dihubungkan pada antibodi trombosit dari obat, infeksi, tranfusi trombosit sebelumnya, atau auto antibodi seperti pada SLE, Immunologi Trombositopenia Purpura (ITP), atau Evans sindrom (ITP dan anemia hemolitik). Pasien pada trombositopenia yang disebabkan oleh immunologi biasanya tidak dijumpai splenomegali dan sumsum tulang yang normal dengan peningkatan produksi megakariosit. Usia trombosit pada kelainan immunologi trombositopenia lebih rendah dari 1 hari (Stone DJ, 1997).

Faktor penyebab trombositopenia adalah Alergi, Infeksi virus, Penggunaan obat, seperti obat anti radang non-steroid (ibuprofen, aspirin, indomethacin, phenyl butazone; tricyclic, anti depresan; anti histamin; phenol thiazines), Gangguan kolagen, seperti lupus eritematosus, Tranfusi darah dan pembedahan, Keracunan darah, Penyakit hati, Perawatan radiasi untuk kanker, Limpa yang membesar karena sebab apa saja, Uremia, Anemia, Leukemia (H. Winter Griffith M.D, 1994), Kemoterapi dan sinar X dapat menurunkan hitung trombosit. (Agus Riyanto, 2009)

Faktor penyebab trombositosis adalah Setelah pemberian epinefrin, Pemulihan sumsum tulang, Kemoterapi sitotoksik (Pengobatan defisiensi vitamin B₁₂ atau folat), Keganasan, Defisiensi besi, Penyakit peradangan kronis (Penyakit kolagen vaskular, Penyakit usus meradang), Infeksi kronis (Tuberkulosis,

Osteomielitis), Pengeluaran darah (termasuk pembedahan), Sindrom mieloproliferatif, Pasca splenektomi (Ronald A.Sacher, Richard A.Mc Pherson, 2004).

Faktor yang dapat menurunkan hasil pemeriksaan trombosit berdasarkan teknik pemeriksaannya :

1. Perbandingan volume darah dengan antikoagulan tidak sesuai dapat menyebabkan kesalahan pada hasil :
 - a. Jika volume terlalu sedikit (1-1,5 mg Na_2EDTA /ml darah untuk Na_2EDTA kering dan 10 ul/1ml darah untuk EDTA cair), sel-sel eritrosit mengalami krenasi, sedangkan trombosit membesar dan mengalami disintegrasi. Dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun.
 - b. Jika volume terlalu banyak (1-1,5 mg Na_2EDTA / ml darah untuk Na_2EDTA kering dan 10 ul/1ml darah untuk EDTA cair) dapat menyebabkan terbentuknya jendalan yang berakibat menurunnya jumlah trombosit. (J.A.Child, 2010)
2. Pemeriksaan hitung jumlah trombosit yaitu penundaan pemeriksaan lebih dari 1 jam menyebabkan penurunan jumlah trombosit. (Ganda soebrata, 2010)
3. Penggunaan darah kapiler menyebabkan hitung trombosit cenderung lebih rendah, (Ganda soebrata, 2010)
4. Pengambilan sampel darah yang lamban menyebabkan trombosit saling melekat (agregasi) sehingga jumlahnya menurun palsu.

5. Tidak segera mencampur darah dengan antikoagulan atau pencampuran yang kurang kuat juga dapat menyebabkan agregasi trombosit, bahkan dapat terjadi bekuan. (Ganda soebrata, 2010)
6. Kesalahan pada saat pengambilan darah vena
 - a. menggunakan spuit yang basah.
 - b. menggunakan ikatan pembendung terlalu lama atau terlalu keras, akibatnya ialah hemokonsentrasi.
 - c. terjadinya bekuan dalam spuit karena lambatnya bekerja
 - d. terjadinya bekuan dalam botol karena tidak dicampur semestinya dengan antikoagulan yang digunakan. (Ganda Soebrata, 2010).

