

**PENGARUH VOLUME DARAH EDTA (Ethylen Diamin
TetraAcetat) 10 % TERHADAP NILAI HEMOGLOBIN,
LEKOSIT DAN TROMBOSIT MENGGUNAKAN
HEMATOLOGI ANALYZER**

**MANSYUR SUKURENG
N12105065**



Tgl. Pengisian	23-3-10
Asisten	Farmasi
Tugas	1 kelas
Disusun	Handus
Disetujui	HS

SKR - F10
SKR
P

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**PENGARUH VOLUME DARAH EDTA (Ethylen Diamin
TetraAcetat) 10 % TERHADAP NILAI HEMOGLOBIN,
LEKOSIT DAN TROMBOSIT MENGGUNAKAN
HEMATOLOGI ANALYZER**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**MANSYUR SUKURENG
N12105065**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**PENGARUH VOLUME DARAH EDTA (Ethylen Diamin
TetraAcetat) 10 % TERHADAP NILAI HEMOGLOBIN,
LEKOSIT DAN TROMBOSIT MENGGUNAKAN
HEMATOLOGI ANALYZER**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**MANSYUR SUKURENG
N12105065**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

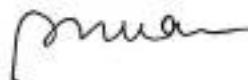
PENGARUH VOLUME DARAH EDTA (*ETHYLENE DIAMINE
TETRAACETAT*) 10 % TERHADAP NILAI HEMOGLOBIN, LEKOSIT DAN
TROMBOSIT MENGGUNAKAN HEMATOLOGI ANALYZER

MANSYUR SUKURENG

N121 05 065

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. rer nat. Marianti A. Manggau, Apt
NIP. 19670319 199203 2 002

Pembimbing Pertama,



Dr. Suci Aprianti, Sp. PK
NIP. 140 350 395

Pembimbing Kedua,



Dra. Elizabeth O. Yapari, Apt
NIP. 140 154 607

Pada tanggal, Maret 2010

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh volume darah EDTA (Ethylen Diamin TetraAsetat) 10 % terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit pada 25 sampel darah di Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Pangkep. Penelitian ini merupakan *studi Intervensi* dengan pendekatan *Cross Sectional* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan volume darah EDTA (*Ethylen Diamine TetraAcetat*) 10 % yang tidak sesuai rasio standar terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit, dengan membandingkan rasio standar yaitu 2 ml darah + 0,02 ml (20 μ l) Na_2 EDTA 10 % dengan rasio 1 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % (perlakuan I) dan dengan rasio 0,5 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % (perlakuan II) menggunakan hematologi analyzer dengan metode Impedans. Hasil pengolahan statistik menggunakan uji *Oneway Anova* dengan *Levene Test* menunjukkan penurunan nilai pada hemoglobin, leukosit dan trombosit yang tidak bermakna, dan dapat disimpulkan bahwa pemakaian volume darah dengan rasio yang tidak sesuai dengan volume standar tidak berpengaruh terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit, sehingga penggunaan volume dengan rasio 1 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % dan pada rasio 0,5 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % bisa digunakan.

ABSTRACT

A research had been done about the influence of blood EDTA (Ethylen Diamin TetraAcetic Acid) 10 % volume used as anticoagulant to haemoglobin, leucocyte and thrombocyte value on 25 samples in Pangkep General Hospital. This research use intervence with Cross sectional study. It has an aim to know the influence of using EDTA blood 10 % in with unsuitable standard ratio that 2 ml blood + 0.02 ml (20 μ l) Na₂ EDTA 10 % with 1 ml blood ratio + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % (first treatmen) and with ratio of 0,5 ml blood + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % (second treatmen) it measure by hematology analyzer with impedans methods. According to the statistical data of Oneway Anova with Levene Test, show that there is a decreasing of haemoglobin, leucocyte and thrombocyte that insignificant, and we conclude there is no influence of using blood volume with unsuitable ratio with the standard volume with the haemoglobin, leucocyte and thrombocyte, so we can use ratio of 1 ml blood + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % and 0,5 ml blood + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % ratio.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Teknologi Laboratorium Kesehatan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau, Apt. Sebagai pembimbing utama, dr. suci Aprianti, Sp.PK. Sebagai pembimbing I dan Dra. Elizabeth O. Yapari, Apt. sebagai pembimbing II.

Penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada : Prof. Dr. Elly Wahyudin., DEA, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (UNHAS), Prof. Dr. rer-nat Marianti A. Manggau, Apt. selaku Pembantu Dekan I (satu) Fakultas Farmasi UNHAS, Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt, selaku Pembantu Dekan II (dua) Fakultas Farmasi UNHAS, Dra. Aliyah Putranto, MS, Apt, selaku Ketua Program Konsentrasi Teknologi

Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS, Para Dosen Fakultas Farmasi khususnya Program Studi Farmasi Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS beserta seluruh staf dan karyawan jurusan Farmasi Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan karya akhir ini.

Demikian pula penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih kepada :

1. Bapak Bupati dan Staf BKD Kabupaten Pangkep, yang telah memberikan bantuan kepada kami selama penulis untuk mengikuti pendidikan.
2. Bapak Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Pangkep yang telah memberikan kesempatan dan mengizinkan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
3. Bapak Kepala dan staf Puskesmas Mandalle yang telah membantu dan memberikan kesempatan dan mengizinkan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
4. DPP, DPW, DPC Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Kesehatan Indonesia (PATELKI), atas bimbingan dan rekomendasinya sehingga penulis dapat melanjutkan pendidikan.
5. Saudari Hj. Mirah dan rekannya yang telah membimbing penulis, khususnya di dalam bimbingan statistik pada penelitian akhir ini.

6. Direktur Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Pangkep atas segala fasilitas dan bantuan yang telah disediakan selama penulis menyelesaikan karya akhir ini.
7. Kepala dan Staf Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Pangkep atas fasilitas, bimbingan dan bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian.
8. Seluruh teman - teman peserta pendidikan Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan angkatan 2005 dan adik – adik mahasiswa Konsentrasi TLK atas bantuan, support, persahabatan dalam suka duka dan atas kerjasama yang baik selama masa pendidikan penulis.
9. Seluruh pihak yang telah membantu dan membimbing penulis selama masa pendidikan yang tidak sempat penulis sebutkan.

Penulis persembahkan skripsi ini kepada semua keluarga di Kabupaten Pangkep, terutama kepada kedua orang tua dan saudara – saudara tercinta, khususnya kepada istri dan anak – anak tercinta yang sudah mendukung baik moril dan materil. Semoga karya tulis ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan, serta diberkati oleh Tuhan Yang Maha Esa.

Makassar, maret 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SKEMA.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tes Laboratorium Bidang Hematologi...	4
II. 2 Darah.....	6
II.2.1 Eritrosit dan Hemoglobin	8
II.2.2 Lekosit.....	12
II.2.3 Trombosit.....	14
II.3 Antikoagulan.....	16
II.4 Hematologi Analyzer Arcus Diatron.	22
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	24
III.1 Metode Penelitian	24
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian	24

III.3 Jumlah Sampel Penelitian	24
III.4 Sampel Penelitian.....	25
III.5 Kriteria penelitian	25
III.6 Definisi Operasional	25
III.7 Alat dan Bahan.....	27
III.8 Prosedur Penelitian	28
III.8.1 Pengambilan Darah Vena.....	28
III.8.2 Pengolahan Sampel.....	28
III.8.3 Prosedur ON Arcus Diatron.....	29
III.8.4 Pemeriksaan Sampel Pada Arcus Diatron ...	29
III.9 Pembacaan Hasil.....	30
III.10 Pengolahan dan Analisis Data.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
IV.1 Hasil Penelitian.....	31
IV.2 Pembahasan.....	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
V.1 Kesimpulan.....	39
V.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
1.	Hasil penelitian variabel hemoglobin Oneway Anova.....	32
2.	Hasil penelitian variabel leukosit Oneway Anova	33
3.	Hasil penelitian variabel trombosit Oneway Anova.....	34
4.	Data hasil penelitian	45
5.	Uji statistik Anova perlakuan I	46
6.	Uji statistik Anova perlakuan II	48
7.	Hubungan faktor pengenceran pada perlakuan penelitia..	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rumus struktur EDTA yang mengikat ion logam.....	20
2. Rumus struktur EDTA	21
3. Diagram perbandingan nilai hemoglobin.....	31
4. Diagram perbandingan nilai leukosit.....	33
5. Diagram perbandingan nilai trombosit.....	34
6. Foto dan Proses ON Alat Hematologi Analyzer.....	51
7. Foto sampel penelitian.....	52

DAFTAR SKEMA

Skema	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	44
2. Data Hasil Penelitian	45
3. Uji Statistik Anova perlakuan I.....	46
4. Uji Statistik Anova perlakuan II.....	48
5. Hubungan faktor pengenceran pada perlakuan penelitian	50
6. Foto dan Proses ON Alat Hematologi Analyzer.....	51
7. Foto sampel penelitian.....	52

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang	Arti
EDTA	Ethylene Diamine TetraAcetat
Na ₂ EDTA	Disodium Ethylene Diamine Tetra Acetat
DC	Detector Chanel
RBC	Eritrosit
WBC	Lekosit
PLT	Platelet
HGB	Hemoglobin
CO ₂	Carbon Dioksida
CBC	Complete Blood Count
KHER	Kosentrasi Hemoglobin Eritrosit Rata – Rata
VER	Volume Eritrosit Rata - Rata
O ₂	Oksigen
pH	Potensial Hidrogen
NaCl	Natrium klorida
Mg	Magnesium
Ca	Calsium

BAB I

PENDAHULUAN

Pada proses pengolahan sampel darah di beberapa laboratorium klinik, khususnya pada laboratorium yang belum menggunakan *vacutainer*, masih banyak ditemukan *flebotomis* yang terkadang mengalami kesulitan dalam memperoleh volume darah yang dibutuhkan untuk pemeriksaan hematologi, sehingga sampel darah yang diperoleh terkadang menjadi kurang dari volume yang dibutuhkan, sedangkan *antikoagulan* yang telah disiapkan yang seharusnya disesuaikan dengan volume darah menjadi tidak seimbang, serta kurang diperkenalkannya pengambilan ulang *specimen* pada pasien karena salah satu aspek kepuasan pasien adalah kenyamanan (1).

Proses pengambilan dan penanganan sampel merupakan salah satu tahap yang sangat berperan penting dalam pemeriksaan laboratorium. Sampel yang telah diperoleh biasanya ditampung pada wadah yang bersih, kering dan tidak mengubah zat yang ada dalam sampel. Penampungan sampel yang dipakai untuk tes hematologi biasanya menggunakan *antikoagulan*. Penambahan *antikoagulan* tersebut dimaksudkan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah (2). *Rasio* antara volume darah dengan *antikoagulan* yang dianjurkan untuk digunakan adalah 2 mg EDTA untuk 2 ml darah (3), dan atau 2 ml darah dengan 0,02 ml (20 μ l) *antikoagulan* Na₂ EDTA 10 % (9).

