

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN DARAH EDTA
TERHADAP MORFOLOGI TROMBOSIT

NUR UNA TUHABE
N121 05 069



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Terima	9-19-09
Asal Dari	farmasi
Banyaknya	1 shg
Asal	Indonesia
No. Inventaris	57

PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009

SKRIPSI



**NUR UNA TUHABE
N121 05 069**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**



**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN DARAH EDTA
TERHADAP MORFOLOGI TROMBOSIT**

SKRIPSI

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

**NUR UNA TUHABE
N121 05 069**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN DARAH EDTA
TERHADAP MORFOLOGI TROMBOSIT**

**NUR UNA TUHABE
N12105069**

Disetujui oleh:
Pembimbing Utama,



**Drs. Syaharuddin kasim, M.Si, Apt
NIP. 19630801 199003 1 001**

Pembimbing Pertama,



**dr. Ruland Pakasi, SpPK
NIP. 130 785 084**

Pembimbing Kedua,



**Ir. Hasan Lampe, AM, MSi
NIP. 1957123119799031016**



ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh lamanya penyimpanan darah dengan antikoagulan K₃EDTA terhadap morfologi trombosit di RSUD Labuang Baji Makassar, pada bulan Mei 2009. penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh lamanya penyimpanan darah EDTA terhadap morfologi trombosit pada apusan darah tepi dengan menggunakan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan bentuk terhadap sel trombosit setelah disimpan selama 1 jam dan 3 jam.

ABSTRACT

A research has been done a bout the effect of storage time of blood sample using K_3EDTA as anticoagulant to morphology of thrombocytes at Labuang Baji Hospital Makassar on May 2009. The aim of this research is to know how much the effect of storage time of blood sample using K_3EDTA as anticoagulant to the morphology of thrombocytes on perifer blood smear using microscope. The result shows that there is shape changing of thrombocytes cells after 1 and 3 hours stored.

UCAPAN TERIMA KASIH

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah Rabbil Alamin, dan rasa syukur kepada Allah swt karena atas berkah dan rahmat-Nya serta karunia-Nya sehingga penulis diberikan kesehatan dan petunjuk hingga dapat menyelesaikan penyusunan tugas akhir ini, sebagai persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan di Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini banyak kendala yang dihadapi baik secara langsung maupun tidak langsung yang berupa bimbingan, arahan, dorongan, semangat, masukan dan kritik serta perizinan dalam melakukan penelitian ini, oleh karena itu dalam kesempatan ini saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tulus kepada Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si, Apt, sebagai Pembimbing Utama dan Pembantu Dekan II Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Dr. Rulan Pakasi, SpPK selaku Pembimbing Pertama, Ir. Hasan Lampe, AM, MSi selaku Pembimbing Kedua.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Elly Wahyudi, DEA, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (UNHAS). Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Pembantu Dekan I (satu) Fakultas Farmasi UNHAS. Dra. Aliyah Putranto, MS, selaku Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS. Para dosen Fakultas Farmasi khususnya



jurusan Farmasi Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS. Seluruh staf dan karyawan jurusan Farmasi Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS, atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada teman-temanku Sry Hardiyanti Madjid, Eka Kusumawardani, Ramla Tira Surachim, Musdalifa M, Martli Pricillia Amahoru, A. Maya Kesrianti, Wasti mawa' ratu, Topanus Tulak, dan teman-teman TLK 05 yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu serta teman-teman Arun Flowers Litha, Bunga, Puji, Hani, Wawa, Muli, Puput yang telah mau berbagi suka dan duka serta memberikan dorongan dan motivasi dan pola berfikir yang positif.

Penulis persembahkan karya tulis ini kepada semua keluarga di Raha, khususnya kedua orang tua yang amat kusayangi dan kucintai yaitu Ayahanda Drs. La Galamu Day dan ibunda Nur Nia; yang telah menemaniku baik suka maupun duka dan telah memberikan dorongan, semangat, arahan dan bimbingan. Kepada Adik-adikku yang amat kusayangi yaitu Nur Sahayati Purnama Sari, Sri Ningsi Handayani, Maulidyah Indah Lestari yang telah menemaniku baik suka dan duka serta selalu memberikan dorongan, saran, dan motivasi.

