

PERBANDINGAN HASIL PERHITUNGAN JUMLAH TROMBOSIT METODE MANUAL MENGGUNAKAN PIPET THOMA DAN TABUNG REAKSI

ARDIANSAH HASIN

ABSTRAK

This research is based on the existence of two blood dilution methods commonly used in the laboratory that is blood dilution using thoma pipette and test tube. The purpose of this research is to know the difference of calculation result of thrombocyte count with blood dilution using thoma pipette and test tube. This research is a laboratory observation research where the sample is examined 20 times. From the research that has been done on blood samples of EDTA, obtained the total number of platelets with blood dilution using thoma pipette is 6,284,000 with mean 314,200, while the total number of platelets using reaction tube is 6,456,000 with mean 322,800. Based on the results of research conducted 20 times on samples of EDTA blood obtained t count value (1.443) smaller than t table (2.024) or ($t < t$ table), so it can be concluded that there is no significant difference in results Platelets with blood dilution using thoma pipettes and test tubes. Based on the result of research, it is suggested that blood dilution using thoma pipette and reaction tube can be used to calculate platelet count.

Keywords: Platelet Count, Thoma Pipette, Reaction Tubes

PENDAHULUAN

Status kesehatan yang optimal merupakan syarat untuk menjalankan tugas dalam pembangunan. Menurut paradigma sehat, diharapkan agar orang tetap sehat dan lebih sehat, sedangkan yang memiliki penyakit dapat disembuhkan agar dapat kembali sehat. Untuk segera disembuhkan, perlu ditentukan penyakitnya dan pengobatan yang tepat, serta prognosis atau ramalan penyakitnya ringan, berat, atau fatal.

Fungsi laboratorium adalah melakukan analisa kuantitatif atau kualitatif terhadap bahan yang berasal dari manusia, seperti darah, sumsum tulang, serum, tinja, urin, dan cairan tubuh lain. Selain itu, laboratorium juga berperan dalam pemilihan jenis tes maupun penilaiannya untuk membantu menegakkan diagnosis dan penatalaksanaan penderita. Pemeriksaan laboratorium dapat digunakan sebagai pemeriksaan penyaring untuk mengetahui adanya kelainan proses fisiologi tubuh, membantu menegakkan diagnosa, memantau perjalanan penyakit, penatalaksanaan penderita dan menentukan prognosis. Selain itu data laboratorium dipakai pula sebagai pemeriksaan penyaring untuk mendapatkan populasi sehat dan menentukan nilai rujukan

Pemeriksaan laboratorium harus teliti, tepat, sensitif, spesifik, cepat dan tidak mahal serta dapat membedakan pasien (orang sakit) dengan orang normal (orang sehat), namun persyaratan di atas tidak selamanya terpenuhi. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan pada saat pemeriksaan laboratorium, yaitu : manusia,

alat, metode, dan reagen yang digunakan (Hardjoeno, 2006).

Pada umumnya pemeriksaan laboratorium melewati tiga tahap, yaitu : tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Adapun penjelasan tentang tahap di atas yaitu, tahap pra analitik meliputi persiapan pasien, pengambilan sampel, penampungan, penyimpanan dan pengiriman bahan. Tahap analitik meliputi tahap pemeriksaan bahan dan tahap pasca analitik meliputi hasil pemeriksaan dan penulisan hasil pemeriksaan. Menurut prosedur yang telah ada, ketiga tahap pemeriksaan tersebut harus dilakukan dengan baik sehingga didapatkan hasil yang teliti, tepat, dan dapat dipercaya (Hardjoeno, 2006).

Salah satu pemeriksaan laboratorium yang sering diminta adalah pemeriksaan hematologi yang mempelajari keadaan patologi dari penyakit-penyakit darah. Pemeriksaan ini dapat digunakan sebagai penunjang atau penegakan diagnosis suatu penyakit sehingga hasil yang akan dikeluarkan bisa menjadi parameter untuk pengobatan suatu penyakit. Salah satu contoh parameter pemeriksaan yang sering dilakukan adalah menghitung jumlah trombosit.

