

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Pustaka

##### 2.1.1 Flow Cytometry

Sejarah perkembangan flow cytometry

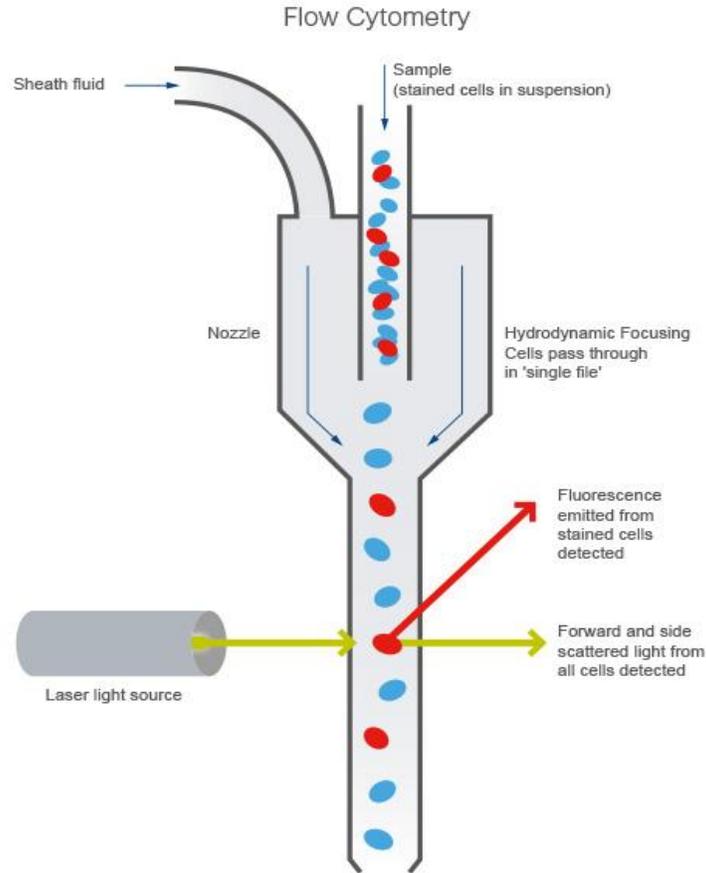
Tahun 1934, Moldavan pertama kali memperkenalkan alat hitung sel darah otomatis dengan metode *flow through*. Kemudian, pada 1950 dikomersialkan alat dengan metode impedansi, tetapi masih menggunakan pengenceran bahan di luar alat. Sepuluh tahun kemudian, pengenceran tidak dilakukan di luar alat, tapi secara otomatis.

Tahun 1953, Crossland and Taylor memperkenalkan teknik penghitungan sel darah, di mana sel dialirkan dalam saluran tunggal, menggunakan bahan cair sebagai laminar *sheat flow*, dan sel diperiksa dengan metode pendar cahaya.

Tahun 1965, diperkenalkan pengukuran sel dengan pendar cahaya yang ditangkap oleh detektor di lebih dari satu sudut dan menggunakan sinar dengan intensitas kuat, yaitu sinar laser. Sinar ini oleh sel dapat dipantulkan, dibiaskan, bahkan menembus ke dalam sel, sehingga dapat mendeteksi intrasel.

Metode flow cytometry terus berkembang dengan perkembangan elektrik komputer dan reagen, termasuk digunakannya monoklonal antibodi. Sampai saat ini, pengukuran dengan metode flow cytometry menggunakan label fluoresensi, selain mengukur jumlah, ukuran sel, juga dapat mendeteksi petanda dinding sel, granula intraselular, struktur intra sitoplasmik, dan inti sel ([gubuknoer .blogspot.com/2013/05/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/05/flow-cytometry.html)).

##### 2.1.2 Definisi dan prinsip kerja flow cytometry



Gambar. 2.1 Prinsip kerja Metode Flowcytometri (CELL-DYN Sapphire hematology Monograph Series, Volume 4.)