2.2.5.2 Faktor Laboratoris

1. Faktor Pra analitik

Merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan digunakan pada tahap - tahap selanjutnya. Pada tahap ini meliputi : ketata usahaan, Persiapan penderita, Pengumpulan spsimen, Penanganan specimen (Riswanto, 2013). Kesalahan pada proses pra analitik dalam pemeriksaan laboratorium dapat memberikan kontribusi sekitar 62% dari total keseluruhan pemeriksaan Laboratorium (Mengko R., 2013).

a. Persiapan Pasien

Ada beberapa sumber kesalahan yang kurang terkontrol dari proses praanalitik yang dapat mempengaruhi pemeriksaan laboratorium seperti aktivitas fisik, puasa, diet, stres, efek posisi, menstruasi, kehamilan, gaya hidup (konsumsi alkohol, rokok, kopi, obat), usia, jenis kelamin, pasca transfusi, pasca donasi,

pasca operasi dan lainnya. Karena hal-hal tersebut memiliki pengaruh yang kuat terhadap beberapa pemeriksaan hematologi, maka pasien harus selalu dipertimbangkan sebelum pengambilan sampel (Riswanto, 2010).

b. Persiapan Pengumpulan Sampel

Spesimen yang akan diperiksa laboratorium harus memenuhi persyaratan sesuai jenis pemeriksaan, volume mencukupi, kondisi baik (tidak lisis, segar / tidak kadaluwarsa), pemakaian antikoagulan atau pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat, identitas benar sesuai dengan data pasien (Riswanto, 2010).

c. Pengambilan Spesimen

Hal-hal yang harus diperhatikan pada pengambilan spesimen adalah :

1. Teknik atau cara pengambilan. Pengambilan specimen harus dilakukan dengan benar sesuai dengan *standard operating procedure* (SOP) yang ada.
2. Cara menampung specimen dalam wadah / penampung yang harus diperhatikan meliputi :
 - 1) Seluruh sampel harus masukke dalam wadah (sesuai kapasitas), jangan ada yang menempel pada bagian luar tabung untuk menghindari bahaya infeksi.
 - 2) Wadah harus dapat ditutup rapat dan diletakkan dalam posisi berdiri untuk mencegah spesimen tumpah.
 - 3) Darah harus segera dimasukkan dalam tabung setelah sampling.

- 4) Lepaskan jarum, alirkan darah lewat dinding tabung perlahan-lahan agar tidak terjadi hemolisis.
- 5) Pastikan jenis antikoagulan dan volume darah yang ditambahkan tidak keliru.
- 6) Homogenisasi segera darah yang menggunakan antikoagulan dengan lembut perlahan-lahan. Jangan mengocok tabung keras-keras agar tidak hemolisis.

Sumber-sumber kesalahan pada pengambilan spesimen darah :

- 1) Pemasangan tourniquet terlalu lama
- 2) Pengambilan darah terlalu lama (tidak sekali tusuk kena) dapat menyebabkan trombosit menurun.
- 3) Pengambilan darah pada jalur infus dapat menyebabkan eritrosit, leukosit, dan trombosit menurun.
- 4) Homogenisasi darah dengan antikoagulan yang tidak sempurna atau keterlambatan homogenisasi menyebabkan terbentuknya bekuan darah (Riswanto, 2010).

2. Faktor Analitik

Proses analitik adalah tahap pengerjaan sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan (Depkes RI, 1999).

a. Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit dapat menggunakan darah vena maupun darah kapiler. Pemeriksaan dengan darah kapiler memberikan hasil lebih rendah dibandingkan darah vena.

b. Pemeliharaan dan Kalibrasi Alat

Alat pemeriksaan bila tidak dilakukan perawatan secara rutin maupun kalibrasi maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit menjadi lebih tinggi atau menjadi rendah.

