

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Darah

2.1.1 Pengertian Darah

Darah adalah sejenis jaringan ikat yang sel-selnya tertahan di bawah dalam matriks cairan (Plasma). Darah lebih berat dibandingkan air dan lebih kental. Cairan tubuh ini memiliki rasa dan bau yang khas dan pH 7,4. Warna darah bervariasi dari merah terang sampai merah tua kebiruan, bergantung pada kadar oksigen yang dibawah sel darah merah.

Volume darah total sekitar 5 liter pada laki-laki dewasa berukuran rata-rata, dan kurang sedikit pada perempuan dewasa. Volume ini bervariasi sesuai ukuran tubuh dan berbanding terbalik dengan jumlah jaringan tubuh. Volume ini juga bervariasi sesuai perubahan cairan darah dan konsentrasi elektrolitnya (Sloane, 2003).

Bagian interseuler adalah cairan yang disebut plasma dan di dalamnya terdapat unsur-unsur padat, yaitu sel darah. Volume secara keseluruhan kira-kira merupakan satu perdua belas berat badan atau kira kira 5 liter. Sekitar 55 persennya adalah cairan, sedangkan 45 persen sisanya terdiri atas sel darah. Angka ini dinyatakan dalam nilai hematokrit atau volume sel darah yang di padatkan yang berkisar antara 40 sampai 47. Di waktu sehat volume darah adalah konstan dan sampai batas tertentu di atur oleh tekanan osmotik dalam pembuluh darah dan jaringan (Evelyn, 2000 dalam Harjo, 2011).

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup, mulai dari binatang primitif sampai dengan manusia. Dalam keadaan fisiologik, darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi; dan mekanisme hemostasis (Bakta, 2007 dalam Harjo, 2011).

2.1.2 Fungsi Darah

Fungsi darah pada sistem sirkulasi yaitu :

1. Berfungsi untuk mentransport oksigen keseluruh tubuh jaringan melalui peningkatan hemoglobin terhadap oksigen
2. Berperan penting dalam pengaturan pH darah karena ion bikarbonat dan hemoglobin merupakan buffer asam-basa.
3. Berfungsi untuk melindungi tubuh dari invasi benda asing termasuk bakteri dan virus.
4. Berfungsi dalam hemostasis dan perbaikan pembuluh darah yang robek (Sloane, 2003).

2.1.3 Komponen Darah

2.1.3.1 Plasma Darah

Plasma darah adalah cairan bening kekuningan yang unsur pokoknya sama dengan sitoplasma. Plasma darah terdiri dari 92% air dan mengandung campuran kompleks zat organik dan anorganik. Protein plasma mencapai 7% plasma dan merupakan satu-satunya unsur pokok plasma yang tidak menembus membran kapiler untuk mencapai sel. Ada tiga jenis protein plasma yaitu :

1. Albumin adalah protein plasma yang terbanyak, sekitar 55 – 60%, tetapi ukurannya paling kecil. Albumin disintesis dalam hati dan bertanggung jawab untuk tekanan osmotik koloid darah.
2. Globulin membentuk sekitar 30% protein plasma. Alfa beta globulin disintesis dihati dengan fungsi utama sebagai molekul pembawa lipid, beberapa hormon, berbagai substrat dan zat penting tubuh lainnya. Dan gamma globulin (*Imunoglobulin*) adalah antibodi. Ada lima jenis *imunoglobulin* yang diproduksi jaringan limfoid dan berfungsi dalam imunitas
3. Fibrinogen membentuk 4% protein plasma, disintesis di hati dan merupakan kompoenen esensial dalam mekanisme pembekuan darah (Sloane, 2003).

2.1.3.2 Sel Darah

1. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit berbentuk lempeng bikonkaf, yang merupakan sel gepeng berbentuk piringan yang dibagian tengah dikedua sisinya mencekung, seperti sebuah donat dengan bagian tengah mengepeng bukan berlubang. Dengan diameter 8 μm , tepi luar tebalnya 2 μm dan bagian tengah 1 μm (Sherwood, 2001). Sel darah merah memiliki struktur yang jauh lebih sederhana dibandingkan kebanyakan sel pada manusia. Pada hakikatnya, sel darah merah merupakan suatu membran yang membungkus larutan hemoglobin (protein ini membentuk sekitar 95% protein intrasel sel darah merah), dan tidak memiliki organel sel, misalnya mitokondria, lisosom atau aparatus Golgi. Sel darah manusia, seperti sebagian sel darah merah pada hewan, tidak berinti. Namun, sel darah merah tidak inert secara metabolis. Melalui proses glikolisis, sel darah merah membentuk ATP yang