Flow cytometry adalah metode pengukuran (*metri*) jumlah dan sifat-sifat sel (*cyto*) yang dibungkus oleh aliran cairan (*flow*) melalui celah sempit yang ditembus oleh seberkas sinar laser. Sel yang melewati berkas sinar laser menimbulkan sinyal elektronik yang dicatat oleh instrumen sebagai karakteristik sel bersangkutan. Karakteristik setiap molekul pada permukaan sel maupun yang terdapat di dalam sel dapat diidentifikasi dengan menggunakan satu atau lebih *probe*. Instrumen dapat mengidentifikasi setiap jenis aktivitas sel dan menghitung jumlah masing-masing dalam suatu populasi campuran ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

Setiap sel yang melewati berkas sinar laser akan menyebabkan sinar laser terpancar (*scattered*) ke dua arah, yaitu *forward scatter* (FSC) yang paralel dengan arah sinar dan *side*

*scatter* (SSC) yang arahnya tegak lurus pada arah sinar laser. Besarnya FSC berbanding lurus dengan atau menggambarkan volume atau ukuran sel. Sel yang mati (walaupun penampakan mikroskopis sebaliknya), terlihat lebih kecil dibanding sel hidup. Sel darah merah juga berbeda dengan sebenarnya, umumnya lebih kecil dari semua sel darah. Adapun SSC ditentukan oleh morfologi dan emisi sinar fluoresen yang dipancarkan oleh fluorokrom yang digunakan untuk mewarnai sel. Sinyal-sinyal itu dikonversikan menjadi angka digital dan diperlihatkan pada suatu histogram yang dapat dianalisis untuk memperoleh informasi tentang karakteristik sel bersangkutan.

Identifikasi antigen, dapat digunakan berbagai zat pewarna fluorokrom. Fluorokrom merupakan suatu senyawa fluoresein yang dapat berpendar saat mengalami eksitasi oleh sinar dengan panjang gelombang tertentu. Berikut beberapa fluorokrom yang sering digunakan dalam flow cytometry, yaitu *fluorescein isothiocyanate* (FITC) yang memancarkan sinar hijau-kuning dengan emisi 519 nm, 4,6-Diamidino 2-Phenylindole (DAPI) dengan emisi 455 nm, *propidium iodide* (PI) dengan emisi 617 nm dan *phycoerythrin* (PE) yang memancarkan sinar merah-oranye dengan emisi 578 nm ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

### **2.1.3 Kegunaan flow cytometry**

Flow cytometry merupakan sebuah metode yang secara luas digunakan untuk meneliti ekspresi permukaan sel dan molekul seluler, menggolongkan dan mendeskripsikan tipe sel yang berbeda dalam populasi sel yang heterogen, menaksirkan kemurnian subpopulasi yang terisolasi, dan menganalisis ukuran dan jumlah sel ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

Flow cytometry dengan *cell sorting* (*fluorescence activated cell sorter*, FACS) memiliki aplikasi dalam sejumlah bidang, termasuk biologi molekuler, patologi, imunologi, biologi tanaman, dan biologi kelautan. Beberapa di antaranya, meliputi:

- a. Analisis dan pemisahan subpopulasi limfosit dengan menggunakan antibodi monoklonal terhadap antigen permukaan yang diberi label dengan zat warna fluorokrom.
- b. Pemisahan limfosit yang memproduksi berbagai kelas imuno globulin dengan menggunakan antibodimonoklonal terhadap kelas dan subkelas Ig spesifik dan tipe L-chain.
- c. Memisahkan sel hidup dari sel mati.
- d. Analisis kinetik atau siklus sel dan kandungan DNA atau RNA.

#### **2.1.4 Flow Cytometer**

Flow cytometer merupakan salah satu instrumen yang menggunakan metode flowcytometry. Alat tersebut memiliki kemudahan serta keunggulan dibanding dengan cara konvensional. Alat ini juga selain dapat mengukur berbagai macam karakteristik sel dalam waktu yang cepat secara simultan, teknologi ini juga memiliki ketepatan dan ketelitian yang tinggi.

Flow cytometer pada dasarnya adalah mikroskop yang dilengkapi dengan komponen yang berfungsi untuk melakukan individu sel secara sekuensial melalui berkas cahaya (laser) yang akan dianalisis. Komponen penyusunnya terdiri atas tiga sistem, yaitu fluida, optik, dan elektronik ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

##### **2.1.4.1 Sistem fluida**

Sistem fluida mengarahkan sel melalui cahaya (laser) untuk dianalisis, terdiri dari *sheath fluid* dan *central channel*. Tenaga hidrodinamik mengakibatkan sel satu per satu melewati *central channel*. Fluida merupakan bagian yang paling sensitif pada flow cytometer jika terjadi kesalahan, semuanya akan salah dan fatal. Masalahnya sebagai berikut:

- a) *Clogs*, celah pada aliran larutan sangat kecil.
- b) Gelembung udara, akan mengganggu aliran dan yang akan diinterpretasikan sebagai sel.

