

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Darah

##### 2.1.1 Pengertian

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup yang dalam keadaan fisiologik selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi, dan mekanisme hemostasis. Darah terdiri dari dua komponen utama, yaitu plasma darah, dan butir-butir darah. Plasma darah merupakan bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit, dan protein darah. Butir-butir darah (*blood corpuscle*), terdiri atas sel darah putih (leukosit) atau *white blood cell* (WBC), sel darah merah (eritrosit) atau *red blood cell* (RBC), dan sel pembeku darah (*platelet*) atau trombosit (Bakta, 2006).

#### 2.2 Trombosit

Trombosit adalah sel darah tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1-4 mikrometer dan volume 7-8 fl. Trombosit dapat dibagi dalam 3 daerah (zona), yaitu zona daerah tepi, *zona sol gel*, dan *zona organel*. Zona daerah tepi berperan sebagai adhesi dan agregasi, *zona sol gel* menunjang struktur dan mekanisme interaksi trombosit, *zona organel* berperan dalam pengeluaran isi trombosit (Wirawan, 2011).

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis sebagai respon hemostatik normal terhadap luka vaskuler, melalui reaksi adhesi, pelepasan, agregasi dan fusi serta aktivitas prokoagulannya. Nilai normal trombosit bervariasi sesuai metode yang dipakai. Jumlah trombosit normal dengan metode Deacie adalah  $150 - 400 \times 10^9/L$ . Menurut metode Rees Ecker jumlah normal trombosit  $140 - 340 \times 10^9/L$ , apabila menggunakan metode *Coulter Counter* jumlah normal trombosit  $150 - 350 \times 10^9/L$  (Wirawan, 2011).

Kelainan trombosit meliputi kuantitas dan kualitas trombosit. Kelainan kuantitas trombosit antara lain trombositopeni, trombositosis dan trombositemi. Trombositopeni merupakan berkurangnya jumlah trombosit di bawah normal, yaitu kurang dari  $150 \times 10^9/L$ . Trombositosis merupakan peningkatan jumlah trombosit pada peredaran darah di atas normal, yaitu lebih dari  $400 \times 10^9/L$ . Trombositemi yaitu peningkatan jumlah trombosit oleh proses ganas, misalnya pada *leukemia mielositik kronik* jumlah trombosit melebihi  $1.000 \times 10^9/L$ . Kelainan fungsi trombosit dengan hitung trombosit yang normal mengisyaratkan kelainan kualitas. Gangguan fungsi trombosit ini mungkin diturunkan atau didapat (Sacher and Richard, 2009).

