

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Trombosit

2.1.1. Produksi trombosit

Trombosit dihasilkan di sumsum tulang melalui fragmentasi sitoplasma pada megakariosit, salah satu sel terbesar di tubuh. Prekursor megakariosit, yaitu megakarioblas berasal dari proses diferensiasi dari sel punca hemopoetik. Megakariosit mengalami pematangan melalui replikasi sinkron endomitotik (yaitu replikasi DNA tanpa pembelahan nukleus atau sitoplasma) yang menyebabkan volume sitoplasma setiap kali jumlah lobus nukleus bertambah menjadi dua kali lipat. Tahap awal terlihat invaginasi membran plasma, yang dinamai membran pembatas (demarcation membrane), yang berkembang sepanjang pembentukan megakariosit menjadi anyaman yang bercabang-cabang. Tahap perkembangan tertentu yang bervariasi, terutama pada tahap nukleus berjumlah delapan, sitoplasma menjadi granular. Megakariosit matang berukuran sangat besar, dengan satu nukleus berlobus yang terletak di tepi dan rasio nukleus : sitoplasma yang rendah. Trombosit terbentuk fragmentasi ujung-ujung perluasan sitoplasma megakaryosit, setiap megakariosit menghasilkan sekitar 1000-5000 trombosit. Interval waktu dari diferensiasi sel punca manusia menjadi produksi trombosit adalah sekitar 10 hari.

Hitung trombosit normal adalah sekitar $250 \times 10^9/L$ (kisaran $150-400 \times 10^9/L$) dan usia normal trombosit adalah 7-10 hari, (Hoffbrand, 2015).

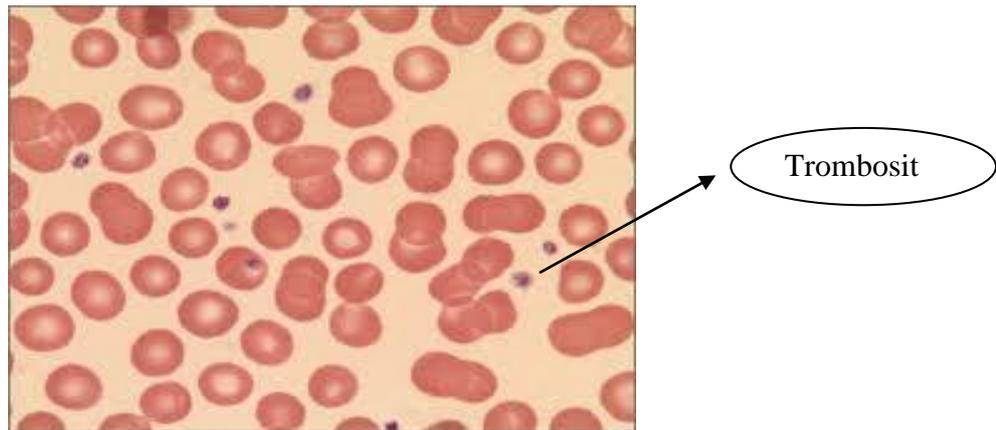
2.1.2. Struktur Trombosit

Trombosit berukuran sangat kecil dan diskoid, bergaris tengah $3.0 \times 0.5 \mu m$, dengan volume rerata 7-11 fl. Glikoprotein selubung permukaan sangat penting dalam reaksi perlekatan dan agregasi trombosit yang merupakan proses-proses awal untuk terjadinya pembentukan sumbat trombosit selama hemostasis.

Trombosit mengandung tiga jenis granula simpanan : padat, α , lisosom. Granula α spesifik yang lebih banyak mengandung faktor pembekuan, faktor *von willebrand* (VWF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan protein lain. Granula padat lebih jarang dan mengandung adenosin difosfat (ADP), adenosin trifosfat (ATP), serotonin, dan kalsium. Lisosom mengandung enzim-enzim hidrolitik. Trombosit juga kaya akan protein penyalur sinyal dan protein rangka sel yang menunjang perpindahan cepat dari keadaan tenang menjadi aktif jika terjadi kerusakan pembuluh darah, (Hoffbrand, 2015).