Upaya untuk mengkoreksi alat *hematology analyzer* merupakan sebuah upaya yang baik karena kita tahu bahwa tidak semua alat luput dari kesalahan dan ketidak telitian. Perlu adanya pemahaman untuk menilai dan memilah kesalahan yang mungkin terjadi saat pengerjaan dengan metode *hematology analyzer*. Setiap laboratorium mengklaim bahwa hasilnya lebih akurat bahkan pakai darah kontrol dibandingkan laboratorium lain. Alasan ini bias dipatahkan bila pra analitiknya buruk, misal darah tidak segera dicampur dengan antikoagulan, kelebihan anti koagulan, tidak segera di periksa (dalam waktu 1 jam lebih bagus), tidak dikocok sebelum diperiksa dan botol yang digunakan dari plastic / polietilen.

Pemeriksaan darah lengkap umumnya telah menggunakan mesin penghitung otomatis (*hematology analyzer*). Pemeriksaan ini dapat memberikan hasil yang cepat. Namun alat hitung otomatis / *analyzer* memiliki keterbatasan ketika terdapat sel yang abnormal, misalnya banyak dijumpainya sel - sel yang belum matang pada leukemia, infeksi bakterial, sepsis, dan sebagainya. Dalam kasus jumlah sel yang sangat tinggi dimana alat tidak mampu menghitungnya, maka pemeriksaan manual menjadi pilihan untuk dilakukan. Pada pemeriksaan secara manual ini darah diencerkan dulu dengan tingkat pengenceran yang lebih tinggi (Sainssyiah, 2010)

Penyebab kesalahan pada hasil alat hitung otomatis (*hematology analyzer*):

- a. Salah cara sampling dan pemilihan spesimen
- b. Salah penyimpanan specimen dan waktu pemeriksaan ditunda terlalu lama sehingga terjadi perubahan morfologi sel darah.
- c. Kesalahan tidak mengocok sampel secara homogen, terutama bila tidak memiliki alat pengocok otomatis (*nutator*) maka dikhawatirkan tidak sehomogen saat sampel darah di ambil dari tubuh pasien. Inilah kesalahan fatal yang sering terjadi pada pemeriksaan ini.
- d. Kehabisan *reagent lyse* sehingga seluruh sel tidak dihancurkan saat pengukuran sel tertentu.
- e. Kalibrasi dan kontrol tidak benar. Tidak melakukan kalibrasi secara berkala dan darah control yang digunakan sudah mengalami *expired date* tapi tetap di pakai karena menghemat biaya operasional.
- f. *Carryover*, homogenisasi, volume kurang. Untuk alat jenis *open tube* maka, penyebabnya salah saat memasukkan sampel pada jarum sampling alat, misal jarum tidak masuk penuh ujungnya pada darah atau darah terlalu sedikit dalam tabung atau botol lebar sehingga saat dimasukkan jarum tidak terendam seluruhnya. Untuk jenis *close tube* kesalahan hampir sama juga, yaitu tidak memenuhi volume minimum yang diminta oleh alat. Untuk tipe *close tube* menggunakan cara *predilute*, perlu dikocok dahulu saat pengenceran darah dengan diluent

- g. Alat atau reagen rusak. Alat dapat saja rusak bila suhu yang tidak sesuai (warning : temperature ambient abnormal) dan kondisi meja yang tidak baik. Reagensia yang digunakan jelek dan mungkin terkontaminasi oleh udara luar karena packing yang jelek.
- h. Memang sampel tersebut ada kelainan khusus (Sainssyiah, 2010).

Dengan demikian perlu dilakukan perawatan alat secara rutin dengan melakukan perawatan harian yaitu EZ cleanser yaitu untuk menghancurkan sisa bekuan atau sisa pembuangan darah yang tidak sempurna dan melakukan kalibrasi dengan menggunakan kalibrator komersial atau sampel darah segar. Kalibrasi hendaknya diperiksa secara teratur dengan menggunakan program pemantapan mutu yang biasa dilakukan setiap laboratorium, sesuai dengan persyaratan laboratorium yang baik, verifikasi yang mencakup quality control harian pada setiap shift dan juga pada setiap perubahan nomor lotreagen. Alat yang digunakan untuk penelitian ini sudah dilakukan pemeliharaan alat secara rutin dan kalibrasi.