Penggunaan garam EDTA yang berbeda dan atau konsentrasinya yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan *kuantitas* maupun *kualitas* hasil pemeriksaan (2,4). Perbandingan jumlah *antikoagulan* dengan jumlah darah sangat penting diperhatikan dan harus tepat, karena bila jumlah darah yang ditampung lebih banyak dari yang seharusnya, maka akan didapatkan mikrotrombin yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat menyumbat alat pemeriksaan. Sedangkan apabila darah yang ditampung lebih sedikit sehingga volume *antikoagulannya* menjadi berlebih, akan menyebabkan eritrosit mengkerut sehingga nilai eritrosit menurun (8).

Hasil penelitian mengenai *The Effects of Excessive Disodium Ethylene Diamine Tetraacetat Acid (Na₂EDTA) Anticoagulant Concentration Toward Hematology Profile and Morphology of Erythrocytes in Peripheral Blood Examination* menunjukkan penurunan yang bermakna dari hitung eritrosit, hemoglobin, hematokrit dan MCHC, serta peningkatan yang bermakna dari nilai MCV dan RDW antara konsentrasi Na₂EDTA yang berlebihan, sedangkan nilai MCH tidak ada perbedaan, pemeriksaan terhadap morfologi darah tepi menunjukkan perubahan yang bermakna pada bentuk echinocytes, serta ditemukan gambaran ghost cell pada sampel darah dengan Na₂EDTA yang berlebih (3). Begitupula halnya dengan hasil penelitian mengenai gambaran berbagai perbandingan volume darah dengan volume EDTA (Ethylen Diamin Tetraacetic Acid) yang tetap terhadap hasil hitung eritrosit cara otomatis dengan alat celly

di RSUD. Syekh Yusuf Kabupaten Gowa menunjukkan adanya kecenderungan penurunan nilai hasil pemeriksaan eritrosit (9).

Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan penelitian dengan rumusan masalah apakah ada pengaruh perbedaan volume darah dengan volume EDTA 10 % terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit menggunakan hematologi analyzer,

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan volume darah EDTA 10 % yang tidak sesuai standar terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit dengan membandingkan volume darah EDTA 10 % yang dianjurkan (standar), yaitu pada rasio 2 ml darah + 0,02 ml (20 μ l) Na_2 EDTA 10 %, dengan rasio 1 ml darah + 0,02 Na_2 EDTA 10 % (perlakuan I) dan pada rasio 0,5 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % (perlakuan II).

Manfaat penelitian ini adalah sebagai bahan masukan sehingga dapat memberikan jawaban dan wawasan terhadap permasalahan yang sering ditemui di laboratorium dalam pemeriksaan hematologi dan sebagai bahan bacaan untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1. Tes Laboratorium Bidang Hematologi

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu disiplin ilmu dalam kedokteran laboratorium. Hasil pemeriksaan laboratorium merupakan bahan penunjang atau penentu *diagnosis*, yang berkaitan dengan *terapi* dan *prognosis* dokter. Tujuan pemeriksaan laboratorium itu sendiri antara lain, menegakkan dan memastikan *diagnosis*, menentukan beratnya suatu penyakit, *follow up* pengobatan atau memantau jalannya penyakit, rasionalisasi pemberian obat, serta untuk mengetahui kondisi pasien secara umum (4). Dengan melakukan pengukuran dan pemeriksaan laboratorium akan didapatkan data ilmiah yang dapat digunakan dalam menginterpretasi masalah yang diidentifikasi melalui pemeriksaan klinis (5).

Pemeriksaan hematologi banyak dilakukan dengan menggunakan alat hitung sel darah otomatis yang mencakup parameter pemeriksaan seperti jumlah leukosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit, volume eritrosit rata-rata (VER), hemoglobin eritrosit rata-rata (HER), konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata (KHER), *red distribution width* (RDW), jumlah trombosit, *mean platelet volume* (MPV) dan *platelet distribution width* (PDW) (4). Untuk pemeriksaan tersebut perlu diperhatikan beberapa hal, seperti persiapan penderita, cara pengambilan

bahan dan pengiriman bahan bila bahan tersebut dirujuk serta *antikoagulan* yang dipakai. Kesalahan yang terjadi pada hal-hal tersebut di atas dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (2).

Peningkatan mutu hasil pemeriksaan dapat dicapai melalui pelaksanaan kegiatan pemantapan mutu (*quality assurance*) yang mencakup berbagai komponen kegiatan. Salah satu komponen adalah praktek laboratorium yang benar (*good laboratory practice*) yang mencakup organisasi, pencatatan dan pelaporan, ruangan dan fasilitas penunjang, tenaga laboratorium, peralatan laboratorium, bahan laboratorium, *spesimen*, metode pemeriksaan, bakuan mutu, pemantapan mutu dan keamanan laboratorium (16).

Idealnya tes laboratorium harus teliti, tepat, *sensitive*, *spesifik* dan cepat. Akan tetapi hal yang ideal tersebut tidak selalu dapat terpenuhi. Demi efektifnya pelayanan laboratorium agar hasilnya menjadi ideal, maka perlu adanya persiapan – persiapan antara lain, *pra tes* laboratorium atau persiapan sampel (*specimen*), persiapan tes laboratorium atau tes analitik, serta *efektifitas pasca tes* dan *efektifitas* tenaga analisis (4).

Untuk pemeriksaan hematologi, biasanya dipakai darah vena yang dicampur dengan *antikoagulan*, agar sampel darah tersebut tidak menggumpal. *Antikoagulan* yang sering dipakai antara lain garam EDTA seperti dinatrium EDTA (Na_2 EDTA). Beberapa kepustakaan menyebutkan bahwa penggunaan garam EDTA yang berbeda dan atau konsentrasinya yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan *kuantitas* maupun *kualitas*

hasil pemeriksaan. Lamanya penundaan pemeriksaan juga dapat memberikan hasil yang berbeda untuk parameter tertentu (4).

II. 2 DARAH

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, berada dalam *konsistensi* cair, beredar dalam suatu sistem tertutup yang dinamakan sebagai pembuluh darah dan menjalankan fungsi transport berbagai bahan serta fungsi *homeostasis*. Penggolongan darah sebagai suatu jaringan didasarkan atas definisi jaringan, yaitu sekelompok sel atau beberapa jenis sel, yang mempunyai bentuk yang sama dan menjalankan fungsi tertentu. Hanya saja, berbeda dengan jaringan lain, sel-sel yang terdapat dalam darah dan dinamai sebagai sel-sel darah tidaklah terikat satu sama lain membentuk suatu struktur yang bernama organ, melainkan berada dalam keadaan suspensi dalam suatu cairan (22).

Darah terdiri atas 2 bagian besar yaitu unsur padat (sel – sel darah) seperti leukosit, eritrosit dan trombosit serta unsur cairan / plasma (bagian yang tidak mengandung sel darah) (25). Komposisi plasma terdiri dari cairan sebanyak 91%, unsur padat sebanyak 9 % yang terdiri atas protein plasma (albumin, globulin, prothrombin dan fibrinogen), mineral (NaCl, natrium karbonat, garam fosfat Mg, Ca, dan Fe), bahan organik (glukosa, lemak, kreatinin, kolesterol, asam urat, dan asam amino) (10).

Darah mempunyai B_j 1,041 – 1,067, temperature 38⁰ C dan pH 7,37 - 7,43 (23).

Darah merupakan cairan yang terdiri dari plasma (cairan bening) dan sel-sel darah (sel darah merah, sel darah putih dan sel pembeku darah). Adanya sel-sel darah menyebabkan adanya semacam pergeseran intern (*internal friction*) diantara lapisan yang berdampingan sehingga menyebabkan adanya sifat viskositas darah, tentang *viskositas / kekentalan* darah lebih kental dari pada air yaitu 3 – 4 kali viskositas air, viskositas plasma darah 1,5 – 2 kali viskositas air (13) .

Darah membentuk 6 sampai 8 % dari berat tubuh total dan terdiri dari sel - sel darah yang tersuspensi dalam suatu cairan yang disebut plasma (2). Tiga jenis sel darah utama adalah sel darah merah (eritrosit) sekitar 99 %, sel darah putih (lekosit) sekitar 0,2 % dan sekitar 0,6 – 1,0 % adalah keping - keping darah (trombosit) (17). Cairan plasma membentuk 45 sampai 60 % dari volume darah total. Eritrosit menempati sebagian besar volume sisanya. Lekosit dan trombosit, walaupun secara fungsional penting, menempati bagian yang relatif kecil dari massa darah total (5).

Fungsi utama darah adalah untuk transportasi. Sel darah merah yang mengandung pigmen hemoglobin berfungsi untuk membawa oksigen dari paru – paru ke jaringan. Sel darah putih bertanggung jawab terhadap pertahanan tubuh dan diangkut oleh darah ke berbagai jaringan tempat sel – sel tersebut melakukan fungsi fisiologiknya. Trombosit berperan mencegah tubuh kehilanagn darah akibat perdarahan dan melakukan

fungsi utamanya di dinding pembuluh darah. Protein plasma berperan dalam mengangkut zat gizi dan produk sampingan metabolik (5).

Pada tubuh yang sehat atau orang dewasa terdapat total volume darah sebanyak 6 – 8 % dari berat badan atau 55 – 80 ml / kg berat badan atau terdapat kurang lebih 5 liter. Pada pria dewasa terdapat 7,5% berat badan, dan pada wanita dewasa sebanyak 6,5% berat badan (11).

Sebagain besar sel di darah tidak mampu melakukan pembelahan lebih lanjut dan relatif berumur pendek serta diganti terus menerus oleh sumsum tulang, yang diseimbangkan secara tepat dengan tingkat pelepasan dari sel – sel darah yang baru dibentuk ke dalam peredaran darah. Sel – sel yang telah matang dapat hilang karena usia atau selama dalam menjalankan fungsi normalnya (5).

Kelompok sel darah utama termasuk sel darah merah, sel darah putih dan trombosit berasal dari sel bakal atau sel induk. Sel induk ini adalah sel pertama dalam rangkaian tahap – tahap teratur dan berjenjang pada pertumbuhan dan pematangan sel. Sel induk akan mengalami pematangan mengikuti jalur yang secara morfologis dan fungsional berbeda – beda tergantung pada rangsangan dan *mediator* (5).

II. 2. 1 Eritrosit dan Hemoglobin.

Sel darah merah (eritrosit) adalah merupakan salah satu komponen seluler darah yang mempunyai fungsi mengangkut oksigen. Hemoglobin adalah pigmen yang terdapat dalam eritrosit yang berfungsi sebagai

pengangkut oksigen utama dari paru – paru ke jaringan (5). Eritrosit normal berbentuk cakram bikonkaf yang mempunyai garis tengah rata – rata 8 mikron, bersifat mudah berubah bentuk sewaktu sel melewati kapiler. perubahan bentuk tersebut tidak meregangkan membran yang dapat menyebabkan robeknya sel seperti halnya yang terjadi pada sel – sel lainnya (10). Membran eritrosit terdiri dari suatu lapisan *integral lipid*, termasuk fosfolipid dan kolesterol yang mengandung protein (5).

