

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

Darah adalah jaringan cair pada tubuh manusia yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebanyak 55 % dan bagian sel darah (bagian padat darah) sebanyak 45 %. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu Eritrosit, Leukosit dan Trombosit. Volume total darah pada orang dewasa diperkirakan sekitar 7 % - 8 % dari berat tubuh seseorang atau sekitar 5 – 6 liter (Maharani EA dan Noviar G. 2018).

Darah manusia berwarna merah terang ketika terikat pada oksigen, dimana warna merah ini disebabkan oleh hemoglobin, protein pernapasan (*respiratory protein*) yang mengandung besi dalam bentuk *heme* yang merupakan tempat terikatnya molekul – molekul oksigen. Ketika oksigen dilepas maka warna eritrosit akan berwarna lebih gelap dan akan menimbulkan warna kebiru – biruan pada pembuluh darah dan kulit (Mallo P.Y dkk. 2012).

Fungsi darah dalam buku Immunohematologi karya Maharani dan Noviar pada tahun 2018 adalah sebagai berikut :

a. Sebagai transportas substansi berikut :

- 1) Transportasi O₂ dan CO₂ dengan jalur melalui paru – paru dan seluruh tubuh

- 2) Transportasi nutrisi hasil pencernaan ke seluruh tubuh
 - 3) Transportasi hasil pembuangan tubuh untuk didetoksifikasi atau dibuang oleh hati dan ginjal
 - 4) Transportasi hormon dari kelenjar
 - 5) Membantu mengatur suhu tubuh
- b. Sebagai proteksi darah banyak berperan dalam proses peradangan :
- 1) Leukosit berfungsi untuk menghancurkan mikroorganisme dan sel kanker
 - 2) Antibodi dan protein yang lainnya menghancurkan substansi patogen
 - 3) Trombosit menginisiasi faktor pembekuan darah untuk meminimalisir kehilangan darah pada saat terjadi luka
- c. Sebagai pengatur :
- 1) Pengatur pH oleh interaksi asam dan basa
 - 2) Keseimbangan air dalam tubuh menjaga pertukaran air dari luar jaringan atau sebaliknya

2. Komponen Darah

a. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit merupakan sel darah yang memiliki fungsi utama untuk pertukaran gas, Eritrosit memiliki bentuk bikonkaf yang bersifat fleksibel untuk melewati lumen pembuluh darah yang kecil sekalipun, memiliki ukuran 7 – 8 mikro dan memiliki bagian pucat

pada bagian tengahnya yang disebut dengan “*central pollar*” yang berdiameter sekitar sepertiga dari diameter eritrosit. Eritrosit memiliki jumlah 4,5 – 6 juta sel per mililiter darah, dimana jumlah ini merupakan jumlah yang paling banyak dibanding dengan sel darah yang lainnya. Umur eritrosit sekitar 120 hari sehingga kira – kira ada 1 % dari jumlah eritrosit yang mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru (Kiswari, 2014).

Eritrosit normal memiliki volume sekitar 9 femtoliter (fl) dan sepertiga dari volumenya diisi oleh hemoglobin. Ada sekitar 270 juta molekul hemoglobin dalam setiap sel eritrosit, dimana setiap molekul membawa empat gugus *heme* dan *heme* inilah yang berfungsi membawa oksigen ke jaringan – jaringan tubuh melalui darah (Mengko R, 2013).



Gambar 1. Sel Eritrosit
Sumber : www.atlm.web.id

b. Sel Darah Putih (Leukosit)

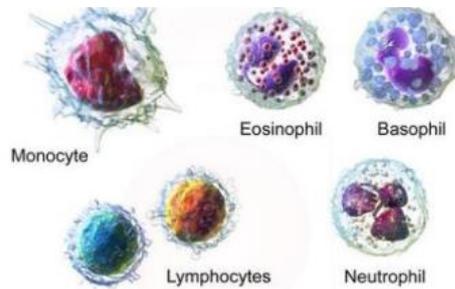
Sel leukosit atau sel darah putih merupakan sel penting dalam sistem kekebalan yang bertanggung jawab untuk melindungi dari semua agen berbahaya yang menginfeksi tubuh manusia.

William Hewson salah satu diantara banyak pelopor untuk mengidentifikasi sel darah putih dengan menggunakan istilah “Sel tak berwarna”, William menjelaskan bahwa leukosit di produksi di sistem limfatik (Qureshi AI. 2016).

Sel leukosit ini merupakan unsur darah yang matang di sumsum tulang kemudian masuk ke sirkulasi. Leukosit terdiri dari lima jenis sel yang muncul di prekursor hematopoietik umum, dimana sel leukosit ini berdiferensiasi menjadi neutrofil, monosit, eosinofil, basofil dan limfosit (Hedayat KM dan Lapraz Jc. 2019).

Sel leukosit memiliki ukuran yang lebih besar dari ukuran eritrosit. Pada orang dewasa terdapat 4.000 – 10.000 sel leukosit/ mm^3 . Sel leukosit memiliki inti (nukleus) dan sebagian besar leukosit dapat bergerak seperti amoeba serta dapat menembus dinding kapiler, sel ini di produksi di dalam sumsum tulang, kelenjar limfa dan juga limpa. Leukosit dibagi menjadi 2 kelas besar berdasarkan ada tidaknya granula pada sitoplasmanya :

1. Leukosit bergranula (Granulosit)
 - a) Neutrofil
 - b) Eosinofil
 - c) Basofil
2. Leukosit tidak bergranula (Agranulosit)
 - a) Limfosit
 - b) Monosit