- c) *Leaks*, kurangnya tekanan udara dalam sistem akan mengganggu aliran selular dan akan memengaruhi hasil.
- d) *Errors*, yang paling umum memengaruhi fluida adalah:
1. *Clumps of cells*. Hal ini akan “*clog*” mesin dan berakibat kesulitan utama dan “*headaches*”. Kejadian ini dapat diatasi dengan pre-filtrasi populasi sel tidak lebih besar dari 50 um filter.
  2. Konsentrasi sel yang tidak sesuai. Semua larutan memiliki proporsi partikel debu yang rendah. Suatu flow rate yang lebih besar sekitar 4.000 sel/sekon meningkatkan resiko pada pengukuran *multiple cell* secara simultan.

#### 2.1.4.2 Sistem optik

Sistem optik terdiri atas laser sebagai sumber cahaya dan mengeksitasi (fluorokrom) sel dalam aliran sampel, serta filter optik untuk mengarahkan sinyal cahaya yang dihasilkan ke detektor yang sesuai.

Alasan penggunaan laser, karena kemampuannya untuk difokuskan menjadi berkas cahaya elliptis. Ini terkait dengan komponen-komponen fluida terkait. Laser memancarkan cahaya koheren dan merupakan berkas sangat paralel. Hal ini memungkinkan dasar pengukuran yang berbasis pada gangguan berkas (*beam disturbance*) dapat dilakukan (*forward scatter, side scatter*). Penggunaan berkas terfokus yang elliptis dapat menghasilkan hanya cahaya fluoresensi dari *single cell (size dependent)* yang dapat diukur setiap saat ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

Pengukuran sel pada flow cytometer menggunakan prinsip pendar cahaya (*light scattering*). Prinsip *light scattering* adalah metode di mana sel dalam suatu aliran melewati celah di mana berkas cahaya difokuskan ke sel (*sensing area*). Apabila cahaya tersebut mengenai sel,

akan dihamburkan, dipantulkan, atau dibiaskan ke semua arah. Beberapa detektor yang diletakkan pada sudut-sudut tertentu akan menangkap berkas-berkas sinar sesudah melewati sel. satu detektor diletakkan berhadapan dengan sumber sinar *Forward Scater* (FSC), beberapa diletakkan dengan membentuk sudut *Side Scater* (SSC), dan detektor fluoresen. FSC berkorelasi dengan volume atau ukuran sel, sedangkan SSC berhubungan dengan kompleksitas bagian dalam partikel, seperti ukuran nukleus, tipe granula sitoplasma, dan kekasaran membran plasma ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

Deteksi sinyal dilaksanakan dengan menggunakan kombinasi photomultiplier (cathode-ray) dan rangkaian elektronika. Sinyal yang dibangkitkan oleh setiap sel pada dasarnya merupakan *oscilloscope trace*. Dengan melakukan integrasi sinyal ini, akan dihasilkan suatu nilai numerik bagi fluoresensi maupun nilai SSC ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

