

ANALISIS VARIASI PENANGGUHAN PENANGANAN SAMPEL DARAH EDTA TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT DENGAN METODE BRECHER CHONKRITE PADA MAHASISWA DIII ANALIS KESEHATAN UNIVERSITAS INDONESIA TIMUR

NURUL UTAMI HALIMSYAH

ABSTRAK

This research is motivated by checking the number of platelets that must be done as soon as possible and not more than 2 hours. The purpose of this study is to see whether there is a significant difference to the Counting of Platelet Count by Using Brecher Chonkrite Method with EDTA Blood Sampling for 1, 2 and 3 Hours at Diploma Three of Health Analyst University of Eastern Indonesia. This research is a quasi experiment with sampling technique by accidental sampling. From the research done on 20 samples, we get the data of platelet count before and after 2 hours that $F_{count} (-37,22) < F_{tabel} (8,57)$ meaning there is no significant difference to the result of the count count of the platelet count of brecher chonkrite method with variation Suspension time of 1 hour, 2 hours and 3 hours. It is suggested that on hematology examination specially on counting blood platelet counts using EDTA samples can be suspended with a delay of 1, 2 and 3 hours. But it would be nice that the sample to be examined is not suspended, because it can cause a decrease in platelet count even though the decrease did not experience a significant difference.

Keywords: EDTA Blood, Suspension and Platelets

PENDAHULUAN

Trombosit dalam keadaan normal bersirkulasi keseluruh tubuh melalui aliran darah. Namun dalam beberapa detik setelah kerusakan suatu pembuluh, trombosit tertarik ke daerah tersebut sebagai respons terhadap kolagen yang terpapar dilapisan subendotel pembuluh. Trombosit melekat ke permukaan yang rusak dan mengeluarkan beberapa zat (termasuk serotonin dan histamine) yang menyebabkan vasokonstriksi pembuluh. Ini adalah langkah pertama untuk mengurangi aliran darah ke daerah tersebut. Trombosit tersebut menjadi lengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit. Sumbat trombosit tersebut secara efektif menambal daerah yang luka (Elizabeth J.C, 2001).

Meningkatkan proses koagulasi. Jumlah trombosit yang rendah (trombositopenia) berhubungan dengan pendarahan, dan peningkatan jumlah trombosit (trombositosis) dapat menyebabkan peningkatan pembekuan. Trombosit bergerombol dan lengket pada permukaan yang kasar serta di daerah yang mengalami cedera, saat diperlukan proses koagulasi darah. Penurunan trombosit yang bersirkulasi sebanyak 100.000/l dapat terjadi perdarahan, dan jumlah trombosit $< 50.000/\mu\text{l}$, mudah terjadi perdarahan. (Joyce LeFever Kee, 2008).

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit merupakan salah satu bentuk pelayanan

laboratorium kesehatan khususnya dibidang hematologi dimana pemeriksaan ini sangat dibutuhkan para dokter dalam menegakan suatu diagnosa penyakit sebab trombosit merupakan komponen seluler darah yang berperan dalam faal hemostasis, fungsi trombosit dipengaruhi oleh jumlah dan potensinya dalam darah ini dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit (Hardjoeno, 2007).

Peningkatan jumlah permintaan pemeriksaan hitung trombosit disebabkan oleh semakin meningkatnya kasus penyakit yang berhubungan dengan jumlah trombosit dalam darah. Salah satu contohnya yaitu penyakit Demam berdarah yang ditandai dengan berkurangnya kadar trombosit dalam darah akibat infeksi virus dengue. (Nurfitriani, 2011).

Hasil pemeriksaan di laboratorium ditentukan oleh kualitas sampel yang diperiksa. Sampel yang baik dituntut untuk menggambarkan dengan baik dan akurat kondisi tubuh dan apa yang terjadi dalam tubuh pasien, karena itu harus diambil dan dikumpulkan dengan cara yang tepat, baik oleh petugas kesehatan yang terlatih, atau oleh pasien sendiri. Saat sampel sudah dikumpulkan dengan cara yang baik, sampel harus disiapkan, dipisahkan, disimpan atau dikirim dengan cara yang tepat pula, sebelum kemudian diperiksa/diproses pada alat.