## 2.3 Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit

### 2.3.1 Metode Pemeriksaan Jumlah Trombosit

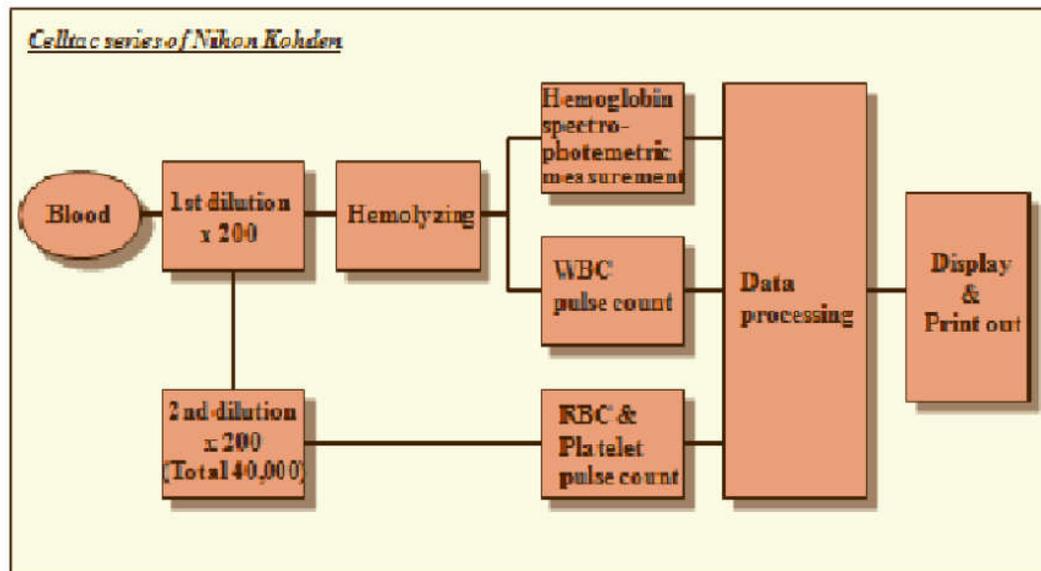
Pemeriksaan hitung trombosit dapat dilakukan dengan metode langsung dan tidak langsung. Metode langsung dapat dilakukan dengan metode *Rees Ecker*, metode *Brecher Cronkite*, dan metode otomatis. Metode *Rees Ecker* dapat dilakukan dengan cara darah diencerkan dengan larutan BCB (*Brilliant Cresyl Blue*), sehingga trombosit akan tercatat terang kebiruan. Trombosit dihitung dengan bilik hitung dibawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metode *Rees Ecker* 16-25% (Gandasoebrata, 2013). Metode *Brecher Cronkite* dapat dilakukan dengan cara darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisiskan eritrosit, trombosit dihitung pada bilik hitung menggunakan mikroskop *fase kontras*. Kemungkinan kesalahan *Brecher Cronkite* 8-10% (Dacie, 2010).

Hitung trombosit cara tak langsung dilakukan dengan metode Fonio dan estimasi jumlah trombosit pada sediaan apus darah tepi (SADT). Metode Fonio dilakukan menggunakan darah kapiler dicampur dengan larutan magnesium sulfat 14% kemudian dibuat SADT dan dilakukan pengecatan giemsa. Jumlah trombosit dihitung dalam 1000 eritrosit, jumlah mutlak trombosit dapat diperhitungkan dari jumlah mutlak eritrosit. Cara Fonio lebih kasar daripada cara langsung. Cara estimasi jumlah trombosit pada SADT, semua hasil hitung trombosit baik normal maupun abnormal yang diperiksa secara langsung harus dilakukan *cross check* dengan SADT yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hitung trombosit secara langsung dan estimasi (Gandasoebrata, 2013).

### 2.3.2 Metode Otomatis *Hematology Analyzer*

Metode otomatis menggunakan *hematology analyzer* yang berfungsi untuk pengukuran dan pemeriksaan sel darah dalam sampel darah. Alat *hematology analyzer* memiliki beberapa kelebihan yaitu efisiensi waktu, volume sampel, dan ketepatan hasil. Pemeriksaan dengan *hematology analyzer* dapat dilakukan dengan cepat hanya memerlukan waktu sekitar 45 detik. Sampel darah yang digunakan dapat menggunakan darah perifer dengan jumlah darah yang lebih sedikit. Hasil yang dikeluarkan alat ini biasanya sudah melalui *quality control* yang dilakukan oleh intern laboratorium (Medonic, 2016).

Beberapa kekurangan *hematology analyzer* antara lain tidak dapat menghitung sel abnormal, misalnya sel-sel yang belum matang pada leukemia, infeksi bakterial, sepsis dan sebagainya, dan tidak mampu menghitung ketika jumlah sel sangat tinggi. *Cross check* menggunakan sediaan apus darah tepi sangat berarti. Penggunaan alat *hematology analyzer* perlu mendapatkan perhatian khusus dalam hal perawatan. Suhu ruangan harus dilakukan kontrol secara berkala, reagen harus dalam penyimpanan yang baik, dan sampel dijaga supaya tidak terjadi aglutinasi. Sampel darah yang digunakan adalah sampel darah yang sudah ditambahkan antikoagulan. Apabila sampel yang digunakan terdapat darah yang menggumpal, maka apabila terhisap alat akan merusak alat tersebut (Medonic, 2016).