berperan penting dalam proses untuk memperthankan bentuknya yang bikonkaf dan juga dalam pengaturan transpor ion (mis. oleh Na^+-K^+ ATPase dan protein penukar anion serta pengaturan air keluar-masuk sel). Bentuk bikonkaf ini meningkatkan rasio permukaan-terhadap-volume sel darah merah sehingga mempermudah pertukaran gas. Sel darah merah mengandung komponen sitoskeletal yang berperan penting dalam menentukan bentuknya (Murray, Darly & Victor, 2009).

2. Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah putih, leukosit (bahasa Inggris: *white blood cell*, *WBC*, *leukocyte*) adalah sel yang membentuk komponen darah. Sel darah putih ini berfungsi untuk membantu tubuh melawan berbagai penyakit infeksi sebagai bagian dari sistem kekebalan tubuh. Sel darah putih tidak berwarna, memiliki inti, dapat bergerak secara amoeboid, dan dapat menembus dinding kapiler/diapedesis. Dalam keadaan normalnya terkandung 4×10^9 hingga 11×10^9 sel darah putih di dalam seliter darah manusia dewasa yang sehat - sekitar 7000-25000 sel per tetes (Sloane, 2003)

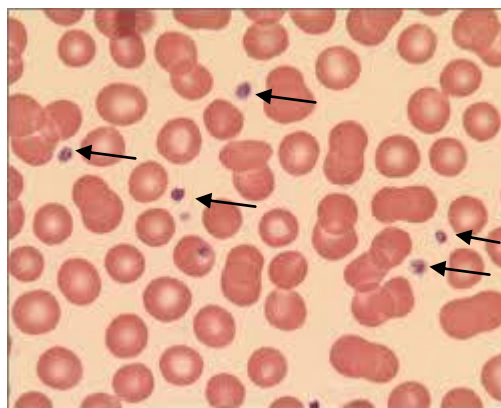
3. Trombosit

a. Pengertian Trombosit

Keping darah, lempeng darah, trombosit (en:*platelet*, *thrombocyte*) adalah sel *anuclear* nulliploid (tidak mempunyai nukleus pada DNA-nya) dengan bentuk tak beraturan dengan ukuran diameter 2-3 μm . Keping darah tersirkulasi dalam darah dan terlibat dalam mekanisme hemostasis tingkat sel dalam proses pembekuan darah dengan membentuk darah beku. Rasio plasma keping darah

normal berkisar antara 200.000-300.000 keping/mm³, nilai dibawah rentang tersebut dapat menyebabkan pendarahan, sedangkan nilai di atas rentang yang sama dapat meningkatkan risiko trombosis. Trombosit memiliki bentuk yang tidak teratur, tidak berwarna, tidak berinti, berukuran lebih kecil dari eritrosit dan leukosit, dan mudah pecah bila tersentuh benda kasar (Campbell, 2008).

Kelainan jumlah trombosit yang sering terjadi biasanya adalah trombositopenia yaitu penurunan jumlah trombosit di bawah normal dan ada juga trombositosis atau trombositemia yaitu peningkatan jumlah trombosit di atas normal. Sedangkan kelainan fungsi trombosit dengan hitung trombosit yang normal mengisyaratkan kelainan kualitas trombosit. Gangguan fungsi trombosit ini mungkin diturunkan (penyakit von willebrand) atau didapat (obat, infeksi, penyakit ginjal, atau disproteinemia). Akan tetapi penurunan jumlah trombosit jauh lebih sering terjadi daripada gangguan fungsi (Sacher, McPherson, 2004 dalam Sugiati, 2013).



Gambar 2.1 Trombosit (Nugroho, 2011)

Di dalam peredaran darah, trombosit yang terlalu banyak atau terlalu sedikit dapat mengganggu proses pembekuan darah. Keadaan yang ditandai oleh

trombosit berlebihan dinamakan trombositosis atau trombositemia. Trombositosis umumnya didefinisikan sebagai peningkatan jumlah trombosit diatas 400.000/mm³. Fungsi trombosit yang abnormal menyebabkan perdarahan dan trombosis. Masa perdarahan mungkin memanjang. Sedangkan trombositopenia didefinisikan sebagai jumlah trombosit dibawah 100.000/mm³. Ini bisa disebabkan oleh pembentukan trombosit yang berkurang atau penghancuran yang meningkat (McCarty Wilson, 1994 dalam Sugiati 2013).