Penanganan Sampel dimulai dari Pemilihan Tabung, Proses penanganan sampel sebenarnya sudah dimulai sebelum sampel diambil/dikumpulkan, yaitu pada pemilihan dan

persiapan tabung/wadah sampel. Tabung sampel darah misalnya, tergantung jenis pemeriksaan yang akan dilakukan nantinya, memerlukan zat tambahan khusus yang berbeda - beda untuk menjaga agar sampel tetap stabil sampai diperiksa. Zat tambahan ini dilapiskan pada dinding tabung saat diproduksi di pabrik. Untuk membedakan tabung berdasarkan zat tambahan, tutup tabung diberi warna berbeda - beda, seperti merah, kuning, ungu, hijau, dll. Warna tutup tabung dan zat tambahan ini sudah distandarasi, sehingga meskipun diproduksi oleh pabrik yang berbeda, tetap mengikuti ketentuan yang sama. Sebagai contoh, misalnya tabung dengan tutup berwarna ungu/lavender mengandung EDTA (garam kalium, atau K_2EDTA). Adanya EDTA mencegah darah membeku selama persiapan pemeriksaan, dan tabung ini digunakan untuk pemeriksaan penghitungan sel darah. (<http://prodia.co.id>)

Adapun masalah dalam penerapan sampel adalah penundaan sampel yang tidak disengajai. Hal ini dikarenakan adanya keterbatasan dalam pemeriksaan atau reagen yang digunakan telah rusak atau reagen yang digunakan telah rusak/kadaluarsa ataupun kehabisan reagen, sehingga kemungkinan besar pemeriksaan harus ditunda.

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dalam laboratorium dapat dilakukan secara Manual langsung maupun tidak langsung. Secara langsung menggunakan metoda Rees Ecker dan Metoda Brecher Cronkite. Untuk metoda Rees Ecker darah diencerkan dengan larutan BCB (Brilliant Cresyl Blue), sehingga trombosit akan tercatat terang kebiru-biruan. Trombosit dihitung dengan bilik hitung dibawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metoda Rees Ecker berkisar 16-25%. Metode Brecher Cronkite Darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisisikan sel darah merah, trombosit dihitung pada bilik hitung. Kemungkinan kesalahan Brecher Cronkite 8-10%.

Mengetahui pentingnya pemeriksaan kadar trombosit dalam darah terhadap pencegahan atau penanganan terhadap suatu penyakit maka peneliti tertarik untuk membuat suatu penelitian tentang Analisa Variasi Penanggungan penanganan sampel darah EDTA terhadap hasil pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit dengan metode brecher chonkrite, antara yang langsung diperiksa dengan yang ditangguhkan selama 1, 2 dan 3 jam.

METODE DAN BAHAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen semu untuk mengetahui hasil

pemeriksaan trombosit antara yang langsung diperiksa dan yang ditangguhkan 1,2, dan 3 jam, dengan menggunakan cara langsung (kamar hitung). Sampel dalam penelitian ini adalah Darah Mahasiswa Prodi D3 Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Sebanyak 20 Orang lalu diperiksa di Laboratorium Diploma Tiga Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur pada tanggal 29 – 3, April – Mei 2016.

1. Pengambilan sampel

a. Pra Analitik

1) Alat

Spoit 3 cc, karet pembendung atau tourniquet, dan tabung reaksi.

2) Bahan

Alkohol 70%, kapas dan EDTA 10%.

b. Analitik

Biasanya pada orang dewasa dipakai salah satu vena dalam fossa cubiti ; pada bayi vena jugularis superficialis dapat dipakai atau juga darah dari sinus sagittalis superior.

- 1) Bersihkanlah tempat yang akan ditusuk dengan alkohol 70% dan biarkan sampai menjadi kering.
- 2) jika memakai vena dalam fossa cubiti ; pasanglah ikatan tourniquet pada lengan atas dan mintalah orang itu mengepal dan membuka tanganya berkali-kali agar vena jelas terlihat. Pembedungan vena tidak perlu dengan ikatan erat-erat, bahkan sebaiknya hanya cukup erat untuk memperlihatkan dan agak menonjolkan vena
- 3) tegangkanlah kulit di atas vena itu dengan jari – jari tangan kiri supaya vena tidak dapat bergerak
- 4) tusuklah kulit dengan jarum dan semprit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena.
- 5) Lepaskanlah atau regangkanlah pembendungan dan perlahan-lahanlah tarik penghisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
- 6) Lepaskanlah pembendungan jika masih terpasang.
- 7) Taruhlah kapas di atas jarum dan cabutlah semprit dan jarum itu.
- 8) Mintalah kepada orang yang darahnya diambil supaya tempat tusukan itu ditekan selama beberapa menit dengan kapas tadi
- 9) Angkatlah jarum dari semprit dan alirkanlah (jangan semprotkan) darah ke dalam wadah atau tabung yang

tersedia melalui dinding tabung.
(Gandasoebrata, 2007)