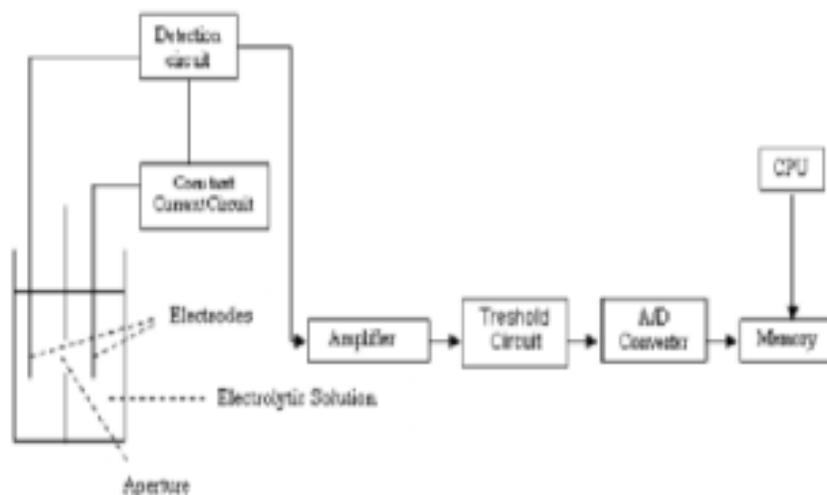


Gambar 1. Blok diagram *Hematology Analyzer* ( Infolabmed, 2017 )

Gambar 1 menunjukkan blok diagram *hematology analyzer*. Prinsip kerja *hematology analyzer* adalah sampel darah yang sudah dicampur dengan reagen dilusi sebanyak 200x proses *hemolyzing* untuk mengukur jumlah lekosit. Selanjutnya sampel dilakukan dilusi lanjutan sebanyak 200x (jadi 40.000x) untuk mengukur eritrosit dan trombosit. Sampel diproses pada blok data processing dan hasilnya akan ditampilkan pada monitor dan dicetak dengan mesin print (Infolabmed, 2017).

### 2.3.3 Pengukuran Jumlah Trombosit dengan *Hematology Analyzer*

Metode pengukuran *hematology analyzer* untuk menghitung jumlah trombosit adalah dengan metode pengukuran sel atau disebut *volumetric impedance*. Metode *volumetric impedance* menggunakan larutan elektrolit (*diluent*) yang dicampur dengan sel-sel darah dihisap melalui *aperture*. Bilik pengukuran terdapat dua electrode yang terdiri dari internal *elektrode* dan *eksternal*, *elektrode* yang terletak dekat dengan *aperture*. Kedua elektroda tersebut dilewati arus listrik yang konstan (Infolabmed, 2017).



Gambar 2. Metode *Volumetric Impedance* (Infolabmed, 2017)

Apabila sel-sel darah melalui *aperture* maka hambatan antara kedua elektroda tersebut akan naik dan terjadi tegangan yang sangat kecil sesuai dengan nilai tahanannya. Tegangan tersebut diterima oleh *detection circuit*, kemudian sinyal tegangan tersebut dikuatkan atau diperbesar pada rangkaian amplifier dan dikirim ke

rangkaian elektronik. Rangkaian elektronik terdapat rangkaian *Threshold Circuit* yang berfungsi untuk menghilangkan sinyal noise yang diakibatkan oleh elektrik noise (gangguan listrik), debu, sisa-sisa cairan, dan partikel yang lebih kecil atau lebih besar dari sel darah yang diukur (Infolabmed, 2017).