Hemoglobin (Hb) merupakan zat protein yang ditemukan dalam eritrosit, yang memberi warna merah pada darah. Hemoglobin terdiri atas zat besi yang merupakan pembawa oksigen (10, 11). Bila hematorit, yaitu persentase darah berupa sel darah merah normal 40 sampai 45 persen, dan jumlah hemoglobin pada masing – masing sel normal, maka darah dapat mengandung rata – rata 15 gram hemoglobin. Tiap – tiap gram hemoglobin mampu mengikat kira – kira 1,39 ml oksigen. Oleh karena itu, pada orang normal lebih dari 20 ml oksigen dapat diangkut dalam ikatan dengan hemoglobin dalam tiap – tiap 100 ml darah (10).

Untuk melakukan fungsinya dalam mengangkut oksigen, eritrosit harus memenuhi beberapa kriteria, pertama harus dapat mempertahankan struktur bikonkaf untuk menghasilkan pertukaran gas. Kedua, harus dapat berubah bentuk (lentur) agar dapat masuk ke dalam kapiler mikrosirkulasi yang halus. Ketiga, harus memiliki lingkungan *internal* yang konstan agar hemoglobin tetap berada dalam bentuk tereduksi sehingga dapat mengangkut oksigen (5).

Oksigenisasi jaringan mengatur pembentukan sel – sel darah merah yang mengangkut oksigen ke jaringan (5). Setiap keadaan yang menyebabkan jumlah oksigen yang ditransfort ke jaringan berkurang, biasanya meningkatkan kecepatan pembentukan sel darah merah. Pada tempat yang sangat tinggi, yang jumlah oksigen dalam udara sangat berkurang, *insufisiensi oksigen* yang ditransfort ke jaringan dan sel darah dihasilkan demikian cepat sehingga jumlahnya dalam darah sangat meningkat (10).

Suatu hormon *glikoprotein* yang disebut sebagai *eritropoetin* yang terdapat dalam darah pada keadaan *hipoksia*, dapat merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan kecepatan pembentukan sel darah merah melalui mekanisme *eritropoetin*, bukan melalui respon langsung sumsum tulang terhadap *hipoksia*. Pembentukan sel darah merah dapat juga dipengaruhi oleh vitamin – vitamin antara lain seperti vitamin B 12 (sianokobalamin) dan asam folat / anggota vitamin B kompleks lainnya. Pada keadaan *eritropoetin* tidak ada sama sekali, sumsum tulang membentuk sedikit eritrosit, oleh karena itu *eritropoetin* mengawasi pembentukan eritrosit dengan sangat baik (10).

Pada keadaan normal, selama 120 hari, eritrosit beredar sekitar 200 sampai 300 mil dalam sistem *sirkulasi* sebelum *didekstruksi*. Dalam proses penuaan, terjadi penurunan metabolisme eritrosit. Setiap harinya, sekitar 1 % eritrosit disingkirkan dari *sirkulasi* oleh sistem *retikuloendotel* (5). Hemoglobin yang dilepaskan dari sel - sel eritrosit tua sewaktu

difagosit oleh *retikuloendotel*, kemudian diuraikan menjadi komponen – komponennya, yang menyebabkan terjadinya *destruksi* hemoglobin. Sekitar 5 sampai 7 gram hemoglobin *dikatabolisme* setiap hari (5, 10).

Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tidak selalu meningkat atau menurun secara bersamaan. Sebagai contoh, penurunan jumlah eritrosit disertai dengan kadar hemoglobin yang sedikit meningkat atau normal, terjadi pada kasus *anemia perniosa*. Serta pada keadaan kadar eritrosit yang meningkat atau normal disertai dengan kadar hemoglobin yang menurun, terjadi pada kasus anemia *defisiensi* zat besi (11).

Penurunan kadar hemoglobin dapat membantu *diagnosis* tentang adanya : anemia (defisiensi zat besi, aplastik, hemolitik), perdarahan hebat, sirosis hati, leukimia, penyakit Hodgkin, sarkoidosis, kelebihan cairan IV, kanker (usus halus dan usus besar, rektum, hati, tulang), thalasemia mayor, kehamilan, penyakit ginjal. Pengaruh obat : antibiotik (kloramfenikol / Chloromycetin, penisilin, tetrasiklin), aspirin, antineoplastik, doksapram (dopram), dervat hidantoin, hidralazin (apresoline), indometasin (indocin), inhibitor MAO, primakuin, rifampin, sulfonamid, trimetadion (tridion), Vitamin A dosis besar (11).

Peningkatan kadar hemoglobin dapat memberikan gambaran diagnosis terhadap : dehidrasi / hemokonsentrasi, polisitemia, daerah daratan tinggi, PPOM, CHF, luka bakar yang parah. Pengaruh obat : gentamisin, metildopa (aldomet) (11).

Nilai rujukan untuk hemoglobin yaitu, pada pria (dewasa) : 13,5 sampai 17 g / dl, Wanita (dewasa) : 12 sampai 15 g / dl, anak / bayi baru lahir : 14 sampai 24 g / dl, bayi : 10 sampai 17 g / dl, anak : 11 sampai 16 g / dl (11).

II. 2. 2 LEKOSIT

Lekosit atau sel darah putih merupakan sel darah berinti yang berada dalam darah yang mempunyai fungsi utama untuk melawan benda asing dalam tubuh. Konsentrasi sel darah putih (lekosit) dalam darah lengkap dijaga *relatif konstan*, walaupun setiap hari sejumlah besar lekosit mati. Lekosit – lekosit tersebut diganti melalui proses pembelahan sel. Pembentukan lekosit baru di sumsum tulang disebut *granulopoesis* (5).

Di darah perifer, sel darah putih dibedakan dari sel darah merah oleh adanya inti sel. Prosedur penghitungan dengan mesin otomatis mengklasifikasikan semua sel berinti sebagai sel darah putih (5). Lekosit dibagi menjadi dua kelompok yaitu, lekosit *polimorponuklear* (netrofil, eosinofil dan basofil) dan lekosit *mononuklear* (monosit dan limfosit). Lekosit merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh. Sel ini berespon dengan cepat terhadap benda asing yang masuk dengan cara bergerak ke arah sisi organ yang mengalami gangguan. Peningkatan sel darah putih disebut leukositosis, dan penurunan sel darah putih disebut leukopenia (11). Tiga jenis sel *polimorfonuklear* mempunyai penampilan *granular*, berdasarkan hal tersebut maka sel tersebut dinamakan *granulosit* atau

dalam terminologi sering dinamakan *polys*. Sedangkan lekosit kelompok *mononuklear* tidak bergranula sehingga dinamakan *agranula* (10).

Bertambahnya jumlah lekosit terjadi dengan mitosis, suatu proses pertumbuhan dan pembelahan sel yang berurutan. Sel – sel bakal mampu membelah diri dan berkembang menjadi sel darah putih matang dalam suatu *sekuens* pematangan yang teratur, dan kemudian dibebaskan dari sumsum tulang ke dalam *sirkulasi* (5).

Penurunan kadar lekosit dapat memberikan gambaran klinis pada beberapa keadaan, antara lain adalah, penyakit : hematopoetik (anemia aplastik, anemia pernisiiosa, hiperplenisme, penyakit Gaucher), infeksi virus, malaria, agranulositosis, alkoholisme, sistemik lupus eritomatosus, artritis reumatoid, pengaruh obat ; antibiotik (penisillin, sefalotin, kloramfenikol), asetaminofen (tylenol), sulfonamid, propiltiorasil, barbiturat, agens kemoterapi kanker, diazepam (valium), diuretik (furosemid), asam etakrinat (edecrin), klordiazepoksid (librium), agens hipoglikemik oral, indometasin (indocin), metildopa (aldomet), rifampin dan fenotiazin (11).

Gambaran klinis mengenai peningkatan kadar lekosit antara lain dapat terjadi pada beberapa keadaan yaitu, Penyakit : infeksi akut (pneumonia, meningitis, apendistis, kolitis, peritonitis, pankreatitis, pielonefritis, tuberkulosis, tonsilitis, divertikulitis, septikimia, demam reumatik), nekrosis jaringan (infark miokardial, sirosis hati, luka bakar, kanker organ, emfisema, ulkus peptikum), leukimia, penyakit kolagen,

anemia hemolitik dan sel sabit, parasitik, stres (pembedahan, demam, kekacauan emosional, yang berlangsung lama). Pengaruh obat : aspirin, heparin, digitalis, epinefrin, litium, histamin, antibiotik (ampisilin, eritromisin, kanamisin, metisilin, tetrasiklin, vankomisin, streptomisin), senyawa emas, prokainamid (pronestyl), triamteren (dyrenium), alopurinol, kalium iodida, derivatifhidantoin, dan sulfonamid (aksi lama) (11).

Nilai rujukan leukosit pada dewasa : 4500 sampai 10.000 μl (mm^3), anak / bayi baru lahir : 9000 sampai 30.000 μl , usia 2 tahun : 6000 sampai 17.000 μl , Usia 10 tahun : 4.500 sampai 13.500 μl (11)

II. 2.3 TROMBOSIT

Trombosit atau keping darah bukan merupakan sel tetapi merupakan *fragmen - fragmen* sel *granular* berbentuk cakram dan tidak berinti. Trombosit merupakan sel terkecil dalam *sirkulasi* darah yang mempunyai ukuran diameter 1 - 4 μm atau bahkan kadang – kadang lebih besar, mempunyai sifat *adhesi* antara trombosit dengan trombosit lain, mudah menggumpal serta cenderung melekat pada permukaan asing, distribusi trombosit dalam darah tidak merata (4,5). Trombosit bergerombol dan lengket pada permukaan yang kasar serta di daerah yang mengalami cedera saat diperlukan proses koagulasi darah. (11).

Trombosit ini berperan penting dalam *faal hemostatis*. Trombosit dihasilkan dalam sumsum tulang melalui fragmentasi sitoplasma megakariosit. *Prekursor* megakariosit - megakarioblast, muncul melalui

DIC, penyakit ginjal, eklampsia, demam reumatik akut, serta adanya pengaruh obat : antibiotik (kloromisetin, streptomisin), sulfonamide, aspirin (salisilat), quinidin, quinin, asetazolamid (diamox), amidopirin, diuretic, tiazid, meprobramat (equanil), fenilbutazon (butazolidin), tolbutamid (orinase), injeksi Vaksin, agens kemoterapeutik (11)

Adanya peningkatan kadar trombosit memberikan gambaran klinis tentang adanya : polisitemia vera, trauma (pembedahan, fraktur), pascaplenektomi, kehilangan darah akut (memuncak pada 7 sampai 10 hari), karsinoma metastatic, embolisme pulmonar, dataran tinggi, tuberculosis, retikulositosis, latihan fisik berat, dan adanya pengaruh obat seperti : epineprin (adrenalin) (11).

