

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Darah

1. Definisi darah

Darah merupakan cairan tubuh yang memiliki peranan penting, salah satunya dalam menunjang penegakan diagnosis berbagai penyakit. Secara struktural, darah termasuk jaringan cair yang tersusun atas dua komponen utama, yaitu plasma darah dan unsur seluler atau korpuskuli. Plasma darah merupakan bagian cair yang berwarna kekuningan dan mengandung sekitar 90% air, sedangkan sisanya terdiri atas berbagai zat terlarut. Plasma darah berfungsi dalam menjaga keseimbangan asam-basa tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan jaringan (Aliviameita dan Puspitasari, 2019).

Darah berfungsi untuk menunjang kehidupan dengan mengangkut oksigen, air, dan zat gizi ke seluruh sel tubuh. Selain itu, darah juga berperan dalam mengumpulkan sisa-sisa metabolisme dari sel-sel tubuh untuk kemudian dibawa ke organ ekskresi, seperti paru-paru, kulit, ginjal, dan usus besar. Darah berperan sebagai pengatur suhu tubuh sehingga suhu badan dapat dipertahankan dalam kondisi normal. Selain itu, darah juga berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme penyebab penyakit serta sebagai media transportasi hormon, vitamin, enzim, dan mineral ke seluruh sel yang membutuhkan. Secara umum, volume darah dalam tubuh manusia berkisar sekitar 8% dari total berat badan (Darmayani dkk., 2016).

2. Proses pembentukan darah

Hematopoiesis merupakan proses pembentukan darah yang meliputi produksi, perkembangan, diferensiasi, dan pematangan seluruh sel darah dalam tubuh. Proses ini berlangsung sejak masa embrio hingga dewasa dan berperan penting dalam pembentukan serta pengaturan sistem hematologi. Pemahaman mengenai hematopoiesis sangat diperlukan untuk mengetahui mekanisme terjadinya berbagai gangguan darah, termasuk penyakit keganasan. Pada tahap awal perkembangan embrio, hematopoiesis terjadi di kantung kuning telur (*yolk sac*). Selanjutnya, hati dan limpa menjadi organ utama pembentuk sel darah sejak usia janin sekitar 6 minggu hingga 7 bulan kehamilan dan berlangsung sampai sekitar dua minggu setelah kelahiran. Pada masa anak-anak hingga dewasa, proses hematopoiesis berlangsung di sumsum tulang. Sel-sel darah yang sedang berkembang berada di luar sinus sumsum tulang, sedangkan sel darah yang telah matang akan dilepaskan ke dalam rongga sinus dan masuk ke mikrosirkulasi sumsum tulang untuk selanjutnya beredar dalam sirkulasi sistemik. Pada masa bayi, seluruh sumsum tulang bersifat hematopoietik, namun seiring pertumbuhan, sumsum tulang pada tulang panjang secara bertahap mengalami penggantian oleh jaringan lemak. Oleh karena itu, pada usia dewasa, aktivitas hematopoietik terutama terbatas pada tulang rangka sentral serta bagian proksimal tulang femur dan humerus (Aliviameita dan Puspitasari, 2019).

3. Fungsi darah

Fungsi utama darah berkaitan dengan perannya sebagai media transportasi dalam tubuh. Sel darah merah berada di dalam sirkulasi dan mengandung hemoglobin yang berfungsi mengikat serta mengangkut oksigen. Sel darah putih

berperan dalam sistem pertahanan tubuh dan didistribusikan ke berbagai jaringan untuk menjalankan fungsi fisiologisnya. Trombosit berfungsi mencegah terjadinya kehilangan darah akibat perdarahan dan menjalankan perannya terutama pada dinding pembuluh darah. Selain itu, protein plasma berperan sebagai pengangkut utama zat gizi serta hasil samping metabolisme yang selanjutnya dikeluarkan melalui proses ekskresi.