Terima kasih kepada pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu yang dengan keikhlasannya memberikan bantuan serta senantiasa mendoakan untuk kelancaran dalam penelitian dan

keberhasilan penulis, semoga Allah swt memberikan imbalan yang setimpal.

Amin ya Rabal Alamin...

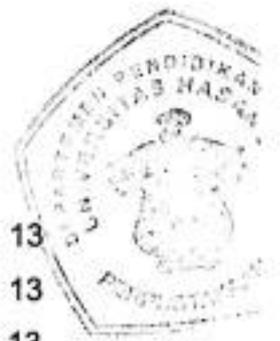
Makassar, November 2009

Penulis

Nur Una Tuhabe

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SKEMA.....	ix
DAFTAR LAMBANG.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Sistem Hematologi	4
II.1.1 Darah.....	4
II.1.2 Sel-Sel Darah.....	4
II.1.3 Bagian-Bagian Darah.....	5
II.1.4 Volume Darah.....	5
II.1.5 Fungsi Darah.....	6
II.1.6 Pembentukan Sel Darah.....	7
II.2. Tinjauan Umum Tentang Trombosit.....	7
II.2.1. Produksi Trombosit	8
II.2.2. Fungsi Trombosit.....	8
II.3. Tes Apusan Darah Tepi.....	9
II.4. Antikoagulan EDTA.....	10
II.5. Batas Waktu Pemeriksaan Darah EDTA.....	10
II.6. Tinjauan Tentang Penanganan Sampel Untuk Tes Hematologi.....	11
II.6.1 Penampungan Sampel.....	11
II.6.2 Penyimpanan Sampel.....	11
II.7. Penyakit Darah.....	12



BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	13
III.1 Metode Penelitian	13
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian	13
III.3 Populasi Penelitian	13
III.4 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	13
III.5 Kriteria penelitian	13
III.5.1 Kriteria Inklusi	13
III.5.2 Kriteria eksklusi	13
III.6 Definisi Operasional	14
III.7 Alat dan Bahan.....	14
III.8 Prosedur Kerja..	15
III.8.1 Persiapan sampel darah.....	15
III.8.2 Pembuatan Apusan darah tepi.....	16
III.8.3 Pewarnaan apusan darah tepi.....	17
III.9 Pembacaan Hasil	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
IV.1 Hasil Penelitian.....	19
IV.2 Pembahasan.....	21
BAB V. PENUTUP	24
V.1 Kesimpulan.....	24
V.2 Saran.....	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	27

DAFTAR SKEMA

Skema	halaman
1. Alur Penelitian.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Alur penelitian.....	27
2. Gambar hasil penelitian.....	28

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
EDTA	Etilen Diamine Tetra Acetat
K ₃ EDTA	Tripotassium Etilen Diamin Tetra Acetat
PLT	Platelet
CBC	Count Blood Cell
MCV	Mean Concentration Value
KHER	Kosentrasi Hemoglobin Eritrocyte Rata-Rata
VER	Value Eritrocyte Rate
WBC	Sel darah putih
RBC	Sel darah merah
MGG	May Grundwald-Giemsa

BAB I

PENDAHULUAN

Darah merupakan medium transpor tubuh, volume darah manusia sekitar 7% - 10% berat badan normal dan berjumlah sekitar 5 liter. Keadaan jumlah darah pada tiap-tiap orang tidak sama, bergantung pada usia pekerjaan, serta keadaan jantung atau pembuluh darah. Darah terdiri atas 2 komponen utama yaitu sebagai berikut: plasma darah, bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit dan protein darah; butir-butir darah (blood corpuscles) yang terdiri atas komponen-komponen berikut ini, eritrosit : sel darah merah (SDM-red blood cell), leukosit : sel darah putih (SDP-white blood cell) dan trombosit : butir pembekuan platelet.(1,2)