Nilai puncak diperoleh dengan sinyal dikirim ke *A/D converter*, kemudian data yang diperlukan disimpan pada memori untuk setiap nilai maksimum. Data tersebut akan dikoreksi oleh CPU dan akan ditampilkan pada layar LCD. Jumlah sinyal untuk setiap ukuran sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. Eritrosit dan trombosit yang dihitung memiliki ukuran yang berbeda sehingga CPU dapat membedakan penghitungan untuk setiap jenis sel. Sedangkan ketiga jenis sel leukosit yang dihitung memiliki ukuran sel yang hampir sama sehingga CPU menggunakan histogram untuk membedakan populasi ketiga jenis sel WBC. Terkadang terdapat dua sel atau lebih yang melewati *aperture* secara bersamaan, peristiwa tersebut disebut *coincidence*. Apabila larutan sampel sudah cukup diencerkan dan dicampur, *coincidence* dapat diprediksi secara statistik dengan tingkat keakuratan yang tinggi (Infolabmed, 2017).

#### **2.3.4 *Micro Pipette Adapter***

Penggunaan alat *hematology analyzer* (Medonic) memerlukan alat tambahan yaitu *Micro Pipette Adapter* (MPA). *Micro pipette* berbahan plastik dan berdiameter kecil yang digunakan pada alat *hematology analyzer* (Medonic). MPA berfungsi mengambil dan atau memindahkan cairan dalam volume sedikit secara akurat. Darah yang masuk dalam mikropipet sebanyak 20  $\mu\text{L}$  (Medonic, 2016).



Gambar 3. *Micro Pipette Adapter* ( Medonic, 2016)

Gambar 3 menunjukkan darah yang ada di dalam *micro pipette* atau tabung kapiler ukuran 20  $\mu\text{L}$  darah. Pemeriksaan jumlah trombosit dengan alat *hematology analyzer* tersebut menggunakan *Micro pipette adapter* (MPA). MPA berisi darah kemudian dimasukkan ke dalam alat dan secara otomatis darah akan dihisap sampai habis untuk diukur (Medonic, 2016).

#### 2.4 Bahan Pemeriksaan

Pemeriksaan hematologi seringkali menggunakan darah utuh (*whole blood*), yaitu darah yang sama bentuk atau kondisinya seperti ketika beredar dalam aliran darah. Bahan pemeriksaan trombosit dapat berupa darah vena atau kapiler, dengan penambahan antikoagulan EDTA. Penambahan antikoagulan dimaksudkan agar darah

yang akan diperiksa tidak membeku dan meminimalkan resiko hemolisis dalam sampel darah (Riswanto, 2013).

#### 2.4.1 Darah Kapiler

Pembuluh darah kapiler berfungsi sebagai penghubung antara pembuluh darah arteri dan vena. Selain itu pembuluh darah kapiler merupakan tempat terjadinya pertukaran zat antara darah dan cairan jaringan. Pembuluh darah kapiler yang merupakan tempat mengambil hasil dari kelenjar, menyerap zat makanan yang terdapat dalam usus, dan menyaring darah pada ginjal (Syaifudin, 2009).

Pengambilan darah kapiler untuk orang dewasa dilakukan pada ujung jari tangan ketiga dan keempat serta pada anak daun telinga. Pengambilan darah pada bayi dan anak-anak biasanya diambil dari tumit atau ibu jari kaki. Pemeriksaan menggunakan darah kapiler dapat dilakukan apabila volume darah yang dibutuhkan sedikit atau dalam keadaan *emergency*, namun apabila terjadi kesalahan dalam pemeriksaan maka tidak dapat dilakukan pemeriksaan ulang (Gandasoebrata, 2013).

Kesalahan yang sering dilakukan dalam pengambilan darah kapiler biasanya disebabkan penusukan yang kurang dalam, darah diambil dari tempat adanya gangguan peredaran seperti vasokonstriksi (pucat), dan vasodilatasi (radang, trauma). Kesalahan dapat terjadi karena kulit yang ditusuk masih basah oleh alkohol, tetes darah yang pertama keluar dipakai untuk pemeriksaan, serta terjadi bekuan dalam tetes darah karena kinerja ATLM terlalu lambat. Usaha melancarkan pengeluaran darah dengan memijat menyebabkan darah yang keluar tercampur dengan cairan jaringan sehingga hasil pemeriksaan jumlah trombosit menunjukkan hasil lebih rendah dari

yang sebenarnya (Gandasoebrata, 2013). Sampel dalam mikropipet EDTA dapat langsung dianalisis tidak lebih dari 10 menit setelah dikumpulkan agar diperoleh hasil optimal (Medonic, 2016).