Trombosit dihasilkan di dalam sumsum tulang dengan cara melepaskan diri (fragmentasi) dari perifer sitoplasma sel induknya (megakariosit) melalui rangsangan trombopoetin. Megakariosit berasal dari megakarioblas yang timbul dari proses diferensiasi sel asal hemapoetik Precursor mieloid paling awal yang membentuk megakariosit.

Megakariosit matang, dengan proses replikasi endomitotik inti secara sinkron, volume, sitoplasmanya bertambah besar pada waktu jumlah inti bertambah dua kali lipat. Biasanya pada keadaan 8 inti, replikasi inti lebih lanjut dan pertumbuhan sel berhenti, sitoplasma menjadi granular dan selanjutnya trombosit dibebaskan. Setiap megakariosit menghasilkan sekitar 4000 trombosit. Pada manusia interval waktu dari diferensiasi sel asal sampai dihasilkan trombosit kurang lebih 10 hari. Umur trombosit normal 7 – 10 hari, diameter trombosit rata-rata. 1 - 2 μ m dan volume sel rerata 5,8 fl. Hitung trombosit normal sekitar 150 – 400 x 10³/ μ l (Hoffbrand, Pettit, & Moss, 2005).

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanik selama respon hemostasis normal terhadap cedera vaskular. Tanpa trombosit, dapat

terjadi kebocoran darah spontan melalui pembuluh darah kecil. Reaksi trombosit berupa adhesi, sekresi agregasi dan fusi serta aktivitas prokoagulannya sangat penting untuk fungsinya (Hoffbrand, Pettit, & Moss, 2005).

b. Kelainan Jumlah Trombosit

Kelainan jumlah trombosit pada sistem peredaran darah bisa disebabkan oleh dua faktor yaitu :

- 1) Trombositosis adalah peningkatan jumlah trombosit dalam sirkulasi. Trombositosis berkaitan dengan peningkatan resiko trombotik (pembekuan) dalam sistem pembuluh darah. Trombositosis primer dapat terjadi pada leukimia atau polisitemia vera, penyakit sumbu tulang belakang. Sebab-sebab sekunder trombositosis antara lain adalah infeksi, olahraga, stress dan ovulasi (Corwin dalam Maryani, 2010).
- 2) Trombositopenia adalah penurunan jumlah dalam sirkulasi. Kelainan ini berkaitan dengan peningkatan resiko pendarahan hebat, hanya dengan cedera ringan atau pendarahan spontan kecil. Trombositopenia primer dapat terjadi akibat penyakit autoimun yang ditandai oleh pembentukan antibodi terhadap trombosit. Sebab-sebab sekunder trombositopenia adalah berbagai obat atau infeksi virus atau bakteri tertentu. Koagulasi vaskuler diseminata (*Dissaminated Intravascular Coagulation, DIC*) timbul apabila terjadi trombositopenia akibat pembekuan yang meluas (Corwin dalam Maryani, 2010).

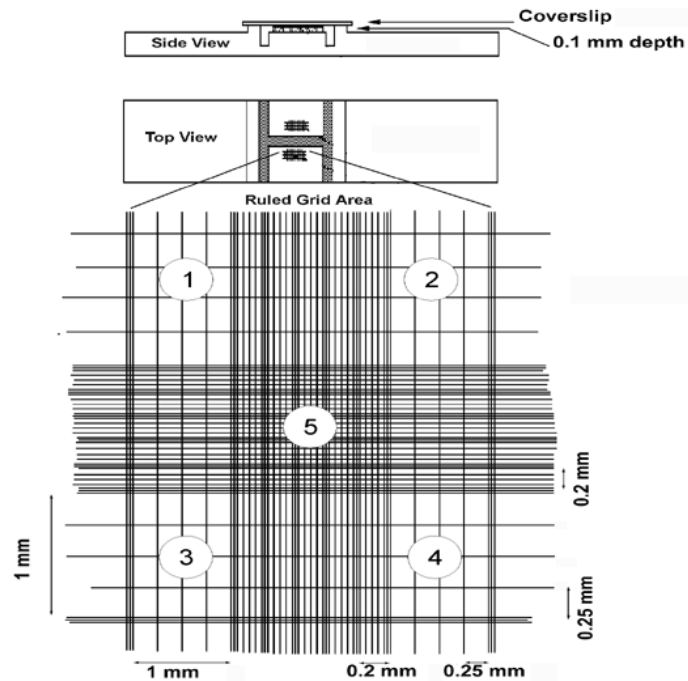
Penyebab paling lazim defisiensi trombosit (Trombositopenia) adalah kerusakan prekursor trombosit yang berinti banyak di dalam sumbu tulang,