2.1.3. Fungsi trombosit

Fungsi utama trombosit adalah membentuk sumbat mekanis yang merupakan respons hemostatik normal terhadap cedera vaskuler. Tidak adanya trombosit, dapat terjadi kebocoran spontan darah melalui pembuluh halus. Fungsi trombosit ada tiga yaitu perlekatan (adhesi), penggumpalan (agregasi), dan reaksi pelepasan, juga terdapat amplikasi (penguatan). Imobilisasi trombosit di tempat cedera vaskuler mengisyaratkan interaksi spesifik trombosit-dinding pembuluh (adhesi) dan antar-trombosit (agregasi), (Hoffbrand, 2015).



Gambar 1. Trombosit pada apusan darah tepi (Ferdinand F, 2009).

2.2. Antikoagulan untuk pemeriksaan hematologi

Darah yang akan diperiksa agar tidak membeku dapat dipakai bermacam-macam antikoagulan. Semua macam antikoagulan tidak dapat dipakai karena ada yang banyak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit atau leukosit yang akan diperiksa morfologinya, antikoagulan yang dapat dipakai adalah:

2.2.1. EDTA (*Ethylene diamine tetra acetate*)

Garam natrium atau kaliumnya, garam-garam itu mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuknya eritrosit dan tidak juga terhadap bentuk leukosit, selain itu EDTA mencegah trombosit mengumpal, karena itu EDTA sangat baik dipakai antikoagulan pada hitung trombosit. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1 ml darah. Dihindari memakai EDTA dalam jumlah berlebihan, bila dipakai EDTA lebih dari 2 mg per ml darah maka nilai hematokrit menjadi lebih rendah dari yang sebenarnya.

EDTA mempunyai 2 jenis antikoagulan yang dipakai pada tabung vacutainer yaitu K_2EDTA atau Na_2EDTA berbentuk serbuk dan K_3EDTA dalam

bentuk cair. Diketahui bahwa semua antikoagulan EDTA cara pemakaiannya harus dibolak balik 8-10 kali untuk memastikan bahwa darah dan antikoagulan tercampur sempurna, (Gandasoebrata, 2007).

2.2.2. Heparin

Heparin berdaya seperti antitrombin, tidak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit, leukosit. Prakteknya sehari-hari heparin tidak banyak dipakai karena mahal harganya. Tiap 1 mg heparin menjaga membekunya 10 ml darah. Heparin dapat dipakai sebagai larutan atau dalam bentuk kering (Gandasoebrata, 2007).

2.2.3. Natrium sitrat dalam larutan 3.8 %

Natrium sitrat dalam larutan 3,8 % adalah larutan yang isotonik dengan darah. Penggunaan untuk beberapa macam percobaan hemoragik dan laju endap darah cara westergren, (Gandasoebrata, 2007).

2.2.4. Campuran amonium oxalat dan kalium oxalat menurut Paul dan Heller yang juga dikenal sebagai campuran oxalat seimbang. Penggunaan dalam keadaan kering agar tidak mengencerkan darah yang diperiksa.

Memakai amonium oxalat menyebabkan eritrosit-eritrosit membengkak, kalium oxalat menyebabkan mengerut. Campuran kedua garam itu dalam perbandingan 3 : 2 tidak berpengaruh terhadap besarnya eritrosit (tetapi berpengaruh terhadap morfologi leukosit). Larutan pokok: amonium oxalat 12 gr : kalium oxalat 8 gr : aquadest ad 1000 ml, botol atau tabung diisi dengan 0.2 atau 0.5 ml larutan itu, kemudian dikeringkan pada suhu yang kurang dari 70⁰C.

Dalam botol tersebut dimasukkan 2 atau 5 ml darah untuk pemeriksaan hematologi, (Gandasoebrata, 2007).

2.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah trombosit secara laboratoris

2.3.1. Pra Analitik

Pra Analitik adalah Tahap persiapan awal, dimana tahap ini sangat menentukan kualitas spesimen yang nantinya akan dihasilkan dan mempengaruhi proses kerja selanjutnya, (Seminar ilmiah, 2015).