Gambar 2. Sel Leukosit

Sumber : <http://bpsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/>

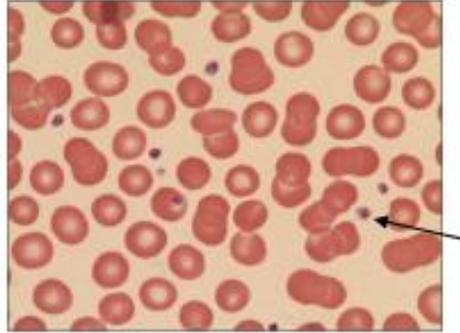
c. Keping darah (Trombosit)

Trombosit adalah sel darah yang berperan penting dalam proses hemostasis (pembekuan darah). Trombosit tidak memiliki inti sel, berukuran 1 – 4 μm , umur trombosit sekitar 10 hari, sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu kemerahan dan memiliki jumlah sekitar 150.000 – 350.000 sel/ ml darah. Trombosit merupakan derivat dari megakariosit yaitu berasal dari fragmen – fragmen sitoplasma megakariositnya. Trombosit melekat pada lapisan endotel darah yang robek atau luka dengan membentuk *plug* atau suatu sumbat trombosit. Pada saat kita mengalami luka, trombosit menyentuh permukaan yang luka tersebut dan trombosit akan pecah. Pecahnya trombosit inilah yang akan menyebabkan keluarnya enzim trombokinase yang terkandung didalamnya. Enzim trombokinase akan mengubah protrombin menjadi trombin dengan bantuan dari kalsium dan vitamin K yang terdapat di dalam tubuh, trombin yang sudah terbentuk akan merangsang fibrinogen untuk membuat fibrin dengan membentuk seperti sebuah anyaman dengan

benang – benang fibrinnya sehingga darah tidak keluar lagi (Maharani E.A. dan Noviar G. 2018).

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit sumsum tulang dengan diameter 3 – 5 mikron dan volume 4,5 – 11 fl, dimana satu megakariosit mampu melepaskan trombosit ke aliran darah sebanyak 1500 – 2000 sel dan trombosit aktif dalam sirkulasi darah sekitar 7 – 10 hari. Trombosit yang tidak aktif dalam darah berbentuk diskoid dan tidak mengandung nukleus. Dalam sitoplasma mengandung tiga jenis butiran (butiran alfa, butiran padat dan butiran lisosom), vesikel sekretornya mengandung molekul yang telah terbentuk sebelumnya dan sistem membran yang kompleks (Budak Y.U, Polat M dan Huysal K. 2016).

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis yang merupakan respons hemostatik normal terhadap luka vaskular dengan melalui reaksi adhesi, reaksi pelepasan, agregasi dan fusi serta aktivitas prokoagulannya. Nilai normal trombosit menurut Deacie adalah $150 - 400 \times 10^9/L$, jika menggunakan metode Rees Ecker nilai normal trombosit adalah $140 - 340 \times 10^9/L$, jika menggunakan Coulter Counter nilai normalnya adalah $150 - 350 \times 10^9/L$ (Kiswari, 2014).



Gambar 3. Sel trombosit
Sumber : Atlas Of Blood Cells

Sifat fisik trombosit meliputi :

- 1) Adhesi, sifat trombosit yang mudah melekat pada permukaan asing
- 2) Agregasi, sifat trombosit yang saling melekat antara satu sel dengan sel lainnya
- 3) Aglutinasi, sifat trombosit yang mudah menggumpal
- 4) Disentrigrasi, sifat tromboit yang mudah pecah dan mati

3. Antikoagulan

Antikoagulan digunakan untuk mencegah terjadinya penjendalan darah, sehingga darah tetap dalam kondisi awal. Ada berbagai jenis antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan laboratorium. Berikut merupakan beberapa jenis antikoagulan yang dipakai dalam pemeriksaan hematologi :

a. EDTA

Ethylene Diamine Tetraacetis Acid merupakan antikoagulan yang biasa digunakan untuk pemeriksaan darah lengkap. EDTA ini tersedia sebagai garam kalium, tripotassium dan natrium EDTA, berdasarkan jenisnya yang berbeda bahwa setiap jenis garam EDTA

dapat mempengaruhi keakuratan perhitungan dan ukuran sel. Oleh karena ini Dewan Internasional untuk Standarisasi dalam Hematologi (ICSH) merekomendasikan K2-EDTA sebagai antikoagulan pilihan untuk pengujian hematologi. Selain ini karena kemampuannya menjaga morfologi dan integritas sel maka EDTA ini menjadi rekomendasi antikoagulan pada pemeriksaan lain, seperti uji sitokin, hormon, biologi molekuler serta untuk beberapa analit kimia klinis (Vrtaric A, dkk. 2016).

b. Heparin

Memiliki fungsi seperti antitrombin, tidak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit dan leukosit. Dalam praktek sehari – hari heparin kurang banyak dipakai karena mahal harganya. Tiap 1 mg heparin menjaga membekunya 10 ml darah dan tersedia dalam bentuk larutan atau dalam bentuk kering (Gandasoebrata. 2004).

Heparin juga merupakan antikoagulan terpilih untuk pemeriksaan *Osmotic Fragile Test (OFT)* dan heparin tidak diperkenankan penggunaannya untuk membuat hapusan darah tepi, karena hasil pewarnaanya akan membuat preparat terlalu biru. Cara kerja heparin ialah 0,1 ml larutan atau 0,1 mg dalam bentuk kering untuk setiap 10 ml darah. Heparin ada tiga formulasi, yaitu amonium, lithium dan heparin sodium. Heparin lithium menyebabkan sedikit gangguan dalam pengujian kimia dan tidak boleh dipergunakan untuk pengujian kadar lithium. Heparin sodium

tidak boleh digunakan untuk spesimen pengujian kadar natrium (Kiswari, 2014).

c. Natrium Sitrat

Merupakan larutan yang isotonik dengan darah dan digunakan pada beberapa uji hemoragik dan juga uji laju endap darah cara Westergreen (Gandasoebrata. 2004).

