

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Darah

a. Definisi

Darah adalah cairan tubuh yang ditemukan dalam sistem sirkulasi manusia dan vertebrata lain. Darah membawa produk sisa metabolisme keluar dari sel dan mengantarkan unsur penting seperti nutrisi dan oksigen ke dalam sel (Fdill, 2022). Tubuh manusia terdiri dari sekitar lima liter darah, yang bersirkulasi terus menerus dalam sistem kardiovaskular. Darah bukan hanya media transportasi tetapi memegang kunci penting dalam respon imun dan penyembuhan luka (Jalg'asbay qizi dkk, 2024).

b. Fungsi

Darah mempunyai peran penting dalam tubuh, diantaranya :

- 1) Menyediakan nutrisi termasuk glukosa, asam amino, dan asam lemak (terlarutkan dalam darah atau berikatan dengan protein plasma, seperti lipid darah) dan menyediakan oksigen untuk jaringan (berikatan dengan hemoglobin, yang terdapat pada sel darah merah)
- 2) Eliminasi sisa produk tubuh seperti urea, asam laktat, dan karbon dioksida
- 3) Proses imunologi, seperti pergerakan sel darah putih dan penggunaan antibodi untuk mengidentifikasi benda asing
- 4) Koagulasi, yaitu proses darah diubah dari bentuk cairan menjadi bentuk gel semisolid untuk menghentikan pendarahan akibat kerusakan pembuluh darah
- 5) Berperan sebagai pembawa “pesan”, termasuk sebagai pembawa hormon dan memberikan sinyal kerusakan jaringan
- 6) Mengatur suhu internal tubuh

7) Tekanan hidrostatik (Fdil, 2022)

c. Komposisi

Darah terdiri dari dua komponen, yaitu plasma dan sel darah

1) Plasma

Salimov dan Karimov (2019) menjelaskan plasma adalah bagian cair dalam darah, terdapat sekitar 55% dari total volume darah, yang terdiri dari :

- a) Air, membentuk sekitar 90–92% dari plasma darah, berfungsi sebagai pelarut untuk mengangkut berbagai zat (misalnya nutrisi, hormon, gas, dan produk sisa metabolisme).
- b) Protein, terdiri dari albumin dan globulin. Albumin berfungsi untuk mengatur tekanan osmotik yang memberikan keseimbangan cairan antara pembuluh darah dan jaringan, sedangkan globulin berfungsi dalam respon imun dan perpindahan lipid.
- c) Fibrinogen, terlibat dalam pembekuan darah
- d) Elektrolit, seperti natrium, kalium, kalsium dan bikarbonat, yang membantu mengatur keseimbangan pH dan tekanan osmotik
- e) Nutrisi, hormon dan sisa metabolisme. Plasma membawa nutrisi (seperti glukosa, asam amino dan asam lemak), hormon, dan sisa metabolisme (seperti urea dan karbon dioksida) dari dan ke jaringan tubuh yang berbeda.

2) Sel darah

Yuldoshev (2021) menerangkan sel darah terdapat 45% dari total volume darah, terdiri dari :

- a) Sel darah merah (eritrosit), bertanggung jawab dalam mengantarkan oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh dan mengembalikan karbon dioksida untuk dikeluarkan lewat pernapasan. Eritrosit mengandung hemoglobin, yaitu sebuah

protein yang berikatan dengan oksigen dan karbon dioksida, yang menjadi media pertukaran gas

- b) Sel darah putih (leukosit), merupakan sel imun dalam darah. Terdapat beberapa jenis leukosit, yaitu :
 - (1) netrofil, jenis leukosit terbanyak, berperan dalam membantu melawan infeksi bakteri
 - (2) limfosit, termasuk sel B, sel T dan sel *natural killer*, yang berperan dalam imunitas adaptif dan bawaan
 - (3) monosit, berdiferensiasi menjadi makrofag yang menelan patogen dan sel-sel mati
 - (4) eosinofil dan basofil, berperan dalam reaksi alergi dan melawan parasit
- c) Platelet (trombosit), fragmen sel kecil yang berperan dalam pembekuan darah. Trombosit beragregasi pada lokasi pembuluh darah yang terluka, membentuk sebuah bekuan dan mencegah pendarahan yang banyak.

2. Hemoglobin

a. Definisi

Hemoglobin adalah komponen utama dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut utama oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh dan membawa karbondioksida kembali ke paru-paru untuk dikeluarkan. Selain itu, hemoglobin juga mengangkut ion proton yang terlibat dalam proses pengaturan pH tubuh. Hemoglobin memiliki dua fungsi pengangkutan utama dalam tubuh manusia, yaitu membawa oksigen ke berbagai jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida serta proton dari jaringan tubuh ke organ respirasi (Komang dkk, 2025).

b. Kelainan

Hemoglobin merupakan komponen utama sel darah merah dalam mengangkut oksigen. Anemia dapat terjadi apabila kadar hemoglobin lebih rendah daripada nilai normal sesuai umur dan jenis kelamin. Nilai normal hemoglobin untuk wanita dewasa adalah 12-16 gr/dl dan pria

dewasa 13,5-17,5 gr/dl. Penyebab utama anemia adalah kehilangan banyak darah, produksi eritrosit inadkuat, dan kerusakan eritrosit (Marks, 2019).

c. Pemeriksaan Hemoglobin

Karakochuk dkk (2019) menyebutkan pemeriksaan kadar hemoglobin yang direkomendasikan untuk dilakukan adalah :