Trombosit merupakan komponen sel darah yang dihasilkan oleh jaringan hemopoietik dan berfungsi utama dalam proses pembekuan darah; keeping-keping sel darah yang mempunyai bentuk yang tidak teratur dan tidak mempunyai inti. Pembentukan massa bekuan darah dalam sistem kardiovaskular yang tidak terkendali disebut thrombosis dan massa itu disebut thrombus. Bekuan darah apabila menyumbat pembuluh darah kecil, mungkin tidak membahayakan hidup; apabila sumbatannya mengenai pembuluh darah yang berfungsi untuk memasok alat vital mungkin akan mengganggu kehidupan. (7)

Antikoagulan merupakan senyawa-senyawa yang dapat menghambat penggumpalan darah. Agar darah yang diperiksa jangan sampai membeku dapat dipakai bermacam-macam antikoagulan. Tidak semua macam antikoagulan dapat dipakai karena ada yang terlalu banyak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit atau leukosit yang akan diperiksa morfologinya. Antikoagulan yang sering dipakai antara lain garam 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. (5,6)

EDTA (ethylene diamin tetra asetat), sebagai garam natrium atau kaliumnya. Garam-garam itu mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuknya eritrosit dan tidak juga terhadap bentuk leukosit. Selain itu EDTA mencegah trombosit bergumpal. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1ml darah(5)

Tes apusan darah tepi merupakan bagian yang penting dalam rangkaian tes hematologi. Tujuan tes sediaan apus darah tepi adalah mencari kemungkinan penyakit (suspected disease) baik yang primer akibat kelainan hematologi maupun yang sekunder akibat penyakit sistemik lainnya. Sejumlah informasi dapat diperoleh dari pengamatan

sediaan ini, yang juga menjadikan indikasi dari tes sediaan apus adalah untuk :(3,4)

1. Melihat morfologi dan distribusi sel-sel darah
2. Melihat adanya parasit seperti malaria
3. Menunjang pemastian bentuk anemia berdasarkan morfologi
4. Mengecek hasil pemeriksaan darah rutin
5. Memeriksa hitung jenis leukosit yang pada prakteknya dilakukan bersamaan dengan evaluasi sediaan apus darah tepi.

Saat ini banyak penelitian yang memerlukan pemeriksaan hematologi yang dilakukan di lapangan sehingga ada kecenderungan untuk melakukan penundaan pemeriksaan hematologi yang dibutuhkan. Sehubungan dengan hal tersebut di atas ingin diketahui batas waktu lamanya penyimpanan darah dengan antikoagulan K₃EDTA terhadap pemeriksaan morfologi sel trombosit. Berdasarkan latar belakang diatas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan terhadap gambaran morfologi sel trombosit dengan menggunakan mikroskop. Manfaat penelitian ini yaitu menjadi bahan informasi khususnya bagi para tenaga laboratorium kesehatan bila melakukan penundaan terhadap pemeriksaan apusan darah tepi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Sistem Hematologi

II.1.1. Darah

Sistem hematologi tersusun atas darah dan tempat darah diproduksi, termasuk sum-sum tulang dan nodus limfa. Darah adalah organ khusus yang berbeda dengan organ lain karena berbentuk cair. Darah merupakan medium transport tubuh. Darah terdiri dari 2 komponen utama yaitu:

- a. plasma darah, bagian cair darah yang sebagian besar terdiri atas air, elektrolit, dan protein darah,
- b. butir-butir darah yang terdiri atas komponen-komponen berikut:
 - sel darah merah (eritrosit),
 - sel darah putih (leukosit) dan
 - keping darah (trombosit) (8)

II.1.2. Sel-Sel Darah

Apabila setetes darah diletakkan di atas kaca objek yang bersih dan kering kemudian dibuat sediaan apus dan diwarnai dengan pewarnaan May Grunwald-Giemsa (MGG), secara garis besar akan tampak sel-sel yang dapat dibagi dalam 3 kelompok besar yaitu:

1. Sel-sel bulat, tidak berinti dan berwarna merah kebiruan homogen, jumlahnya sangat banyak di seluruh lapangan pandangan. Sel-sel

ini yang member warna merah kepada darah, sehingga dinamai sebagai sel darah merah (SDM) atau eritrosit.