Secara umum, darah memiliki beberapa fungsi utama, antara lain sebagai alat transportasi zat makanan yang diserap dari saluran pencernaan ke seluruh tubuh, pengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan, serta media pengangkutan sisa metabolisme dari jaringan ke organ ekskresi seperti paru-paru, ginjal, kulit, dan hati. Darah juga berfungsi sebagai sarana pertukaran zat antar jaringan, mengangkut berbagai bahan yang diproduksi oleh suatu jaringan untuk dimanfaatkan oleh jaringan lainnya. Selain fungsi transportasi, darah berperan dalam menjaga keseimbangan dinamis tubuh (*homeostasis*), termasuk pengaturan suhu tubuh, keseimbangan cairan, serta keseimbangan asam-basa agar pH darah dan cairan tubuh tetap normal. Di samping itu, darah berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap masuknya benda atau senyawa asing yang berpotensi menimbulkan gangguan. Dengan demikian, secara umum fungsi darah dapat dikelompokkan menjadi fungsi transportasi, *homeostasis*, dan pertahanan tubuh (Darmayani dkk., 2016).

4. Komponen darah

Darah tersusun atas sekitar 45% komponen seluler dan 55% plasma. Komponen seluler darah meliputi sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit). Eritrosit merupakan komponen terbanyak, yaitu sekitar

99% dari total sel darah, sedangkan leukosit dan trombosit membentuk sekitar 1% sisanya. Plasma darah sebagian besar terdiri dari air, yaitu sekitar 90%, dan sisanya berupa berbagai zat terlarut seperti protein plasma, elektrolit, gas terlarut, hasil sisa metabolisme, zat gizi, vitamin, dan kolesterol. Albumin merupakan protein plasma dengan jumlah terbesar yang berperan dalam mempertahankan tekanan osmotik plasma serta volume darah. Globulin berfungsi sebagai pengikat zat - zat yang tidak larut dalam air, seperti hormon, sehingga memungkinkan zat - zat tersebut dapat diangkut dalam sirkulasi darah. Melalui mekanisme ini, berbagai senyawa penting dapat ditransportasikan dari tempat pembentukannya menuju lokasi kerjanya. Beberapa zat yang diangkut dengan bantuan protein plasma antara lain hormon tiroid, zat besi, fosfolipid, bilirubin, hormon steroid, dan kolesterol. Selain itu, globulin jenis imunoglobulin berperan sebagai antibodi yang berfungsi dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi. Fibrinogen merupakan protein plasma yang memiliki peranan penting dalam proses pembekuan darah (Darmayani dkk., 2016).

B. Trombosit

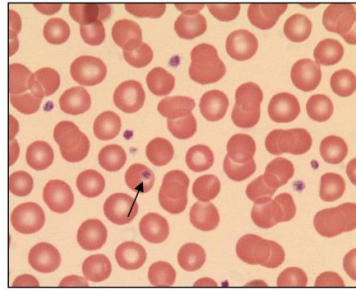
1. Definisi trombosit

Trombosit merupakan salah satu komponen sel darah yang memiliki peranan penting dalam proses hemostasis atau penghentian perdarahan. Apabila terjadi kerusakan pada pembuluh darah, trombosit akan beradhesi pada area endotel yang mengalami cedera dan membentuk sumbat trombosit (*platelet plug*) sebagai langkah awal untuk menghentikan perdarahan. Trombosit merupakan sel darah yang tidak berinti, berukuran kecil dengan diameter sekitar 1–4 μm , memiliki sitoplasma berwarna kebiruan serta granula yang tampak berwarna ungu kemerahan. Sel ini berasal dari fragmen sitoplasma megakariosit yang terbentuk di

sumsum tulang. Granula trombosit mengandung berbagai zat penting, seperti faktor pembekuan darah, *adenosine triphosphate* (ATP), *adenosine diphosphate* (ADP), kalsium, katekolamin, dan serotonin, yang berperan dalam proses koagulasi dan fungsi trombosit lainnya (Sonmez dan Sonmez, 2017).

Pada individu sehat, jumlah trombosit normal berada dalam kisaran 150.000–450.000/ μ L darah. Kondisi dengan jumlah trombosit di bawah 150.000/ μ L disebut trombositopenia, sedangkan jumlah trombosit yang melebihi 450.000/ μ L dikenal sebagai trombositosis. Trombosit memiliki masa hidup relatif singkat, yaitu sekitar 5–9 hari dalam sirkulasi darah. Selama periode tersebut, trombosit menjalankan fungsinya dalam mempertahankan hemostasis, kemudian mengalami proses penuaan dan akan dihancurkan oleh limpa. Selanjutnya, trombosit yang rusak akan digantikan oleh trombosit baru yang diproduksi di sumsum tulang (Proboningsih, 2020).