Nilai rujukan untuk trombosi pada dewasa : 150.000 sampai 400.000 μ l (nilai rata-rata : 250 μ l), anak prematur : 100.000 sampai 300.000 μ l, bayi baru lahir : 150.000 sampai 300.000 μ l, bayi : 200.000 sampai 450.000 μ (11).

III. 3 Antikoagulan

Dalam menyiapkan sampel darah, suatu antikoagulan harus ditambah ke dalam spesimen apabila mengalami penyimpanan (2, 21). Jika darah yang telah diantikoagulasi atau spesimen yang sudah ditambahkan *antikoagulan* terpisah terbagi menjadi tiga lapisan utama yaitu sel darah merah berada pada laju bagian bawah cairan, plasma darah pada bagian atas, dan lapisan *buffy coat* (berwarna kekuningan)

berada diantaranya (tengah). *Retikulosit* terdapat bagian atas jalur sel darah merah. Lapisan *buffy coat* terdiri atas trombosit dan sel darah putih yang sebelumnya menutup lapisan plasma. Darah yang ditambahkan *antikoagulan* kemudian dipisahkan dan bagian atas berwarna kekuningan disebut plasma (18). Rasio antara volume darah dengan antikoagulan yang dianjurkan digunakan adalah 2 ml darah dengan 0,02 ml (20 μ l) Na_2 EDTA (2).

Antikoagulan adalah suatu bahan kimia yang ditambahkan ke dalam *spesimen* darah yang mempunyai efek untuk mencegah sampel darah membeku. Jenis – jenis *antikoagulan* antara lain seperti Heparin, Natrium Sitrat, Double Oksalat dan Garam EDTA (*Ethylen Diamine TetraAcetat*) (7).

EDTA ini sangat luas pemakaiannya, dapat digunakan untuk kebanyakan pemeriksaan *hematologis*. Sel-sel darah, dapat dipertahankan lebih lama dalam darah dengan EDTA bila dibandingkan dengan *antikoagulan* lainnya, tetapi sebaiknya semua pemeriksaan hematologi dikerjakan 2 jam sesudah pengambilan. Untuk keperluan penentuan golongan darah pun EDTA dapat dipergunakan (5).

Antikoagulan garam EDTA yang lazim dipakai seperti Na_2 EDTA (*disodium EDTA*), K_2 EDTA (*dipotassium EDTA*) dan K_3 EDTA (*tripotassium EDTA*) (3, 21). Dua jenis dari *potassium EDTA* terdapat dalam bentuk tabung *vakum* yang telah memiliki rasio antara darah dengan *antikoagulan*. Sedangkan Na_2 EDTA tidak terdapat dalam bentuk

tabung *vakum*, sehingga pada kondisi ini dapat terjadi ketidaksesuaian antara volume *antikoagulan* dengan volume sampel darah (4).

EDTA (*Etyhlene Diamine TetraAcetate*) 10 % dalam bentuk garam Natrium dan kaliumnya adalah *antikoagulan* yang kuat dan merupakan *antikoagulan* pilihan untuk kegiatan hematologi rutin. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuk eritrosit dan leukosit. Selain itu EDTA mencegah trombosit bergumpal, karena itu EDTA sangat baik dipakai sebagai *antikoagulan* pada uji hitung trombosit (17).

Garam EDTA bersifat *hiperosmolar* dengan konsentrasi di dalam sel lebih tinggi dari pada di luar sel. Keadaan ini menyebabkan sel dapat mengkerut. Larutan Na_2 EDTA dan K_2 EDTA bersifat asam yang dapat menyebabkan eritrosit membengkak tetapi tidak berpengaruh pada bentuk dan nilai MCV. Penggunaan garam EDTA juga dapat mempengaruhi *morfologi* netrofil, hal tersebut tergantung pada konsentrasi garam EDTA yang dipakai dan lamanya sediaan hapus telah dibuat (8).

Perbandingan jumlah darah dengan *antikoagulan* yang dipakai harus tepat, karena bila darah yang dipakai lebih banyak dari yang seharusnya, maka akan didapatkan mikrotrombin di dalam penampung yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat menyumbat alat pemeriksaan. Sebaliknya, bila dipakai darah yang lebih sedikit sehingga *antikoagulan* yang ada berlebihan, maka akan menyebabkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit lebih rendah (8).

Bila digunakan 1,5 mg garam EDTA untuk 1 ml darah akan terjadi perubahan minimal pada morfologi netrofil, seperti pembengkakan, hilangnya struktur lobus netrofil, hilangnya granulasi dalam sitoplasma dan inti sel. Sedangkan bila digunakan garam EDTA 2,5 mg / ml darah, maka netrofil akan mengalami disintegrasi langsung, trombosit membengkak, sehingga tampak adanya trombosit raksasa yang dapat menyebabkan terjadinya fragmentasi trombosit yang mengakibatkan peningkatan palsu jumlah trombosit (8).

Na_2 EDTA bila telah tercampur dengan darah akan menunjukkan pH $5,0 \pm 1,0$, K_2 EDTA pH $4,8 \pm 1,0$ sedangkan K_3 EDTA pH $7,5 \pm 1,0$. Penggunaan antikoagulan K_3 EDTA menunjukkan stabilitas yang lebih baik dari garam EDTA yang lain karena darah dengan antikoagulan K_3 EDTA menunjukkan pH yang mendekati pH darah (8).

Antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan jalan menghambat pembentukan atau menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah. Atas dasar ini antikoagulan diperlukan untuk mencegah terbentuk dan meluasnya trombus dan emboli maupun untuk mencegah terjadinya bekuan darah invitro pada pemeriksaan laboratorium atau transfusi (20).

Pada proses pembekuan darah diperlukan Ca^{2+} untuk dapat mengaktivasi kerja protrombin membentuk thrombin. Selanjutnya peranan Ca^{2+} diperlukan kembali pada proses aktivasi fibrin lunak menjadi fibrin dengan gumpalan keras. Proses ini tidak memerlukan waktu yang begitu

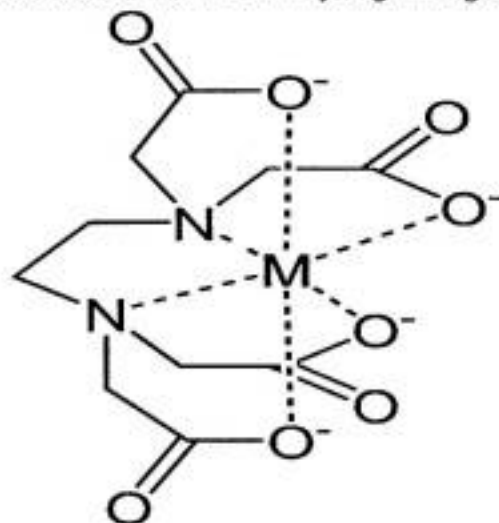
lama, jika semua faktor pembekuan dalam keadaan normal maka proses akhir pembekuan dapat terjadi pada waktu 5 – 15 menit (25).

Proses pembekuan darah dapat dihentikan dengan jalan menghambat *aktivator* dari proses pembekuan darah tersebut. Garam EDTA dalam hal ini berfungsi sebagai *chelating agent* yang dapat mengikat ion Ca^{2+} yang bebas dalam darah, sehingga tidak dapat berperan aktif dalam proses aktivasi lebih lanjut. Untuk itu maka EDTA harus ditambahkan berlebih agar semua ion Ca^{2+} dapat terikat atau melebihi jumlah ion bebas dalam darah yang pada keadaan normal berjumlah sekitar 1,12 – 1,33 mmol / l (25).

EDTA mengikat kalsium yang sangat penting dalam proses koagulasi darah. Kalsium diikat dalam bentuk tidak terionisasi sehingga proses *koagulasi* darah tidak dapat terjadi (27).

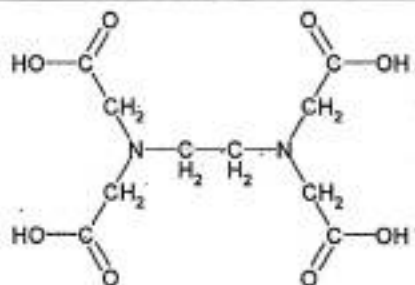
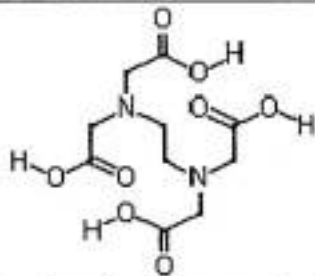
Pelepasan empat *proton* dari molekul EDTA menyebabkan ligan ini mempunyai enam pasang *elektron* bebas. Sifat yang sangat penting dan khas dari senyawa ini adalah kemampuan membentuk senyawa kompleks khelat bertangan banyak (26).

Gambar 1. Rumus struktur EDTA yang mengikat ion logam

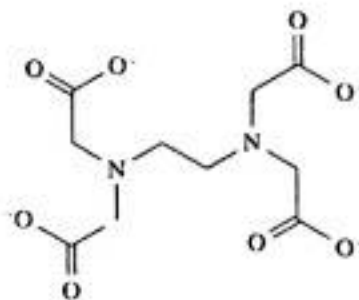
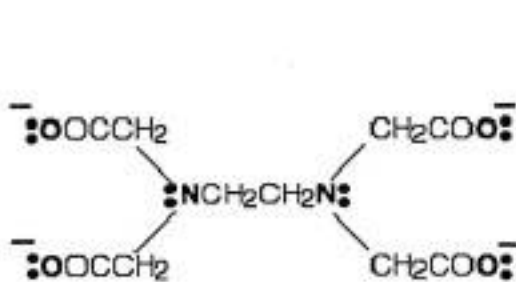


EDTA (Etylen Diamine TetraAcetate) memiliki enam proton aktif, dua pada nitrogen dan empat pada gugus karboksilat yang dapat dituliskan sebagai H_6Y^{2+} karena merupakan asam *heksaprotik* yang dapat kehilangan 6 proton membentuk Y^{4-} . Pada pH netral, bentuk yang mendominasi dalam larutan EDTA adalah HY^{3-} . Reaksi pembentukan kompleks dengan ion kalsium terjadi melalui bentuk EDTA yang telah kehilangan proton (Y^{4-}) (26).

Gambar 2. Rumus Struktur EDTA



Gambar 1. Rumus struktur EDTA



Gambar 2. Rumus struktur EDTA bentuk Y^{4-} ($EDTA^{4-}$)

II. 4. Hematology Analyzer Arcus Diatron.

Alat hematologi Arcus adalah *automatic cell counter* untuk penggunaan *diagnostic*. Arcus dirancang dengan desain *compact* untuk memenuhi kebutuhan laboratorium kecil sampai dengan menengah dengan mengimplementasikan teknologi modern. Arcus memiliki kecepatan pengukuran 35 sampel per jam dengan *akurasi* dan *presisi* tinggi serta dilengkapi kemampuan menyimpan data dan histogram sampai dengan 2000 sampel. (6)

Arcus mengukur 18 parameter hematologi dari 25 μ l sampel darah, parameter tersebut antara lain :

1. WBC – LYM# - MID# - GRA# - LYM% - MID % - GRA%
2. HGB – RBC – HCT – MCV – RDW – MCH – MCHC
3. PLT - MPV – PCT – PDW.

Arcus memiliki tiga jenis reagen yaitu : Reagen Arcus Diluen – CF, berfungsi *mendispersikan* atau melarutkan darah, sehingga populasi darah yang masuk ke *chamber* dapat diukur. Reagen Arcus Lyse – CF, berfungsi menghancurkan eritrosit (RBC) dan trombosit (PLT), leukosit (WBC) mengkerut tapi membran sel tidak pecah. Pada saat RBC hancur, hemoglobin (HGB) yang terdapat di RBC terlepas, sehingga HGB bisa diukur. Reagen Cleaner, berfungsi pada saat pembersihan berlangsung, baik setelah melakukan pengukuran atau melakukan pembersihan di menu pemeliharaan (6).