#### 2.4.2 Darah Vena

Pengambilan darah vena untuk orang dewasa dilakukan pada *vena difossa cubiti*, sedangkan pada anak-anak atau bayi apabila terpaksa diambil dari *vena jugularis eksterna*, *vena femoralis* dan dari *sinus sagittalis superior*. Pengambilan darah vena perlu dilakukan dengan hati-hati dan seksama, karena bahaya yang terjadi jauh lebih besar daripada pengambilan darah kapiler. Hal-hal yang perlu diperhatikan, daerah yang akan ditusuk harus diperiksa dengan seksama antara lain letak dan ukuran vena (Riswanto, 2013).

Kesalahan dalam pengambilan darah vena antara lain menggunakan spuit dan jarum yang basah, mengenakan ikatan pembendung terlalu lama atau terlalu keras sehingga dapat mengakibatkan hemokonsentrasi. Bekuan darah dalam spuit dapat terjadi karena kinerja yang lambat, dan bekuan dalam botol dapat terjadi karena darah tidak tercampur merata dengan antikoagulan (Gandasoebrata, 2013). Pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan *hematology analyzer*. Sampel darah vena harus dihomogenkan dengan antikoagulan EDTA selama 10-15 menit untuk mengurangi resiko hemolisis sampel darah. Sampel yang dihomogenkan kemudian selanjutnya dilakukan pengukuran untuk memperoleh hasil yang sesuai (Medonic, 2016).

### 2.4.3 Perbedaan Jumlah Trombosit Darah Kapiler dan Darah Vena

Darah kapiler dan vena memiliki susunan darah yang berbeda. Spesimen darah kapiler adalah campuran dari darah arteri dan darah vena. Jumlah trombosit lebih tinggi pada darah vena dibanding darah kapiler. Perbedaannya sekitar 9%-32% pada keadaan tertentu seperti terjadi adhesi trombosit pada tempat kebocoran kulit (Dacie and Lewis, 2010). Pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan darah kapiler pada *hematology analyzer* akan terjadi perlekatan trombosit pada jaringan dan dinding kapiler serta ketidakpresisian dalam prosedur penyiapan dan pengambilan darah. Perbedaan antara nilai darah kapiler dan darah vena dapat terjadi trombosit diperkirakan lebih rendah 5–10% dibanding jumlah trombosit darah vena (Medonic, 2016).