yaitu megakariosit karena obat-obatan antimetabolisme yang dipakai dalam kemoterapi kanker. Pengaruh terhadap sumsum tulang semacam itu juga dihasilkan oleh agen-agen fisik maupun kimia yang menimbulkan anemia aplastika, misal radiasi pengion atau keracunan benzen. Trombositopenia juga merupakan ciri utama leukimia, kebanyakan karena digantinya megakariosit dengan sel-sel neoplasma. Trombositopenia dijumpai pula pada penyakit ITP (*Indopetika Trombositopenia Purpuma*), yang diduga disebabkan oleh beredarnya antibodi anti trombosit yang sering dapat disembuhkan dengan mengambil limpanya. Penyebab penting penimbunan *Purpuma* yang patogenitasnya tidak jelas ialah kegagalan ginjal kronik. Trombosit jumlahnya normal tetapi terdapat bukti bahwa fungsinya abnormal, yakni luka kecil memerlukan waktu sangat lama untuk menghentikan pendarahannya (Spector, 1993 dalam Maryani, 2010).

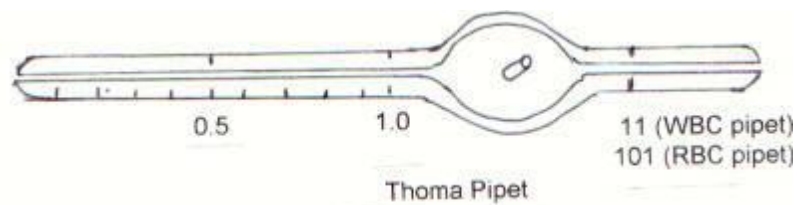
2.2 Alat Pemeriksaan trombosit

2.2.1 Menggunakan Kamar Hitung

Haemositometer adalah alat yang dipakai untuk menghitung jumlah sel darah dan terdiri dari kamar hitung, kaca penutupnya dan dua macam pipet. Kualitas kamar hitung serta pipet-pipet thoma harus memenuhi syarat-syarat ketelitian tertentu.



Gambar 2.2 Kamar Hitung Improved Neubauer (Nugroho, 2011)



Gambar 2.3 Pipet Thoma (Nugroho, 2011)

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dalam laboratorium dapat dilakukan secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung menggunakan metode *Rees Ecker*, metoda Brecher Cronkite dan metoda Hawerden. Untuk metoda *Rees Ecker* darah diencerkan dengan larutan BCB (*Brilliant Cresyl Blue*), sehingga trombosit akan tercat terang kebiru-biruan. Trombosit dihitung dengan bilik

hitung di bawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metoda *Rees Ecker* berkisar 16-25%.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode *Rees Ecker* karena trombosit akan terwarnai kebiru-biruan, dengan menunjukkan latar belakang yang berbeda sehingga memudahkan untuk menghitung trombosit walaupun sel-sel lain selain trombosit tidak lisis dengan metoda ini juga penyebaran trombosit rata. Dibandingkan dengan metoda *Brecher* walaupun tingkat kesalahan pada metoda ini lebih rendah dibandingkan metoda *Rees Ecker*.

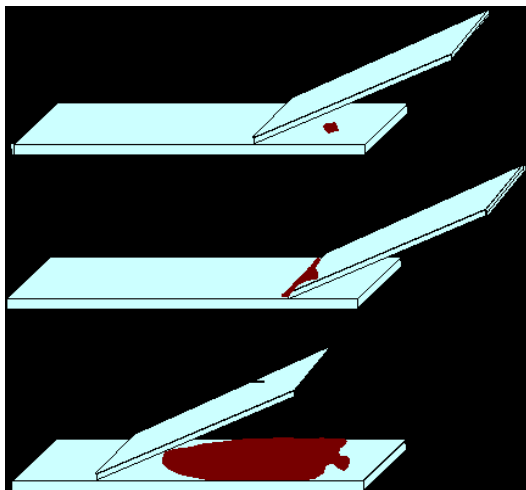
Kelebihan dan kelemahan dari hitung jumlah trombosit cara manual sebagai berikut, kelebihan adalah cara menghitung jumlah trombosit mudah dan sederhana serta biaya lebih murah. Kelemahannya adalah ada pada tingkat ketelitian dari hitung jumlah trombosit pada hitung jumlah trombosit cara manual dengan metode tak langsung lebih teliti karena bisa mengamati bentuk dan morfologi dari trombosit tetapi penyebaran dari trombosit tidak merata dan trombosit itu sendiri melekat pada kaca sehingga mengakibatkan penilaian jumlah trombosit yang berbeda-beda.