Arcus Diatron mengukur berdasarkan metode *impedans* yaitu pengukuran yang berdasarkan besar kecilnya suatu tahanan antara sel dan pelarut yang dihasilkan oleh resistensi elektronik oleh karena perbedaan *konduktifitas* listrik =m. Ohm.

Sampel yang diencerkan dengan pelarut *konduktifitas* tertentu dialirkan melalui *mikro apertur*. Dua elektroda yang diletakkan di masing-masing sisi *apertura* (celah yang diketahui ukuran diameternya) dialiri oleh aliran listrik secara *kontinyu*. Sel darah adalah penghantar listrik yang buruk, sehingga pada saat sel melewati apertur, tahanan listrik di antara dua elektroda akan menimbulkan gangguan listrik sesuai volume sel yang menyebabkan terjadinya perubahan tegangan kemudian menimbulkan *impuls / pulsa*. Besar pulsa sebanding dengan volume sel / ukuran sel yang melalui celah (sel besar sebanding dengan impuls besar, sel kecil sebanding dengan impuls kecil), oleh karena alat dapat mengenali jenis sel menurut ukurannya dan alat dapat mendeteksi dan menghitung secara *kuantitatif*. Dengan demikian Arcus Diatron dapat mengenali jenis sel menurut ukurannya dan menghitung jumlahnya (WBC, RBC, PLT) (6).

Dengan penambahan *reagent lyse*, maka RBC akan melepaskan hemoglobin, selanjutnya hemoglobin akan diukur dengan metoda cyanmethemoglobin. Konsentrasi larutan tersebut diukur dengan panjang gelombang 540 nm dengan prinsip fotometer (6).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III. 1. Metode penelitian

Penelitian ini merupakan *studi Intervensi* dengan pendekatan *Cross Sectional* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan volume darah EDTA (*Ethylen Diamine TetraAcetat*) 10 % yang tidak sesuai rasio standar terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit.

III. 2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Pangkep dari tanggal 24 bulan Oktober 2009 sampai 06 November 2009.

III. 3. Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel diperkirakan berdasarkan rumus Federer (16) :

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(2 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$1n - 3 \geq 15$$

$$1n \geq 18$$

$$n \geq 18$$

$$n \geq 18$$

Keterangan :

t = Banyaknya perlakuan, n = Jumlah sampel

III. 4. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah darah vena yang diperoleh dengan cara melakukan pungsi vena dari pasien rawat jalan dan rawat inap yang melakukan pemeriksaan laboratorium hematologi pada Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Pangkep.

III. 5. Kriteria Sampel

1. Semua sampel darah dari pasien rawat jalan dan rawat inap yang melakukan pemeriksaan laboratorium hematologi di instalasi laboratorium RSUD. Kabupaten Pangkep.
2. Sampel darah yang tidak hemolisis dan membeku.

III. 6. Definisi Operasional

1. Hemoglobin (HGB) adalah suatu zat berupa protein yang dilepaskan eritrosit (RBC) pada saat RBC dihancurkan oleh reagen Arcus Lyse- CF yang dapat diukur oleh alat hematologi Arcus Diatron dengan metode cyanmethemoglobin dengan panjang

gelombang 540 nm dengan prinsip fotometer. Dalam keadaan normal nilainya dalam darah mencapai 12,0 – 15,0 g/dl.

2. Lekosit (WBC) adalah sel darah putih yang mempunyai sifat penghantar listrik yang dapat diukur atau dihitung oleh Analyzer hematologi Arcus Diatron menggunakan metoda Resistensi Elektronik atau Impedansi. Nilai normalnya dalam darah adalah : 5000 – 10.000 / μ l darah.
3. Trombosit (PLT) merupakan sel darah yang dapat dikenali oleh Arcus Diatron menurut ukurannya dan dihitung jumlahnya berdasarkan besarnya pulsa yang ditimbulkan dengan menggunakan metoda Resistensi Elektronik atau Impedansi. Dalam keadaan normal jumlahnya mencapai 150.000 – 300.000 / μ l darah.
4. Na₂ EDTA 10% merupakan antikoagulan yaitu suatu bahan kimia yang ditambahkan ke dalam spesimen darah yang mempunyai efek untuk mencegah sampel darah membeku
5. Darah EDTA adalah darah yang telah ditambahkan antikoagulan Na₂ EDTA 10 % yang ditampung dalam suatu wadah tertentu dengan rasio perbandingan 20 μ l Na₂ EDTA 10 % dan 2 ml darah.
6. Hematologi Analyzer Arcus Diatron adalah otomatis cell counter yang dapat mengukur 18 parameter hematologi, antara lain adalah hemoglobin (HGB), Lekosit (WBC) dan trombosit (PLT) menggunakan metoda resistensi elektronik atau impedansi.

gelombang 540 nm dengan prinsip fotometer. Dalam keadaan normal nilainya dalam darah mencapai 12,0 – 15,0 g/dl.

2. Lekosit (WBC) adalah sel darah putih yang mempunyai sifat penghantar listrik yang dapat diukur atau dihitung oleh Analyzer hematologi Arcus Diatron menggunakan metoda Resistensi Elektronik atau Impedansi. Nilai normalnya dalam darah adalah : 5000 – 10.000 / μ l darah.
3. Trombosit (PLT) merupakan sel darah yang dapat dikenali oleh Arcus Diatron menurut ukurannya dan dihitung jumlahnya berdasarkan besarnya pulsa yang ditimbulkan dengan menggunakan metoda Resistensi Elektronik atau Impedansi. Dalam keadaan normal jumlahnya mencapai 150.000 – 300.000 / μ l darah.
4. Na₂ EDTA 10% merupakan antikoagulan yaitu suatu bahan kimia yang ditambahkan ke dalam spesimen darah yang mempunyai efek untuk mencegah sampel darah membeku
5. Darah EDTA adalah darah yang telah ditambahkan antikoagulan Na₂ EDTA 10 % yang ditampung dalam suatu wadah tertentu dengan rasio perbandingan 20 μ l Na₂ EDTA 10 % dan 2 ml darah.
6. Hematologi Analyzer Arcus Diatron adalah otomatis cell counter yang dapat mengukur 18 parameter hematologi, antara lain adalah hemoglobin (HGB), Lekosit (WBC) dan trombosit (PLT) menggunakan metoda resistensi elektronik atau impedansi.

III. 7. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat – alat yang digunakan adalah jarum semprit, tabung, rak tabung, torniquet, kapas, sarung tangan, rotator, parafilm, pipet mikroliter 20 µl dan Hematologi Analyzer Arcus Diatron.

Bahan – bahan yang digunakan adalah darah vena, alkohol 70 %, dan antikoagulan Na₂ EDTA 10%.

Reagen yang digunakan adalah :

1. Arcus Diluent – CF, komposisi =
 - a. Sodium Chloride < 0,9 %
 - b. Sodium Sulphate < 1,2 %
 - c. Buffer < 1,1 %
 - d. Stabiliser < 0,01 %.
2. Arcus Lyse – CF, Komposisi =
 - a. Organic Acid < 0,25 %
 - b. Sodium Chloride..... < 0,58 %
 - c. Quarterner ammonium salt..... < 4,2 %
3. Arcus Cleaner, komposisi =
 - a. Sodium Chloride..... < 1,5 %
 - b. Potassium Chloride..... < 0,03 %
 - c. Proteolytic Enzymes..... < 0,3 %
 - d. Detergen..... < 0,4 %
 - e. Stabiliser..... < 0,3 %

III. 8. Prosedur penelitian

III. 8. 1 Pengambilan Darah Vena

Tourniquet dipasang di bawah lengan 3 - 4 inchi di atas tempat yang akan ditusuk, dan dipilih bagian vena yang mudah diraba, cukup besar untuk mendukung aliran darah yang baik. Setelah itu dibersihkan tempat penusukan yang telah dipilih dengan alkohol 70% untuk mencegah kontaminasi mikroba ke pasien dan dibiarkan sampai kering sebelum dilakukan penusukan. Kulit di bawah daerah yang akan ditusuk, ditarik dengan kencang dengan ibu jari untuk menjangkar vena agar tidak bergerak dan dengan gerakan yang halus ditusuk kulit dengan jarum sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena. Setelah itu dilepaskan atau diregangkan pembendung (tourniquet) dan perlahan - lahan ditarik pengisap semprit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat. Bantalan kain kasa / kapas dipegang pada posisi di atas daerah tusukan, dan dengan halus dan cepat jarum dicabut dari lengan, dan vena bekas tusukan diberikan tekanan dengan menggunakan bantalan kain kasa / kapas sampai pendarahan berhenti. Kemudian darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung yang telah disediakan (3).

III. 8. 2 Pengolahan Sampel

Sampel darah yang telah diambil yaitu masing – masing dengan volume 2 ml, 1 ml dan 0,5 ml dimasukkan ke dalam 3 tabung penampung yang telah diberi antikoagulan Na_2EDTA 10 % dengan volume 0,02 ml (20 μl) menggunakan mikropipet 20 μl , kemudian pada masing – masing

tabung diberi label atau identitas sampel. Pada masing – masing tabung sampel yang sudah berisi darah EDTA 10 % diberi penutup tabung berupa parafilm untuk menghindari tertumpahnya darah dan terjadinya penguapan, lalu segera dihomogenkan di atas rotator. Selanjutnya dilakukan tes hitung nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit dengan menggunakan Hematologi Analyzer Arcus Diatron.

III. 8. 3 Prosedur ON Arcus Diatron

stavol (listrik) di ON kan, kemudian UPS di ON kan, selanjutnya Arcus Diatron di ON kan lalu kemudian alat melakukan Back Ground, setelah alat " ready" maka dilakukan pemeriksaan bahan kontrol yang diaspirasikan melalui probe.dengan menekan Probe. Selanjutnya alat ready untuk dilakukan pamariksaan sampel.

III. 8. 4 Pemeriksaan Sampel pada Arcus Diatron

Sampel darah yang akan diperiksa dihomogenisasikan dengan baik. Kemudian tutupnya dibuka dan diletakkan di bawah "*Aspiration Probe*". Ujung probe dipastikan menyentuh dasar botol yang berisi sampel darah agar tidak menghisap udara. Touch di tekan untuk memulai proses. Botol yang berisi sampel darah ditarik dari bawah probe setelah terdengar bunyi Beep 2x. Hasil akan terlihat pada layar dan secara otomatis tercetak pada berkas printer (6).