Trombosit dihasilkan melalui proses fragmentasi sitoplasma sel megakariosit yang terdapat di sumsum tulang. Pembentukan trombosit terutama diatur oleh hormon *trombopoietin* (TPO) yang diproduksi oleh hati dan ginjal. Trombosit berperan penting dalam mekanisme hemostasis dengan membantu menghentikan perdarahan apabila terjadi kerusakan pada pembuluh darah. Gangguan pada sistem *hemostasis* dapat menyebabkan terjadinya perdarahan yang tidak normal, yang dapat disebabkan oleh kelainan pada pembuluh darah, trombosit, faktor-faktor koagulasi, maupun sistem *fibrinolysis* (Aliviameita dan Puspitasari, 2019).



Gambar 1 Trombosit Normal
(Sumber: Sitanggang dkk., 2024)

2. Fungsi trombosit

Trombosit merupakan sel yang terdapat dalam sistem sirkulasi darah dan berperan sebagai mediator utama dalam proses hemostasis. Selain berfungsi dalam penghentian perdarahan, trombosit juga berperan pada respons terhadap cedera jaringan dengan berinteraksi dan bekerja sama dengan sel - sel inflamasi lainnya melalui pelepasan berbagai mediator, seperti *adenosine diphosphate* (ADP) (Sitanggang dkk., 2024).

Fungsi utama trombosit adalah membentuk sumbat mekanis pada proses *hemostasis* sebagai respons terhadap adanya cedera pada pembuluh darah. Trombosit memiliki peranan penting dalam mekanisme *hemostasis* melalui beberapa tahapan, yaitu adhesi, agregasi, dan reaksi pelepasan (*release reaction*), yang disertai dengan proses amplifikasi. Pada area cedera vaskular, trombosit akan mengalami imobilisasi yang memerlukan interaksi spesifik antara trombosit dengan dinding pembuluh darah (adhesi) serta antar trombosit (agregasi). Proses-proses tersebut sebagian besar dimediasi oleh *Von Willebrand Factor* (VWF) yang berperan penting dalam perlekatan dan pengaktifan trombosit (Sitanggang dkk., 2024).

Pada tahap adhesi, trombosit berikatan dengan komponen dinding pembuluh darah yang mengalami kerusakan. Proses adhesi dan agregasi trombosit melibatkan berbagai komponen, seperti fosfolipid, kolagen, *Von Willebrand Factor* (VWF), faktor jaringan, ligan, aktivator trombosit, serta sejumlah reseptor permukaan. Pada tahap agregasi, trombosit akan berikatan satu sama lain secara ireversibel. Selain paparan kolagen dan pelepasan VWF, cedera pada pembuluh darah juga dapat memicu pelepasan faktor jaringan yang bersifat konstitutif dari sel otot polos dan fibroblas. Selanjutnya, pada tahap sekresi, trombosit yang telah teraktivasi akan melepaskan berbagai kandungan granula yang berperan dalam memperkuat proses hemostasis (Fritsma, 2015).

Trombosit memiliki peran utama dalam proses hemostasis, trombosis, serta penyembuhan luka melalui mekanisme aktivasi yang kompleks, yang melibatkan aktivasi integrin dan pembentukan sumbat pada area pembuluh darah yang mengalami cedera. Selain fungsi tersebut, trombosit juga berperan dalam fungsi fisiologis lainnya, seperti berkontribusi terhadap sistem kekebalan tubuh serta berperan dalam komunikasi antar sel dan jaringan lain yang terdapat di dalam pembuluh darah (Holinstat, 2017).

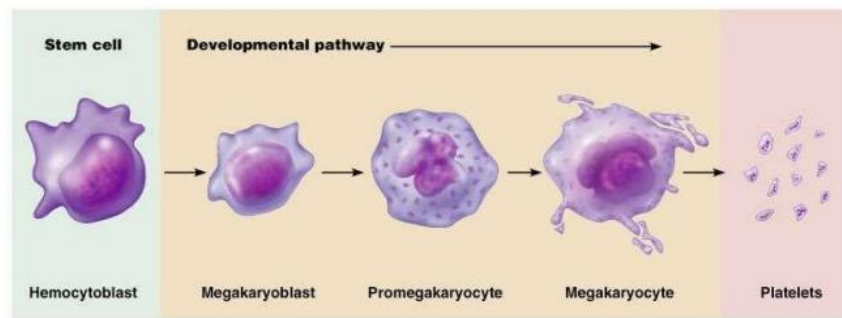
3. Pembentukan trombosit

Hormon utama yang berperan dalam proses pembentukan trombosit atau trombositopoiesis adalah *thrombopoietin* (TPO). Proses pembentukan trombosit bermula dari sel induk hematopoietik (*Hematopoietic Stem Cell/ HSC*) yang kemudian berdiferensiasi menjadi prekursor megakariosit, yaitu megakarioblas (Rosita dkk., 2019). Selanjutnya, trombosit terbentuk melalui proses fragmentasi sitoplasma pada ujung pemanjangan sitoplasma megakariosit. Setiap megakariosit