1) Pemeriksaan manual

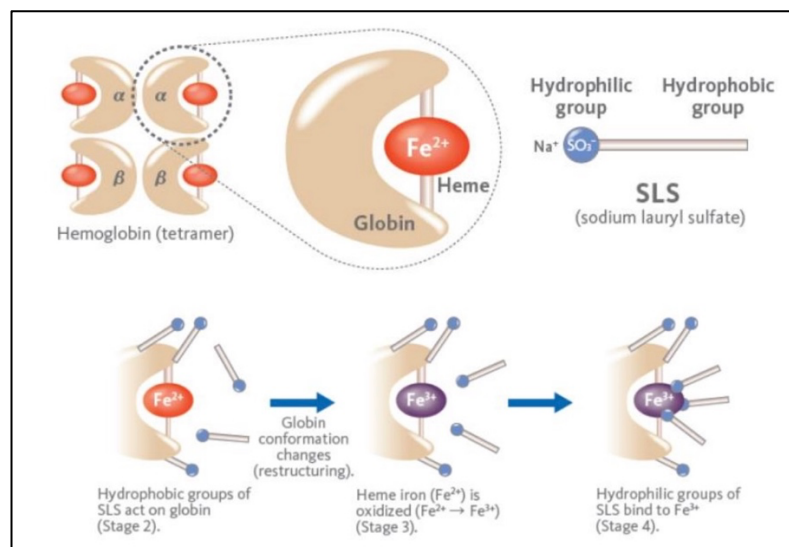
Pemeriksaan manual yang biasanya dilakukan di laboratorium adalah metode CyanmetHb, metode Drabkins, metode Sahli dan metode alkalin hematin. Kelebihan metode ini adalah tidak mahal, hanya membutuhkan sedikit sampel darah dan dapat menggunakan *portable photometer*. Sedangkan kekurangannya adalah larutan Drabkins mengandung *cyanide* beracun, membutuhkan peralatan laboratorium (termasuk kolorimeter dan reagen tertentu) dan ATLM yang terlatih, tidak cocok untuk sampel yang banyak dan membutuhkan hasil yang cepat.

2) *Hematology analyzer* otomatis

Pemeriksaan hemoglobin dengan metode ini menggunakan alat otomatis, misalnya XN-series (Sysmex), Cobas m-series (Roche), dan lain-lain. Kelebihan metode ini adalah proses pemeriksaan otomatis dengan presisi tinggi, terdapat indikator hematologi tambahan yang membantu dalam diagnosis subtipe anemia dan dapat memproses jumlah sampel yang banyak dan cepat, sedangkan kekurangan metode ini adalah harganya mahal, membutuhkan arus listrik dalam pengoperasian, dan membutuhkan perawatan rutin, reagen khusus dan teknisi terlatih (Khartabil dkk, 2021).

Metode deteksi hemoglobin SLS memanfaatkan *sodium lauryl sulfate* (SLS), sebuah bahan kimia yang tidak berbahaya dan bebas sianida. SLS bekerja dengan merusak sel darah merah dan putih dalam sampel darah, memulai reaksi kimia yang mengubah

komponen hemoglobin, khususnya globin, dan mengoksidasi bagian heme. Setelah proses ini, SLS berikatan dengan gugus heme dan membentuk kompleks yang stabil dan berwarna. Kompleks ini kemudian dapat dianalisis menggunakan teknik fotometri, yang mengukur intensitas warna sebagai indikator kadar hemoglobin dalam sampel. Sebuah LED memancarkan cahaya monokromatik yang diserap oleh kompleks SLS-HGB saat melewati campuran. Absorbansi yang diukur oleh sensor foto berbanding lurus dengan konsentrasi hemoglobin dalam sampel. Metode fotometri serapan biasanya terpengaruh oleh kekeruhan sampel itu sendiri, yang dalam kasus sampel darah dapat disebabkan oleh lipemia atau leukositosis. Namun, dengan menggunakan metode SLS-HGB, gangguan ini dapat dikurangi karena efek dari reagen (Khartabil dkk, 2021).



Gambar 1. Metode SLS-Free Cyanide pada alat Sysmex XN-450 (Sysmex, 2021)

3) Hemoglobinometer

Alat ini biasanya digunakan untuk pemeriksaan di luar laboratorium karena portabel dan dapat menunjukkan kadar hemoglobin instan. Contoh alat pabrikan dengan metode ini antara

lain HemoCue, TrueHb, dan DiaSpect Tm atau HemoPoint. Kelebihan metode ini adalah mudah digunakan, tidak membutuhkan arus listrik (menggunakan baterai), relative murah dan dapat digunakan di luar laboratorium. Sedangkan kekurangan metode ini adalah presisi rendah, dapat dipengaruhi teknik pengambilan darah, dan tidak dapat dikalibrasi.

4) Skala warna hemoglobin (HbCS)

WHO (*World Health Organization*) mengembangkan metode ini untuk kebutuhan pemeriksaan hemoglobin yang cepat, sederhana dan murah yang dapat dilakukan di lapangan. Prinsip metode ini adalah sampel darah diteteskan di kertas tertentu, kemudian dibandingkan warnanya dengan kartu skala warna. Kekurangan metode ini adalah bersifat subyektif, akurasi rendah, dan menunjukkan hasil yang tidak akurat pada hemoglobin rendah (Khartabil dkk, 2021).