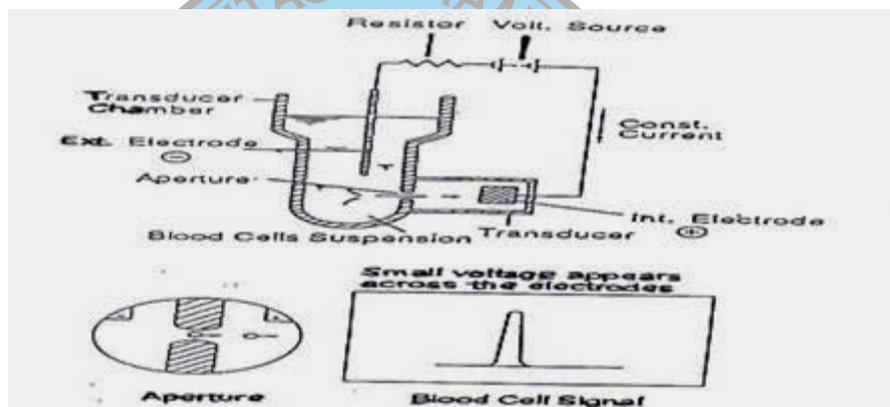
#### **2.1.4.3 Sistem elektronik**

Sistem elektronik berfungsi untuk mendeteksi cahaya dan mengubahnya ke bentuk sinyal digital. Data yang dihasilkan oleh flow cytometer dapat diplot dalam satu dimensi, untuk menghasilkan histogram atau dalam dua dimensi plot titik, atau bahkan dalam tiga dimensi. Plot sering dibuat pada skala logaritmik, karena emisi pewarna fluoresen yang berbeda. Data akumulasi menggunakan flow cytometer dapat dianalisis menggunakan perangkat lunak komputer, seperti WinMDI Flowjo, FCS Ekspres, Venturi One, CellQuest Pro, atau Cytospec ([gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html](http://gubuknoer.blogspot.com/2013/09/flow-cytometry.html)).

#### **2.1.2 Impedance**

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 diluent / Sys DIL, akan melalui mikroaperture yang dipasang dua elektroda pada dua sisinya (sisi vakum dan konstan) yang pada masing-masing arus listrik berjalan secara kontinyu, maka akan terjadi peningkatan resistensi listrik (impedansi) pada kedua elektroda sesuai dengan volume sel (ukuran sel) yang melewati. Impulse voltage yang dihasilkan oleh amplifier circuit ditingkatkan dan dianalisa oleh elektronik system, lalu Hemoglobin diukur dengan melisiskan *Red Blood Cells* (RBC) dengan Sys LYSE membentuk methemoglobin/cyanmethemoglobin dan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm pada chamber. Hasil yang didapat diprintout pada printer berupa nilai dan grafik sel.



Gambar 2.2 Metode Deteksi tahanan listrik (*CELL-DYN Sapphire hematology Monograph Series, Volume 4.*)

## 2.1.3 Trombosit

### 2.1.3.1 Definisi Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit yang tidak berinti dan terbentuk di sumsum tulang. Trombosit matang berukuran 2-4  $\mu\text{m}$ , berbentuk cakram bikonveks. Setelah keluar dari sumsum tulang, sekitar 20-30% trombosit mengalami sekustrasi di limpa (Kosasih, 2008).

Trombosit (keping-keping darah) adalah fragmen sitoplasmik tanpa inti berdiameter 2-4 $\mu$ m yang berasal dari megakariosit. Jumlah trombosit normal dalam darah tepi adalah 150.000 – 400.000 / $\mu$ l dengan proses pematangan selama 7-10 hari di dalam sumsum tulang. Trombosit dihasilkan oleh sumsum tulang (stem sel) yang berdiferensiasi menjadi megakariosit. Megakariosit ini melakukan reflikasi inti endomitotiknya kemudian volume sitoplasma akan membesar seiring dengan penambahan lobus inti, kemudian sitoplasma menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk platelet atau keping-keping. Enzim pengatur utama produksi trombosit adalah trombopoetin yang dihasilkan dari hati dan ginjal. Trombosit berperan penting dalam hemopoiesis dan penghentian perdarahan dari cedera pembuluh darah. Trombosit atau platelet sangat penting untuk menjaga hemostasis tubuh. Abnormalitas pada vaskuler, trombosit, koagulasi atau fibrinolisis akan mengganggu hemostasis sistem vaskuler yang mengakibatkan perdarahan abnormal/gangguan perdarahan (sheewood,2011).

Trombosit adalah salah satu sel darah yang fungsinya untuk proses pembekuan darah. Nama lain dari trombosit adalah platelet. Trombosit merupakan sel yang memiliki peran sangat penting ketika terjadinya luka atau kebocoran pada pembuluh darah. Jumlah trombosit normal dalam tubuh manusia adalah 150.000 – 400.000 trombosit per mikro-liter darah. Keadaan dimana seseorang memiliki jumlah trombosit di bawah 150.000 atau kurang dari normal disebut Trombositopenia, sedangkan jika jumlah trombosit lebih tinggi dari 400.000 disebut Trombositosis. Masa hidup trombosit hanya berlangsung sekitar 5 – 9 hari di dalam darah. Trombosit yang tua dan rusak akan dihilangkan dari aliran darah oleh organ limpa, kemudian digantikan oleh trombosit baru ( <http://www.ilmudasar.com/2016>).