Meliputi:

2.3.1.1. Persiapan Sampling

Mendapatkan hasil yang akurat maka sampel yang akan diperiksa di laboratorium harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a. Jenisnya sesuai dengan jenis pemeriksaan.
- b. Volumennya cukup.
- c. Kondisi baik: tidak lisis, segar, tidak berubah warna, steril.
- d. Antikoagulan yang digunakan sesuai dengan pemeriksaan.
- e. Ditampung dalam wadah yang sesuai.
- f. Identitas sampel benar sesuai data pasien, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.2. Peralatan

Mendapatkan hasil yang akurat maka peralatan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a. Bersih dan kering.
- b. Tidak mengandung deterjen atau bahan kimia.

- c. Terbuat dari bahan yang tidak mengubah zat dalam spesimen.
- d. *Disposable*.
- e. Steril.
- f. Tidak retak / pecah, mudah dibuka tutup, ukuran sesuai (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.3. Antikoagulan

Antikoagulan adalah bahan kimia yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah. Jenis antikoagulan yang dipergunakan harus disesuaikan dengan jenis pemeriksaan yang diminta, volume darah yang ditambahkan juga harus tepat, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.4. Pemilihan lokasi pengambilan spesimen

Pemilihan lokasi pengambilan spesimen harus memperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- a. Darah vena: umumnya diambil dari vena lengan (*mediana cubiti*, vena *cephalic*, vena *basilic*).

Tempat pengambilan tidak boleh pada jalur tranfusi atau infuse, bekas luka, hematoma, oedema, canula, fistula.

- b. Darah kapiler: umumnya diambil dari ujung jari tengah atau jari manis tangan bagian tepi atau pada daerah tumit 1/3 bagian tepi telapak kaki bayi.

Tempat yang dipilih untuk pengambilan tidak boleh menunjukkan gangguan perdarahan darah seperti sianosis atau pucat. Spesimen untuk pemeriksaan biakan kuman diambil dari tempat yang sedang mengalami infeksi kecuali darah dan cairan otak.

- c. Darah arteri: umumnya diambil dari arteri radialis (pergelangan tangan), arteri brachialis (lengan) atau arteri femoralis (lipat paha), (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.5. Waktu pengambilan

Umumnya pengambilan spesimen dilakukan pada pagi hari, karena pagi hari dinilai sebagai waktu yang sangat ideal, dimana belum ada intake makanan yang masuk kedalam tubuh yang dapat mempengaruhi beberapa pemeriksaan yang mewajibkan pasien harus puasa, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.6. Pengambilan spesimen

Hal-hal yang perlu diperhatikan pada pengambilan spesimen adalah sebagai berikut:

- a. Teknik atau cara pengambilan: Pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar dan sesuai dengan *standart operating procedure* (SOP) yang ada.
- b. Cara menampung spesimen dalam wadah penampung adalah sebagai berikut:
 1. Seluruh sampel harus masuk kedalam 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. Memindahkan spesimen darah dari syringe harus memperhatikan hal-hal sebagai berikut:
 - a) Darah harus segera dimasukkan dalam tabung setelah sampling.
 - b) Dilepaskan jarum, alirkan darah melalui dinding tabung secara perlahan agar tidak lisis.

- c) Pemeriksaan kultur kuman dan sensitivitas, pemindahan sampel ke dalam media dilakukan dengan cara aseptik.
- d) Dipastikan jenis antikoagulan dan volume darah yang ditambahkan tidak keliru.
- e) Homogenisasi segera setelah darah dicampur dengan antikoagulan dengan lembut dan perlahan. Jangan mengocok tabung keras-keras agar tidak hemolysis, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.7. Identifikasi spesimen

Pemberian identitas pasien atau spesimen adalah tahapan yang harus dilakukan karena merupakan hal yang sangat penting. Pemberian identitas meliputi pengisian formulir permintaan pemeriksaan laboratorium dan pemberian label pada wadah spesimen, harus cocok, pemberian identitas ini setidaknya memuat nama pasien, nomor ID, atau nomor rekam medis serta tanggal pengambilan. Untuk spesimen beresiko tinggi (HIV, Hepatitis) sebaiknya disertai dengan tanda khusus pada label dan formulir permintaan laboratorium, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.8. Pengiriman spesimen ke laboratorium

Spesimen yang telah dikumpulkan harus segera dikirim ke laboratorium, harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- a. Mengirim spesimen ke laboratorium, pastikan bahwa spesimen telah memenuhi persyaratan seperti yang tertera dalam persyaratan masing-masing pemeriksaan.
- b. Spesimen yang tidak memenuhi syarat agar diambil/dikirim ulang.