International Commite for Standardization in Haematology (ICSH) dan International Society for Thrombosis and Hematology telah merekomendasikan natrium sitrat ini sebagai antikoagulan terpilih untuk uji koagulasi, dengan cara kerjanya itu mengendapkan ion kalsium sehingga menjadi bentuk yan tidak aktif (Kiswari, 2014).

d. Oksalat

Berfungsi untuk mencegah koagulasi dengan mengendapkan kalsium dan yang paling banyak digunakan jenis kalium oksalat dan digunakan untuk menyediakan plasma dalam pengujian glukosa darah (Kiswari, 2014).

4. Hematology Analyzer

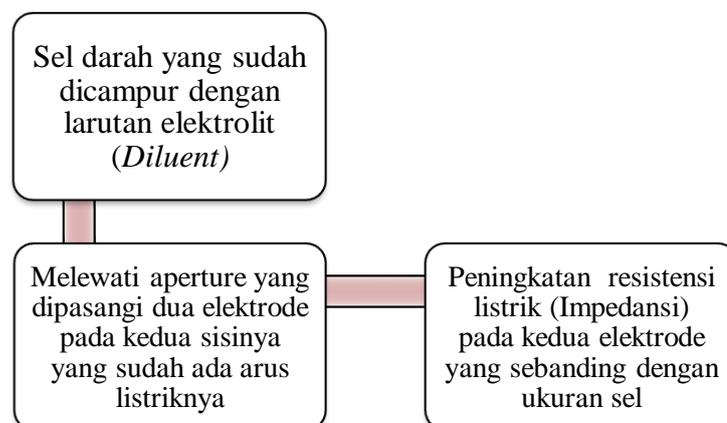
a. Pengertian

Alat lengkap untuk menghitung berbagai pemeriksaan hematologi yaitu *hematology analyzer* merupakan sebuah alat penganalisis pemeriksaan hematologi secara otomatis yang dapat

dengan cepat menganalisis spesimen darah hitung darah lengkap (CBC) yang didalam hasil CBC ini termasuk hasil jumlah sel darah merah (WBC), jumlah sel darah putih (RBC), jumlah trombosit (PLT), konsentrasi hemoglobin, hematokrit, jumlah trombosit dan juga hitung jenis leukosit (Wahed A, dkk.2015).

b. Sejarah

Pada tahun 1950 perkembangan instrumentasi laboratorium klinik dimulai pertama kali dan masih menggunakan cara manual dengan alat – alat yang sederhana seperti mikroskop. Hasil pemeriksaan pada tahun ini masih sangat bergantung pada keahlian petugas analis dalam proses pemeriksaan tersebut, kekurangan metode manual ini cukup banyak membuang waktu, biaya serta tenaga. Alat hematologi otomatis muncul pertama kali pada tahun 1950an dengan prinsip kerjanya yaitu *Coulter Electrical Impedance* dengan alur kerja seperti bagan dibawah ini



Gambar 4. Prinsip kerja *Coulter Electrical Impedance*

Pada tahun 1953, Crossland and Taylor mulai memperkenalkan teknik penghitungan sel darah, dengan proses sel darah dialirkan melalui saluran tunggal dengan bantuan bahan cair yang berfungsi sebagai laminar *sheat flow* lalu sel diperiksa dengan metode pendaran cahaya.

Pada tahun 1970-an terdapat perkembangan yang cukup pesat dimana pada tahun ini muncul alat hematologi otomatis yang menyediakan 7 parameter dari *Compleat Blood Count (CBC)* dan 3 bagian dari parameter WBC (Limfosit, Monosit dan Granulosit) dengan menggunakan teknik *flow cell*, metode *Flowcytometry* dan prinsip *Light Scatter* (penghamburan cahaya).

Untuk saat ini di zaman yang sudah canggih dalam hal teknologi alat *hematology analyzer* sudah menggunakan sistem laser dan juga pewarnan sel sehingga dapat menganalisis 5 bagian *differential* leukosit yang juga dapat melihat bentuk serta struktur sel nya dengan menggunakan metode *fluoresence flowcytometer* juga dapat memeriksa pengukuran dari sel darah merah (RBC), sel darah putih (WBC) dan Hemoglobin (HB), dan pemeriksaan lebih rinci seperti parameter Hematokrit (HCT), jumlah trombosit (PLT) dan pemreiksaan trombosit lainnya (MPV, PCT, PDW, P – LCR).

c. Prinsip kerja

1) Prinsip Teknologi *Impedance Flowcytometry*

Flowcytometry didefinisikan sebagai pengukuran simultan beberapa karakteristik fisik dari sebuah sel tunggal yang telah tersuspensi dan dialirkan melalui suatu celah yang disebut *Aperture*. Pengukuran sel yang dapat digunakan pada *Impedance Flowcytometry* dengan menggunakan impedansi listrik dari sebuah sel. Impedansi adalah kuantitas kompleks yang dinotasikan dengan Z . dalam koordinat kartesius :

$$Z = R + jX$$

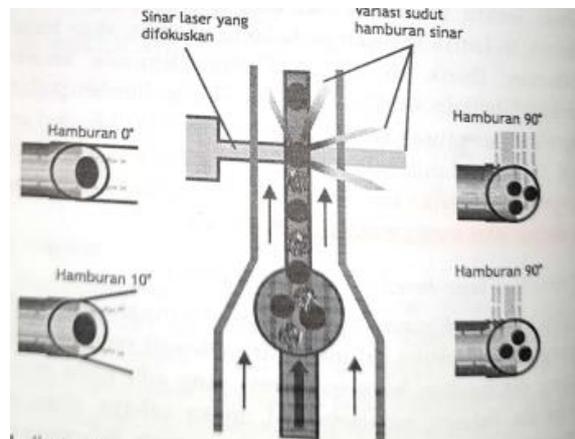
Bagian nyata dalam sebuah impedansi adalah Resistansi (R) dan bagian imajiner adalah reaktansi (X), secara dimensi impedansi sama dengan resistansi dan satuannya ialah ohm. Prinsip ini mengukur bahwa sebuah sel dianggap sebagai sebuah rangkaian listrik dari sebuah resistor dan kapasitor, ketika arus listrik dilewatkan pada sel tersebut akan terjadi tahanan listrik yang disebut sebagai impedansi.