Trombosit merupakan sel kecil yang berdiameter rata-rata 1,5-3 $\mu$ m. trombosit dihasilkan dan dilepas dari megakariosit yang ada di sumsum tulang dengan waktu maturasi 4-5

hari, dan masa hidup dari sirkulasi 9-10 hari. Jumlah trombosit dalam darah vena orang dewasa normal rata-rata 200.000-500.000 / $\mu$ l darah (Bakta, 2007).

Trombosit memiliki zona luar yang jernih dan zona dalam yang berisi organel-organel sitoplasmik. Permukaan trombosit diselubungi oleh reseptor glikoprotein yang digunakan untuk reaksi adhesi dan agregasi yang mengawali pembentukan sumbat hemostasis. Energi yang diperoleh trombosit untuk kelangsungan hidupnya berasal dari fosforilasi oksidatif (dalam mitokondria) dan glikolisis anaerob (Aster, 2007).

### 2.1.3.2 Fungsi trombosit

Seperti yang telah kami singgung sebelumnya, fungsi utama trombosit atau platelet adalah untuk pembekuan darah. Ketika pembuluh darah luka atau bocor, maka tubuh akan melakukan 3 mekanisme utama untuk menghentikan perdarahan yang sedang berlangsung, yaitu :

1. Melakukan pengkerutan (kontriksi) pada bagian pembuluh darah yang terluka.
2. Aktivitas trombosit.
3. Aktivitas komponen pembekuan darah lainnya di dalam plasma darah.

Setiap perubahan yang terjadi pada tubuh akan terdeteksi, demikian pula jika terjadi perdarahan. Reaksi pertama yang dilakukan oleh tubuh adalah dengan mengkerutkan pembuluh darah yang terluka, tujuannya adalah agar darah yang keluar lebih sedikit karena lubang kebocoran mengecil. Reaksi tersebut akan memicu trombosit menempel pada area pembuluh darah yang cedera. Trombosit ini akan memberikan sinyal kepada trombosit lain dan berbagai faktor pembekuan darah agar menuju ke area cedera untuk membantunya menutup luka. Bentuk trombosit yang awalnya bulat sedikit berubah menjadi berduri (seperti tentakel), ini berfungsi agar perlekatan antar trombosit lebih mudah terjadi. Diwaktu dan tempat yang sama, berbagai

protein pembekuan darah terlarut, yaitu fibrinogen (karena adanya trombin dari trombosit) menjadi aktif dan berubah menjadi fibrin. Fibrin berbentuk serat panjang yang tidak larut sehingga dia akan menempel pada kumpulan trombosit membentuk struktur seperti jaring – jaring. Serat fibrin ini bersifat lengket sehingga akan mengumpulkan trombosit, sel darah merah dan sel darah putih yang lewat. Setelah luka tertutup dengan baik maka akan diberikan sinyal yang membuat proses pembekuan darah berhenti. Tanpa pengendalian berhentinya proses pembekuan darah maka akan berbahaya karena luka kecil bisa menyebabkan gumpalan di seluruh tubuh.

### **2.1.3.3 Proses kerja trombosit**

Proses kerja trombosit dalam membentuk penyumbat luka terdiri dari beberapa tahapan, yaitu :

#### **2.1.3.3.1 Adhesi Trombosit**

Adhesi trombosit adalah perlekatan antar trombosit dengan jaringan endotel serta jaringan yang cedera sehingga tertutupnya luka pada pembuluh darah. Proses perlekatan ini akan membuat terjadinya interaksi antara permukaan trombosit dengan jaringan cedera sehingga meningkatkan daya lekat trombosit dan memanggil faktor koagulasi lainnya.

#### **2.1.3.3.2. Agregasi Trombosit**

Agregasi trombosit adalah kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk sumbatan. Trombosit yang melekat pada jaringan cedera saat proses adhesi akan membuat trombosit lainnya melekat kepadanya sehingga sumbatan menutup luka tersebut. Pembentukan sumbatan ini tidak boleh berlebihan, karena akan berbahaya dan menyebabkan tersumbatnya seluruh pembuluh darah.