3. Trombosit

a. Definisi

Bentuk dan struktur trombosit dalam Keadaan Istirahat dan selama aktivasi trombosit adalah fragmen sel kecil ($\pm 2-4 \mu\text{m}$), bertahan hidup pendek ($\pm 8-10$ hari), yang tidak memiliki inti dan berasal dari garis keturunan megakariosit. Sebagian besar Trombosit beredar dalam aliran darah dalam isolasi dalam bentuk istirahat berbentuk cakram, tanpa berinteraksi dengan dinding pembuluh darah, tetapi terus-menerus memantau lingkungan sekitarnya melalui berbagai reseptor dan molekul adhesi dan pada akhirnya dihilangkan dari darah pada akhir masa hidupnya. Oleh karena itu, produksi Trombosit yang terus menerus diperlukan untuk mempertahankan jumlah trombosit yang normal (yaitu, $150.000 \text{ sel/mm}^3-400.000 \text{ sel/mm}^3$) (Scridon, 2022).

b. Fungsi

Trombosit memegang peran penting dalam proses hemostasis. Ketika terjadi cedera pembuluh darah, trombosit bereaksi dengan

membentuk sumbat hemostatik primer. Dengan menempel terlebih dahulu pada kolagen yang terbuka dan komponen subendotel lainnya lalu menempel satu sama lain, trombosit membentuk massa yang secara mekanis mengisi cacat pada lapisan pembuluh darah dan membatasi kehilangan darah dari lokasi cedera. Cedera pada pembuluh darah menyebabkan perubahan pada lingkungan normal dan sebagai respons, aktivasi trombosit. Sumbat hemostatik primer merupakan hasil transformasi trombosit dari keadaan tidak aktif menjadi aktif.

Pembentukan sumbat trombosit memerlukan beberapa peristiwa aktivasi trombosit, yaitu :

1) Adhesi trombosit

Rangsangan awal untuk aktivasi trombosit adalah paparan komponen subendotel dinding pembuluh darah yang biasanya tersembunyi dari trombosit yang bersirkulasi. Adhesi trombosit, adalah perlekatan trombosit ke kolagen dan komponen subendotel lainnya

2) Aktivasi trombosit

Adhesi trombosit ke komponen subendotel memicu serangkaian perubahan morfologi dan fungsional yang dikenal sebagai aktivasi trombosit. Aktivasi adalah proses kompleks yang mencakup perubahan dalam biokimia metabolik, morfologi trombosit (bentuk), reseptor permukaan, dan orientasi Jaringan cidera Adhesi trombosit (kolagen subendotel) Perubahan Bentuk Trombosit Agregasi Trombosit Sekresi Trombosit Sumbat hemostasis primer 49 fosfolipid membran. Hasil aktivasi utama adalah pembentukan reseptor GPIIb/IIIa aktif untuk pengikatan fibrinogen, sekresi isi granula trombosit ke jaringan di sekitarnya, dan pembentukan agregat trombosit. Hanya trombosit yang teraktivasi yang mampu melanjutkan langkah-langkah berikutnya dalam membentuk sumbat hemostatik primer (Azizah, 2025).

3) Perubahan Bentuk Trombosit

Perubahan bentuk melibatkan reorganisasi protein di zona struktural termasuk mikrotubulus (MT), protein sitoskeletal submembran, dan filamen sitoplasma aktin dan miosin. Kumparan MT dibongkar, ditata ulang, dan dikonstraksikan ke bagian tengah sel, memusatkan organel trombosit di bagian tengah dan menyebabkan perubahan ke bentuk sel bulat daripada sel pipih. Hal ini membuat butiran trombosit lebih dekat ke OCS, sehingga memudahkan sekresi (Amalia, 2022).

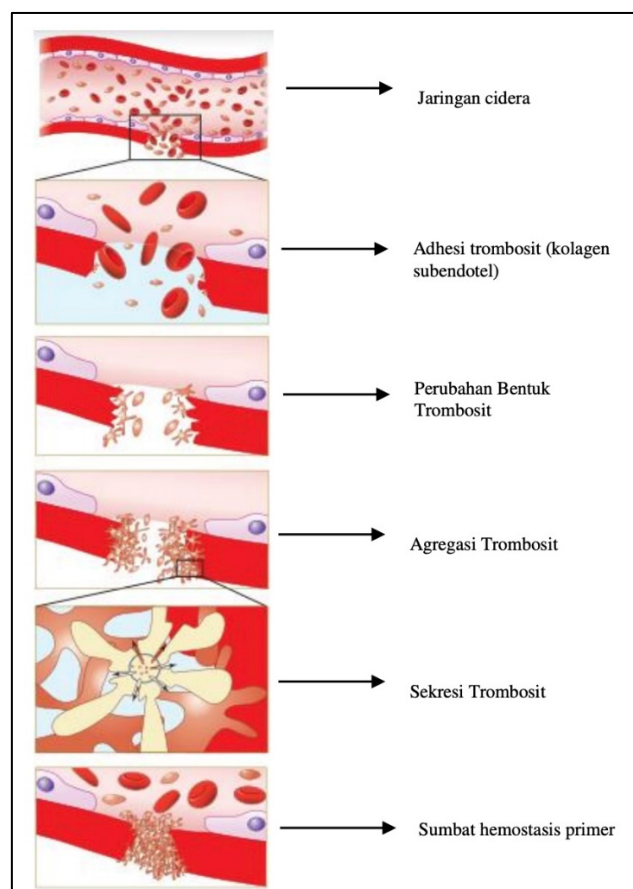
4) Sekresi Trombosit (Pelepasan)

Sekresi adalah proses yang bergantung pada energi yang membutuhkan Adenosin Tri Phosphat (ATP). Open Canalicular System (OCS) menyatu dengan membran granula yang telah disentralisasi jauh di dalam bagian dalam trombosit selama perubahan bentuk trombosit, dan isi granula kemudian dikeluarkan melalui OCS ke bagian luar trombosit. Atau, sekresi dapat terjadi melalui fusi langsung dengan membran plasma (Scridon, 2022).