2. Prosedur Pemeriksaan trombosit Metode Brecher Chonkrite

a. Pra Analitik

1) Alat

- Kamar Hitung *Improved Neubauer*
- Klinipet 2000 μl dan 10 μl
- Tips kuning dan biru
- Mikroskop
- Cawan Petri
- Kapas Basah
- Tabung

2) Bahan

Darah EDTA

3) Reagen

Amonium Oxalat 1%

b. Analitik

Sebelum di masukan kedalam kamar hitung terlebih dahulu darah di encerkan dengan larutan Amonium Oxalat. Darah yang untuk langsung diperiksa, secara langsung diperiksa sedangkan specimen darah untuk pemeriksaan 1, 2 dan 3 jam ditangguhkan terlebih dahulu sebelum diperiksa guna untuk penelitian yang akan dilakukan. Tahapan-tahapan pemeriksaan Trombosit :

- Dipipet cairan Amonium Oxalat sebanyak 2000 μl kedalam tabung .
- Dipipet darah EDTA sebanyak 10 μl ke dalam tabung dan homogenkan.
- Dibiarkan kamar hitung yang telah terisi dengan posisi datar dalam cawan petri yang tertutup selama 10 menit agar trombosit mengendap.
- Dihitung semua trombosit dalam seluruh bidang besar ditengah – tengah (1mm²) memakai lensa objektif besar.
- Jumlah itu dikali 2000 menghasilkan jumlah trombosit per μl darah.

c. Pasca Analitik

1) Perhitungan

Trombosit dihitung pada area tengah kamar hitung *Improved Neubauer* dengan volume 0,1 μl . trombosit dihitung mulai dari sudut kiri atas, diteruskan ke kanan, dilanjutkan ke bawah dan dari kanan ke kiri ; lalu dilanjutkan kebawah dan dari kiri ke kanan sampai kotak sudut kanan bawah dari kiri kanan sampai kotak sudut kanan bawah. Faktor pengenceran adalah 200 x. jumlah trombosit dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$Fp = \frac{2}{1} = 200 \times$$

$$\text{Kotak kecil (P)} : 0,05$$

$$\text{Kotak kecil (L)} : 0,05$$

$$\text{Kotak kecil (T)} : 0,1$$

$$\begin{aligned} \text{Volume} &= P \times L \times T \\ &= 0,05 \cdot 0,05 \cdot 0,1 \\ &= 0,00025 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F.pengkalian kecil} &= V \times \text{Jumlah kotak kecil} \\ &= 0,00025 \times 400 \end{aligned}$$

$$= 0,1$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah trombosit} &= \frac{F}{V} \\ &= \frac{2}{0,1} \end{aligned}$$

$$= 2000. \quad \text{N.}$$

(Rahman. 2011)

2) Nilai rujukan : 150.000 – 400.000 sel/mm³

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan pada tanggal 05 – 08 Mei 2016 di Laboratorium Program Studi Diploma Tiga Analisis kesehatan Universitas Indonesia Timur. Jumlah sampel sebanyak 20 sampel yang diambil secara accidental untuk mengetahui variasi penangguhan penanganan sampel darah EDTA terhadap hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit dengan metode Brecher Chonkrite Pada Mahasiswa Diploma Tiga Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar dengan data sebagai berikut :

Tabel 1.1 Hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit pada pemeriksaan secara langsung, penangguhan 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit (Sel/Mm3)			
		Langsung	P.1 Jam	P.2 Jam	P. 3 Jam
1	A	240.000	172.000	146.000	130.000
2	B	230.000	200.000	184.000	170.000
3	C	180.000	172.000	112.000	106.000
4	D	310.000	280.000	234.000	192.000
5	E	396.000	240.000	116.000	112.000
6	F	218.000	194.000	140.000	100.000
7	G	238.000	224.000	204.000	198.000

8	H	228.000	216.000	194.000	184.000
9	I	240.000	226.000	198.000	190.000
10	J	238.000	220.000	196.000	188.000
11	K	260.000	198.000	188.000	162.000
12	L	320.000	250.000	196.000	170.000
13	M	246.000	210.000	192.000	176.000
14	N	314.000	286.000	250.000	210.000
15	O	242.000	198.000	180.000	166.000
16	P	178.000	166.000	144.000	138.000
17	Q	366.000	358.000	324.000	326.000
18	R	188.000	172.000	160.000	144.000
19	S	210.000	188.000	166.000	150.000
20	T	296.000	282.000	278.000	260.000
Jumlah		5.138.000	4.452.000	3.802.000	4.216.000
Rata - rata		256.900	222.600	190.100	210.800

Sumber Data Primer 2016.