- c. Pengiriman spesimen disertai formulir permintaan yang diisi data yang lengkap. Pastikan bahwa identitas pasien pada label dan formulir permintaan sudah sama.
- d. Spesimen dikirim ke laboratorium. Penundaan pengiriman spesimen ke laboratorium dapat dilakukan selambat-lambatnya 2 jam setelah pengambilan spesimen. Penundaan terlalu lama akan menyebabkan perubahan fisik dan kimia spesimen sehingga dapat menjadi sumber kesalahan dalam pemeriksaan seperti: penurunan kadar natrium (Na^+), glukosa darah, jumlah leukosit dan jumlah trombosit, PPT/APTT memanjang, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.9. Pengiriman spesimen sebaiknya menggunakan wadah khusus, berupa kotak atau tas khusus, misalnya berupa kotak atau tas khusus yang terbuat dari bahan plastic, gabus (*stryro foam*) yang dapat ditutup rapat dan mudah dibawa, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.10. Penanganan spesimen

Penanganan spesimen harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- a. Identifikasi dan registrasi spesimen.
- b. Seluruh spesimen harus diperlakukan sebagai bahan infeksius.
- c. Digunakan sentifuge yang terkalibrasi.
- d. Segera pisahkan plasma/serum dari darah dalam tabung.
- e. Memberi label.
- f. Segera distribusikan spesimen ke ruang pemeriksaan, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.1.11. Penyimpanan spesimen

Beberapa hal yang perlu di perhatikan dalam penyimpanan spesimen untuk mendapatkan hasil yang akurat adalah sebagai berikut:

- a. Penyimpanan spesimen dilakukan jika pemeriksaan ditunda atau spesimen akan dikirim ke laboratorium lain.
- b. Lama penyimpanan harus memperhatikan jenis pemeriksaan dan stabilitas sampelnya.
- c. Hindari penyimpanan *whole blood* di refrigerator.
- d. Sampel yang dicairkan (setelah dibekukan) harus dibolak balik beberapa kali dan terlarut sempurna, serta hindari terjadinya busa.
- e. Simpan spesimen untuk keperluan pemeriksaan konfirmasi atau pengulangan.
- f. Menyimpan spesimen dalam lemari es dengan suhu (2-8⁰C), suhu (-20⁰C), suhu (-70⁰C), suhu (-120⁰C) jangan sampai terjadi beku ulang.
- g. Jenis pemeriksaan yang menggunakan spesimen plasma atau serum, maka dipisahkan dulu baru disimpan.
- h. Memberi bahan pengawet pada spesimen.
- i. Menyimpam formulir permintaan laborat di tempat sendiri, (Seminar ilmiah, 2015).

2.3.2. Analitik

Analitik adalah tahap pengerjaan pengujian spesimen sehingga diperoleh hasil pemeriksaan, (Anonim, 2010).

2.3.2.1. Validasi analitik untuk alat *Automatic Hematology Analyzer* adalah sebagai berikut:

- a. Hasil *cell counter* mungkin tidak tepat.
- b. Merupakan tanggung jawab staf laboratorium.
- c. Wajib mengetahui kejanggalan suatu hasil pemeriksaan.
- d. Merupakan bagian dari proses kendali mutu.
- e. Memerlukan pengetahuan sifat alat.
- f. Memerlukan pengetahuan keterbatasan/limitasi alat.
- g. Memerlukan dan menguasai kalibrasi.
- h. Memerlukan dan menguasai control mutu.
- i. Kemampuan menilai kebenaran hasil, (Musyafa, 2017).