Cara yang lazim digunakan untuk menghitung jumlah trombosit dapat dilakukan secara langsung maupun tak langsung. Cara langsung dilakukan secara manual atau otomatis (automatic cell counter), cara manual dapat dilakukan dengan metode Rees Ecker atau Brecher-Cronkite (cara tabung). Sedangkan cara tak langsung dengan memakai cara Fonio. Pada cara manual, trombosit dihitung dalam kamar hitung per satuan volume darah dengan lebih

dahulu membuat pengenceran dari darah yang akan diperiksa. Pada cara tak langsung jumlah trombosit dibandingkan dengan jumlah eritrosit pada sediaan apus. Di Indonesia cara otomatis masih terbatas pada laboratorium rujukan tertentu, sedangkan cara manual masih lazim digunakan di banyak laboratorium, terutama di daerah.

Reagensia yang lazim digunakan di berbagai laboratorium baik puskesmas maupun pada rumah sakit yang masih menggunakan perhitungan trombosit secara manual yaitu larutan Amonium oksalat 1% dan larutan Rees Ecker. Kedua reagensia tersebut memiliki komposisi yang berbeda dimana larutan Amonium oksalat 1% merupakan zat tunggal, bersifat melisis eritrosit dan harus disaring sebelum digunakan agar bersih dari kristal-kristal.

Pada laboratorium puskesmas khususnya yang terdapat di daerah dalam hal pengadaan alat pemeriksaan tentunya amatlah jauh ketinggalan dibandingkan dengan di daerah perkotaan. Seringkali ditemukan keadaan alat pemeriksaan di laboratorium puskesmas daerah sangat minim ketersediaannya dan kurang terpeliharanya alat-alat tersebut, sehingga pada saat terjadi kasus kejadian luar biasa (KLB) untuk suatu penyakit tertentu, maka pasti ketersediaan alat tidak mencukupi untuk pemeriksaan sampel yang begitu banyak. Maka petugas laboratorium akan mencari cara lain untuk dapat mengatasi hal tersebut. Begitu pula pada proses perhitungan jumlah trombosit secara manual, jika ketersediaan hemositometer khususnya pada alat pipet Thoma eritrosit tidak mencukupi ataupun keadaan pipet yang kurang bersih untuk proses pengenceran darah maka dapat diganti dengan melakukan pengenceran cara tabung (Brecher-Cronkite).

METODE DAN BAHAN

Penelitian ini menggunakan observasi laboratorik yang bersifat deskriptif untuk mengetahui perbandingan hasil perhitungan jumlah trombosit metode manual menggunakan pipet Thoma dan tabung reaksi sebanyak 20 sampel sebanyak 20 sampel yang diambil secara purposive sampling. Penelitian dilaksanakan di laboratorium hematologi Jurusan Analisis Kesehatan Universitas Indonesia Timur Makassar pada tanggal 7-11 Juli 2016.

Prosedur Penelitian Pra Analitik

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, seperti spuit ukuran 3-5 cc, botol/tabung untuk menampung darah, karet pembendung/ turnikuet, hemositometer, pipet

mikron, stopwatch, cawan petri, pipet Pasteur, tabung reaksi, kamar hitung Improved Neubauer, stopwatch, mikroskop, kapas alkohol 70 %, larutan Amonium oksalat 1 %, antikoagulan EDTA 10%.

Analitik

Dilakukan pembendungan dengan memasang pembendung pada lengan atas agar vena terlihat jelas, desinfeksi pada area yang akan ditusuk dengan mengusapkan kapas alkohol secara memutar dari dalam ke luar, dibiarkan mengering. Kulit yang telah didesinfeksi ditusuk dengan spuit sampai masuk ke dalam lumen vena, pembendung dilepaskan dan pengisap spuit ditarik secara perlahan-lahan sesuai volume darah yang dibutuhkan, di atas jarum tadi diletakkan kapas kemudian spuit tadi dicabut. Jarum dilepaskan dari semprit kemudian darah dialirkan ke dalam tabung reaksi melalui dinding tabung yang telah diisi antikoagulan EDTA 10% sesuai dengan volume darah yang digunakan, darah yang telah dicampur tersebut dihomogenkan.