2. Sel-sel yang berinti, dengan bentuk inti dan ukuran sitoplasma bermacam-macam, yang dapat dijumpai di sana sini dalam lapangan pandangan. Oleh karena sel-sel ini tidak member warna merah kepada darah, sel-sel ini dinamai sebagai sel darah putih atau leukosit.
3. Serpihan atau keping-keping fragmen sel, yang juga tersebar di sana-sini dalam lapangan pandangan dan berukuran sangat kecil. Partikel ini memang berasal dari sel yang lebih besar dan dinamai sebagai keping sel atau trombosit ataupun platelet. (6)

II.1.3. Bagian-Bagian Darah

Komposisi darah terdiri dari air 91%, protein 3% (albumin, globulin, prothrombin, dan fibrinogen), mineral 0,9% (NaCl, natrium karbonat, garam fosfat, Mg, Ca, dan Fe), bahan organik 0,1% (glukosa, lemak, kreatinin, kolesterol, asam urat, dan asam amino) (9,10)

II.1.4. Volume Darah

Pada tubuh yang sehat atau orang dewasa terdapat darah sebanyak 6-8% dari berat badan, pada pria 7,5% dan wanita 6,5% dari berat badan dan berjumlah sekitar 5 liter. Keadaan jumlah darah pada tiap orang tidak sama, tergantung pada usia, pekerjaan serta keadaan jantung dan pembuluh darah. Tentang viskositas/kekentalannya darah lebih kental

daripada air yaitu mempunyai Bj 1,041-1,067, temperature 38⁰C, dan pH 7,37-7,43 (9,6)

II.1.5. Fungsi Darah

Fungsi darah secara umum adalah sebagai berikut :

1. Alat transpor makanan, yang diserap dari saluran cerna dan diedarkan ke seluruh tubuh.
2. Alat transpor O₂ , yang diambil dari paru-paru atau insang untuk dibawa ke seluruh tubuh.
3. Alat transport bahan buangan dari jaringan ke alat-alat ekskresi seperti paru-paru, ginjal dan kulit serta hati untuk diteruskan ke empedu dan saluran cerna sebagai tinja.
4. Alat transport antar jaringan dari bahan-bahan yang diperlukan oleh suatu jaringan lain. Misalnya dalam transport lipoprotein seperti lipoprotein densitas tinggi atau *High Density Lipoprotein* (HDL).
5. Mempertahankan keseimbangan dinamis (homeostatis) dalam tubuh, termasuk di dalamnya ialah mempertahankan suhu tubuh, mengatur keseimbangan distribusi air dan mempertahankan keseimbangan asam-basa sehingga pH darah dan cairan tubuh tetap dalam keadaan yang seharusnya.
6. Mempertahankan tubuh dari agresi benda atau senyawa asing yang umumnya selalu dianggap punya potensi menimbulkan ancaman.

daripada air yaitu mempunyai Bj 1,041-1,067, temperature 38⁰C, dan pH 7,37-7,43 (9,6)

II.1.5. Fungsi Darah

Fungsi darah secara umum adalah sebagai berikut :