Tabel diatas menunjukkan nilai jumlah trombosit pada pemeriksaan langsung memiliki nilai tertinggi 396.000 sel/mm³ dan terendah 178.000 sel/mm³. Setelah penangguhan selama 1 jam nilai tertinggi 358.000 sel/mm³ dan terendah 166.000 sel/mm³, jumlah trombosit setelah penangguhan 2 jam nilai tertinggi 324.000 sel/mm³ dan terendah 112.000 sel/mm³ dan jumlah trombosit setelah penangguhan 3 jam nilai tertinggi 326.000 sel/mm³ dan yang terendah 100.000 sel/mm³.

Tabel 1.2 Hasil analisis Uji anova pada pemeriksaan hitung jumlah Trombosit dengan menggunakan sampel langsung diperiksa, ditangguhkan 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

Pemeriksaan (Jam)	n	x -	SD	F hitung	F tabel
Langsung	20	256.900	28.903,50	-	8,57
P. 1	20	222.600	25.044,45	37,22	
P. 2	20	190.100	21.387,92		
P. 3	20	210.800	23.716,85		

Sumber Data Primer 2016

Tabel diatas menunjukkan bahwa nilai $F_{hitung} (-37,22) < F_{tabel} (8,57)$ berarti H_0 diterima dan H_a ditolak, yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode brecher chonkrite dengan variasi penangguhan waktu 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

PEMBAHASAN

Trombosit adalah sel darah yang berperan dalam pembekuan darah, sel ini dapat menghentikan perdarahan yang terjadi karena kemampuannya dalam memperkokoh dinding pembuluh darah, membuat sumbatan bila ada pembuluh darah yang terputus dan

mengeluarkan faktor-faktor pembekuan darah. Fungsi dari trombosit dipengaruhi oleh jumlahnya dalam darah dan kemampuan/potensinya.

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit merupakan salah satu bentuk pelayanan laboratorium kesehatan khususnya dibidang hematologi dimana pemeriksaan ini sangat dibutuhkan para dokter dalam menegakan suatu diagnosa penyakit sebab trombosit merupakan komponen seluler darah yang berperan dalam faal hemostasis, fungsi trombosit dipengaruhi oleh jumlah dan potensinya dalam darah ini dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit. Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dalam laboratorium dapat dilakukan secara Automik dan secara manual, secara manual juga dibedakan atas Manual langsung maupun tidak langsung. Secara langsung menggunakan metoda Rees Ecker dan Metoda Brecher Cronkite. Untuk metoda Rees Ecker darah diencerkan dengan larutan BCB (Brilliant Cresyl Blue), sehingga trombosit akan tercat terang kebiru-biruan. Trombosit dihitung dengan bilik hitung dibawah mikroskop, kemungkinan kesalahan metoda Rees Ecker berkisar 16-25%. Metode Brecher Cronkite Darah diencerkan dengan larutan amonium oksalat 1% untuk melisiskan sel darah merah, trombosit dihitung pada bilik hitung. Kemungkinan kesalahan Brecher Cronkite 8-10%. Pada kedua cara manual langsung diatas yang paling banyak digunakan adalah metode brecher chronkrite, dimana dilihat dari tingkat kesalahan tersebut dan dalam perhitungan sedikit mempermudah karena larutan amonium oksalat 1% melisiskan sel lain selain daripada trombosit hingga yang terhitung hanyalah trombosit saja.

Dengan menangguhkan sampel EDTA dikhawatirkan bisa mendapatkan hasil yang tidak sesuai dikarenakan proses pemeriksaan yang terlalu lama. Dimana trombosit itu sendiri mempunyai sifat mudah pecah. Sesuai dengan prosedur kerja hitung jumlah trombosit metode brecher chonkrite, setelah spesimen darah didapatkan sampel langsung diperiksa dengan memipet cairan Amonium Oxalat 1% sebanyak 2000 µl kemudian dipipet pula sampel darah EDTA sebanyak 10 µl setelah itu diisi kamar hitung dan diinkubasi selama 10 menit, lalu dibaca dengan menggunakan mikroskop, namun Adapun masalah dalam penerapan sampel adalah penundaan sampel yang tidak disengajai. Hal ini dikarenakan adanya keterbatasan dalam pemeriksaan atau reagen yang digunakan telah rusak atau reagen yang sdah kadaluarsa ataupun kehabisan reagen, sehingga kemungkinan besar pemeriksaan harus ditunda hingga mengelurkan hasil yang tidak akurat.