#### **2.1.3.3.3. Pembebasan Trombosit**

Pembebasan trombosit adalah reaksi untuk membentuk sumbatan (koagulasi) trombosit yang stabil. Proses ini dipicu oleh pelepasan isi granula trombosit, diantaranya adalah ADP , kolagen, epinefrin, dll. Pelepasan ini membuat trombosit berubah dari bentuk piringan menjadi bulat (<http://www.ilmudasar.com/2016>).

#### **2.1.3.3.4. Fusi Trombosit**

Fusi trombosit merupakan reaksi gabungan trombosit yang bersifat irreversibel. Proses ini dipicu karena tingginya kadar ADP dan komponen lain yang keluar akibat reaksi pelepasan. Komposisi fibrin akan memperkuat jaringan baru yang terbentuk pada daerah luka. Fusi trombosit ini bersifat *irreversible* (<http://www.ilmudasar.com/2016>).

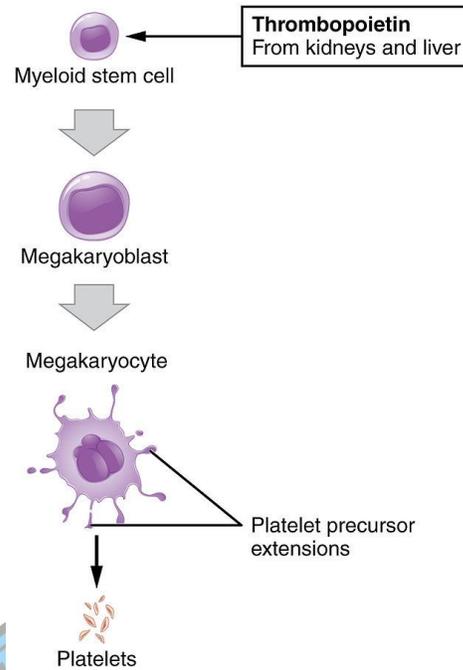
#### **2.1.3.4 Batasan fungsi trombosit**

Penggumpalan trombosit yang terus menerus dapat menyebabkan tersumbatnya pembuluh darah secara keseluruhan. Hal ini dapat sangat berbahaya bagi tubuh. Karena itu trombosit dapat mengeluarkan bahan yang membatasi luas penggumpalannya. Bahan utama yang menja lankan fungsi ini adalah tromboksan A<sub>2</sub>, yang menyebabkan pembatasan trombosit tersebut.

Jaringan cedera juga mengeluarkan protasiklik I<sub>2</sub> yang fungsinya berlawanan dengan tromboksan A<sub>2</sub>. Tujuannya adalah agar jaringan cedera tetap memiliki trombosit yang aktif. Kedua komponen ini bekerja secara seimbang sehingga luka tetap dijaga oleh trombosit dan juga tidak terbentuknya gumpalan yang berlebihan di daerah luka tersebut.

#### **2.1.3.5 Proses terbentuknya trombosit**

Proses pembentukan dan perkembangan semua sel darah dari prekursor induknya disebut Hemopoiesis. Sel darah pada orang dewasa dibentuk di sumsum tulang. Sedangkan saat masa janin, hemopoiesis terjadi di yolk, kemudian pindah ke hati dan limpa, hingga akhirnya ke tulang.



*Gambar 2.3 Proses megakariopoiesis (Guyton dan Hall, 2008).*

Pembentukan trombosit disebut megakariopoiesis karena dihasilkan dari sumsum tulang dengan fragmentasi sitoplasma megakariosit. Prekursor megakariosit – megakarioblas timbul dengan proses diferensiasi dari sel asal hemopoietik. Megakariosit saat proses replikasinya akan memperbesar volume sitoplasma ketika jumlah inti meningkat menjadi dua kali lipat (<http://www.ilmudasar.com/2016>).