1. Alat transpor makanan, yang diserap dari saluran cerna dan diedarkan ke seluruh tubuh.
2. Alat transpor O₂ , yang diambil dari paru-paru atau insang untuk dibawa ke seluruh tubuh.
3. Alat transport bahan buangan dari jaringan ke alat-alat ekskresi seperti paru-paru, ginjal dan kulit serta hati untuk diteruskan ke empedu dan saluran cerna sebagai tinja.
4. Alat transport antar jaringan dari bahan-bahan yang diperlukan oleh suatu jaringan lain. Misalnya dalam transport lipoprotein seperti lipoprotein densitas tinggi atau *High Density Lipoprotein* (HDL).
5. Mempertahankan keseimbangan dinamis (homeostatis) dalam tubuh, termasuk di dalamnya ialah mempertahankan suhu tubuh, mengatur keseimbangan distribusi air dan mempertahankan keseimbangan asam-basa sehingga pH darah dan cairan tubuh tetap dalam keadaan yang seharusnya.
6. Mempertahankan tubuh dari agresi benda atau senyawa asing yang umumnya selalu dianggap punya potensi menimbulkan ancaman.

Dengan demikian secara garis besar dapat dikatakan bahwa fungsi darah ialah sebagai sarana *transpor*, alat *homeostasis* dan alat *pertahanan* (6).

II.1.6. Pembentukan Sel Darah

Pembentukan dari sel-sel darah (hemopoiesis) terjadi pada:

- Janin : 0-2 bulan di indung telur
: 2-7 bulan di hati dan limpa
: 5-9 bulan di sum-sum tulang
- Bayi : di sum-sum tulang
- Dewasa : tulang belakang, iga, sternum, tengkorak, pelvis (16)

Sum-sum tulang adalah satu-satunya sumber sel baru. Sel yang berkembang terletak diluar rongga sinus. Selama kanak-kanak terdapat pergantian lemak sumsum yang progresif sepanjang tulang panjang sehingga ketika dewasa terbatas pada rangka pusat (sumsum hemopoetik), bahkan daerah hemopoetik ini kira-kira 50% sumsum tulang terdiri dari lemak. (6,13)

II.2. Tinjauan Umum Tentang Trombosit (Keping Darah)

Trombosit merupakan komponen sel darah yang dihasilkan oleh jaringan hemopoietik dan berfungsi utama dalam proses pembekuan darah. Trombosit(keeping darah) yang mempunyai bentuk yang tidak teratur dan tidak mempunyai inti. Trombosit merupakan sel terkecil dalam sirkulasi

darah yang mempunyai ukuran 1-4 μm atau besarnya $< 1/3$ ukuran eritrosit.(7)

II.2.1. Produksi Trombosit

Trombosit dihasilkan dalam sum-sum tulang melalui fragmentasi sitoplasma megakariosit. Prekursor megakariosit- megakarioblast, muncul melalui proses diferensiasi dari sel induk hemopoietik. Tiap megakariosit bertanggung jawab untuk menghasilkan sekitar 4000 trombosit interval waktu semenjak differensial sel induk manusia sampai produksi trombosit berkisar sekitar 10 hari. Trombopoetin adalah pengatur utama produksi trombosit dan dihasilkan oleh hati dan ginjal.(14)

II.2.2. Fungsi Trombosit

Trombosit berperan penting dalam pembentukan bekuan darah. Trombosit dalam keadaan normal bersirkulasi ke seluruh tubuh melalui aliran darah. Namun, beberapa detik setelah kerusakan suatu pembuluh, trombosit tertarik ke daerah tersebut sebagai respon terhadap kolagen yang terpajan di lapisan sub endotel pembuluh. Trombosit melekat ke permukaan yang rusak dan mengeluarkan beberapa zat (serotonin dan histamine) yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh. Fungsi lain dari trombosit yaitu untuk mengubah bentuk dan kualitas setelah berikatan dengan pembuluh yang cedera. Trombosit akan menjadi lengket dan menggumpal bersama membentuk sumbat trombosit yang secara efektif menambal daerah yang luka (1)