Pemeriksaan Jumlah Trombosit

a. Menggunakan Pipet Thoma :

Mengisap cairan amonium oksalat 1% ke dalam pipet Thoma sampai garis tanda "1", kemudian membuang lagi cairan tersebut. Mengisap darah sampai garis tanda "0,5" dan cairan amonium oksalat 1% sampai "101", lalu dikocok selama 3 menit. Meletakkan kamar hitung yang benar-benar bersih dengan kaca penutup yang terpasang mendatar di atas meja. Membuang cairan yang ada pada batang kapiler pipet sebanyak 3-4 tetes, kemudian menyentuh ujung pipet pada pinggir kaca penutup pada kamar hitung, lalu membiarkan kamar hitung tersebut terisi cairan perlahan-lahan dengan gaya kapilaritasnya sendiri. Membiarkan kamar hitung yang telah terisi tersebut dengan posisi datar dalam cawan petri tertutup yang berisi kapas basah selama 10 menit agar trombosit mengendap, kemudian menghitung semua trombosit dalam seluruh bidang besar di tengah-tengah (1 mm^3) dengan pembesaran objektif 40x. Menghitung jumlah trombosit dikalikan 2000 menghasilkan jumlah trombosit per μl darah.

b. Menggunakan Tabung Reaksi

Memipet 2000 μl larutan amonium oksalat 1 % ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 10 μl sampel darah ke dalam larutan tersebut (pengenceran 200x), lalu pipet dibilas. Mencampur hingga homogen selama 1 menit, kemudian memasukkan pada kamar hitung dengan menggunakan pipet, lalu membiarkan kamar hitung yang telah

terisi tersebut dengan posisi datar dalam cawan petri tertutup yang berisi kapas basah selama 10 menit agar trombosit mengendap. Menghitung semua trombosit dalam seluruh bidang besar di tengah-tengah (1 mm^3) dengan pembesaran objektif 40x, kemudian menghitung jumlah trombosit dikalikan 2.000 menghasilkan jumlah trombosit per μl darah.

Pasca Analitik

Nilai Normal Trombosit :
150.000 – 450.000 sel/ μl darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium hematologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Makassar terhadap sampel darah EDTA yaitu perhitungan jumlah trombosit yang diperiksa secara berulang sebanyak 20 kali, diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 11. Hasil hitung jumlah trombosit dengan pengenceran darah menggunakan Pipet Thoma dan Tabung Reaksi.

No	Hasil (sel/ μl darah)	
	Pipet Thoma	Tabung Reaksi
1	340000	346000
2	354000	340000
3	330000	320000
4	300000	310000
5	310000	314000
6	338000	330000
7	324000	340000
8	308000	326000
9	322000	330000
10	280000	304000
11	252000	324000
12	298000	320000
13	296000	340000
14	330000	328000
15	318000	310000
16	310000	320000
17	294000	298000
18	330000	326000
19	330000	320000
20	320000	310000
	Jumlah 6284000	6456000
Sumber : Data Primer 2016		

Pada tabel 1.1 menunjukkan total jumlah trombosit dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma yaitu 6.284.000 dengan mean 314.200, sedangkan total jumlah trombosit dengan pengenceran darah menggunakan tabung reaksi yaitu 6.456.000 dengan mean 322.800.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap sampel darah EDTA yang diperiksa secara berulang sebanyak 20 kali, baik dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma maupun dengan menggunakan tabung reaksi maka didapatkan data sebagai berikut :

Dari hasil perhitungan jumlah trombosit dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma diperoleh nilai tertinggi yaitu 354.000 dan nilai terendahnya yaitu 252.000 dengan nilai keseluruhan yaitu 6.284.000. Sedangkan jumlah trombosit dengan pengenceran darah menggunakan tabung reaksi diperoleh nilai tertinggi yaitu 346.000 dan nilai terendah yaitu 298.000 dengan nilai keseluruhan yaitu 6.456.000.