2. Kualitas Reagent

Reagen harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatnya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan expirednya. Pemakaian reagen yang sudah rusak oleh karena sudah expired maupun salah dalam suhu penyimpanan akan menyebabkan penurunan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit. Hal ini dapat diatasi dengan pemakain reagen yang tidak expired dan penyimpanan reagen pada suhu yang sudah ditentukan pabrik pembuatnya yaitu pada suhu 15-30 °C (Nurrachmat H, 2005).

4. Pemeriksa

Faktor pemeriksa juga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit, bila sampel tidak dicampur / dikocok dengan benar sebelum sampel diperiksa atau pada saat sampel dihisap oleh penghisap sampel tidak sampai dasar tabung sampel atau hanya pada permukaan tabung sampel, maka hasil pemeriksaan jumlah trombosit menjadi rendah. Hal ini memerlukan pemeriksa yang berpengalaman dan terlatih (Nurrachmat H, 2005).

3. Faktor Pasca Analitik

Proses pasca analitik adalah tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar - benar *valid* atau dapat dipertanggung jawabkan (Depkes RI, 1999). Kegiatan pencatatan dan pelaporan hasil di laboratorium harus dilaksanakan dengan cermat dan teliti karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan dapat mengakibatkan kesalahan dalam penyampaian hasil pemeriksaan (Depkes RI, 1999)

2.2.6 Metode pemeriksaan hitung jumlah trombosit

Trombosit sulit dihitung karena mudah sekali pecah dan sulit dibedakan dengan kotoran, selain itu karena sifatnya yang mudah sekali melekat pada permukaan asing dan membentuk gumpalan. Cara yang sering dipakai untuk menghitung jumlah trombosit adalah dengan cara langsung dan tak langsung. Pada cara langsung jumlah trombosit dihitung dengan cara manual atau otomatis (automatic cell counter). Cara manual dapat dilakukan dengan metode Rees Ecker atau Brecher Cronkite sedangkan cara tak langsung dengan metode Fonio (Ganda soebrata, 2007).

1. Metode Rees Ecker

Darah diencerkan dengan larutan Rees Ecker dan jumlah trombosit dihitung dalam kamar hitung. Larutan Rees Ecker : natriumsitrat 3,8 g; larutan formal dehide 40 % 2 ml; brilliant cresyl blue 30 mg; aquadest ad 100 ml. Larutan harus disaring sebelum dipakai.

1. Mengisap cairan Rees Ecker kedalam pipet eritrosit sampai garis tanda “1” dan buanglah lagi cairan itu.
2. Mengisap darah sampai garis tanda “0,5” dan cairan Rees Ecker sampai “101”. Segeralah kocok selama 3 menit.
3. Meletakkan kamar hitung yang telah benar-benar bersih dengan kaca penutup yang terpasang mendatar di atas meja.
4. Membuang cairan yang ada pada batang kapiler pipet (3-4 tetes) dan kemudian sentuhkan ujung pipet (sudut 30 derajat) dengan menyinggung pinggir kaca penutup pada kamar hitung. Biarkan kamar hitung tersebut terisi cairan perlahan - lahan dengan gaya kapilaritasnya sendiri.
5. Membiarkan kamar hitung yang sudah terisi tersebut dengan sikap datar dalam cawan petri tertutup yang berisi kapas basah selama 10 menit agar trombosit mengendap.
6. Menghitung semua trombosit dalam seluruh bidang besar di tengah - tengah (1 mm^2) dengan perbesaran 40x.
7. Menghitung hasil hitung jumlah trombosit dikalikan 2.000 menghasilkan jumlah trombosit per μl darah (Ganda Soebrata, 2010).

b. Metode Brecher - Cronkite

Darah diencerkan dengan Ammonium oksalat 1% yang berfungsi untuk melisiskan eritrosit, jumlah trombosit dihitung dengan bilik hitung dibawah mikroskop (Koeswardani, 2001).