Hitung jumlah trombosit cara manual untuk menentukan jumlah trombosit adalah menghitung trombosit dalam sampel darah yang di encerkan dalam 1:100 dalam amoniumoksalat, dibawah mikroskop fase kontras. Bila jumlah trombosit diketahui rendah dapat dipakai faktor pengenceran yang lebih rendah. Masalah yang paling sering di jumpai dalam menghitung trombosit dengan cara ini, selain masalah dalam melakukan pengenceran dengan tepat, mencampur secara adekuat dan mencegah terjadinya penggumpalan, adalah kesalahan dalam pengambilan

sampel. Dengan cara ini hanya sedikit trombosit yang tampak dan dihitung, sedangkan jumlah trombosit ditentukan dengan melakukan ekstrapolasi dari hasil penghitungan yang sedikit tadi sehingga kemungkinan kesalahan juga besar (Widman, 1992 dalam Harjo, 2011).

2.2.2 Menggunakan Hapusan Darah Tepi

Hapusan darah tepi adalah suatu cara yang sampai saat ini masih digunakan pada pemeriksaan di laboratorium. Prinsip pemeriksaan sediaan apus ini adalah dengan meneteskan darah lalu dipaparkan di atas objek glass, kemudian dilakukan pengecatan dan diperiksa dibawah mikroskop.



Gambar 2.4 Pembuatan Hapusan Darah Tepi (Nugroho, 2011)

Sediaan apus darah tepi dapat diwarnai dengan berbagai macam metode termasuk larutan-larutan yang sederhana antara lain: pewarnaan Giemsa, pewarnaan acid fast, pewarnaan garam, pewarnaan wright, dan lainlain. Pewarnaan Giemsa disebut juga pewarnaan *Romanowski*. Metode pewarnaan ini banyak digunakan untuk mempelajari morfologi sel-sel darah, sel-sel lien, sel-sel sumsum dan juga untuk mengidentifikasi parasit-parasit darah misal

Tripanosoma, Plasmodia dan lain-lain dari golongan protozoa. (Maskoeri, 2008 dalam Yuliana, 2013).

Pewarnaan Giemsa (*Giemsa Stain*) adalah teknik pewarnaan untuk pemeriksaan mikroskopis yang namanya diambil dari seorang peneliti malaria yaitu Gustav Giemsa. Pewarnaan ini digunakan untuk pemeriksaan sitogenetik dan untuk diagnosis histopatologis parasit malaria dan juga parasit jenis lainnya (Jason and Frances, 2010 dalam Yuliana, 2013).

Dasar dari pewarnaan Giemsa adalah presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan metilen biru dan eosin yang dilarutkan di dalam metanol. Yaitu dua zat warna yang berbeda yaitu Azur B (*Trimethylionin*) yang bersifat basa dan eosin (*tetrabromofluorescin*) yang bersifat asam seperti kromatin, DNA dan RNA. Sedangkan eosin akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa seperti granula, eosinofili dan hemoglobin. Ikatan eosin pada azur B yang beragregasi dapat menimbulkan warna ungu, dan keadaan ini dikenal sebagai efek *Romanowsky giemsa*. Efek ini terjadi sangat nyata pada DNA tetapi tidak terjadi pada RNA sehingga akan menimbulkan kontras antara inti yang berwarna dengan sitoplasma yang berwarna biru (Arjatmo Tjokronegoro, 1996 dalam Yuliana, 2013).