II.3. Tes Apusan Darah Tepi

Tes apusan darah tepi merupakan bagian yang penting dalam rangkaian tes hematologi. Tujuan tes sediaan apus darah tepi adalah mencari kemungkinan penyakit (suspected disease) baik yang primer akibat kelainan hematologi maupun yang sekunder akibat penyakit sistemik lainnya. Sejumlah informasi dapat diperoleh dari pengamatan sediaan ini, yang juga menjadikan indikasi dari tes sediaan apus adalah untuk :(3,4)

1. Melihat morfologi dan distribusi sel-sel darah
2. Melihat adanya parasit seperti malaria
3. Menunjang pemastian bentuk anemia berdasarkan morfologi
4. Mengecek hasil pemeriksaan darah rutin
5. Memeriksa hitung jenis leukosit yang pada prakteknya dilakukan bersamaan dengan evaluasi sediaan apus darah tepi.

Sumber kesalahan yaitu :

- a. Pewarnaan kurang baik
- b. Sediaan hapus dengan penyebaran sel yang kurang merata
- c. Adanya perubahan morfologi karena fiksasi yang kurang baik
- d. Kesalahan dalam menentukan jenis sel
- e. Mikroskop yang kurang baik (17)

II.4. Antikoagulan EDTA

Agar darah yang diperiksa jangan sampai membeku dapat dipakai bermacam-macam antikoagulan. Tidak semua macam antikoagulan dapat dipakai karena ada yang terlalu banyak berpengaruh terhadap bentuk eritrosit atau leukosit yang akan diperiksa morfologinya (5).

EDTA (ethylene diamin tetra asetat) sebagai garam natrium atau kaliumnya. Garam-garam itu mengubah ion kalsium dari darah menjadi bentuk yang bukan ion. EDTA tidak berpengaruh terhadap besar dan bentuknya eritrosit dan tidak juga terhadap bentuk leukosit. Sel-sel darah termasuk trombosit dapat dipertahankan lebih lama dalam darah dengan EDTA bila dibandingkan dengan antikoagulan lain, tetapi sebaiknya semua pemeriksaan hematologis dikerjakan 2 jam sesudah pengambilan. Selain itu EDTA mencegah trombosit bergumpal. Tiap 1 mg EDTA menghindarkan membekunya 1ml darah (5).

II.5. Batas Waktu Pemeriksaan Darah EDTA

Darah EDTA dapat dipakai untuk beberapa macam pemeriksaan hematologi, seperti penetapan hemoglobin, hitung jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, hematokrit, retikulosit, penetapan laju endap darah, tetapi tidak dapat dipakai untuk percobaan hemoragik dan pemeriksaan faal trombosit (5).

Pemeriksaan dengan memakai darah EDTA sebaiknya dilakukan segera, hanya kalau perlu boleh disimpan dalam lemari es (4°C). Darah EDTA yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam memberikan nilai

hematokrit yang lebih tinggi. Untuk membuat sediaan apus darah tepi dapat dipakai darah EDTA yang disimpan paling lama 2 jam . Pada umumnya darah EDTA dapat disimpan selama 24 jam di dalam lemari es tanpa mendatangkan penyimpangan yang bermakna, kecuali untuk jumlah trombosit dan nilai hematokrit (5).

II.6 Tinjauan Tentang Penanganan Sampel Untuk Tes Hematologi

II.6.1. Penampungan Sampel

Penampungan yang dipakai untuk tes hematologi memakai antikoagulan. Antikoagulan yang sering dipakai adalah EDTA (Ethylen diamine tetra acetat acid) seperti Na_2EDTA , K_2EDTA dan K_3EDTA . Antikoagulan yang lazim dipakai adalah K_3EDTA yang dijual dalam bentuk tabung vakum. Perbandingan jumlah darah yang ditampung lebih banyak dari seharusnya akan dihasilkan mikrotrombin di dalam penampung yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat menyumbat alat. Bila darah yang ditampung lebih sedikit sehingga antikoagulan yang ada berlebihan akan mengakibatkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit lebih rendah, MCV mengecil dan nilai konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata (KHER) akan meningkat (15)