Dengan metode Rees Ecker, kemungkinan kesalahan yang terjadi sebesar 16 – 25 %, sedangkan Brecher Cronkite 8 – 10%. Kesalahan yang terjadi biasanya berasal dari pengenceran dan penghitungan (Koeswardani, 2001).

c. Metode Fonio

Cara tak langsung jumlah trombosit dibandingkan dengan jumlah eritrosit sedangkan jumlah eritrosit itulah yang sebenarnya di hitung.

1. Mebersihkan ujung jari dengan alkohol dan biarkan kering lagi.
2. Menaruh diatas ujung jari tersebut setetes besar larutan magnesium sulfat 14%.
3. Menusuk ujung jari dengan lanset melalui tetesan larutan magnesium sulfat tersebut.
4. Setelah jumlah darah keluar kurang lebih 1/4 jumlah larutan magnesium sulfat, mencampur darah dengan magnesium sulfat tersebut.
5. Membuat sedian hapus (dengan pewarnaan Wrigth atau Giemsa)
6. Menghitung jumlah trombosit yang dilihat bersama dengan 1.000 eritrosit.
7. Melakukan tindakan menghitung jumlah eritrosit per μ l darah.
8. Menghitung jumlah trombosit per μ l darah berdasarkan kedua angka itu.

(Ganda Soebrata, 2010)

Perhitungan :
$$\frac{N \times \sum \text{eritrosit}}{1000}$$

Nilai rujukan jumlah trombosit ; Dewasa: 150.000 – 400.000 μ l, Anak dan prematur : 100.000 – 300.000 μ l, Bayi: 2 00.000 – 475.000 μ l, Bayi baru lahir : 150.000 – 300.000 μ l. (Joyce Lefever Kee, 2007 : 361)

d. Metode Automatic Cell Counter

Metode ini memakai prinsip flowcytometry dimana sel – sel masuk flow chamber dan dicampur dengan diluent, kemudian dialirkan melalui aperture berukuran kecil yang memungkinkan sel lewat satu persatu. Aliran yang keluar akan dilewatkan melalui medan listrik untuk kemudian dipisahkan sesuai dengan muatannya (cell sorting) (Yukio T, 1999).

2.3 TABUNG VACUTAINER

Vacutainer adalah tabung reaksi hampa udarayang terbuat dari kaca atau plastik, apabila dilekatkan pada jarum, darah akan mengalir masuk ke dalam tabung dan berhenti mengalir ketika sejumlah volume tertentu telah tercapai. Tabung vacutainer yang berisi antikoagulan K_3EDTA telah direkomendasi oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) untuk pemeriksaan hematologi, karena mempunyai stabilitas yang lebih baik dari EDTA lain dan mempunyai pH mendekati pH darah (Tietz, 1996). Tabung ini pertama kali diciptakan oleh Joseph Kleiner pada tahun 1947, kemudian diproduksi secara masal oleh perusahaan Becton Dickinson (Anonim, 2009).

Warna tutup tabung vacutainer digunakan untuk membedakan jenis antikoagulan dan kegunaannya dalam pemeriksaan laboratorium

1. Tabung tutup merah, tanpa penambahan zat additive, darah akan menjadi beku dan serum dipisahkan dengan pemusingan. Umumnya digunakan untuk

pemeriksaan kimia darah, imunologi, serologi dan bank darah (crossmatching test)

2. Tabung tutup kuning, berisi gel separator (serum separator tube / SST) yang fungsinya memisahkan serum dan sel darah. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah, imunologi dan serologi
3. Tabung tutup hijau terang, berisi gel separator (plasma separator tube / PST) dengan antikoagulan lithium heparin. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan kimia darah.
4. Tabung tutup ungu atau lavender, berisi EDTA. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap dan bank darah (crossmatch)
5. Tabung tutup biru, berisi natrium sitrat. Umumnya digunakan untuk pemeriksaan koagulasi(mis. PPT, APTT)
6. Tabung tutup hijau, berisi natrium atau lithium heparin, umumnya digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit, kimia darah.
7. Tabung tutup biru gelap, berisi EDTA yang bebas logam, umumnya digunakan untuk pemeriksaan trace element (zink, copper, mercury) dan toksikologi.
8. Tabung tutup abu-abu terang, berisi natrium fluoride dan kalium oksalat, digunakan untuk pemeriksaan glukosa.
9. Tabung tutup hitam, berisi bufer sodium sitrat, digunakan untuk pemeriksaan LED (ESR).
10. Tabung tutup pink, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan imunohematologi