mampu menghasilkan sekitar 1.000 hingga 5.000 trombosit. Thrombopoietin bekerja melalui reseptor c-MPL (*cellular-Myeloproliferative Leukemia Virus Oncogene*) yang berperan dalam meningkatkan proliferasi dan pematangan megakariosit (Sitanggang dkk., 2024).

Dalam proses *trombositopoiesis*, sel induk hematopoietik (*Hematopoietic Stem Cell/HSC*) mengalami diferensiasi menjadi *Myeloid Stem Cell* (MSC) atau *Common Myeloid Progenitor* (CMP). Proses ini dipengaruhi oleh berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin, seperti *Granulocyte Colony-Stimulating Factor* (G-CSF), eritropoietin, serta sitokin lainnya. Selanjutnya, CMP berdiferensiasi menjadi *Colony Forming Unit - Megakarioblast* (CFU-Meg). CFU-Meg kemudian berkembang menjadi prekursor yang dikenal sebagai *pro-megakarioblast*. Tahap pembentukan *megakarioblast* selanjutnya sangat dipengaruhi oleh peran hormon *thrombopoietin*, yang berfungsi mengatur proliferasi dan pematangan sel *megakariosit* (Rosita dkk., 2019).

Thrombopoietin (TPO) berperan sebagai faktor utama yang merangsang pertumbuhan dan diferensiasi *megakariosit* yang berasal dari prekursor *Hematopoietic Stem Cell*. Dalam proses pelepasan trombosit, *megakariosit* mengalami kondisi *polyploid* akibat terjadinya *endomitosis*, yaitu proses replikasi DNA tanpa disertai pembelahan sel. Selanjutnya, *megakariosit* mengalami tahap pematangan, ditandai dengan pembentukan penjuluran sitoplasma yang memanjang yang dikenal sebagai *proplatelet*. Setiap *megakariosit* mampu membentuk sekitar 10–20 *proplatelet*, dan pada ujung *proplatelet* tersebut trombosit terbentuk secara selektif (Sitanggang dkk., 2024).



Gambar 2 Pembentukan Trombosit
(Sumber: Sitanggang dkk., 2024)

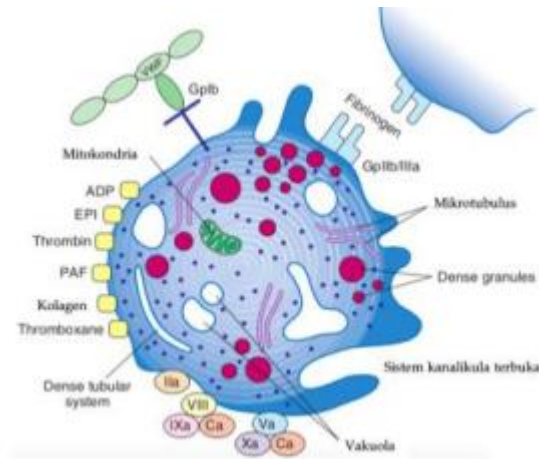
4. Morfologi trombosit

Trombosit memiliki bentuk menyerupai cakram kecil dengan diameter sekitar 1–4 μm dan diproduksi di sumsum tulang melalui proses pemecahan sitoplasma *megakariosit*. Pada pemeriksaan apus darah, trombosit tampak berbentuk bulat hingga tidak beraturan, berwarna keunguan dengan tampilan granular. Ukurannya yang sangat kecil menyebabkan struktur internal trombosit sulit diamati secara rinci (Fritsma, 2015). Permukaan trombosit dilapisi oleh *glikoprotein* yang berfungsi mencegah perlekatan pada endotel normal, namun memungkinkan terjadinya adhesi pada dinding pembuluh darah yang mengalami kerusakan atau pada kolagen yang terekspos. Selain *glikoprotein*, trombosit juga mengandung *fosfolipid* dalam jumlah tinggi yang berperan penting dalam mengaktifkan tahapan proses pembekuan darah (Sitanggang dkk., 2024).