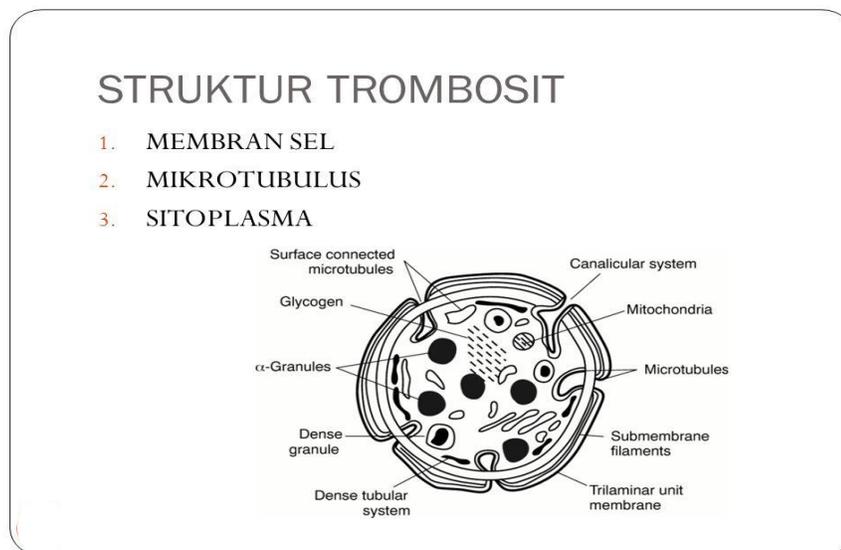
Proses replikasi yang ke 8 kali, pertumbuhan sel tersebut akan berhenti. Sitoplasma akan membentuk granular dan trombosit dibebaskan. Tiap megakariosit dapat menghasilkan sekitar 4000 buah trombosit. Trombosit ini berada di bawah kontrol sebuah zat yang disebut trombopoietin (dihasilkan oleh ginjal dan hati). Trombosit baru yang terbentuk memiliki kapasitas hemostatik yang lebih kuat dan berukuran sedikit lebih besar.

Trombosit dibentuk di sumsum tulang dari megakariosit, yaitu sel yang sangat besar dalam susunan hemopoietik dalam sumsum tulang belakang yang memecah menjadi trombosit, baik dalam sumsum tulang atau segera setelah memasuki darah, khususnya ketika mencoba untuk

memasuki kapiler paru. Konsentrasi normal trombosit dalam darah adalah antara 150.000-350.000 / $\mu$ l (Guyton dan Hall, 2008).

### 2.1.3.6 Struktur trombosit

Trombosit berukuran sekitar 1 – 4 mikron, bagian selnya membentuk seperti piringan, dan trombosit tidak memiliki inti sel. Walaupun tidak memiliki inti, trombosit masih dapat melakukan sintesis protein karena memiliki kandungan RNA di dalam sitoplasmanya. Diameter selnya berkisar antara 2-3 mikro.



Gambar 2.4 Struktur Trombosit (Guyton dan Hall, 2008).

Trombosit memiliki sistem membran tiga lapis (trilaminar) dan sistem membran yang memiliki ruang (kanalikuli). Membran ini berfungsi sebagai pelindung trombosit dari lingkungan luar sel. Membran trombosit ini kaya akan fosfolipid yang akan membantu dalam proses pembekuan darah. Pada bagian sub membran trombosit terdapat komponen mikrofilamen yang disebut trombastin. Komponen ini memiliki fungsi seperti aktomiosin yang berperan dalam kontraksi otot. Di dalam sitoplasma trombosit terdapat berbagai organel sel organel dan struktur penting lainnya, antara lain adalah mikrotubulus, nukleotida, lisosom, granula, dll. Antigen

trombosit, pada permukaan trombosit juga ditemukan antigen penting yang merupakan penyebab penyakit autoimun terhadap trombosit. Atigen ini disebut *Human Platelet Antigen* (HPA).