5) Agregasi Trombosit

Agregasi trombosit adalah perlekatan trombosit satu sama lain. Trombosit yang baru tiba yang mengalir ke area tersebut menjadi aktif melalui kontak dengan agonis seperti ADP dan TXA₂ (dilepaskan oleh trombosit yang melekat dan aktif pada awalnya), produk dari jaringan yang rusak dan sel endotel, dan trombin (enzim prokoagulan yang dihasilkan oleh faktor jaringan/FVIIa yang bekerja pada protrombin) Dengan aktivasi, trombosit baru mengalami perubahan bentuk dan paparan situs GPIIb/IIIa aktifnya. Fibrinogen yang terikat pada trombosit yang diaktifkan berfungsi sebagai jembatan, yang mengikat silang molekul GPIIb/IIIa pada dua trombosit yang berdekatan.

Agregasi terjadi dalam dua fase, agregasi primer dan sekunder. Selama agregasi primer, trombosit saling menempel secara longgar. Jika rangsangan oleh agonis lemah, agregasi primer bersifat reversibel. Agregasi sekunder terjadi dan menghasilkan agregasi trombosit yang ireversibel. Proses ini dimulai saat trombosit mulai melepaskan ADP dan isi granula lainnya serta mensintesis dan melepaskan Thromboxane A₂ (TXA₂) (Azizah, 2025).



Gambar 2. Trombosit yang membentuk sumbat hemostasis primer (Azizah, 2025)

c. Kelainan

Zaidi (2024) menerangkan jumlah trombosit di luar rentang nilai normal dapat mengindikasikan dasar suatu proses penyakit. Nilai

normal trombosit dapat berbeda di tiap laboratorium tetapi mayoritas antara 150.000 – 450.000 trombosit per μl darah. Kelainan trombosit antara lain :

1) Trombositopenia

Disebut trombositopenia apabila jumlah trombosit di bawah 150.000/ μl . Diagnosis banding dari trombositopenia sangat luas, tetapi dapat diklasifikasikan menjadi kelainan dalam produksi trombosit, penghancuran trombosit, penahanan trombosit, atau penggunaan trombosit yang meningkat.

- a) Kelainan produksi trombosit, termasuk proses penyakit yang berkaitan dengan trombopoiesis dalam sumsum tulang, seperti leukemia, limfoma, atau sindrom myelodysplastic spesifik. Produksi trombosit juga dapat dipengaruhi obat-obatan seperti kemoterapi, antibiotik dan obat-obatan terlarang. banyak infeksi virus, seperti hepatitis C dan HIV, dapat menekan trombopoiesis dan menyebabkan trombositopenia.
- b) Kelainan penghancuran trombosit, seperti beberapa penyakit autoimun, termasuk tapi tidak terbatas pada, trombositopenia yang disebabkan sistem imun, *immune thrombocytopenic purpura* (ITP) dan trombositopenia akibat penggunaan heparin.
- c) Kelainan penambahan penahanan trombosit, seperti beberapa proses penyakit yang mengakibatkan splenomegali.
- d) penggunaan trombosit yang meningkat, terjadi pada sindrom *disseminated intravascular coagulopathy* (DIC) dan gangguan trombotik lain.

2) Trombositosis

Trombositosis terjadi apabila jumlah trombosit lebih dari 450,000/ μl . Diferensiasi diagnosis trombositosis sangat luas, tetapi dapat diklasifikasikan menjadi primer dan sekunder. Trombositosis primer adalah gangguan sumsum tulang, paling banyak *polycythemia vera*.

Penyebab sekunder trombositosis, seperti tapi tidak terbatas pada :

- a) trombositosis reaktif, terjadi pada peradangan kronik seperti artritis rheumatoid dan penyakit autoimun lain, infeksi akut dan kronik, anemia defisiensi besi, limfoma dan leukemia
- b) splenektomi, juga menyebabkan trombositosis dengan pengurangan penahanan trombosit (Zaidi, 2024).

d. Pemeriksaan Trombosit

Chen, dkk (2024) menjelaskan perhitungan trombosit merupakan pemeriksaan klinis fundamental untuk penegakan diagnosis penyakit *hemorrhagic*, koagulasi abnormal, dan gangguan autoimun tertentu, serta menjadi penentu dalam pemberian transfusi trombosit. Perhitungan trombosit terdiri dari :

1) Pemeriksaan mikroskopik/manual

a) Pemeriksaan manual direk

Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara mengencerkan sampel darah EDTA dengan larutan ammonium oksalat untuk melisis sel darah merah dan membedakan trombosit dengan leukosit, menggunakan *Neubauer counting chamber*, diperiksa menggunakan mikroskop untuk menentukan jumlah trombosit.

b) Pemeriksaan manual indirek

Pemeriksaan ini merupakan metode dasar namun penting untuk menilai jumlah, ukuran, dan morfologi trombosit pada sediaan apusan darah. Pembuatan dan pewarnaan sediaan darah sesuai dengan metode yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) sangat penting untuk penghitungan yang akurat. Sebelum menghitung trombosit di bawah mikroskop, pemeriksaan menyeluruh terhadap seluruh sediaan darah harus dilakukan, terutama pada bagian tepi, untuk mengidentifikasi faktor-faktor yang dapat menyebabkan perkiraan jumlah lebih

rendah, seperti gumpalan trombosit, untaian fibrin, atau *leukocyte satellitism* (artefak berupa trombosit yang menempel di sekitar leukosit) (Chen, 2024).