Trombosit memiliki membran yang dilengkapi berbagai reseptor yang berikatan dengan kolagen, *von Willebrand factor* (VWF), *fibrinogen*, dan *Adenosine Diphosphate* (ADP). Sitoplasma trombosit mengandung komponen seluler seperti *glikogen*, *myosin*, *aktin*, dan *lisosom*. Selain itu, trombosit memiliki dua jenis granula, yaitu granula alfa yang mengandung berbagai protein seperti *Platelet*

Derived Growth Factor (PDGF) serta faktor-faktor pembekuan darah, dan granula padat yang menyimpan zat non-protein seperti *adenin nukleotida*, *serotonin*, dan ADP (Sitanggang dkk., 2024).

Sitoplasma trombosit mengandung berbagai komponen penting, di antaranya *aktin* dan *myosin* yang merupakan protein kontraktil dengan karakteristik serupa dengan protein pada jaringan otot, serta *trombostenin* dan protein kontraktil lainnya. Selain itu, di dalam sitoplasma masih ditemukan sisa *retikulum endoplasma* dan *apparatus golgi* yang berperan dalam sintesis berbagai enzim serta penyimpanan ion kalsium dalam jumlah besar. *Mitokondria* dan sistem enzimatik dalam trombosit berfungsi menghasilkan *Adenosine Diphosphate (ADP)* dan *Adenosine Triphosphate (ATP)* sebagai sumber energi. Sistem enzim tersebut juga berperan dalam sintesis hormon yang memengaruhi vasokonstriksi dan respons jaringan lokal, yaitu *prostaglandin*. Selain itu, trombosit mengandung protein penting seperti *fibrin stabilizing factor* serta berbagai faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi otot polos pembuluh darah, sel endotel, dan fibroblas, sehingga mempercepat proses perbaikan jaringan yang mengalami kerusakan (Sitanggang dkk., 2024).



Gambar 3 Diagram Skematis Morfologi Trombosit
(Sumber: Sitanggang dkk., 2024)

5. Kelainan jumlah trombosit

Kelainan pada trombosit dapat ditinjau dari perubahan jumlah trombosit dalam darah. Secara umum, kelainan trombosit dibedakan menjadi dua, yaitu:

a. Trombositopenia

Trombositopenia merupakan kondisi ketika jumlah trombosit berada di bawah nilai normal, yaitu kurang dari $150.000/\mu\text{L}$ darah. Keadaan ini tidak hanya disebabkan oleh penyakit demam berdarah, tetapi juga dapat terjadi pada leukemia, anemia aplastik, serta sebagai efek samping radioterapi dan kemoterapi. Trombositopenia kronis umumnya disebabkan oleh *Idiopathic Thrombocytopenic Purpura* (ITP), yaitu kondisi autoimun ketika sistem kekebalan tubuh secara keliru menyerang dan menghancurkan trombosit. Pada kasus ringan, trombositopenia sering kali tidak menimbulkan gejala. Namun, apabila jumlah trombosit semakin menurun, dapat muncul manifestasi klinis berupa perdarahan, baik perdarahan luar maupun perdarahan organ dalam. Perdarahan eksternal dapat berupa memar atau lebam, sedangkan gejala berat meliputi mimisan, perdarahan gusi, hingga muntah darah (Wundiawan dkk., 2023).

b. Trombositosis

Trombositosis adalah kondisi ketika jumlah trombosit melebihi nilai normal, yaitu lebih dari 450.000/ μ L darah. Peningkatan jumlah trombosit umumnya tidak menimbulkan gejala yang jelas. Namun, pada beberapa kasus, keluhan dapat muncul akibat terbentuknya gumpalan darah (trombus). Manifestasi klinis yang terjadi bergantung pada lokasi pembentukan trombus tersebut. Gejala yang dapat dirasakan antara lain sakit kepala, nyeri dada, gangguan bicara, sesak napas, dan mual. Pada kondisi trombositosis dengan kadar trombosit yang sangat tinggi, dapat terjadi perdarahan seperti mimisan serta feses bercampur darah (Durachim dan Astuti, 2018).