III. 9. Pembacaan Hasil

Pembacaan hasil dapat diketahui dengan melihat hasil print out secara otomatis tercetak pada berkas printer dari alat hematologi analyzer Arcus Diatron.

III. 10. Pengolahan dan analisis data

Hasil penelitian dianalisis secara Uji Statistik Anova dengan Levene Test menggunakan Statistical Products and Support Services (SPSS) for Windows versi 16.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1. Hasil Penelitian

Hasil penelitian mengenai pengaruh volume darah EDTA (*Etilen Diamine TetraAcetat*) 10 % terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit menggunakan alat hematology analyzer Arcus Diatron, yang diperoleh dari hasil print out sebanyak 25 sampel pada alat hematology analyzer dapat dilihat pada tabel. 4. Data Hasil Penelitian pengaruh volume darah EDTA (*Etilen Diamine TetraAcetat*) 10 % terhadap nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit menggunakan alat hematology analyzer (lampiran).



Gambar 3. Diagram perbandingan nilai hemoglobin standar (perlakuan standar) dengan nilai hemoglobin I (perlakuan I) dan hemoglobin II (perlakuan II).

Pada gambar 3, menunjukkan terjadinya penurunan nilai pada hemoglobin I yang rata – rata sebesar = 0,448 atau sebesar 3,77 % jika dibandingkan dengan nilai hemoglobin standar. Sedangkan pada

hemoglobin II menunjukkan terjadinya penurunan nilai rata – rata sebesar = 0,968, atau sebesar 7,68 % jika dibandingkan dengan nilai hemoglobin standar.

Tabel. 1. Hasil penelitian variabel hemoglobin (ONEWAY ANOVA).

Hemoglobin	Sampel	Rata-Rata	Std. Deviasi	Std. Error	Homogenitas (p)	F hitung	F tabel	Sig.
Standar	25	13,228	1,5288	0,3058				
I	25	12,780	1,6550	0,3310	0,908	0,988	4,042	0,325
II	25	12,260	2,2493	0,4499	0,157	3,167	4,042	0,081

Sumber : Data Primer Penelitian 2009

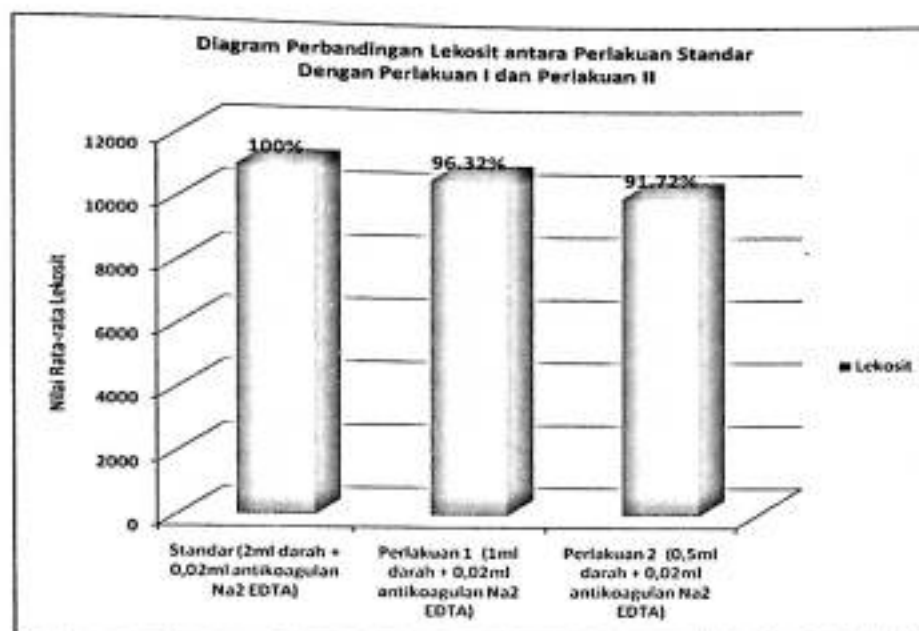
Keterangan :

$H_0 = F_h < F_t$ atau nilai sig $> 0,05$ = Tidak ada pengaruh signifikan

$H_1 = F_h > F_t$ atau nilai sig $< 0,05$ = Ada pengaruh signifikan.

Pada tabel 1, didapatkan nilai probabilitas (p value) pada hemoglobin I sebesar $0,908 > 0,05$. Nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 0,988 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig $0,325 > 0,05$. Sig kontan (α) = 0,05. Pada hemoglobin II. didapatkan nilai probabilitas (p value) sebesar $0,157 > 0,05$, nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 3,167 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig $0,081 > 0,05$. Sig kontan (α) = 0,05.

Pada Gambar 4, menunjukkan terjadinya penurunan nilai pada lekosit I rata – rata sebesar = 0,050 atau sebesar 3,68 % jika dibandingkan dengan nilai lekosit standar. Sedangkan pada lekosit II menunjukkan terjadinya penurunan nilai rata – rata sebesar = 0,100 atau sebesar 8,28 % jika dibandingkan dengan nilai lekosit standar.



Gambar 4. Diagram perbandingan nilai lekosit standar (perlakuan standar) dengan nilai lekosit I (perlakuan I) dan lekosit II (perlakuan II).

Tabel. 2. Hasil penelitian variabel lekosit (ONEWAY ANOVA).

Lekosit	Sampel	Rata-Rata	Std. Deviasi	Std. Error	Homogenitas (p)	F hitung	F tabel	Sig.
Standar	25	1,110	4681,534	936,307				
I	25	1,060	4538,943	907,789	0,794	0,097	4,042	0,757
II	25	1,010	4591,186	909,577	0,791	0,492	4,042	0,487

Sumber : Data Primer Penelitian 2009

Keterangan :

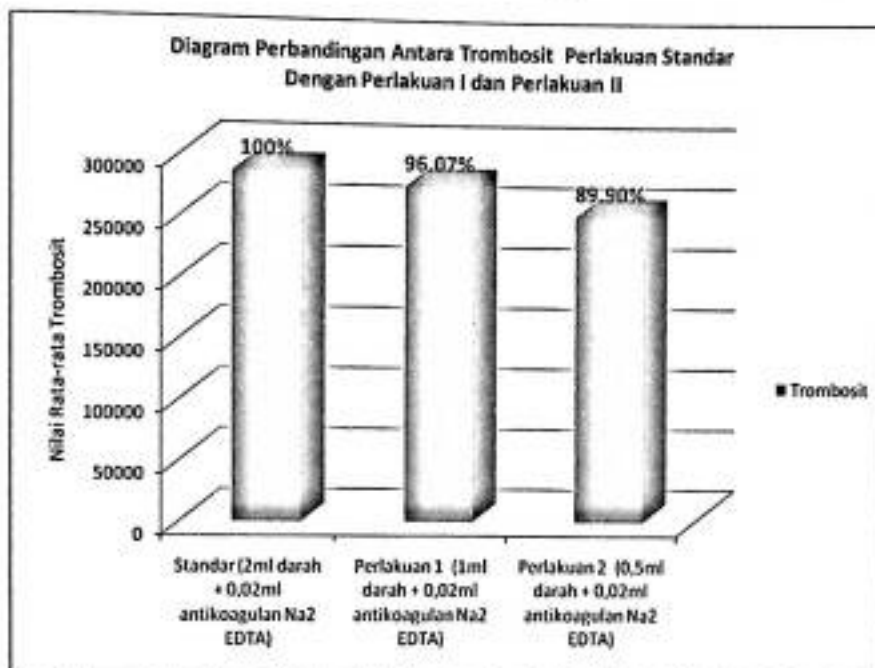
$H_0 = F_h < F_t$ atau nilai sig $> 0,05$ = Tidak ada pengaruh signifikan

$H_1 = F_h > F_t$ atau nilai sig $< 0,05$ = Ada pengaruh signifikan

Pada tabel 2 didapatkan nilai probabilitas (p value) pada lekosit I sebesar $0,794 > 0,05$. nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 0,097 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig $0,757 > 0,05$. Pada lekosit II. didapatkan nilai probabilitas (p value) sebesar $0,791 > 0,05$, diperoleh nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 0,492 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig $0,487 > 0,05$

Pada gambar 5, menunjukkan terjadinya penurunan nilai pada trombosit I rata - rata sebesar = 0,120 atau sebesar 3,93 % jika

dibandingkan dengan nilai trombosit standar. Sedangkan pada trombosit II menunjukkan terjadinya penurunan nilai yang rata – rata sebesar = 0,35 atau sebesar 10,1 % jika dibandingkan dengan nilai trombosit standar.



Gambar 5. Diagram perbandingan nilai trombosit standar (perlakuan standar) dengan nilai trombosit I (perlakuan I) dan trombosit II (perlakuan II).

Tabel 3. Hasil penelitian variabel trombosit (ONEWAY ANOVA).

Trombosit	Sampel	Rata-Rata	Std. Deviasi	Std. Error	Homogenitas (p)	F hitung	F tabel	Sig.
Standar	25	2,880	777725,525	1,555				
I	25	2,760	79374,912	1,587	0,901	0,258	4,042	0,614
II	25	2,530	78126,116	1,563	0,930	2,493	4,042	0,121

Sumber : Data Primer Penelitian 2009

Keterangan :

H_0 = $F_h < F_t$ atau nilai sig $> 0,05$ = Tidak ada pengaruh signifikan

H_1 = $F_h > F_t$ atau nilai sig $< 0,05$ = Ada pengaruh signifikan

Pada tabel 3 didapatkan nilai probabilitas (p value) pada trombosit I sebesar 0,901 $> 0,05$, nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 0,258 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig 0,614 $> 0,05$. Sig kontan (α) = 0,05. Pada trombosit II didapatkan nilai Probabilitas (p value)

sebesar $0,930 > 0,05$, nilai F tabel sebesar 4,042 sedangkan F hitung sebesar 2,493 (nilai F hitung $< F$ tabel) atau nilai sig $0,121 > 0,05$ Sig kontan (α) = 0,05.

Berdasarkan uji statistik Anova menggunakan Levene Tes, menunjukkan bahwa pada hemoglobin perlakuan I, diperoleh nilai Fh = $0,988 < 4,042$ (F tabel) dan sig = $0,325 > 0,05$, pada hemoglobin perlakuan II, diperoleh nilai Fh = $3,167 < 4,042$ dan sig = $0,081 > 0,05$, pada lekosit perlakuan I diperoleh nilai Fh = $0,097 < 4,042$ dan sig = $0,757 > 0,05$, pada lekosit perlakuan II diperoleh nilai Fh = $0,492 < 4,042$ dan sig = $0,487 > 0,05$, pada trombosit perlakuan I diperoleh nilai Fh = $0,258 < 4,042$ dan sig = $0,614 > 0,05$, pada trombosit perlakuan II, diperoleh nilai Fh = $2,493 < 4,042$ dan sig = $0,121 > 0,05$, maka H_0 = diterima, artinya tidak terdapat pengaruh volume darah EDTA 10 % terhadap nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit, pada perlakuan I (rasio 1 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 %) dan pada perlakuan II (rasio 0,05 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 %) yang dibandingkan pada nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit perlakuan standar (rasio 2 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 %).