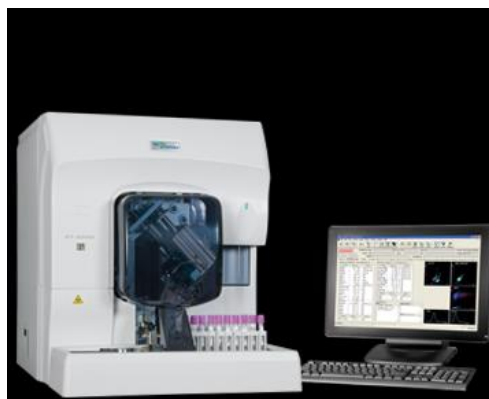
Keuntungan dan kerugian hitung jumlah trombosit secara manual, cara menghitung jumlah trombosit yang paling mudah dan sederhana tetapi kurang teliti adalah memeriksa trombosit pada sediaan apus darah tepi. Cara manual pada hapusan darah tepi mempunyai kelebihan karena dapat mengamati ukuran dan morfologi trombosit, tetapi kekurangannya adalah penyebaran trombosit yang

tidak merata karena perlekatan trombosit pada kaca sehingga mengakibatkan penilaian jumlah trombosit yang berbeda beda. Berdasarkan kesepakatan para ahli jumlah trombosit dianggap cukup jika sediaan trombosit menunjukkan 1 trombosit di antara 20 eritrosit atau 2-3 trombosit dalam tiap lapang pandang imersi (Widman, 1992 dalam Harjo 2011).

2.2.3 Hematology Analyzer

Pemeriksaan darah yang paling sering dilakukan adalah hitung jenis sel darah lengkap (CBC, *complete blood cell count*), yang merupakan penilaian dasar dari komponen sel darah. Sebuah mesin otomatis melakukan pemeriksaan ini dalam waktu kurang dari 1 menit terhadap setetes darah.

Selain untuk menentukan jumlah sel darah dan trombosit, persentase dari setiap jenis sel darah putih dan kandungan hemoglobin, hitung jenis sel darah biasanya menilai ukuran dan bentuk dari sel darah merah. Sel darah merah yang abnormal bisa pecah atau berbentuk seperti tetesan air mata, bulan sabit atau jarum.



Gambar 2.5 Sysmex XT-2000 (Sysmex, 2012)

Dengan mengetahui bentuk atau ukuran yang abnormal dari sel darah merah, bisa membantu mendiagnosis suatu penyakit. Sebagai contoh sel berbentuk bulan sabit adalah khas untuk penyakit sel sabit, sel darah merah yang kecil dapat merupakan pertanda dari stadium awal kekurangan zat besi dan sel darah merah berbentuk oval besar menunjukkan kekurangan asam folat atau vitamin B12 (anemia perniosa).

Pemeriksaan lainnya memberikan keterangan tambahan tentang sel darah. Hitung retikulosit adalah jumlah sel darah merah muda (retikulosit) dalam volume darah tertentu. Dalam keadaan normal, retikulosit mencapai jumlah sekitar 1% dari jumlah total sel darah merah. Jika tubuh memerlukan lebih banyak darah merah (seperti yang terjadi pada anemia), secara normal sumsum tulang akan memberikan jawaban dengan membentuk lebih banyak retikulosit. Karena itu penghitungan retikulosit merupakan penilaian terhadap fungsi sumsum tulang.

Pemeriksaan yang menentukan kerapuhan dan karakteristik selaput sel darah merah, membantu dalam menilai penyebab anemia. Sel darah putih dapat dihitung sebagai suatu kelompok (hitung sel darah putih). Jika diperlukan keterangan yang lebih terperinci, bisa dilakukan penghitungan jenis-jenis tertentu dari sel darah putih (*differential white blood cell count*).

Pemeriksaan trombosit secara otomatis menggunakan alat analisis sel darah otomatis menggunakan Sysmex XT -2000 Hematologi Analyzer. Yang dapat mengetahui proporsi komponen yang berbeda (neutrofil, limfosit, monosit, sel-sel darah merah, basofil, hemoglobin dan retikulosit) darah perifer sangat penting dalam membedakan darah abnormal dan normal. Hitung darah lengkap

(FBC) yang berguna dalam mendeteksi toksisitas beberapa obat diberikan kepada pasien.