2) Metode pemeriksaan otomatis

a) *flow cytometry*

Prinsip metode ini adalah sampel darah EDTA diencerkan dengan buffer steril (*phosphate-buffered saline* / PBS, pH 7,4) untuk menyiapkan suspensi. Antibodi fluoresen khusus kemudian digunakan untuk mewarnai trombosit. Sampel yang telah diwarnai dimasukkan ke ruang aliran (*flow chamber*) melalui sistem pengambilan sampel, membentuk aliran fokus dengan cairan selubung (*sheath fluid*), yang memastikan sel-sel melewati area deteksi satu per satu. Trombosit yang disinari laser menghasilkan cahaya hambur (*forward dan side scatter*, dengan panjang gelombang sama seperti laser) serta fluoresensi (panjang gelombang lebih panjang dari laser, yang dihasilkan oleh pewarna antibodi yang tereksitasi), kemudian digunakan untuk membaca jumlah trombosit.

b) *CD61 immunoplatelet count*

Metode ini dikembangkan oleh Abbott Diagnostics, menggunakan teknik *flow cytometry* monokrom otomatis penuh dengan antibodi monoklonal (MoAb) CD61 yang dikonjugasikan dengan *fluorescein isothiocyanate* (FITC) untuk mewarnai dan secara spesifik mengidentifikasi trombosit dengan menargetkan glikoprotein (gpIIIa) pada permukaannya.

c) *hybrid platelet count*

Metode ini merupakan metode pemeriksaan trombosit baru, yang mengkombinasikan deteksi trombosit berukuran kecil melalui saluran impedansi dan trombosit berukuran besar melalui saluran DIFF untuk memperoleh perhitungan trombosit yang akurat.

d) *optical platelet count*

Metode pemeriksaan ini dapat secara efektif menghilangkan interferensi dari sel darah merah kecil, fragmen sel darah merah dan trombosit berukuran besar.

e) *fluorescence platelet count*

Metode pemeriksaan ini menggunakan prinsip *flow cytometry*, menggunakan pewarna fluoresen khusus (terutama oksazin) yang secara spesifik berikatan dengan DNA mitokondria (MtDNA) dan RNA ribosom di retikulum endoplasma trombosit, yang berbeda dari metode optik

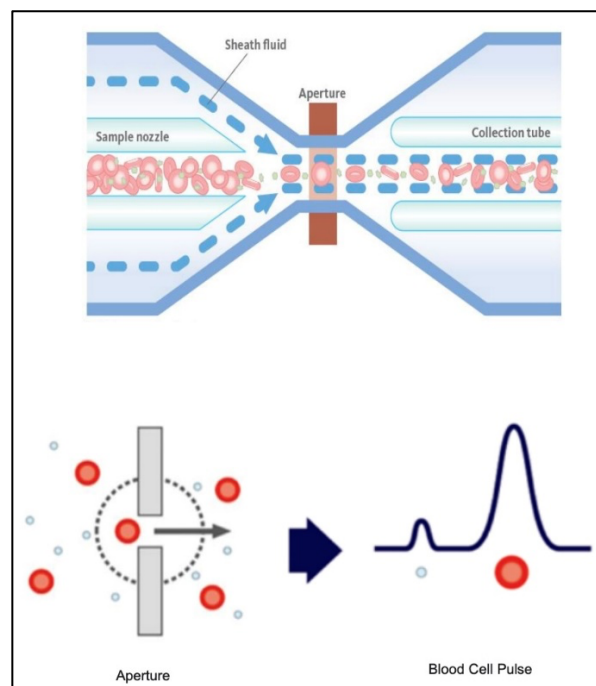
f) *impedance platelet count*

Metode ini adalah metode pemeriksaan trombosit yang paling banyak digunakan untuk menghitung trombosit dalam praktik klinis karena biayanya rendah dan efisiensinya tinggi. Metode impedansi memperlakukan trombosit sebagai partikel yang sepenuhnya tidak menghantarkan listrik. Saat trombosit melewati sebuah area deteksi, akan menghasilkan sinyal listrik; volume trombosit ditentukan oleh tinggi sinyal listrik ini, sedangkan jumlah sinyal listrik menentukan jumlah trombosit.

Penghitungan dengan impedansi pada dasarnya merupakan metode satu dimensi, yang hanya berfokus pada volume partikel. Semua partikel yang memiliki volume dalam rentang yang ditetapkan oleh analyzer tertentu akan dianggap sebagai trombosit, terlepas dari apakah benar-benar trombosit. Variasi yang signifikan dapat terjadi pada hasil pengujian sampel yang sama dengan analyzer impedansi yang lain karena perbedaan metode analisis, linearitas di seluruh rentang pengukuran, dan jumlah sel yang benar-benar dihitung (Chen, 2024).

Metode impedansi juga merupakan metode yang digunakan pada Sysmex XN-450 untuk menghitung jumlah

trombosit dan eritrosit, yaitu *impedance measurement with hydrodynamic* atau disebut juga DC sheath flow. Sebagian darah dipisahkan dari darah total yang diaspirasi dan dicampurkan dengan pelarut (diluent) dalam rasio yang telah ditetapkan sebelumnya. Dari larutan hasil pengenceran itu, sejumlah volume tertentu dikirim ke ruang deteksi dan dilewatkan melalui suatu bukaan kecil yang disebut *aperture*. Terdapat elektroda di kedua sisi aperture — dan arus searah (direct current, DC) dialirkan melalui elektroda ini. Hambatan listrik (resistansi) antara elektroda berubah ketika sel darah yang tersuspensi dalam larutan melewati aperture. Perubahan hambatan ini menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional terhadap ukuran sel darah (Sysmex, 2021).