2.3.2.2. Kejadian hasil yang perlu di validasi, mungkin ditemukan pada kondisi sebagai berikut:

- a. Hasil tidak normal tanpa ada peringatan (*no flags*) pada alat, biasanya ada catatan khusus berupa *warning*, missal *platelets flag*.
- b. Hasil tidak normal dan kurang sesuai dengan sebelumnya atau klinis yang sedang terjadi, sehingga dapat menyebabkan terjadinya diagnosis yang tidak sesuai.

c. Diluar batas linear artinya hasil yang diukur tidak mampu dicapai oleh alat, misalnya kadar leukosit yang tinggi pada leukemia atau trombosit yang sangat meningkat/menurun (Musyafa, 2017).

2.3.2.3. Kesalahan-kesalahan yang terjadi pada *Automatic Hematology Analyzer* adalah sebagai berikut:

- a. Trombosit tinggi palsu, meliputi: sel fragmen leukosit dan eritrosit, mikrositik
- b. Trombosit rendah palsu, meliputi: bekuan, agregasi, satelit (menggumpal), trombosit besar sehingga terukur sebagai RBC, leukositosis lebih 50.000/ul (Musyafa, 2017).

2.3.2.4. *Check, recheck dan trouble shooting* kondisi ini

Teknik sampling diperiksa dan jenis specimen yang digunakan, suhu ruang dicek memenuhi suhu pada (18-20⁰C) dan kondisi meja harus dari beton dan gunakan thermometer, cara penyimpanan dan lama penyimpanan harus dicek, homogenisasi dilakukan sebelum mengukur minimal 1 menit dan lebih bagus lagi setelah sampling masukkan darah dengan penggiling khusus dan perhatikan alat yang digunakan bukan jenis pengocok darah tapi yang digunakan merupakan penggiling darah, alat telah di *warm up* dan telah dibuat *background*, kondisi volume dicek dan kemasan reagen *diluent, lyse* dan *rinse*,

pencucian dilakukan setiap 20 sampel running, pemeliharaan dengan menggunakan larutan pencuci hipoklorit setiap minggu dilakukan, setiap 2 minggu sekali atau sebulan sekali menggunakan larutan enzim digestif (*Probe Cleanser*) untuk menghancurkan sisa bekuan atau sisa pembuangan darah yang tidak sempurna, alat tidak boleh digunakan 24 jam penuh tanpa istirahat, karena dapat mengakibatkan kesalahan keakuratan alat berkurang., kontrol darah menggunakan yang masih baru dan tidak *expired date*, hasil *printout hematology analyzer* dikonsulkan dengan staf ahli laboratorium bila mencurigakan, (Musyafa, 2017).

2.3.2.5. Upaya koreksi *Hematology Analyzer*

Sediaan apus darah tepi yang bagus, hitung jenis leukosit secara manual, mengoreksi adanya *normoblast*, satelit trombosit, *rouleaux formation* dan lainnya, perhitungan sel dengan hemositometer bilik hitung untuk jumlah masing-masing sel, pemeriksaan hematokrit mikro secara manual dilakukan, sampel bila terlalu dingin dihangatkan dalam freezer pada suhu ruang, spesimen pasien segera diperiksa tanpa menunggu lagi (Musyafa, 2017).

2.3.3. Pasca Analitik

Pasca Analitik adalah tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk menyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid atau benar, (Anonim, 2010).

2.4. *Automatic Hematology Analyzer Mindray BC-2800*

Alat analisis hematologi otomatis yang ringkas dengan 19 parameter untuk CBC dan teknologi *micro sampling*, yang mudah digunakan memfasilitasi alur kerja yang mudah dan efisien, (*Mindray BC-2800*).

Spesifikasi:

2.4.1. Parameter

Terdapat 19 parameter yaitu WBC, Getah, Mid, Gran, % Getah, Mid %, % Gran, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD, PLT, MPV, PDW, PCT, dan Histogram untuk WBC, PLT, RBC (*Mindray BC-2800*).