XT - 2000 melakukan analisis hematology sesuai dengan metode deteksi DC RF, hidrodinamik fokus (*DC Detection*), *flow cytometry* metode (menggunakan laser semikonduktor) dan metode SLS - hemoglobin. Metode ini mendeteksi ukuran sel darah dengan perubahan resistensi langsung saat ini, dan kepadatan interior sel darah dengan perubahan resistensi frekuensi radio. Sampel darah disedot dan diukur, diencerkan dengan yang ditentukan rasio, dan mengirim ke berlaku detektor ruang. Di dalam ruangan adalah lubang warna yang disebut sebuah *aperture* di kedua sisi yang elektroda. Antara elektroda mengalir saat ini dan frekuensi radio arus searah. Sel-sel darah tersuspensi dalam sampel diencerkan melewati *aperture*, mengubah hambatan arus searah dan frekuensi radio perlawanan antara elektroda. Ukuran sel darah terdeteksi melalui perubahan dalam perlawanan langsung saat ini, dan kepadatan sel darah interior (ukuran nukleus) terdeteksi melalui perubahan dalam perlawanan radio *frequency*, dengan mendeteksi adanya datang dalam bentuk pulsa elektrik. Berdasarkan ukuran pulsa ini, distribusi dua dimensi (pencar gram) dari ukuran sel - darah dan kepadatan internal yang dapat dicari (Sysmex, 2012).

Pengukuran RBC (*Red Blood Cell*)/ PLT (*Platelet*) dihitung dan diukur dengan metode impedansi, metode ini berdasarkan pada pengukuran perubahan daya tahan elektrik yang di produksi sebuah partikel, dalam hal ini adalah sel darah. Tergantung konduksi diluent dalam melewati celah/lubang yang disebut dimensi, sebuah elektroda terendam dalam cairan di kedua sisi dari celah/lubang

yang menghasilkan arus listrik. Setiap partikel yang melewati celah ini akan mengalami perubahan pada daya tahannya diantara elektroda-elektroda yang di produksi. Perubahan yang dihasilkan dapat diukur getaran elektriknya. Jumlah getaran menghasilkan sinyal jumlah partikel yang melewati celah/lubang. Setiap getaran diperkuat dan di bandingkan dengan saluran voltasi referensi yang hanya diterima oleh getaran dengan amplitude tertentu. Jika getaran yang di bandingkan melebihi range terendah RBC/PLT maka dihitung sebagai RBC/PLT. (Mindray, 2006 dalam Harjo, 2011).

Trombosit juga diukur dengan aliran sarung metode deteksi DC. Dengan mengukur jumlah yang lebih besar dari trombosit metode ini menawarkan akurasi meningkat. Namun dalam kasus dimana sejumlah besar RBC fragmen atau Trombosit besar yang hadir, akurasi cenderung menurun. Untuk sampel tersebut pengukuran PLT memastikan akurasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode deteksi DC. XT -2000 menyajikan jumlah trombosit akurasi yang tinggi dengan mengadopsi hasil dari metode tersebut yang tampaknya menilai lebih akurat dari distribusi sel dan memperoleh *scattergrams*.

Beberapa contoh yang abnormal dapat mengganggu metode penghitungan sel otomatis. Berikut ini adalah daftar zat yang mungkin yang dapat mengganggu parameter yang terdaftar.

1. WBC (*White Blood Cell*) : aglutinin dingin, agregasi platelet, sel darah merah berinti, cryoglobulins, sel darah merah melisiskan tahan pada pasien dengan hemoglobinopati, penyakit hati yang parah atau neonatus.

2. RBC (*Red Blood Cell*) : aglutinin dingin, micryocytosis parah, sel darah merah terfragmentasi, sejumlah besar trombosit raksasa, invitro hemolisis.
3. Hemoglobin : lipemia, protein abnormal dalam plasma darah, leukosit berat (di atas 100.000 /ml). Pengaruh protein abnormal dan lipemia dapat dihilangkan dengan penggantian plasma atau prosedur kosong plasma.
4. Hematokrit : aglutinin dingin, leukositosis (di atas 100.000 /ml), normal kerapuhan sel darah merah.
5. PLT (*Platelet*) : pseudothrombocytopenia, agregasi platelet, peningkatan microcytosis, trombosit megalocytic (Sysmex, 2012).