6. Faktor yang mempengaruhi jumlah trombosit

a. Faktor klinis

Jumlah trombosit dalam darah dapat mengalami peningkatan yang dikenal sebagai trombositosis atau penurunan yang disebut trombositopenia. Secara klinis, trombositopenia dapat disebabkan oleh berbagai kondisi, antara lain infeksi virus, penggunaan obat-obatan tertentu seperti kemoterapi dan antikoagulan, gangguan autoimun yang menyebabkan destruksi trombosit, serta kelainan sumsum tulang yang menghambat proses pembentukan trombosit. Selain itu, *Demam Berdarah Dengue* (DBD) merupakan salah satu penyebab utama penurunan jumlah trombosit yang sering ditemukan pada masyarakat di Indonesia.

Sebaliknya, trombositosis dapat terjadi akibat proses inflamasi kronis, anemia defisiensi besi, kondisi pascaoperasi, serta penyakit *mieloproliferatif* seperti polisitemia vera dan trombositemia esensial. Selain itu, trombositosis reaktif juga dapat muncul sebagai respons terhadap stres fisiologis, perdarahan akut, atau

infeksi bakteri. Faktor gaya hidup, seperti merokok dan stres psikologis, juga dilaporkan berperan dalam peningkatan jumlah trombosit. Variasi jumlah trombosit ini perlu diperhatikan karena dapat memengaruhi interpretasi hasil pemeriksaan laboratorium serta pengambilan keputusan klinis.

b. Faktor laboratoris

Pemeriksaan jumlah trombosit dipengaruhi oleh tiga tahapan utama, yaitu pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Tahap pra-analitik merupakan sumber kesalahan terbesar dengan kontribusi sekitar 61%, diikuti tahap analitik sebesar 25% dan pasca-analitik sebesar 14% (Yuliarti, 2021). Dalam pemeriksaan trombosit, tahap pra-analitik menjadi sangat penting karena trombosit merupakan sel yang mudah mengalami agregasi, fragmentasi, serta perubahan morfologi selama proses penanganan dan penyimpanan sampel.

Tahap pra-analitik meliputi persiapan pasien, teknik pengambilan darah, pemilihan antikoagulan yang sesuai, waktu penyimpanan, serta kondisi pengiriman sampel ke laboratorium. Penggunaan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) direkomendasikan dalam pemeriksaan hematologi, namun pada kondisi tertentu dapat menyebabkan *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* apabila pemeriksaan mengalami penundaan. Penyimpanan darah EDTA yang terlalu lama juga dapat memicu perubahan bentuk trombosit, pembengkakan, atau fragmentasi sel, sehingga memengaruhi hasil hitung trombosit. Oleh karena itu, pemeriksaan idealnya dilakukan dalam waktu ≤ 2 jam setelah pengambilan sampel untuk mempertahankan stabilitas seluler (Widyastuti, 2018). Faktor lain yang dapat menurunkan kualitas hasil antara lain penyimpanan pada suhu yang tidak sesuai,

volume darah yang tidak mencukupi, sampel hemolisis, serta teknik pencampuran tabung yang tidak homogen.

Pada tahap analitik, akurasi hasil sangat ditentukan oleh ketelitian metode pemeriksaan, termasuk kondisi alat, kualitas reagen, teknik pencampuran sampel, serta metode hitung trombosit yang digunakan. Agregasi trombosit pada sampel yang terlambat diperiksa dapat menyebabkan hasil trombosit rendah palsu. Sementara itu, tahap pasca-analitik mencakup proses pencatatan, verifikasi, dan pelaporan hasil pemeriksaan sebagai bagian akhir dari rangkaian pemeriksaan laboratorium (Widyastuti, 2018). Oleh karena itu, penundaan pemeriksaan atau penyimpanan sampel darah EDTA, seperti yang sering terjadi di laboratorium klinik, berpotensi memengaruhi nilai trombosit dan perlu dikendalikan guna menjaga keakuratan hasil pemeriksaan.

C. Metode Pemeriksaan Jumlah Trombosit

Metode pemeriksaan jumlah trombosit secara umum dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu metode manual (langsung dan tidak langsung) serta metode otomatis.