Sel darah yang melewati aperture yang memiliki elektroda yang beraliran listrik konstan pada kedua sisinya maka akan terjadi perubahan tahanan listrik pada kedua elektroda tersebut dan mengakibatkan timbulnya pulsa listrik. Jumlah pulsa listrik yang terukur per satuan waktu (frekuensi pulsa) dideteksi sebagai jumlah sel dan besarnya perubahan tegangan listrik (amplitudo) merupakan ukuran volume dari sebuah sel darah (Mengko.R, 2013).

2) Teknologi *Laser – Based (optical) Flowcytometry*

Prinsip yang digunakan adalah pendaran cahaya atau light scattering yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang di fokuskan ke sensing area yang ada pada aperture tersebut. Apabila cahaya mengenai sel, maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan atau dibiaskan ke semua arah dan beberapa detektor yang diletakkan pada sudut – sudut tertentu akan menangkap berkas – berkas sinar yang terpengaruh oleh sel tersebut (Mengko.R, 2013).

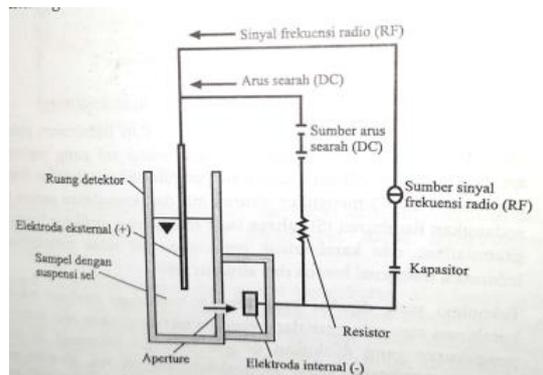
Pulsa cahaya yang berasal dari hamburan cahaya, intensitas warna atau fluoresensi akan diubah menjadi pulsa listrik. Oleh suatu program pada komputer, pulsa ini diubah untuk menghitung jumlah, ukuran, maupun isi bagian dalam sel yang merupakan ciri dari masing – masing sel. Hamburan cahaya dengan arah lurus (*forward scatter light*) mendeteksi volume dan ukuran sel. Sedangkan yang dihamburkan dengan sudut 90° menunjukkan informasi terkait isi granula sitoplasma. Pada metode pendaran cahaya ini bisa dilakukan dengan penambahan pewarna pada reagen untuk lebih meningkatkan kemampuan deteksi dan mengenali ciri – ciri sel darah sehingga akan lebih banyak informasi yang di dapat untuk membedakan jenis sel (Mengko.R, 2013).



Gambar 5. Ilustrasi *laser based flowctometry*
 Sumber : Mengko, R. 2013

3) Teknologi Deteksi RF/DC

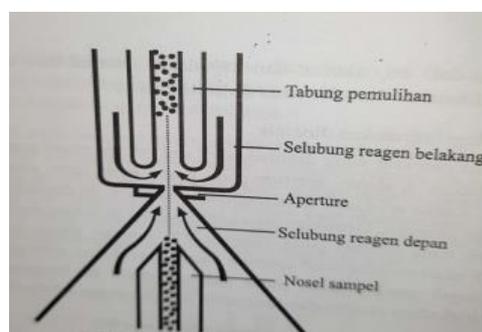
Pada jenis ini sel darah yang telah tersuspensi dilewatkan melalui aperture, sehingga mengubah resistansi arus searah (DC) dan resistansi sinyal frekuensi radio (RF) antara kedua elektroda. Ukuran sel dideteksi oleh perubahan resistensi pada arus searah dan kepadatan interior sel darah diukur oleh perubahan resistensi pada sinyal frekuensi radio. Dengan data ini ukuran dan kepadatan dari dalam sel dapat diketahui dan dianalisis distribusinya (Mengko.R, 2013).



Gambar 6. Skema metode deteksi RF / DC
Sumber : Mengko R, 2013

4) Teknologi Hidrofokus Dinamis

Pada jenis ini detektor yang digunakan berupa nosel sampel yang berada di depan aperture pada posisi garis lurus dengan titik pusat. Ketika sel darah akan memasuki aperture sel diselubungi oleh larutan pereaksi. Seperti yang terlihat pada gambar dibawah ini dimana posisi ini sel – sel darah akan melalui celah aperture dalam garis lurus sehingga dapat mencegah pembentukan pulsa palsu dan berguna meningkatkan akurasi serta kecepatan dalam perhitungan sel darah (Mengko.R, 2013).



Gambar 7. Skema metode hidrofokus dinamis
Sumber : Mengko R, 2013

5) Teknologi VCS (*Volume, Conductivity and Laser Light Scatter*)

Teknologi ini mengukur volume, konduktivitas dan hamburan cahaya laser digunakan secara bersamaan pada setiap sel yang melewati aperture. Volume (V) diperoleh dari pengukuran impedansi listrik atau dengan Direct Current, Konduktivitas (C) mengukur ukuran inti dan kepadatan setiap sel dengan menggunakan radio frekuensi, sedangkan hamburan cahaya laser (S) mendeteksi struktur internal, granularitas dan karakteristik permukaan sel serta memberikan informasi mengenai bentuk dan struktur sel (Mengko.R, 2013).