IV. 2. Pembahasan

Hasil penelitian mengenai pengaruh penggunaan volume darah EDTA 10 % yang tidak sesuai standar terhadap nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit dengan membandingkan volume darah EDTA 10 % yang

dianjurkan (standar), yaitu pada rasio 2 ml darah + 0,02 ml (20 μ l) Na_2 EDTA 10 %, dengan rasio 1 ml darah + 0,02 Na_2 EDTA 10 % (perlakuan I) dan pada rasio 0,5 ml darah + 0,02 ml Na_2 EDTA 10 % (perlakuan II), menunjukkan adanya penurunan nilai pada hemoglobin, leukosit dan trombosit perlakuan I dan II.

Hal ini sesuai dengan beberapa kepustakaan yang menyebutkan bahwa terdapat pengaruh penggunaan antikoagulan yang berlebih terhadap nilai pemeriksaan hematologi rutin (3,9), dan karena EDTA yang bersifat hyperosmolar, maka penggunaan volume Na_2 EDTA 10 % yang tidak sesuai dan berlebih dari rasio yang dianjurkan, dapat mempengaruhi konsentrasi di dalam sel menjadi lebih tinggi daripada di luar sel, sehingga menyebabkan sel dapat mengkerut (8), akibatnyanya adalah sel menjadi lebih kecil dari ukuran yang sebenarnya. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya kesalahan pada saat pembacaan hasil, sehingga didapatkan nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit yang rendah palsu.

Faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit pada perlakuan I dan perlakuan II jika dibandingkan dengan nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit perlakuan standar, adalah karena terjadi hemodilusi atau pengenceran, karena penggunaan volume antikoagulan yang berlebih. Hal tersebut diperkuat dengan kepustakaan yang menyebutkan bahwa, penggunaan rasio antara volume darah dengan volume Na_2 EDTA 10 % yang tidak tepat dan tidak seimbang dapat menyebabkan terjadinya pengenceran darah (3,7). Maka

untuk menghindari terjadinya pengenceran, dianjurkan menggunakan rasio antara volume darah dengan volume antikoagulan Na_2EDTA 10 % yaitu 2 ml darah dengan 0,02 ml (20 μl) Na_2EDTA 10 %, atau dengan perbandingan 2000 : 20 atau 1000 : 10 atau 100 : 1, sebagaimana yang ditunjukkan pada tabel 7, sehingga diharapkan diperoleh hasil yang lebih tepat dan akurat.

Penurunan trombosit bukan disebabkan oleh pengaruh mikrotrombin karena volume darah yang digunakan tidak berlebih, sesuai dengan kepustakaan lain yang menyebutkan bahwa, bila darah yang ditampung lebih banyak dari yang seharusnya, maka akan didapatkan mikrotrombin yang menyebabkan hitung trombosit menurun (8).

Penting diketahui bahwa antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan jalan menghambat pembentukan atau menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah, atas dasar ini antikagulan diperlukan untuk mencegah terbentuk dan meluasnya trombus dan emboli maupun untuk mencegah terjadinya bekuan darah invitro pada pemeriksaan laboratorium atau transfusi (20). EDTA mengikat kalsium yang sangat penting dalam proses koagulasi darah. Kalsium diikat dalam bentuk tidak terionisasi sehingga proses koagulasi darah tidak dapat terjadi (27). bahwa jika digunakan volume antikoagulan yang berlebih, maka terbentuknya mikrotrombin dapat dihambat sehingga proses mikrotrombin tidak terbentuk, karena fungsi Ca^{2+} pada proses pembekuan

darah yang diperlukan untuk dapat mengaktivasi kerja protrombin membentuk thrombin menjadi tidak aktif.

Berdasarkan uji statistik, penurunan nilai hemoglobin, leukosit dan trombosit pada perlakuan I dan II, tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, sehingga penggunaan volume darah EDTA 10 % pada perlakuan I dan perlakuan II diterima dan bisa digunakan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V. 1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, analisis dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Tidak terdapat pengaruh volume darah EDTA 10 % yang bermakna pada perlakuan I yaitu dengan rasio 1 ml darah + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % dan pada perlakuan II yaitu dengan rasio 0,05 ml darah + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % terhadap nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit.
2. Secara statistik penurunan nilai pada hemoglobin, lekosit dan trombosit pada perlakuan I dan II tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan pada nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit pada perlakuan standar. sehingga penggunaan volume darah EDTA 10 % pada rasio 1 ml darah + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % dan pada rasio 0,05 ml darah + 0,02 ml Na₂ EDTA 10 % diterima dan bisa digunakan.

V. 2 Saran.

1. Untuk plebotomis yang melakukan proses pengolahan sampel darah bidang hematologi, agar senantiasa menggunakan rasio volume darah EDTA 10 % yang tepat sesuai standar yang dianjurkan yaitu pada rasio 2 ml darah + 0,02 ml (20 µL) Na₂ EDTA 10 %, sehingga diperoleh

hasil yang lebih akurat, atau pada rasio 1 ml darah + 0,01 ml (10 μ L) Na_2 EDTA 10 % jika pada pengambilan sampel darah hanya memperoleh 1 ml, dan atau pada rasio 0,5 ml darah + 0,005 ml (5 μ L) Na_2 EDTA 10 % jika pada pengambilan sampel darah hanya memperoleh 0,5 ml, sehingga kualitas rasio antara volume darah dengan volume antikoagulan menjadi lebih tepat dan benar.

2. Untuk memperoleh rasio volume darah Na_2 EDTA 10 % yang tepat, sebaiknya digunakan vacutainer sesuai umur, yang rasio volume darah dengan volume antikoagulan EDTA 10 % sudah tepat dan sudah disesuaikan dengan rasio yang dianjurkan, sehingga proses pengolahan sampel dan hasil pemeriksaan menjadi lebih teliti dan lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

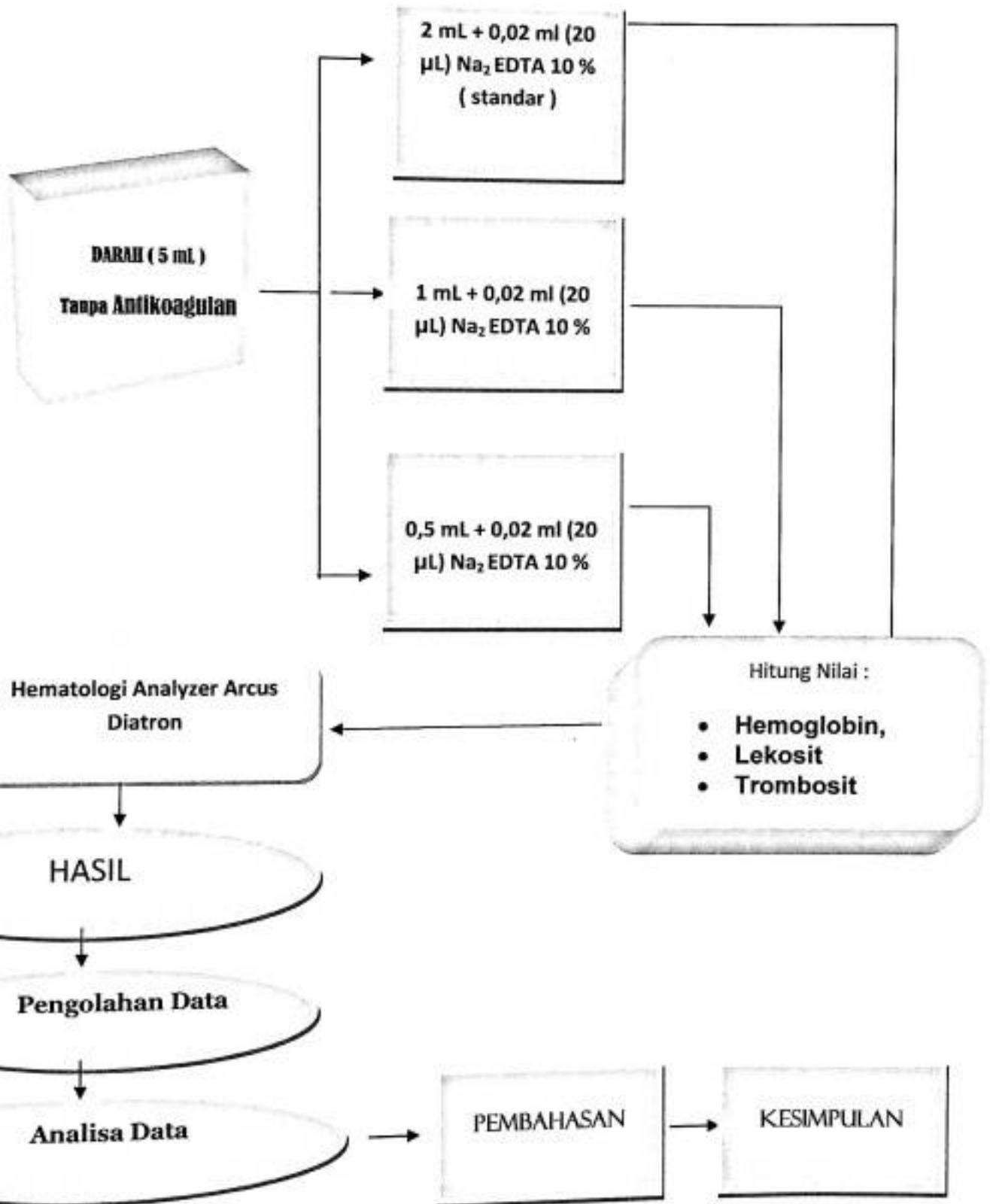
1. Sabarguna SB. *Quality assurance pelayanan RS*. Konsorsium RSI Jateng DIY. Yogyakarta. 2004. hal. 8 – 9.
2. anonim. *Whorkshop Flebotomi*. PDS PATKLIN, Makassar. 2008. hal. 25, 35 – 41, 55.
3. Ratnaningsih dkk. *The Effects of Excessive Disodium Ethylene Diamine Tetraacetat Acid (Na₂EDTA) Anticoagulant Concentration Toward Hematology Profile and Morphology of Erythrocytes in Peripheral Blood Examination*. Medical Journal of Indonesia. 2006. hal. 15,157 – 164.
4. Hardjoeno H, dkk. *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*. Lembaga Penerbit Universitas Hasanuddin (Lephas). Makassar. 2003. hal. 1 - 4, 429.
5. Sacher RA, McPherson. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta. 2004. hal. 1 - 3, 21 - 24, 41 – 48.
6. Anonim. *Training Modul Arcus Diatron*. PT Diatron ProMedika. Jakarta.hal. 2 -4, 11 – 15.
7. Gandasoebrata R. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat. Jakarta.1984.hal. 8 – 11.
8. Tjokronegoro, A, Utama. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. FKUI. Jakarta. hal. 3-6.
9. Suhardi M, *Gambaran Berbagai Perbandingan Volume Darah Dengan Volume EDTA (Ethylen Diamin Tetraacetic Acid) Yang Tetap Terhadap Hasil Hitung Eritrosit Cara Automatik Dengan Alat Celly Di RSUD. Syekh Yusuf Kabupaten Gowa*. Karya Tulis Ilmiah Program Studi Ahli Madya Analisis Kesehatan. Makassar. Politeknik Kesehatan Makassar. 2005. Hal. 29 – 34.
10. Guyton, Arthur C. *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit*. Ed. 3. EGC. Jakarta. 1990. hal. 45 – 56.
11. Joyce LeFever Kee. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. Ed. 6. EGC. Jakarta. 2007. hal.93, 234, 235, 400, 477 - 481.