### 2.5 Sumber Kesalahan Pemeriksaan Jumlah Trombosit

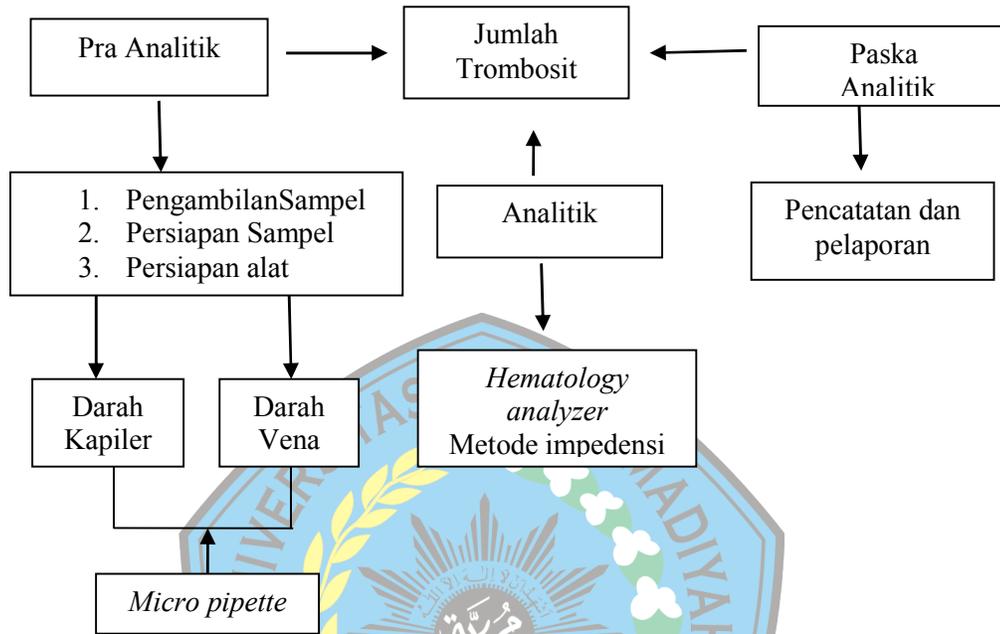
Pemeriksaan laboratorium membutuhkan ketelitian dan ketepatan yang tinggi. Akurasi hasil pemeriksaan jumlah trombosit tergantung dari ketepatan perlakuan pada tahap pra analitik, analitik dan paska analitik (Kemenkes, 2011). Tahap Pra Analitik atau tahap persiapan awal menentukan kualitas sampel yang akan dihasilkan dan berpengaruh terhadap proses kerja berikutnya. Tahap pra analitik meliputi pengambilan dan persiapan sampel. Sebelum pengambilan spesimen form permintaan laboratorium diperiksa. Identitas pasien harus ditulis dengan benar (nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medis dan sebagainya) disertai diagnosis atau keterangan klinis (Budiwiyono, 2002).

Tehnik atau cara pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai *Standard Operating Procedure (SOP)* yang ada. Volume darah mencukupi, kondisi baik, tidak lisis, segar atau tidak kadaluarsa, tidak berubah warna, dan tidak berubah bentuk. Pemakaian antikoagulan EDTA harus tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat dan identitas sesuai dengan data pasien. Penggunaan mikropipet untuk pengambilan sampel harus sesuai SOP. Kalibrasi dan kontrol alat dilakukan dengan benar, dan secara berkala (Medonic, 2016).

Tahap analitik adalah tahap pengerjaan pengujian sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan. Tahap analitik perlu memperhatikan reagen, alat, metode pemeriksaan, pencampuran sampel dan proses pemeriksaan. *Reagent lyse* habis sehingga seluruh sel tidak dihancurkan saat pengukuran sel tertentu. Pemeriksaan dengan tabung terbuka, 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 (Medonic, 2016).

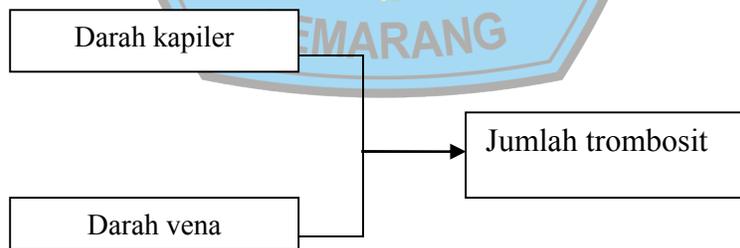
Tahap paska analitik adalah tahap akhir pemeriksaan yang dikeluarkan untuk meyakinkan bahwa hasil pemeriksaan yang dikeluarkan benar-benar valid dan sesuai dengan petunjuk pelaksanaan kerja. Tahap paska analitik meminimalis terjadinya kesalahan. Tahap paska analitik diantaranya pencatatan hasil pemeriksaan, dan pelaporan (Danis, 2010).

## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 4. Skema Kerangka Teori

## 2.7 Kerangka Konsep



Gambar 5. Skema Kerangka Konsep

## 2.8 Hipotesis

Terdapat perbedaan jumlah trombosit pada darah kapiler dan darah vena menggunakan *micro pipette hematology analyzer*.