VCS adalah satu – satunya analisis saluran tunggal yang menggunakan tiga sumber energi independen untuk menyelidiki sel – sel yang di analisis karena teknologi VCS menyertakan ukuran volume sel yang sangat akurat dengan menggunakan informasi untuk mengoreksi sinyal konduktivitas dan sebar cahaya. Teknologi VCS juga memungkinkan untuk memisahkan sel dengan ukuran yang sama, tetapi memiliki komposisi internal yang berbeda dan juga memungkinkan instrumen untuk menghitung rasio nuklir atau fitur yang berguna dalam membedakan limfosit varian dari limfosit normal (Coulter Corporation, 1996).

d. Flagging dalam *Hematology Analyzer*

Dalam penganalisis hematologi otomatis, sebuah tanda dibuat dengan kriteria yang ditentukan oleh instrumen atau dengan kriteria yang ditentukan pengguna. Penandaan menunjukkan bahwa teknologi harus meninjau apusan darah tepi untuk mencari sel abnormal atau menandainya untuk penyelidikan lebih lanjut (Oh Joo Kweon dkk, 2017). Beberapa tanda flag yang muncul dalam beberapa alat *Hematology Analyzer* sebagai berikut :

Tabel 1. Macam – macam tanda flagging

Notasi	Keterangan
PL	Menandakan banyaknya trombosit yang berukuran kecil yang melebihi range
PU	Menandakan banyaknya trombosit yang berukuran besar yang melebihi range
AG	Muncul karena adanya ukuran trombosit yang sangat besar/ menggumpal dan melebihi discriminator WBC
MP	Kemungkinan penyebabnya ialah platelet transfusion
---.-	Terjadi data eror karena sampel tidak bisa dikalkulasi
***.*	Terjadi analisis eror karena sampel tidak bisa dikalkulasi
+++.+	Hasil melebihi display range
!	Hasil melebihi linearity range
+	Hasil melebihi batas atas patient limit
-	Hasil melebihi batas bawah patient limit
*	Hasil perlu dikonfirmasi

Sumber: <https://studylibid.com/doc/4279104/xp-series-training-class>

e. Spesifikasi *Hematology analyzer* Beckman Coulter DxH – 500



Gambar 8. *Hematology analyzer* Beckman Coulter DxH – 500

Sumber : www.beckmancoulter.com

Hematology Analyzer Beckman Coulter DxH 500 merupakan alat hematologi otomatis yang menyediakan 23 parameter pemeriksaan termasuk 5 bagian dari *differential counting* WBC, mampu mengerjakan 60 sampel per jam dan memiliki 3 jenis reagen yaitu DxH 500 Lyse sebanyak 500 ml, DxH 500 pembersih sebanyak 500 ml dan DxH 500 pengencer sebanyak 10 L. DxH 500 ini merupakan bagian dari DxH Workcell, DxH 800 Cellular Analysis System dan DxH Slidemaker Stainer yang menggabungkan teknologi sitometrik aliran definsi tinggi multi dimensi. DxH 500 hanya membutuhkan tiga reagen dan menyediakan yang tidak beracun, bebas sianida dan bebas formaldehida sehingga laboratorium dapat mengurangi biaya pembuangan dan lebih mudah memenuhi standar kepatuhan lingkungan dan peraturan.

Tabel 2. Spesifikasi *Hematology Analyzer Beckman Coulter DxH – 500*

Kategori	Keterangan
Prinsip analisis	Metode VCS (<i>Volume, Conductivity and Laser Light Scatter</i>)
Hasil	60 sampel per jam
Volume Sampel	12 µl darah (whole blood)
Parameter pemeriksaan	WBC, RBC, HGB,, HCT, MCV. MCH,MCHC,RDW-SD,RDW-CV,PLT,MPV,LY%,LY#,MO%,MO#,NE%,NE#,EO%,EO#,BA%,BA#
Reagens	DxH 500 Lyse 500 ml DxH 500 Cleanser 500 ml DxH 500 Diluent 10 L
Penyimpanan Data	30.000 pasien dengan grafik, flagging, kode dan pesan 12 kontrol

Sumber : www.beckmancoultertraining.csod.com

f. Spesifikasi *Hematology Analyzer Sysmex XP – 100*



Gambar 9. *Hematology analyzer Sysmex XP – 100*

Sumber : www.sysmex.co.id

Seri XP adalah penganalisis hematologi otomatis dengan footprint kecil, mampu melakukan analisis andal dari 20 parameter dengan tampilan layar menunjukkan 3 histogram (Sysmex, 2018). *Hematology Analyzer Sysmex XP – 100* untuk analisis hematologi (profil darah rutin) dengan diferensial meliputi tiga komponen

korpuskular yaitu : eritrosit, leukosit dan trombosit. Sampel yang diuji dapat berupa darah lengkap (*whole blood*) atau dengan sedikit pengenceran (*prediluted*) apabila sampel darah sangat sedikit. Parameter meliputi : jumlah leukosit (WBC), jumlah eritrosit (RBC), kadar hemoglobin (HGB), nilai hematokrit (HCT), MCV, MCH, MCHC, jumlah trombosit (PLT), persentase dan jumlah limfosit (LYM), persentase dan jumlah MXD (gabungan monosit, basofil dan eosinofil), persentase dan jumlah neutrofil (Neut), RDW-SD, RDW-CV, PDW, MPV, P – LCR, PCT. Terdapat tiga pilihan tipe printout type 1 dengan 20 parameter dan grafik histogram, type 2 dengan 20 parameter dan type 3 dengan 8 parameter.