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan sebanyak 20 sampel yang diambil secara accidental sampling. Data hasil penelitian yang didapatkan bahwa darah EDTA 10% yang langsung diperiksa dan ditangguhkan selama 1 jam, 2 jam dan 3 jam mengalami penurunan hasil walaupun tidak signifikan hal ini disebabkan karena sifat trombosit yang mudah pecah. Dengan demikian diperoleh $F_{hitung} (-37,22) < F_{tabel} (8,57)$. Dengan hipotesis nolnya (H_0) diterima dan Hipotesis alternatifnya (H_a) ditolak, yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode brecher chonkrite dengan variasi penangguhan waktu 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

Sumber kesalahan yang mungkin terjadi dalam hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode brecher chonkrite adalah penggunaan reagen yang sudah tidak baik atau yang lama disimpan yang dapat menimbulkan adanya kristal amonium oxalat sehingga sukar untuk dihitung trombositnya, volume pemipetan reagen yang kurang atau lebih dari 2000 μ l atau volume darah kurang atau lebih dari 10 μ l, penangguhan yang lama yang bisa memungkinkan pecahnya trombosit yang menyebabkan penurunan jumlah trombosit pada sampel walaupun penurunan tersebut tidak signifikan atau tidak mengalami perubahan yang drastis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian, hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit metode brecher chonkrite dengan variasi penangguhan waktu 1 jam, 2 jam dan 3 jam pada suhu ruangan (30°C).

Berdasarkan Hasil Penelitian dan kesimpulan diatas dapat disarankan agar pada pemeriksaan hematologi khususnya pada pemeriksaan hitung jumlah trombosit menggunakan darah EDTA sampel yang diperiksa dapat ditangguhkan, dengan penangguhan waktu selama 1, 2 dan 3 jam. Tetapi alangkah baiknya sampel yang akan diperiksa tidak ditangguhkan, karena dapat menimbulkan penurunan pada jumlah trombosit walaupun penurunan tersebut tidak mengalami perbedaan yang bermakna.

DAFTAR RUJUKAN

- Anonim, 1995. **Modul Pelatihan Teknis Tenaga Laboratorium Puskesmas Tingkat Dasar**. Depkes RI .Jakarta
- Anonim, 1999. **Diktat Hematologi**. Lab Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unhas. Makassar
- Bakta Made I, 2007 “ **Hematologi Klinik Ringkas** “ EGC, Jakarta
- Gandasoebrata R, 2007, “ **Penuntun Laboratorium Klinik**”. Penerbit: Dian Rakyat, Jakarta
- Hardjoeno H, 2007 “**Intepertasi Hasil tes laboratorium diagnostic Hasanuddin University Press**. Makassar
- .Hoffbrand AV dan Petit JE, 1996. “**Hematologi**” *Buku Kedokteran*, EGC, Jakarta
<http://prodia.co.id/tips-kesehatan/bagaimana-kami-memperlakukan-sampel-anda>. diakses, 04 april 2016
<http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/125/jtptunimu-s-gdl-adityadwid-6210-2-babii.pdf>. diakses, 11 april 2016
- Lefever Kee Joyce, 2008. “**Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik**” Edisi 6 EGC. Jakarta
- Mansyur. A. 2001, “**Kapita Selekt Kedokteran Hematologi**”, Penerbit Buku Kedokteran UI. Jakarta
- Mone, I .” **Morfologi Sel** “. D-III Anakes Universitas Indonesia Timur, Makassar
- Natoatmojo Soekidjo, 2010. “ **Metodologi Penelitian Kesehatan**”, Rineka Cipta. Jakarta
- Nurfitriani, 2011. “**Perbandingan Hasil Hitung Trombosit Dengan Menggunakan Cara Basah Dan Cara Kering Di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar**” Proposal AK KTI POLTEKES Makassar.
- Rusli B. Dkk, 2003,”**Diktat Hematologi Laboratorium Patologi Klinik**”, Fakultas kedokteran UNHAS. Makassar
- Sadikin M, 2001. “ **Biokimia Darah** “. Widya Medika, Jakarta.
- Sadikin M, 2002. “**Biokimia Darah**”. Widya Medika, Jakarta
- Sugiyono, 2001. “**Statistik Untuk Penelitian**”, Alfabeta. Bandung