11. Tabung tutup putih, berisi potassium EDTA, digunakan untuk pemeriksaan molekuler / PCR dan bDNA.
12. Tabung tutup kuning dengan warna hitam dibagian atas, berisi media biakan, digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi-aerob, anaerob dan jamur (Riswanto, 2009).

Penggunaan vacutainer lebih menguntungkan karena tidak perlu membagi sampel darah kedalam beberapa tabung, cukup dengan sekali penusukan dapat digunakan untuk beberapa tabung secara bergantian sesuai jenis pemeriksaan yang akan dilakukan. Untuk uji biakan kuman, cara ini lebih baik untuk mencegah kontaminasi karena darah langsung mengalir ke media biakan (Arnol A, 2012).

Vacutainer EDTA digunakan untuk pengujian parameter dalam hematologi. Permukaan Tabung bagian dalam tabung dilapisi Spray Dried K_2EDTA (dipotassium ethylene diamine tetra acetic acid) atau K_3EDTA (tripotassium ethylene diamine tetra acetic acid). Tabung vacutainer K_3EDTA menunjukkan secara substansial setara dengan kinerja tabung vacutainer K_2EDTA dan tidak ada perbedaan yang signifikan secara klinis antara keduanya (Anonim, 2012).

Semua garam EDTA adalah hiperosmolar, yang menyebabkan air meninggalkan sel dan menyebabkan penyusutan sel. Semakin tinggi konsentrasi EDTA, semakin besar penarikan osmotik air dari sel. Oleh karena itu harus dipastikan bahwa tabung diisi sepenuhnya. Selain itu, pengisian tabung yang kurang, juga menyebabkan rasio darah dan bahan aditif menurun, mengakibatkan penyusutan sel, pengurangan Mean Corpuscular Volume (MCV) dan

meningkatkan Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC). Pada Tabung K₃EDTA mungkin sedikit lebih terpengaruh, karena konsentrasi ion kalium yang lebih tinggi (Anonim, 2012).

2.4 PROCAN PE-6800

Procan PE-6800 merupakan automatic cell counter yang bekerja dengan metode flowcytometri yang prinsip dasarnya adalah impedansi elektrik (electrical impedance) dan pendar cahaya (light scattering).

1. Impedansi Elektrik

Prinsip yang digunakan adalah sebelum pemeriksaan, sampel diencerkan dengan larutan yang mempunyai konduktivitas tertentu dan merupakan konduktor listrik yang kurang baik, kemudian sel darah dialirkan melalui lubang kecil yang disebut orifice yang mempunyai ukuran tertentu. Pada saat yang sama, suatu arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang pada sisi luar dan sisi dalam orifice, karena sel darah adalah penghantar listrik yang buruk, maka jika sel darah masuk melalui orifice tadi, arus listrik yang mengalir juga akan terganggu. Gangguan ini menimbulkan suatu pulsa elektrik. Jumlah pulsa listrik yang terukur persatuan waktu (frekuensi pulsa) dideteksi sebagai jumlah sel yang melalui celah tersebut. Sedangkan besarnya perubahan tegangan listrik (amplitudo) yang terjadi, merupakan ukuran volume dari masing – masing sel darah. Besarnya pulsa akan sesuai dengan besarnya jumlah dan besarnya sel darah yang lewat. Jika sel darah besar, maka pulsa yang ditimbulkan besar, sebaliknya jika sel darah kecil maka pulsa pun kecil. Dengan demikian dapat mengenali jenis – jenis sel menurut ukuran dan menghitung jumlahnya (Mengko R, 2013).