Tabel 3. Spesifikasi *Hematology Analyzer Sysmex XP – 100*

Kategori	Keterangan
Analisis prinsip	WBC = metode DC RBC/PLT = metode DC HGB = non sianida hemoglobin Menggunakan Teknologi RF/DC
Volume sampel	Whole blood 50 µl Pre diluted 20 µl
Parameter pemeriksaan	WBC,RBC,HGB,HCT,MCV,MCH,MCHC,PLT,LM%,MXD%,NEYTR%,LYM#,MXD#,NEUT#,RDW-SD,RDW-CV,PDW,MPV,PCT,P-LCR.
Reagen	Stromatolyser, cell clean
Penyimpanan data	35.000 pasien dengan histogram

Sumber : www.sysmex.co.id

5. Pemeriksaan Jumlah Trombosit

Pemeriksaan jumlah trombosit sangat penting untuk menilai fungsi pembekuan darah dan memiliki nilai diagnostik pada penyakit – penyakit tertentu, semisal pada penyakit gangguan pembekuan darah dan pada penderita demam berdarah.

Banyak metode untuk menghitung trombosit yang telah diterbitkan untuk mendapatkan hasil yang akurat dan tepat dalam jumlah yaitu dengan cara penghitungan manual dengan menggunakan mikroskop dan secara otomatis dengan analisis impedansi, analisis hamburan cahaya optik atau floresensi menggunakan berbagai alat analisis yang tersedia secara komersial dan menggunakan perhitungan imunoplatelet dengan sitometri aliran. Cara manual dibagi lagi menjadi cara langsung dengan menggunakan bilik hitung dan cara tak langsung menggunakan hapusan darah. Cara otomatis menggunakan alat *hematology analyzer* yang memiliki keuntungan lebih praktis, lebih cepat, hasil keakuratan tinggi. Nilai normal trombosit menurut Deacie adalah $150 - 400 \times 10^9/L$, jika menggunakan metode Rees Ecker nilai normal trombosit adalah $140 - 340 \times 10^9/L$, jika menggunakan Coulter Counter nilai normalnya adalah $150 - 350 \times 10^9/L$ (Kiswari, 2014).

Perhitungan jumlah trombosit cara langsung dengan menggunakan sistem otomatis *Hematology Analyzer* dengan teknologi VCS dan RF/DC. Cara otomatis ini memiliki kelebihan diantaranya tidak memerlukan waktu yang lama dalam pengerjaan sampel, tidak

melelahkan petugas laboratorium dan memiliki tanda khusus atau flag jika dalam pemeriksaan hitung trombosit terdapat hal – hal yang perlu mendapat perhatiandengan menampilkan *flag* (bendera).

Dengan menggunakan alat *hematology analyzer* lebih banyak trombosit yang dapat dihitung dan juga terdapat beberapa parameter untuk pemeriksaan trombosit dan sekaligus untuk memantau dari hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit, diantaranya yaitu :

a. *Platelet Distribution Width* (PDW)

Parameter yang menggambarkan variasi ukuran trombosit yang beredar di sirkulasi darah dan merupakan sebagai tanda aktifnya pelepasan trombosit, dimana satuan dalam parameter ini ialah femtoliter (fl). PDW merupakan indikator variabilitas volume dalam ukuran trombosit dan meingkat dengan adanya anisositosis trombosit. PDW adalah kurva distribusi trombosit yang diukur pada tingkat ketinggian relatif 20% dalam kurva distribusi ukuran trombosit, dengan tinggi kurva total 100%. PDW secara langsung mengukur variabilitas dalam ukuran platelet, perubahan dengan aktivasi platelet dan mencerminkan heterogenitas dalam morfologi platelet.

b. *Mean Platelet Volume* (MPV)

Parameter yang mengukur rerata ukuran trombosit yang ada di sirkulasi darah dengan satuan femtoliter (fl). Indeks bias rata – rata dari platelet ini dilakukan dengan teknik hamburan cahaya dua

sudut yang dimodifikasi dan berguna dalam menentukan perubahan status aktivasi platelet. MPV adalah mode volume trombosit yang diukur, MPV ditentukan dalam sel progenitor, megakaryocyte sumsum tulang. Volume trombosit ditemukan terkait dengan sitokin (trombopoietin, interleukin – 6 dan interleukin – 3) yang bertugas mengatur ploidi megakariosit dan jumlah trombosit dan menghasilkan produksi trombosit yang lebih besar.

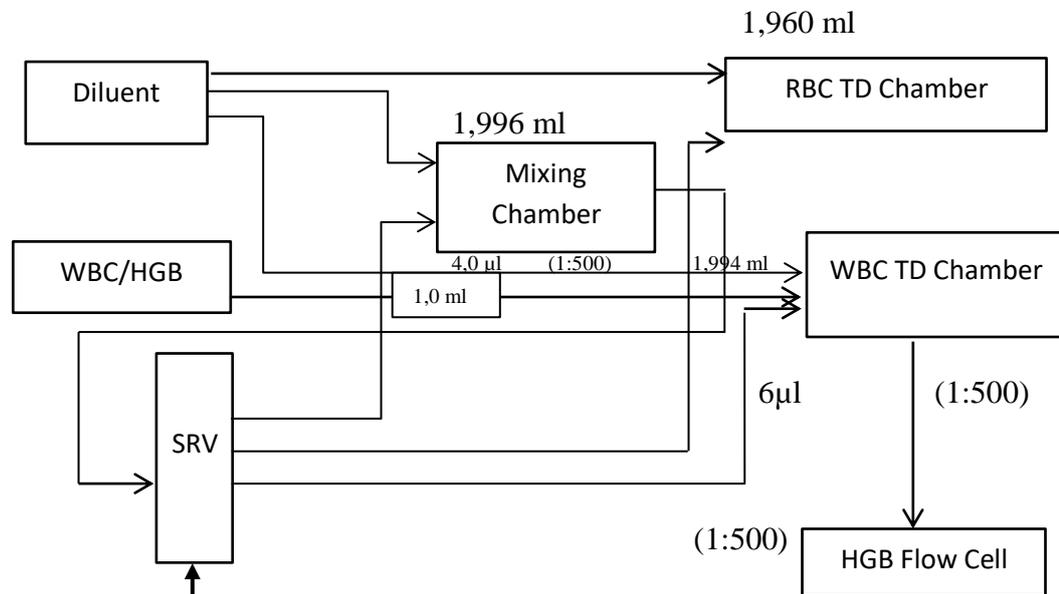
c. *Platelet – Large Cell Ratio (P – LCR)*