2.4.2. Prinsip

Impedansi listrik berdasarkan pada variasi impedansi yang dihasilkan oleh sel-sel darah di dalam mikroaperture (celah chamber mikro) yang mana sampel darah yang diencerkan dengan elektrolit *diluents/sys*, dll akan melalui mikroaperture yang dipasang dua elektroda pada dua sisinya (sisi sekum dan konstan) yang pada masing-masing arus listrik berjalan secara continue maka akan terjadi peningkatan resistensi listrik (impedansi) pada kedua elektroda sesuai dengan volume sel (ukuran sel) yang melewati *impulst/voltage* yang dihasilkan oleh amplifier circuit ditingkatkan dan dianalisa oleh elektronik system, (*Mindray BC-2800*).

3.4.3. Kinerja

Pembacaan parameter dan linearity range adalah sebagai berikut:

- a. Alat dapat membaca WBC ($10^9/L$) dengan *linearity range* pada pembacaan dari 0,0-99,9 jika lebih dari range biasanya keluar tanda bintang.
- b. Alat dapat membaca RBC ($10^{12}/L$) dengan *linearity range* 0,2-9,99 jika lebih dari range biasanya keluar tanda bintang.
- c. Alat bisa membaca HGB (g/L) dengan *linearity range* 0,300 jika lebih dari range biasanya keluar tanda bintang.
- d. Alat bisa membaca MCV (fl) dengan *linearity range* 1 jika lebih dari range biasanya keluar tanda bintang.
- e. Alat bisa membaca PLT ($10^9/L$) dengan *linearity range* 0-999 jika lebih dari range biasanya keluar tanda bintang (*Mindray BC-2800*).

3.4.4. Volume Sampel

Volume sampel yang dibutuhkan pada *Prediluted* adalah $20\mu L$, dan pada *Whole Blood* adalah $13\mu L$, (*Mindray BC-2800*).

3.4.5. Diameter Aperature

Ukuran diameter aperature adalah 80 mm, saluran ini berfungsi untuk menghindari atau menghancurkan bila terdapat penyumbatan (*Mindray BC-2800*).

3.4.6. Throught

Kemampuan alat mengerjakan pemeriksaan sebanyak 30 Sampel perjam dan hasil dalam histogram dapat disimpan, (*Mindray BC-2800*).

3.4.7. Tampilan

Mempunyai tampilan layar yang besar sehingga memudahkan dalam pembacaan hasil dengan layar datar berwarna, (*Mindray BC-2800*).

3.4.8. Resolusi

Mempunyai resolusi warna 640x480 pixel, (*Mindray BC-2800*).

3.4.9. Carryover

Kesalahan untuk pembacaan WBC, RBC, HGB tidak lebih dari 0.5 %, dan PLT tidak lebih dari 1 %, (*Mindray BC-2800*).

3.4.10. Input/Output

RS 232x2.1 printer paralel (opsional), 1 *barcodescanner* (opsional) 1 *keyboard interface*, (*Mindray BC-2800*).

3.4.11. Printout

Thermal recorder, kertas dengan lebar 50 mm, berbagai format *printout*, *printer optional*, (*Mindray BC-2800*).

3.4.12. Lingkungan pengoperasian

Lingkungan pengoperasian adalah pada suhu 15⁰C – 30⁰C dengan kelembaban 30 % - 85 %, (*Mindray BC-2800*).

3.4.13. Kebutuhan listrik

Kebutuhan daya yang dibutuhkan adalah 100 – 240 V, 50/60 Hz, (*Mindray BC-2800*).