2. Pendar Cahaya

Prinsip yang digunakan adalah pendaran cahaya yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokuskan ke sensi area yang ada pada aperture tersebut. Apabila cahaya mengenai sel, maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan, atau dibiaskan ke semua arah. Kemudian hamburan cahaya yang mengenai sel akan ditangkap oleh detektor yang ada pada sudut – sudut tertentu sehingga menimbulkan pulsa. Pulsa cahaya yang berasal dari hamburan cahaya, intensitas warna, atau fluoresensi, akan diubah menjadi pulsa listrik. Pulsa ini dipakai untuk menghitung jumlah, ukuran, maupun inti sel yang merupakan ciri dari masing – masing sel. Hamburan cahaya dengan arah lurus (forward scattered light) mendeteksi volume dan ukuran sel. Sedangkan cahaya yang dihamburkan dengan sudut 90° menunjukkan informasi dari isi granula sitoplasma. Pada metode ini juga dapat dilakukan pewarnaan dengan cara menambahkan pewarna pada reagen. Sel yang telah diberi pewarna akan memberikan pendaran cahaya yang berbeda – beda, sehingga akan lebih banyak informasi untuk mendeteksi atau mendeteksi berbagai jenis sel (Mengko R, 2013).

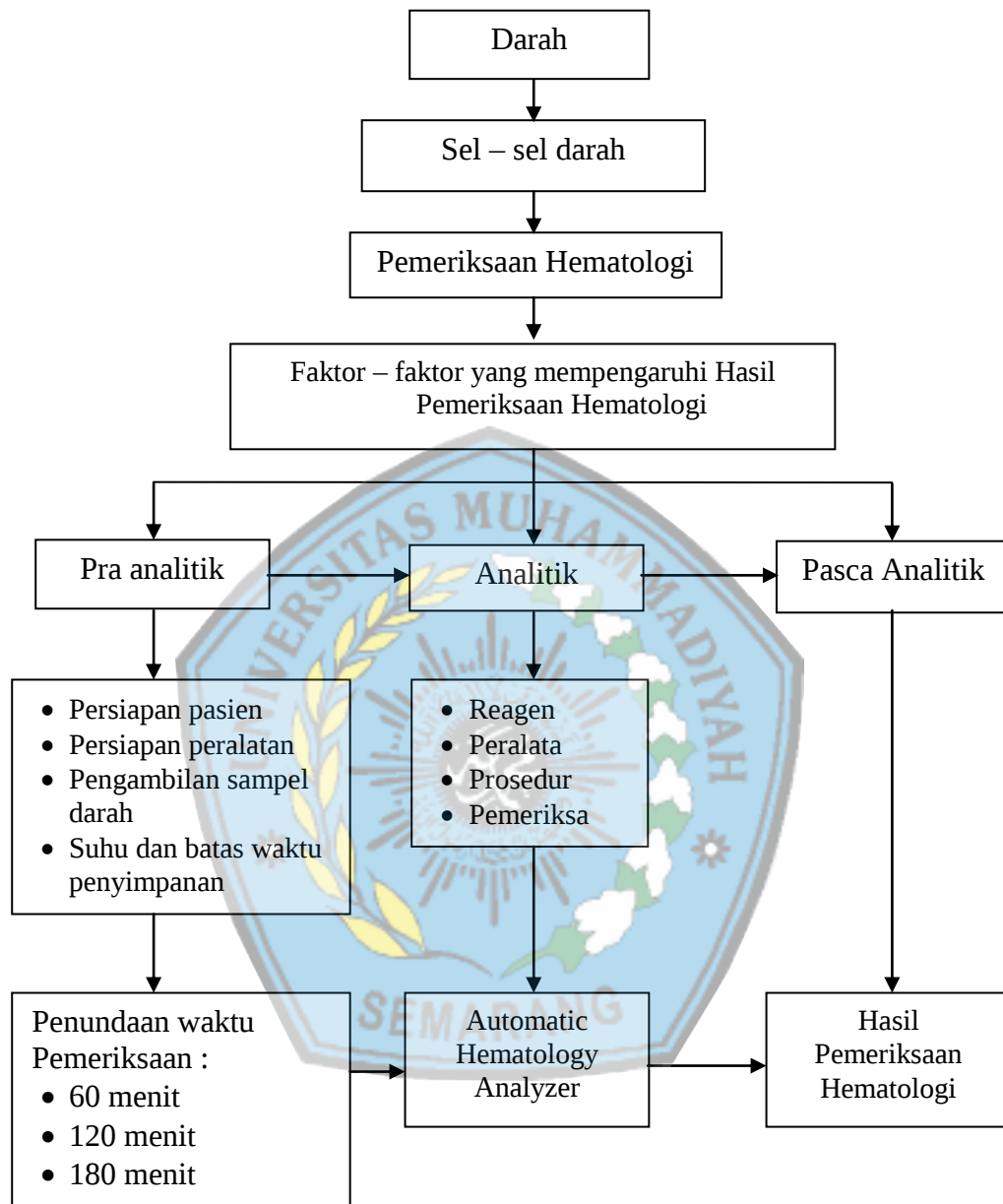
Alat ini cocok digunakan untuk laboratorium dengan pemeriksaan darah 15 – 25 tes / hari. Parameter pemeriksaan yang dapat dilakukan yaitu WBC, RBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW – SD, RDW – CV, PDW, MPV, P – LCR, LYM, MXD, NEUT. Volume darah yang diperlukan sebanyak 1 ml dan volume darah yang dihisap oleh alat sebanyak 15 μ l (Anonim, 2009).