Parameter yang merupakan persentase trombosit dengan ukuran yang lebih besar dari trombosit normal. Kisaran persentase normal adalah 15 – 35 % dan parameter ini juga digunakan untuk memantau aktivitas trombosit.

d. *Immature Platelet Fraction (IPF)*

Parameter yang merupakan fraksi jumlah trombosit muda (*reticulated platelet*) dengan jumlah total trombosit. Salah satu fungsi parameter ini ialah dapat membantu membedakan trombositopenia akibat hiperdestruksi dengan hipoproliferasi dan IPF ini juga dapat sebagai indikator awal dari regenerasi sumsum tulang, untuk pertimbangan pemberian transfusi TC (Trombosit atau *Cryoprecipitate*).

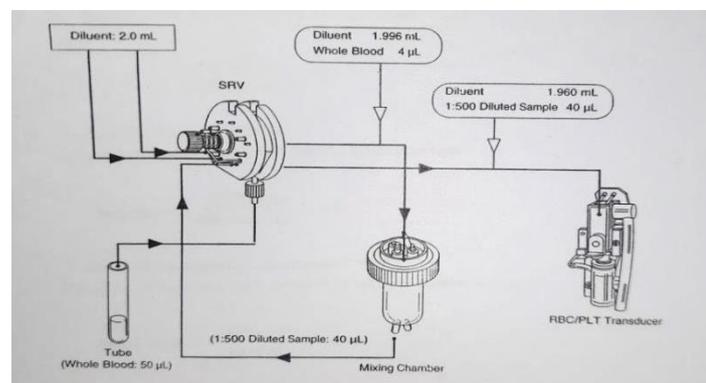
Berikut merupakan skema pemeriksaan trombosit didalam hematologi analyzer metode RF/DC.



Gambar 10. System Block Diagram Whole Blood Mode

Whole Blood sampel (50 μ l)

Dalam *hematology analyzer* Sysmex XP – 100 yang menggunakan teknologi RF/DC sel trombosit diukur dengan cara seperti pada gambar dibawah ini :



Gambar 11. RBC/PLT Analysis

Sumber : manual intruction for use Sysmex XP – 100

Dengan penjelasan sebagai berikut :

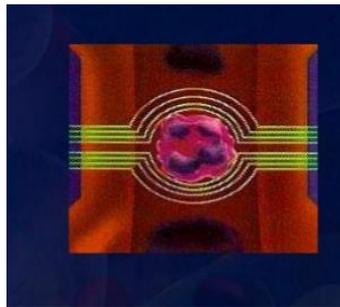
- a. Darah disedot dari probe sampel ke dalam SRV
- b. 4,0 μ l darah yang diukur dengan SRV diencerkan menjadi 1 : 500 dengan 1,996 ml pengencer dan dibawa ke ruang pencampuran sebagai sampel yang diencerkan (pengenceran tahap pertama)
- c. Sampel pengenceran 1: 500 pada step 2, 40 μ l diukur dengan SRV kemudian diencerkan menjadi 1 : 25.000 dengan 1,960 ml pengencer, kemudian dipindahkan ke ruang RBC/PLT Transducer chamber (pengenceran tahap kedua)
- d. 250 μ l sampel dalam ruang RBC/PLT Transducer disedot melalui celah dan pada saat ini RBC/ PLT dihitung dengan metode deteksi DC (direct current). Pada saat yang bersamaan juga dihitung nilai HCT (hematokrit) dengan metode deteksi ketinggian pulsa RBC.

Berikut merupakan gambar rangkaian analisis RBC/PLT dalam sebuah *hematology analyzer* dengan teknologi VCS.

- a. Volume (V)

Alat *Hematology Analyzer* yang menggunakan teknologi VCS ini dalam pengukuran volume sel menggunakan arus searah atau direct current di dua elektroda dalam aliran sel untuk

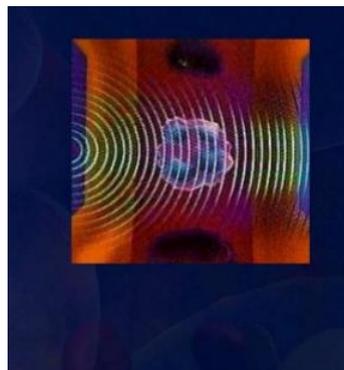
mengukur secara fisik volume yang dipindahkan oleh seluruh sel dalam pengencer isotonik dan teknologi ini secara akurat mengukur semua jenis sel dan tidak terpengaruh orientasi sel di jalur cahaya.



Gambar 12. Pengukuran volume sel dalam VCS
Sumber : Siddartha, 2016

b. Konduktivitas (C)

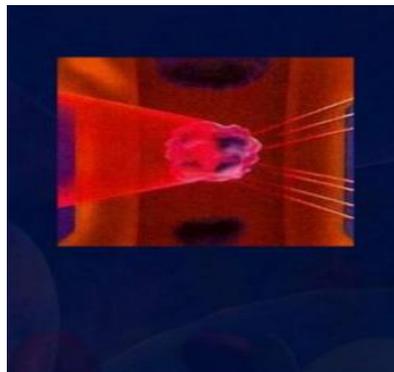
Pengukuran konduktivitas sel dengan menggunakan energi radio frekuensi yang menembus kedalam sel dan mengungkapkan informasi tentang uaran dan struktur internal sel tersebut.