(<http://www.ilmudasar.com/2016/10/Pengertian-Struktur-Bentuk-Fungsi-Proses-Pembentukan-Trombosit-adalah.html>)

## **2.1.4 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Hitung Jumlah Trombosit**

### **2.1.4.1 Faktor Patologis**

1. Perbandingan volume darah dengan antikoagulant tidak sesuai dapat menyebabkan kesalahan pada hasil :
  - a. Volume terlalu sedikit (1-1,5 mg Na<sub>2</sub>EDTA/ml darah untuk Na<sub>2</sub>EDTA kering dan 10 µl/1ml darah untuk EDTA cair) sel-sel eritrosit mengalami krenasi, sedangkan trombosit membesar dan mengalami disintegrasi. Dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun.
  - b. Volume terlalu banyak (1-1,5 mg Na<sub>2</sub>EDTA/ml darah untuk Na<sub>2</sub>EDTA kering dan 10 µl/1 ml darah untuk EDTA cair) dapat menyebabkan terbentuknya jendal yang berakibat menurunnya jumlah trombosit. (Child J.A, 2010)

### **2.1.4.2 Faktor Laboratoris**

1. Faktor Pra Analitik

Faktor pra analitik merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan digunakan pada tahap-tahap selanjutnya. Pada tahap ini meliputi : ketatusahaan, persiapan penderita, pengumpulan specimen, 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).

2. Analitik

- a. Pemeliharaan dan Kalibrasi alat

b. Kualitas reagen

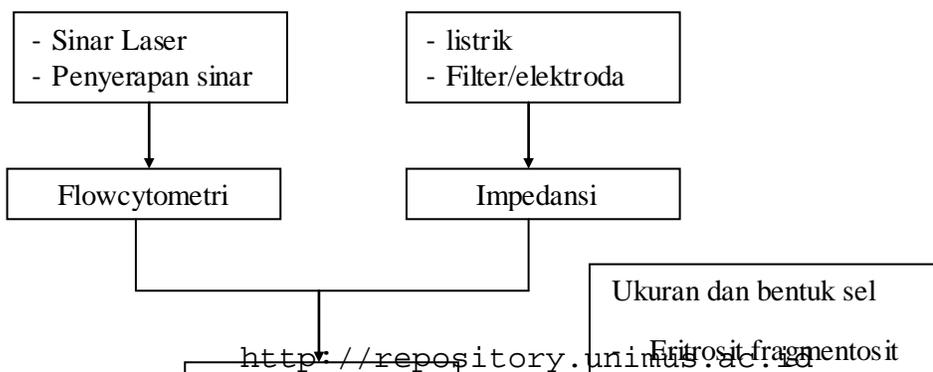
Reagen hargus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatnya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan expirednya. Pemakaian reagen yang sudah rusak oleh karena expired maupun salah dalam suhu penyimpanan akan menyebabkan penurunan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit (Nurrachmt H,2015).

### 2.1.4 Trombositopenia

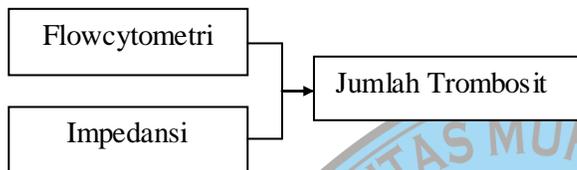
Trombositopenia adalah suatu keadaan dimana jumlah trombosit dalam tubuh menurun atau berkurang dari jumlah normalnya. Perlu diketahui bahwa jumlah trombsit normalnya 150.000 -450.000 per mikroliter darah. Jika jumlah trombosit kurang dari 150.000 per mikroliter darah, maka keadaan ini di sebut trombositopenia (<http://mediskus.com/trombositopenia>).

Pseudotrombositopenia akibat trombosit raksasa (Giant Platelet) pada keadaan normal dan keadaan patologis tertentu, sejumlah kecil trombosit memiliki volume besar dan disebut sebagai trombosit raksasa (giant platelet). Beberapa alat *hematology analyzer* menghitung partikel yang memiliki volume 30-36 fl (atau hingga 60 fl pada bebrapa metode pemeriksaan dengan sinar laser) sebagai trombosit sehingga trombosit berukuran lebih dari 40 fl mungkin tidak terdeteksi. kondisi patologis, seperti kelainan mieloproliferatif maupun *myelodysplastic syndroms*, terkadang trombosit yang berukuran sebesar leukosit tidak dihitung sebagai trombosit, melainkan sebagai leukosit maupun eritrosit (Liong Boy Kurniawan, 2014)

## 2.2 Kerangka Teori



### 2.3 Kerangka Konsep



### 2.4 Hipotesa

Terdapat perbedaan hasil jumlah trombosit pada penderita trombositopenia metode impedance dan floctometri