Gambar 3. Prinsip kerja DC *sheath flow* pada Sysmex XN-450 (Sysmex, 2021)

4. Kesalahan Pemeriksaan Hematologi

Tadesse dkk (2018) menyebutkan kesalahan pemeriksaan hematologi dapat terjadi pada tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Kesalahan pra analitik paling sering terjadi dengan proporsi kesalahan 75,5%, diikuti dengan kesalahan pasca analitik sebesar 22% dan analitik 2%.

a. Tahap pra analitik

1) Persiapan pasien

Aktivitas fisik merupakan variabel pra analitik yang penting dan *European Federation of Laboratory Medicine (EFLM)* menganjurkan pasien menghindari olahraga yang berlebihan dalam 24 jam sebelum pengambilan darah. Postur tubuh pasien juga dapat menyebabkan variasi hasil darah rutin. EFLM merekomendasikan pasien sebaiknya istirahat selama lima belas menit dalam posisi duduk sebelum dilakukan plebotomi sebagai standar prosedur plebotomi.

2) Pengambilan sampel dan kualitas sampel

Kesalahan pra analitik pada saat pengambilan darah dan kualitas sampel, antara lain :

- a) Spesimen darah terdapat bekuan merupakan alasan penolakan sampel yang paling banyak terjadi pada perhitungan otomatis dan koagulasi. Tingginya kejadian sampel beku ini disebabkan plebotomi yang kurang baik dan homogenisasi sampel inadeguat.
- b) Kontaminasi dengan cairan infus pada saat pengambilan darah yang dilakukan di jalur infus dapat menyebabkan anemia palsu dan hasil pemeriksaan koagulasi abnormal.
- c) Pemilihan antikoagulan untuk pemeriksaan darah rutin adalah *di- atau tri-potassium salt of ethylenediaminetetraacetic (EDTA)*, dengan preferensi menggunakan K_2EDTA , meskipun alternatif lain (misalnya $MgSO_4$) mungkin lebih baik untuk beberapa parameter trombosit.

- d) Urutan pengambilan sampel tidak memberikan efek yang signifikan pada pemeriksaan darah rutin, tetapi dapat beresiko terkontaminasi EDTA dan kalium pada sampel kimia dan sampel pembekuan apabila sampel darah rutin pada urutan pertama.
 - e) Volume darah yang tidak sesuai dengan kapasitas tabung dapat menyebabkan kesalahan hasil pemeriksaan darah rutin dan homogenisasi yang inadkuat.
 - f) Sampel darah yang hemolisis, ikterik dan lipemik juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan darah rutin
- 3) Pengiriman dan persiapan sampel
- a) Sampel darah rutin sebaiknya diperiksa dalam enam jam setelah pengambilan, khususnya untuk pemeriksaan morfologi sel darah. Apabila pemeriksaan ditunda, sampel dapat disimpan pada suhu 2-8°C tetapi tidak disarankan untuk sampel pasien yang memiliki *cold agglutinin*.
 - b) Preparasi sampel darah rutin sangat dipengaruhi homogenisasi yang adekuat (Salle, 2019).

b. Analitik

Kesalahan tahap analitik pada alat *hematology analyzer* berkaitan dengan prinsip kerja yang digunakan untuk menentukan parameter darah rutin, yaitu *impedance*, *spectrophotometry*, *optical methods* and *flow cytometry*. Selain itu, kesalahan tahap analitik dapat menyangkut banyak aspek morfologi sel. Analisis berbasis impedansi dapat sekaligus menilai jumlah sel darah merah (RBC) dan trombosit (PLTs) dalam satu detektor (Kubiak dkk, 2022).

c. Pasca Analitik

1) Validasi hasil

Alat *hematology analyser* merupakan peralatan diagnostik kompleks yang dapat menunjukkan *flag* pada hasil yang tidak sesuai untuk dapat ditinjau kembali dan diinvestigasi penyebabnya, misal dengan

pengulangan pemeriksaan, *reflex test* atau verifikasi dengan manual mikroskop.

2) Nilai rujukan interpretasi hasil

Interpretasi pasca analitik hasil pemeriksaan merujuk pada nilai normal, yang diperoleh dari data statistik, *cut off* yang telah ditentukan atau *action point*.

3) Pelaporan nilai kritis

Nilai kritis adalah hasil yang begitu abnormal hingga dapat mengancam nyawa jika tindakan korektif tidak segera dilakukan. Rekomendasi dari ICSH menetapkan nilai kritis pada pemeriksaan hemoglobin, leukosit dan trombosit, pemeriksaan apusan darah ditemukan leukemia akut (lebih dari 20% sel blast), leukemia promyelocytic akut, anemia *microangiopathic thrombotic*, parasite dan bakteri (Salle, 2019).

5. Teknik Homogenisasi

Homogenisasi merupakan suatu proses pencampuran atau *mixing* spesimen darah dan antikoagulan, yang terdiri dari primer dan sekunder. Homogenisasi primer dilakukan di awal sebelum spesimen diperiksa, sedangkan homogenisasi sekunder merupakan pencampuran kedua saat spesimen akan digunakan kembali untuk pemeriksaan (Haiti dkk, 2022). Darah yang telah dihomogenisasi primer biasanya tidak langsung diperiksa tetapi didiamkan dahulu. Penundaan pemeriksaan sering terjadi karena beberapa faktor, seperti pengiriman dari bangsal yang tidak segera dilakukan atau pengambilan sampel darah pasien yang banyak oleh petugas laboratorium sehingga tidak segera diperiksa (Hartina dkk, 2019). Darah dengan antikoagulan yang dibiarkan dalam waktu tertentu akan mengalami pemisahan menjadi dua lapisan atas berupa plasma, sedangkan lapisan bawah berupa sel darah (Rosidah dan Wibowo, 2018).