Gambar 13. Pengukuran konduktivitas sel dalam VCS
Sumber : Siddartha, 2016

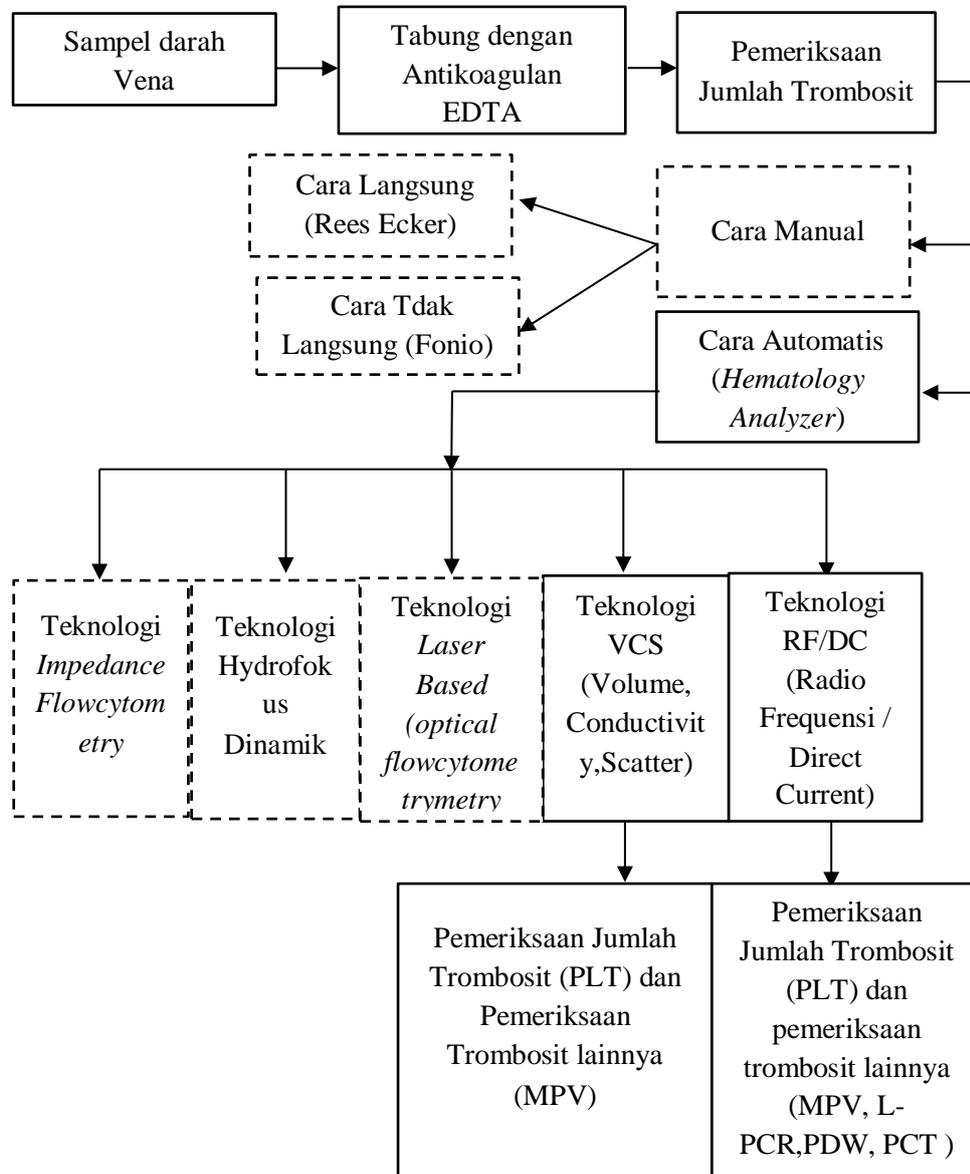
c. Pengukuran penyebaran / *scatter measurement* (S)

Mengukur permukaan sel granularitas menggunakan berbagai sudut. Saat sel – sel dilewatkan dalam aliran tunggal mereka melewati laser yang tersebar dan hamburan cahaya pada sudut antara 10° sampai 70° digunakan oleh instrumen VCS ini.



Gambar 14. Pengukuran penyebaran / *scatter measurement*
Sumber : Siddartha, 2016

B. Kerangka Teori



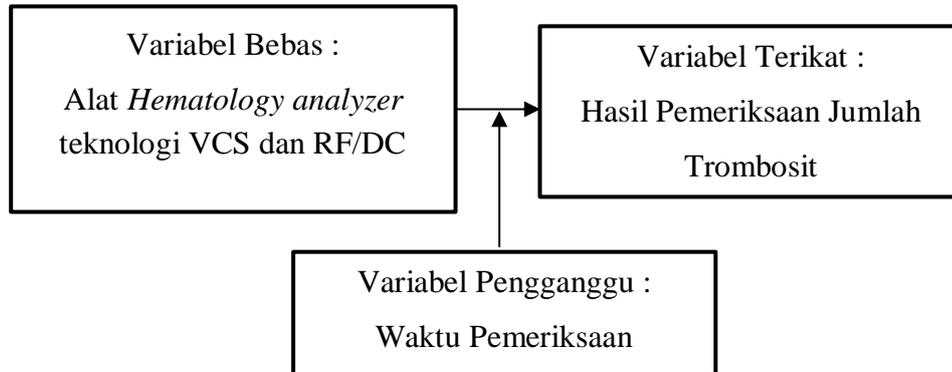
Keterangan :

: Tidak dikerjakan

: Dikerjakan

Gambar 15. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 16. Hubungan antar variabel

D. Hipotesis Penelitian

Tidak ada perbedaan hasil pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan *hematology analyzer* teknologi VCS dan teknologi RF/DC.