1. Metode manual

a. Metode langsung (*rees – ecker*)

Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah terjadinya lisis terhadap sel-sel darah selain trombosit ketika darah dicampurkan dengan larutan *Ammonium Oxalat* 1%. Pada metode ini digunakan larutan pengencer *Brilliant Cresyl Blue* (BCB) atau *Platelet Counting Buffer* (PCB) yang mengandung zat pewarna biru, sehingga trombosit tampak berwarna kebiruan dan lebih jelas saat diamati di bawah mikroskop. Pemeriksaan dapat dilakukan menggunakan darah vena maupun darah

kapiler. Keunggulan metode ini adalah hanya membutuhkan volume sampel yang kecil serta penggunaan reagen tertentu. Namun, kelemahannya adalah kurang efektif untuk pemeriksaan dalam jumlah sampel yang banyak (Cahyaningtyas, 2024).

b. Metode tidak langsung (*fonio*)

Metode *fonio* merupakan cara penghitungan trombosit secara tidak langsung dengan menggunakan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT). Pada metode ini, darah kapiler dicampur dengan larutan *magnesium sulfat* 14%, kemudian dibuat apusan darah dan diwarnai menggunakan larutan *Giemsa*. Perhitungan jumlah trombosit dilakukan dengan membandingkan jumlah trombosit terhadap 1.000 eritrosit, selanjutnya dikonversi berdasarkan jumlah eritrosit tetap. Metode *fonio* memiliki beberapa keterbatasan, antara lain hanya dapat memberikan perkiraan jumlah trombosit normal atau abnormal sehingga hasilnya perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan SADT. Selain itu, apabila sampel dibiarkan terlalu lama, trombosit dapat mengalami agregasi yang menyebabkan penurunan hasil hitung. Keunggulan metode ini adalah dapat memperlihatkan morfologi trombosit dengan jelas serta hanya memerlukan sedikit sampel darah (Cahyaningtyas, 2024).

2. Metode otomatis (*automatic hematology analyzer*)

Metode otomatis menggunakan *hematology analyzer* yang bekerja dengan prinsip penghitungan sel darah secara elektronik. Untuk pemeriksaan eritrosit dan trombosit, sampel darah diencerkan hingga sekitar 200 kali, kemudian dianalisis oleh alat untuk menghasilkan data kuantitatif yang selanjutnya ditampilkan dan dicetak secara otomatis. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, antara lain waktu pemeriksaan yang singkat (sekitar 45 detik), kebutuhan volume sampel yang kecil,

serta tingkat ketelitian dan ketepatan hasil yang tinggi. Selain itu, hasil pemeriksaan umumnya telah melalui proses *quality control* internal laboratorium. Namun demikian, metode ini juga memiliki keterbatasan, yaitu tidak mampu mendeteksi sel-sel abnormal seperti pada kasus leukemia, infeksi bakterial, sepsis, atau keberadaan sel darah yang belum matang, serta kurang akurat pada kondisi jumlah sel yang sangat tinggi. Oleh karena itu, pemeriksaan sediaan apus darah tepi tetap diperlukan sebagai *cross-check*. Dalam penggunaannya, *hematology analyzer* memerlukan perhatian khusus terkait perawatan alat, kondisi penyimpanan reagen, pengendalian suhu ruangan, serta kualitas sampel darah. Sampel darah harus menggunakan antikoagulan dan tidak boleh menggumpal, karena gumpalan darah dapat merusak sistem hisap alat (Cahyaningtyas, 2024).

D. Antikoagulan EDTA

Antikoagulan EDTA umumnya tersedia dalam bentuk garam natrium dan kalium yang bekerja dengan cara mengikat atau mengkhelasi ion kalsium (*Ca*) dalam darah sehingga proses koagulasi dapat dicegah. EDTA memiliki keunggulan dibandingkan antikoagulan lainnya karena tidak memengaruhi morfologi sel darah, sehingga sangat sesuai digunakan dalam pemeriksaan hematologi. Dalam praktik laboratorium, EDTA tersedia dalam tiga bentuk, yaitu *dinatrium* EDTA (Na_2EDTA), *dipotassium* EDTA (K_2EDTA), dan *tripotassium* EDTA (K_3EDTA). Na_2EDTA dan K_2EDTA umumnya digunakan dalam bentuk kering, sedangkan K_3EDTA digunakan dalam bentuk cair.

Di antara ketiganya, K_2EDTA merupakan jenis yang paling dianjurkan untuk pemeriksaan hematologi karena direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) dan *Clinical and Laboratory Standards*

Institute (CLSI). Dosis penggunaan K_2EDTA yang dianjurkan adalah 1 mg untuk setiap 1 mL darah. Apabila digunakan dalam bentuk larutan, dapat dibuat larutan EDTA 10% dengan perbandingan penggunaan 1 μ L larutan EDTA 10% untuk 1 mL darah (Hamdi, 2021).