Homogenisasi sampel darah di laboratorium diperlukan untuk memastikan pemerataan persebaran sel darah, yang dilakukan segera sebelum dilakukan pemeriksaan. Tabung spesimen dapat dihomogenkan

dengan alat mekanis *rotating mixer* selama dua menit atau dengan teknik inversi 8 – 10 kali (Bain dkk, 2017). Selain teknik inversi, proses penghomogenan darah juga menggunakan teknik homogenisasi dengan teknik angka delapan (Tetty dkk, 2017).

a. Teknik Inversi

Teknik inversi adalah teknik pencampuran darah dengan cara membolak-balikkan tabung darah 180° dengan lembut untuk memastikan darah tercampur sempurna dengan antikoagulan atau activator pembekuan. Satu kali teknik inversi adalah dengan membalik tabung darah 180° dan kembali ke posisi semula (A → B → A) (Chang dkk, 2025).

Teknik ini dilakukan secara lembut sehingga dapat meminimalisir terjadinya lisis dan dapat memperkecil terjadinya agregasi trombosit yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (Riswanto, 2015). Namun, teknik ini juga memiliki kekurangan yaitu tidak tercampurnya darah dengan antikoagulan secara maksimal yang disebabkan teknik ini hanya menggunakan gerakan membolak-balikkan tabung sehingga masih menyebabkan terjadinya bekuan mikro yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium (Gandasoebrata, 2016). Teknik ini lebih efektif dalam homogenisasi darah yang bervolume kecil karena darah akan terhomogenisasi lebih merata. Namun, untuk yang bervolume besar akan menyebabkan tidak tercampurnya darah dengan antikoagulan secara maksimal (Anisa, 2025). Selain itu, teknik homogenisasi ini memberikan hasil yang beragam karena dipengaruhi faktor pengguna (ATLM) (Yucel dkk, 2019).



Gambar 4. Cara teknik inversi (Chang dkk, 2025)

b. Teknik Mekanis Otomatis

Alat homogenisasi otomatis ini terdiri dari beberapa *roller* berbentuk tabung yang bekerja dengan gerakan *rocking* (yang menggoyang-naik turun atau ayunan) dan *rolling* (yang menggulung/bergulir), supaya seluruh isi tabung atau sampel tercampur secara menyeluruh. Alat ini dirancang untuk pencampuran darah secara lembut dan terus-menerus dan banyak digunakan di laboratorium klinis, bank darah, dan untuk penelitian agar tabung darah tercampur dengan baik, mencegah penggumpalan (*clotting*), dan memastikan bahwa zat tambahan atau antikoagulan terdistribusi secara merata (HaloMedicals Systems Limited, 2024). Contoh alat homogenisasi tipe mekanis otomatis adalah *blood roller mixer* dengan kecepatan bervariasi tergantung merk, misalnya Capp *blood roller mixer* 0 – 80 rpm, Avi Scientific *blood roller mixer* ± 33 rpm, MSE Pro *roller mixer* 10-70 rpm.

EFLM menyebutkan penggunaan perangkat pencampuran otomatis (*blood roller mixer*) sangat dianjurkan karena menawarkan keunggulan dalam hal pengukuran waktu dan kecepatan yang lebih presisi, sehingga mengurangi risiko pencampuran yang berlebihan dan potensi aktivasi trombosit atau pembekuan darah (Simundic dkk, 2018). Alat homogenisasi ini juga memberikan hasil yang lebih baik khususnya dalam pemeriksaan hitung jenis leukosit (Yucel dkk, 2019). *Blood roller mixer* juga memiliki kecepatan yang stabil dan lebih

terukur, tidak dipengaruhi faktor pengguna. Praktik di lapangan tidak semua fasilitas kesehatan dilengkapi dengan *blood roller mixer* otomatis (Aziizah dkk, 2025). *Manual book blood roller mixer* menerangkan alat ini juga memerlukan kalibrasi rutin agar kecepatan homogenisasi stabil.



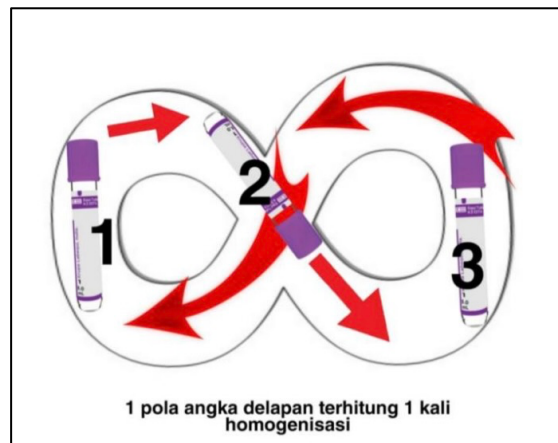
Gambar 5. *Blood roller mixer*
(HaloMedicals Systems Limited, 2024)

c. Teknik Angka Delapan

Teknik angka delapan merupakan teknik homogenisasi antara darah dengan antikoagulan dengan cara membentuk angka delapan. Teknik homogenisasi ini bukan merupakan teknik *gold standard*, namun teknik homogenisasi ini banyak digunakan oleh ATLM yang bekerja di laboratorium klinik (Tetty R, 2017).