Berdasarkan data yang diperoleh dan dilakukan uji-t (uji dua pihak) menunjukkan bahwa $t_{hitung} 1,443 < t_{tabel} 2,024$ yang berarti H_0 diterima dan H_a ditolak, dimana tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil perhitungan jumlah trombosit metode manual dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma dan tabung reaksi.

Perbedaan hasil pada pengenceran darah menggunakan pipet thoma dengan pengenceran darah menggunakan tabung reaksi dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor. Khususnya pada proses analitik, walaupun keduanya sama-sama menggunakan faktor pengenceran 200x, tetapi pengenceran darah menggunakan pipet thoma sulit dalam proses penghisapan sampel maupun larutan pengencer sehingga volume pemipetan sering tidak tepat yang dapat menyebabkan besar faktor pengenceran tidak sesuai. Sedangkan pengenceran darah dengan tabung reaksi menggunakan pipet mikron untuk mengambil sampel maupun larutan pengencer sehingga ketelitian volumenya jauh lebih baik.

Pada dasarnya, penggunaan alat yang bersifat full automatic dapat memperkecil timbulnya kesalahan dalam tahap analitik, karena pada penggunaan alat tersebut keseluruhan proses pengerjaan spesimen dilakukan oleh alat. Salah satu proses dalam tahap analitik yang dapat menimbulkan kesalahan yaitu proses pemipetan sampel dan reagen, dimana proses pemipetan yang dikerjakan oleh mesin cenderung lebih stabil dibandingkan yang dikerjakan oleh manusia (SDM), sehingga dapat memberikan hasil yang sesuai dengan nilai yang sebenarnya.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi terjadinya perbedaan hasil yakni penggunaan darah EDTA yang berlebih atau ditunda selama

beberapa jam, sehingga dapat menyebabkan trombotik membengkak dimana tampak adanya trombotik raksasa yang dapat menyebabkan terjadinya fragmentasi trombotik yang mengakibatkan peningkatan palsu jumlah trombotik. Selain itu, tempat penampung bahan yang tidak tertutup rapat mengakibatkan terjadinya penguapan dari bahan sehingga hasil pemeriksaan lebih tinggi dari sebenarnya.

Perhitungan jumlah trombotik dilakukan dengan menggunakan sampel darah EDTA yang dihitung dalam kamar hitung Improved Neubauer. Jumlah trombotik dihitung setelah sampel diencerkan dengan menggunakan larutan Amonium oksalat 1%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan sebanyak 20 kali terhadap sampel darah EDTA didapatkan nilai t_{hitung} (1,443) lebih kecil dari t_{tabel} (2,024) atau ($t_{hitung} < t_{tabel}$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil perhitungan jumlah trombotik metode manual dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma dan tabung reaksi oleh karena itu, Hitung trombotik dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma dan tabung reaksi dapat digunakan untuk pemeriksaan pada laboratorium.

DAFTAR RUJUKAN

- Arianda D, 2012, Buku Saku Analisis Kesehatan, Bekasi
- Boedina SK, 1988. Pengantar Hematologi dan Imunohematologi. Jakarta : BP FKUI.
- Corwin EJ. 2007. Buku Saku Patologi. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gandasoebrata R, 2010, Penuntun Laboratorium Klinik, Dian Rakyat, Jakarta
- Handayani W, 2008. Asuhan Keperawatan pada klien dengan Gangguan Sistem Hematologi, Jakarta : Salemoa Medika.
- Hardjoeno H. 2006. Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik. *Lephas*, Makassar
- Hiru D, 2013. Live Blood Analysis, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Hoffbrand A.V, Petit JE, Moss P.A.H 2005. Kapita Selekta Hematologi, EGC, Jakarta
- Sacher RA, 2004. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi 11. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sadikin M, 2002. Biokimia Darah, Widya Medika, Jakarta
- Uthman, 2001. Interpretation of Lab Tests Profiles. Available at url : http://www.neosoft.com/~uthman/lab_test.html.
- Wirawan R, 2002. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana, FK UI RSCM, Jakarta.