Prinsip kerja alat ini dalam menghitung jumlah trombosit adalah sampel didilusi dengan larutan konduktifitas tertentu. Sel dialirkan melalui lubang dengan

ukuran tertentu – orifice. Pada saat yang sama, arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang pada sisiluar (external electrode) dan sisi dalam (internal electrode) dari orifice. Sel darah adalah penghantar listrik yang buruk sehingga setiap sel darah yang masuk melalui orifice akan menimbulkan gangguan pada orifice. Gangguan tersebut akan menimbulkan pulsa, dimana besarnya pulsa sebanding dengan ukuran sel darah yang melewatinya. Setiap pulsa listrik yang terjadi sesuai dengan satu trombosit yang melalui aperture sehingga jumlah pulsa sama dengan jumlah trombosit dan tingginya pulsa menunjukkan ukuran trombosit (Anonim, 2009).

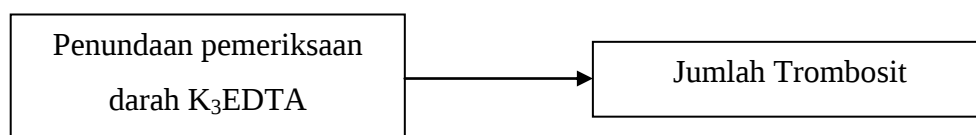
Distribusi ukuran partikel trombosit dianalisa dengan Procan PE – 6800 menggunakan 3 diskriminator yaitu batas bawah 2 – 6 fL, batas tengah 12 fL, dan batas atas 12 – 30 fL (Anonim, 2009). Kesalahan yang terjadi dalam hitung trombosit disebabkan oleh darah yang menjendal (sample clotting), trombosit bergerombol yang dihitung sebagai leukosit, trombosit bentuk besar dan giant platelet yang dihitung sebagai eritrosit, serta platelets satellitism (formasi rosette) yang terbentuk dari trombosit – leukosit). Keadaan tersebut menyebabkan jumlah trombosit rendah palsu. Sebaliknya, adanya non platelet particles seperti debu, pecahan eritrosit, leukosit dan trombosit dapat dihitung sebagai trombosit, sehingga hasilnya menjadi tinggi palsu (Gill JE, 2000).

2.5 KERANGKA TEORI



Gambar 1. Kerangka Teori

2.6 KERANGKA KONSEP



Gambar 2. Kerangka Konsep

2.7 HIPOTESIS

Ada pengaruh penundaan darah K₃EDTA terhadap jumlah trombosit.