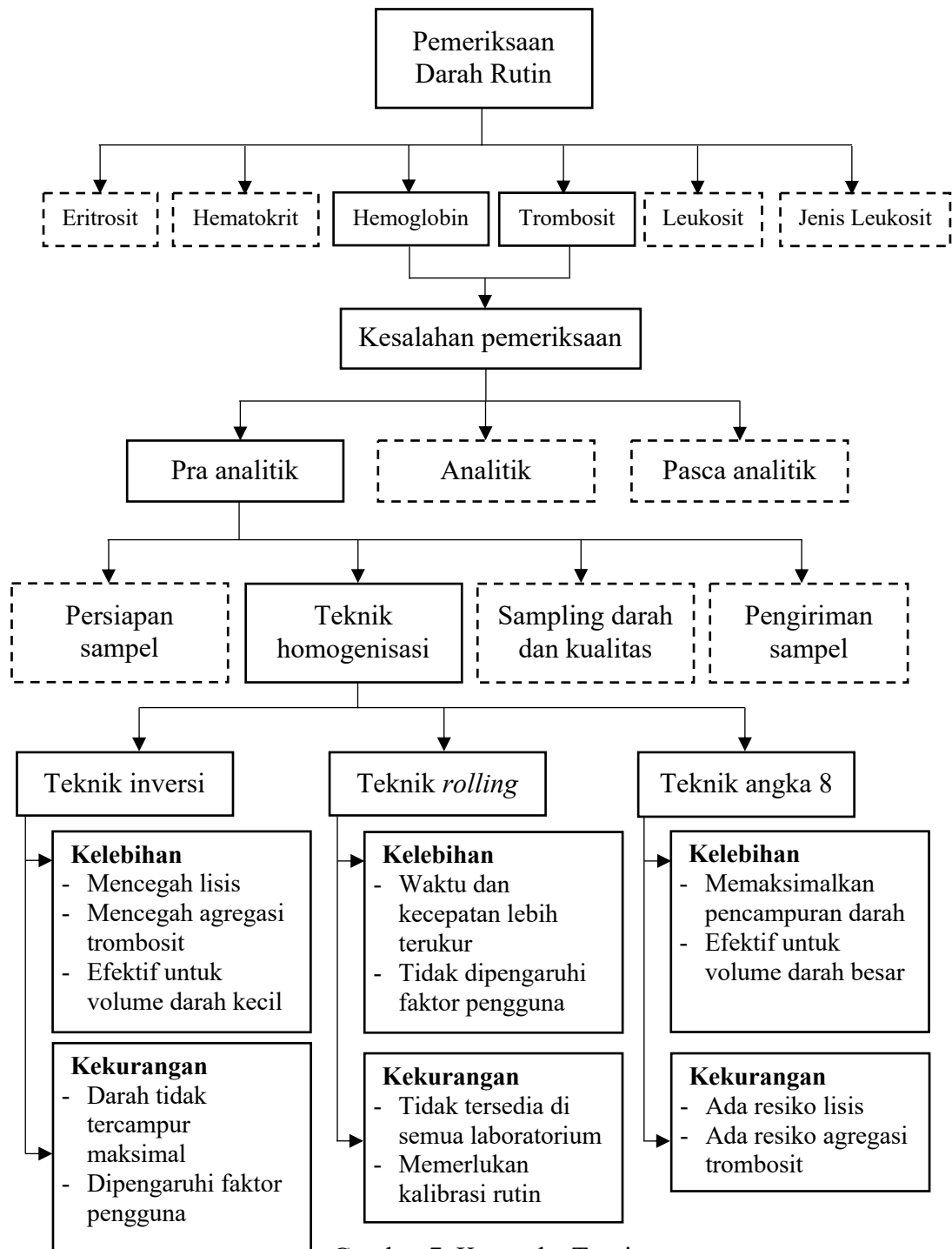
Teknik homogenisasi ini banyak digunakan oleh ATLM karena teknik ini dapat memaksimalkan pencampuran antara antikoagulan dengan darah secara merata dan tidak menyebabkan masih adanya bekuan mikro, bekuan makro, maupun koagulasi. Namun, teknik homogenisasi ini dapat menyebabkan tingkat lisis sel-sel darah meningkat dan menyebabkan agregasi trombosit meningkat karena gerakan yang membentuk angka delapan menyebabkan darah sering terbentur dengan dinding tabung yang dapat meningkatkan kemungkinan lisis serta disebabkan oleh lama waktu proses penghomogenan. Kecepatan penghomogenan pada teknik ini juga dapat menyebabkan darah menjadi lisis yang akan mempengaruhi hasil

pemeriksaan. Teknik angka delapan lebih efektif dalam homogenisasi darah yang kental atau darah dengan bervolume besar karena darah akan terhomogenisasi lebih merata tapi prosedur yang dilakukan akan lebih lambat (Anisa, 2025).



Gambar 6. Teknik homogenisasi angka 8 (Tetty dkk, 2017)

B. Kerangka Teori



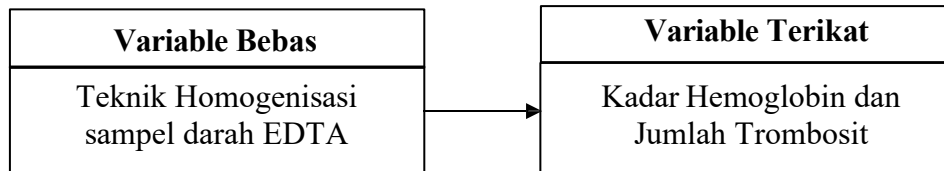
Gambar 7. Kerangka Teori

Keterangan :

□ : Diteliti

□ : Tidak diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 8. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Ada pengaruh teknik homogenisasi inversi, angka delapan dan *rolling* terhadap kadar hemoglobin dan jumlah trombosit pada sampel darah EDTA