Keuntungan pemeriksaan trombosit secara otomatis antara lain, Dapat menghemat waktu, penggunaan sampel yang lebih sedikit, data segera diperoleh tetapi harga alat dan reagen yang mahal dan hasil pemeriksaan bisa menunjukkan 19 parameter pemeriksaan sekaligus, dapat menyimpan maksimal 10.000 hasil pemeriksaan sampel, dalam 1 jam dapat untuk melakukan 30 kali pemeriksaan. Sumber kesalahan pemeriksaan trombosit secara otomatis antara lain :

1. Alat bekerja tidak stabil atau alat tidak berfungsi dengan normal atau alat tidak bekerja dengan baik karena keadaan alat yang kotor.
2. Alat bekerja tidak teliti, tidak tepat dan tidak peka karena alat belum dikalibrasi.
3. Tidak mengikuti petunjuk operasional alat.
4. Tidak menghomogenkan sampel dengan benar.
5. Volume reagen tidak tepat (Mindray, 2006 dalam Harjo, 2011).

2.3 Faktor-faktor Pengaruh Hitung Trombosit

2.3.1 Faktor Patologis

Faktor penyebab trombositopenia adalah alergi, infeksi virus, penggunaan obat, seperti obat anti radang non-steroid (ibuprofen, aspirin, indomethacin, phenylbutazone, tricyclic, antidepresan, antihistamin, phen olthiazines), 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 dalam sugiati, 2013).

Kemoterapi dan sinar X dapat menurunkan hitung trombosit (Agus Riyanto, 2009 dalam sugiati, 2013). 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, pascasplenektomi (Ronald A.Sacher, Richard A.McPherson, 2004 dalam Sugiati, 2013).

2.3.2 Faktor Laboratorium

1. Faktor Pra – Analitik

Merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan digunakan pada tahap - tahap selanjutnya. Pada tahap ini meliputi : ke tata usahaan, persiapan penderita, pengumpulan spsimen, penanganan spesimen (riswanto, 2013 dalam Sugiati, 2013). Kesalahan pada proses pra analitik dalam pemeriksaan laboratorium dapat

memberikan kontribusi sekitar 62% dari total keseluruhan pemeriksaan Laboratorium (Mengko, 2013 dalam Sugiati, 2013).

a. Persiapan Pasien

Ada beberapa sumber kesalahan yang kurang terkontrol dari proses pra analitik 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 dalam Sugiati, 2013).

b. Persiapan Pengumpulan Sampel

Spesimen yang akan diperiksa laboratorium haruslah memenuhi persyaratan jenis sesuai jenis pemeriksaan, volume mencukupi, kondisi baik tidak lisis, segar/tidak kadaluwarsa, tidak berubah bentuk, pemakaian antikoagulan atau pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat, identitas benar sesuai dengan data pasien (Riswanto, 2010 dalam Sugiati 2013).

c. Pengambilan Spesimen

Hal-hal yang harus diperhatikan pada pengambilan spesimen adalah :

- 1) Teknik atau cara pengambilan. Pengambilan spesimen harus dilakukan dengan benar sesuai dengan *standard operating procedure* (SOP) yang ada.
- 2) Cara menampung spesimen dalam wadah/penampung yang harus di perhatikan meliputi :

1. Seluruh sampel harus masuk ke 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 mengkokok tabung keras-keras agar tidak hemolisis.

2. Faktor Analitik

Proses analitik adalah tahap pengerjaan sampel sehingga diperoleh hasil pemeriksaan (Depkes RI, 1999 dalam Sugiati 2013).

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 ketidaktelitian. 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 bisa dipatahkan bila pra analitiknya buruk, misal darah tidak segera dicampur dengan antikoagulan, kelebihan antikoagulan, tidak segera diperiksa (dalam waktu 1 jam lebih bagus), tidak dikocok sebelum diperiksa dan botol yang digunakan dari plastik/polietilen.

Pemeriksaan darah lengkap umumnya telah menggunakan mesin penghitung otomatis (hematology analyzer). Pemeriksaan dengan mesin penghitung otomatis 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 (Sainssyah, 2010 dalam Sugiati, 2013).

c. Kualitas Reagen

Reagen harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatnya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan *expired* nya. 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 18 sudah ditentukan pabrik pembuatnya yaitu pada suhu 15-30⁰ C (Nurrachmat H, 2005 dalam Sugiati, 2013).

d. 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 dalam Sugiati, 2013).

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 dipertanggungjawabkan.

Kegiatan pencatatan dan pelaporan hasil dilaboratorium harus dilaksanakan dengan cermat dan teliti karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan dapat mengakibatkan kesalahan dalam penyampaian hasil pemeriksaan (Depkes RI,1999 dalam Sugiati, 2013).

2.4 Hipotesis

Ada perbedaan pada tiga metode pemeriksaan trombosit dengan cara langsung, tidak langsung dan hematology analyzer.