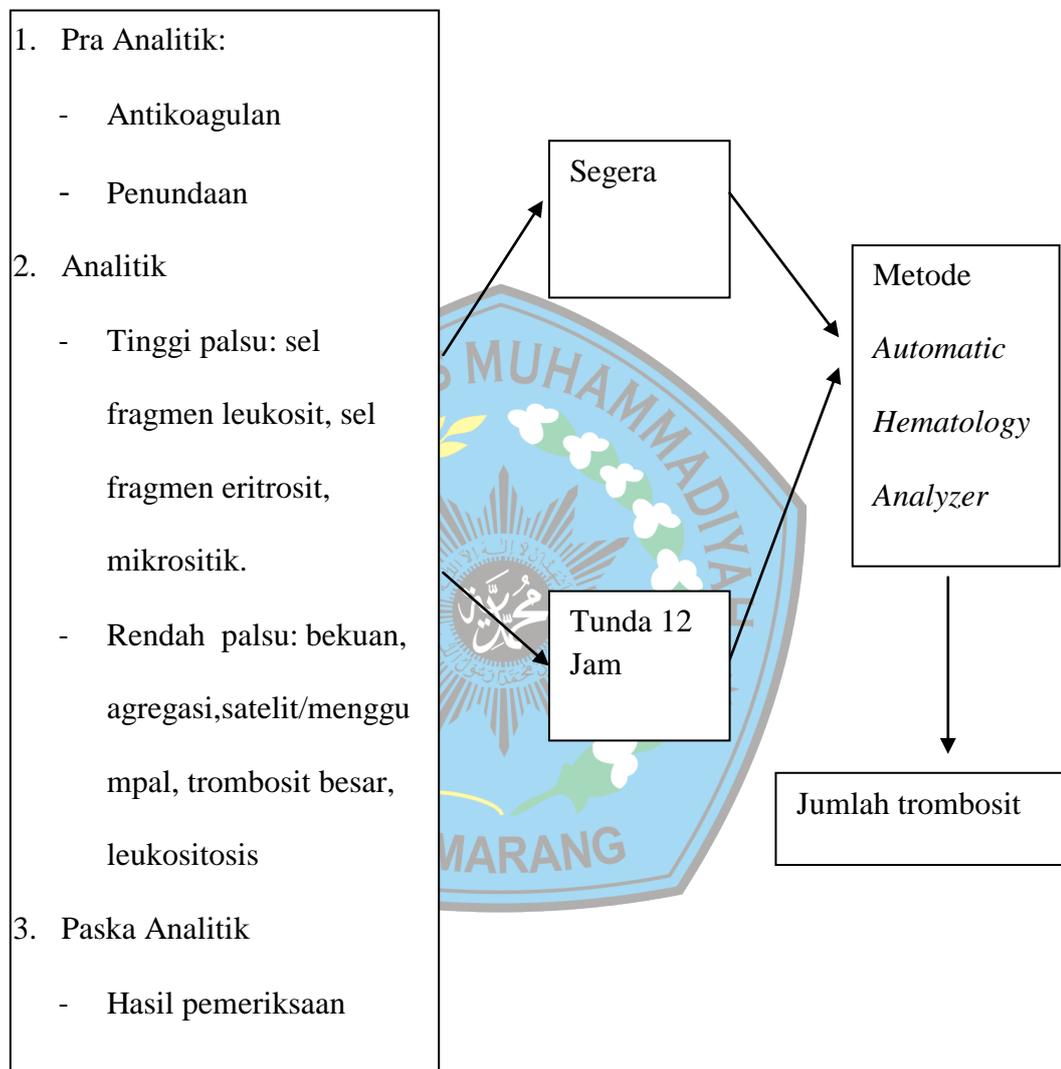
3.4.14. Dimensi

Dimensi dengan lebar 322 mm, tinggi 437 mm, dan panjang 386 mm, (*Mindray BC-2800*).

3.4.15. Berat

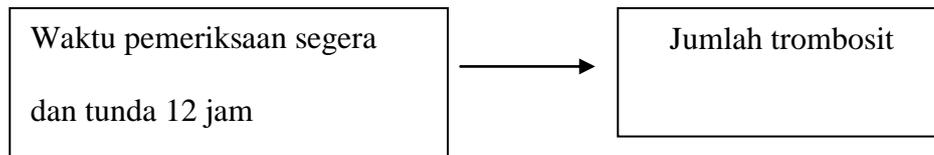
Mempunyai berat 17,9 kg, (*Mindray BC-2800*).

3.5. Kerangka teori



Gambar 2. Kerangka Teori

3.6. Kerangka konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

3.7. Hipotesis

Ada perbedaan jumlah trombosit segera dan tunda 12 jam pada suhu (2-8⁰C) metode *Automatic Hematology Analyzer* yang berarti hipotesis diterima.