12. Pusat Bahasa. *Viscositas*. {serial on the internet} 2009 09 23 ; {cited 2010 February 09} ; About 2 screens. Available from : [http://www.jevuska.com/search/viskositas+darah/viscositas-kateglo\(Beta\).htm](http://www.jevuska.com/search/viskositas+darah/viscositas-kateglo(Beta).htm).
13. Wijaya, AM. *Sistem Sirkulasi Darah Dalam Tubuh Manusia*. {serial on the internet} 16October 2009.00:00;{cited 2010 February 09}; About 1 pages; Available from:[http://infodokterku.com/index.php?option=com_content & view= artikel&id](http://infodokterku.com/index.php?option=com_content&view=artikel&id).
14. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. *Kapita Selekta Hematologi*. Ed. 4. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2005. hal. 11.
15. Bakhri S. *Tesis Pasca Sarjana Program Studi Immunologi*. Universitas Airlangga. Surabaya. 2002. hal. 8.
16. Departemen Kesehatan RI, *Pedoman Praktek Laboratorium yang Benar (good laboratory practice)*. Depkes RI. 1999. Hal 2.
17. Pusdiknakes. *Hematologi*. Depkes RI: Jakarta. 1989. Hal 1-6, 10, 16.
18. Sylvia, A. P. Wilson, L. M. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit* . Edisi VI, EGC:Jakarta. 2001 hal 292.
19. Baker, J, T. *Chemistry That Empowers Discovery*. Ed. 9. International. USA. Hal. 255-256.
20. Mardjono, Mahar. *Farmakologi Dan Terapi* . Fakultas Kedokteran UI;Jakarta. 1971.
21. Burtis, C. A, Ashwood, E.R. *Tietz Fundamental Of Clinical Chemistry*, Fifth Edition , W.B Saunders Company. Philadelphia London New York St.Louis Sydney Toronto ,2001. hal 36-37, 57-61.
22. Sadikin. M. *Biokimia Darah* .Widya medika:Jakarta. 2001. hal. 1, 7-8, 11, 73, 90-91.
23. Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan Departemen Kesehatan *Hematologi*. EGC. Jakarta. 1989. hal 1-3, 66-67.
24. Subarna. *Catatan kuliah hematologi*. PAM Analisis Kesehatan Bandung. 2000. Hal 1-8, 54-60, 66-68.
25. Fattah, M. *Pengaruh K2 EDTA Terhadap Aktivitas Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT) Dalam Darah*. Skripsi. UNHAS. Makssar. 2002. Hal. 1-11.

26. Rivali H. *Ases Pemeriksaan Kimia*. UI Press. Jakarta. 2006. hal 216-7
27. Dacie J.V., Lewis S.M. *Practical Haematology*. Sixth Edition. Churchill Livingstone. New York. 1984. hal 3-5

LAMPIRAN - LAMPIRAN

Lampiran 1. SKEMA KERJA



Lampiran 2. Tabel. 4. Data Hasil Penelitian pengaruh volume darah EDTA (*Etilen Diamine TetraAcetat*) 10 % terhadap nilai hemoglobin, lekosit dan trombosit menggunakan hematology analyzer.

No.	PERLAKUAN								
	Standar			I			II		
	2 ml darah + 0,02 ml (20 μ L) antikoagulan Na ₂ EDTA			1 ml darah + 0,02 ml (20 μ L) antikoagulan Na ₂ EDTA			0,5 ml darah + 0,02 ml (20 μ L) antikoagulan Na ₂ EDTA		
	Hb (g/dl)	Leko (/ μ l)	Tromb (/ μ l)	Hb (g/d)	Leko (/ μ l)	Tromb (/ μ l)	Hb (g/dl)	Leko (/ μ l)	Tromb (/ μ l)
1.	12,6	4.210	220.000	12,2	4.130	227.000	12,8	4.110	212.000
2.	14,7	11.500	306.000	14,6	11.400	299.000	14,9	11.600	298.000
3.	13,8	5.860	261.000	12,8	4.490	247.000	13,5	5.160	236.000
4.	13,7	16.100	171.000	13,6	15.300	162.000	14,3	16.000	149.000
5.	13,8	11.400	250.000	13,0	10.600	297.000	12,6	9.500	275.000
6.	15,4	19.000	426.000	14,9	17.800	400.000	14,3	16.400	375.000
7.	13,3	4.340	279.000	12,8	4.100	253.000	12,9	4.010	247.000
8.	15,5	21.000	370.000	15,1	21.000	375.000	15,3	20.300	371.000
9.	16,0	8.760	161.000	15,7	8.770	194.000	14,8	8.330	139.000
10.	14,7	9.420	272.000	14,2	9.220	270.000	13,9	8.720	231.000
11.	13,2	9.260	486.000	12,9	8.970	510.000	13,2	9.270	459.000
12.	14,4	6.590	320.000	14,1	6.700	304.000	13,9	6.620	307.000
13.	12,6	9.540	335.000	12,0	9.070	317.000	11,8	8.900	293.000
14.	12,9	8.480	339.000	12,0	7.970	314.000	6,3	4.100	184.000
15.	11,1	7.260	371.000	10,7	6.990	272.000	9,8	6.490	245.000
16.	12,2	6.370	249.000	10,6	6.380	174.000	9,1	5.420	152.000
17.	13,6	15.400	259.000	13,1	15.400	262.000	12,6	14.900	235.000
18.	13,3	6.360	271.000	12,5	6.800	284.000	12,1	6.580	261.000
19.	10,2	10.600	321.000	9,9	10.100	331.000	10,0	10.200	313.000
20.	12,6	14.900	303.000	12,9	13.700	245.000	11,7	13.700	269.000
21.	9,5	14.800	157.000	8,4	13.800	138.000	7,4	11.110	115.000
22.	12,8	13.700	223.000	12,6	13.000	226.000	12,6	12.700	225.000
23.	13,9	8.800	315.000	13,8	8.810	315.000	12,9	8.150	228.000
24.	12,5	14.800	298.000	12,7	14.200	286.000	11,7	13.700	283.000
25.	12,4	17.900	226.000	12,4	17.500	205.000	12,1	17.500	217.000

Lampiran 3. Tabel. 5 Uji Statistik Anova.

PERLAKUAN I									
Oneway									
Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Hemoglobin	Perlakuan Standar	25	13.228	1.5288	.3058	12.597	13.859	9.5	16.0
	Perlakuan 1	25	12.780	1.6550	.3310	12.097	13.463	8.4	15.7
	Total	50	13.004	1.5930	.2253	12.551	13.457	8.4	16.0
Lekosit	Perlakuan Standar	25	1.110	4681.534	936.307	9121.56	12986.44	4210	21000
	Perlakuan 1	25	1.060	4538.943	907.789	8774.42	12521.58	4100	21000
	Total	50	1.090	4568.103	646.027	9552.76	12149.24	4100	21000
Trombosit	Perlakuan Standar	25	2.880	77725.521	1.555	255476.48	319643.52	157000	486000
	Perlakuan 1	25	2.760	79374.912	1.587	243515.65	309044.35	138000	510000
	Total	50	2.820	77957.299	1.102	259764.78	304075.22	138000	510000

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hemoglobin	.014	1	48	.908
Lekosit	.069	1	48	.794
Trombosit	.016	1	48	.901

Lanjutan lampiran 3

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hemoglobin	Between Groups	2.509	1	2.509	.988	.325
	Within Groups	121.830	48	2.538		
	Total	124.339	49			
Lekosit	Between Groups	2060450.000	1	2060450.000	.097	.757
	Within Groups	1.020	48	2.126		
	Total	1.023	49			
Trombosit	Between Groups	1.590	1	1.590	.258	.614
	Within Groups	2.962	48	6.171		
	Total	2.978	49			

Lampiran 4 Tabel. 6 Uji Statistik Anova.

PERLAKUAN II									
Oneway Anova									
Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Hemoglobin	Standar	25	13.228	1.5288	.3058	12.597	13.859	9.5	16.0
	Perlakuan 2	25	12.260	2.2493	.4499	11.332	13.188	6.3	15.3
	Total	50	12.744	1.9651	.2779	12.186	13.302	6.3	16.0
Lekosit	Standar	25	1.110	4681.534	936.307	9121.56	12986.44	4210	21000
	Perlakuan 2	25	1.010	4547.885	909.577	8261.53	12016.07	4010	20300
	Total	50	1.060	4591.186	649.292	9291.60	11901.20	4010	21000
Trombosit	Standar	25	2.880	77725.521	1.555	255476.48	319643.52	157000	486000
	Perlakuan 2	25	2.530	78126.116	1.563	220511.12	285008.88	115000	459000
	Total	50	2.700	79104.261	1.119	247678.82	292641.18	115000	486000

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hemoglobin	2.067	1	48	.157
Lekosit	.071	1	48	.791
Trombosit	.008	1	48	.930

Lanjutan lampiran 4

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hemoglobin	Between Groups	11.713	1	11.713	3.167	.081
	Within Groups	177.510	48	3.698		
	Total	189.223	49			
Lekosit	Between Groups	1.047	1	1.047	.492	.487
	Within Groups	1.022	48	2.130		
	Total	1.033	49			
Trombosit	Between Groups	1.514	1	1.514	2.493	.121
	Within Groups	2.915	48	6.072		
	Total	3.066	49			

Lampiran 5. Tabel. 7 Hubungan faktor pengenceran pada perlakuan penelitian.

Perlakuan	Volume darah		Volume Na ₂ EDTA 10 %		Fp	Rata - Rata		
	ml	μL	ml	μL		S	I	II
S	2	2000	0,02	20	100 : 1		2x	4x
I	1	1000	0,02	20	50 ; 1	2x		2x
II	0,5	500	0,02	20	25 : 1	4x	2x	

Keterangan :

- Fp = Faktor Pengenceran
- S = Perlakuan Standar
- I = Perlakuan I
- II = Perlakuan II
- x = Pengenceran

Lampiran 6. Gambar 6. Foto dan Proses ON Alat Hematologi Analyzer



Lampiran 7. Gambar 7. Foto Spesimen Darah EDTA