Antikoagulan Na_2EDTA dalam bentuk serbuk masih banyak digunakan di berbagai laboratorium karena kemudahan pengukurannya setelah dilarutkan menjadi larutan 10%. Penggunaan *disodium* EDTA umumnya berada pada konsentrasi 1,4 - 2,0 mg per mL darah. Secara umum, EDTA merupakan antikoagulan yang paling sering digunakan baik di laboratorium pemerintah maupun swasta karena memiliki beberapa keunggulan, antara lain lebih ekonomis, dapat digunakan untuk berbagai parameter pemeriksaan hematologi rutin, mudah diperoleh, praktis digunakan baik dalam bentuk serbuk maupun larutan, serta tersedia dalam bentuk garam natrium dan kalium (Hamdi, 2021).

Meskipun demikian, EDTA memiliki kelemahan karena sifat kelarutannya yang lebih rendah dibandingkan antikoagulan lain, sehingga diperlukan pencampuran sampel dengan cara membolak-balikkan tabung sebanyak 8 - 10 kali agar homogen. Mekanisme kerja EDTA dalam mencegah koagulasi adalah dengan mengikat ion kalsium sehingga membentuk garam kalsium yang tidak larut, menyebabkan ion kalsium yang berperan dalam proses pembekuan darah menjadi tidak aktif. Oleh karena itu, EDTA harus segera dicampurkan dengan darah setelah pengambilan sampel untuk mencegah terjadinya penggumpalan trombosit serta pembentukan *microclot* atau bekuan mikro (Hamdi, 2021).

E. Hubungan Antara Waktu Pemeriksaan Dengan Jumlah Trombosit

Waktu pemeriksaan merupakan salah satu faktor pra-analitik yang sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan jumlah trombosit. Pemeriksaan trombosit dianjurkan dilakukan segera setelah pengambilan sampel darah, terutama pada sampel yang menggunakan antikoagulan EDTA, karena trombosit memiliki sifat mudah mengalami agregasi, adhesi, dan perubahan morfologi selama proses penyimpanan (Widyastuti, 2018). Penundaan waktu pemeriksaan dapat menyebabkan terbentuknya agregat trombosit atau *microclot* yang berdampak pada penurunan hasil hitung trombosit secara palsu (*false low result*).

Selama penyimpanan pada suhu kamar, trombosit tetap menjalankan aktivitas metabolisme seluler yang dapat memicu perubahan bentuk dari diskoid menjadi sferis serta meningkatkan kecenderungan trombosit untuk saling melekat. Kondisi tersebut dapat menyebabkan fragmentasi trombosit dan memengaruhi akurasi hasil pemeriksaan, baik menggunakan metode manual maupun *automatic hematology analyzer* (Hayati dkk., 2023). Semakin lama waktu penundaan pemeriksaan, maka semakin besar kemungkinan terjadinya penurunan jumlah trombosit yang terukur.

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara waktu pemeriksaan dengan jumlah trombosit. Penelitian oleh Sujud dkk., (2015) menyatakan bahwa terdapat perbedaan hasil hitung trombosit antara sampel darah EDTA yang diperiksa segera dan yang ditunda selama 1 jam. Penelitian lain oleh Febriarsari dkk., (2024) juga menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pemeriksaan trombosit yang dilakukan segera dengan pemeriksaan yang ditunda selama 3 jam pada suhu kamar, di mana pemeriksaan yang ditunda menunjukkan

nilai trombosit yang lebih rendah. Hal ini menegaskan bahwa penundaan waktu pemeriksaan berpengaruh terhadap hasil hitung jumlah trombosit.

Selain itu, menurut Yuliarti (2021), kesalahan pada tahap pra-analitik menyumbang persentase terbesar dalam kesalahan laboratorium, sehingga pengendalian waktu pemeriksaan menjadi hal yang sangat penting. Penundaan pemeriksaan yang tidak terkontrol dapat menyebabkan kesalahan interpretasi hasil laboratorium dan berpotensi memengaruhi pengambilan keputusan klinis.

Dengan demikian, waktu pemeriksaan memiliki hubungan yang signifikan terhadap jumlah trombosit yang diperoleh. Oleh karena itu, untuk menjaga stabilitas dan keakuratan hasil pemeriksaan trombosit, sampel darah EDTA sebaiknya diperiksa sesegera mungkin setelah pengambilan atau sesuai dengan batas waktu stabilitas yang direkomendasikan.