II.6.2. Penyimpanan sampel

Darah K_3EDTA yang ditunda lebih dari 2 jam pada suhu kamar atau lebih dari 24 jam pada suhu 4°C , maka eritrosit akan membengkak

hematokrit yang lebih tinggi. Untuk membuat sediaan apus darah tepi dapat dipakai darah EDTA yang disimpan paling lama 2 jam . Pada umumnya darah EDTA dapat disimpan selama 24 jam di dalam lemari es tanpa mendatangkan penyimpangan yang bermakna, kecuali untuk jumlah trombosit dan nilai hematokrit (5).

II.6 Tinjauan Tentang Penanganan Sampel Untuk Tes Hematologi

II.6.1. Penampungan Sampel

Penampungan yang dipakai untuk tes hematologi memakai antikoagulan. Antikoagulan yang sering dipakai adalah EDTA (Ethylen diamine tetra acetat acid) seperti Na_2EDTA , K_2EDTA dan K_3EDTA . Antikoagulan yang lazim dipakai adalah K_3EDTA yang dijual dalam bentuk tabung vakum. Perbandingan jumlah darah yang ditampung lebih banyak dari seharusnya akan dihasilkan mikrotrombin di dalam penampung yang menyebabkan hitung trombosit menurun dan dapat menyumbat alat. Bila darah yang ditampung lebih sedikit sehingga antikoagulan yang ada berlebihan akan mengakibatkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit lebih rendah, MCV mengecil dan nilai konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata (KHER) akan meningkat (15)

II.6.2. Penyimpanan sampel

Darah K_3EDTA yang ditunda lebih dari 2 jam pada suhu kamar atau lebih dari 24 jam pada suhu 4°C , maka eritrosit akan membengkak

sehingga nilai hematokrit, VER meningkat dan KHER menurun. Penampung tidak bertutup rapat mengakibatkan terjadinya penguapan dari sampel sehingga hasil tes lebih tinggi dari yang sebenarnya. Bahan tes seperti darah dengan K₃EDTA dapat ditunda dengan menyimpan dalam lemari es suhu 4°C selama 24 jam (15).

II.7. Penyakit/kelainan darah:

1. *Anemia*, yaitu penyakit karena kurangnya sel darah merah.
2. *Leukimia*, yaitu penyakit yang disebabkan oleh kelebihan produksi sel darah putih.
3. *Hemofilia*, yaitu penyakit yang mengakibatkan darah sulit membeku (16).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental terhadap spesimen darah dengan menggunakan mikroskop.

III.2. Tempat dan Waktu Penelitian

III.2.1. Tempat Penelitian

RSUD Labuang Baji Makassar

III.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Mei hingga jumlah sampel mencukupi.

III.3. Populasi Penelitian

Pasien yang melakukan pemeriksaan darah rutin di RSUD Labuang Baji Makassar

III.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel adalah semua populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi penelitian.

III.5 Kriteria penelitian

III.5.1. Kriteria Inklusi

Semua orang yang melakukan pemeriksaan darah rutin di RSUD Labuang Baji Makassar

III.5.2. Kriteria Eksklusi

- Sampel darah pasien yang lisis

III.6. Definisi Operasional

- Antikoagulan adalah suatu zat yang dapat mencegah pembekuan darah
- K₃EDTA (Tripotassium Ethylene Diamine Tetra Acetate) adalah antikoagulan
- Trombosit adalah komponen sel darah yang dihasilkan oleh jaringan hemopoietik dan berfungsi utama dalam proses pembekuan darah; keping-keping sel darah yang mempunyai bentuk yang tidak teratur dan tidak mempunyai inti.

III.7 Alat dan Bahan Penelitian

- **Alat penelitian** : Mikroskop rak pewarnaan, pipet tetes, pengatur waktu.
- **Bahan Penelitian** : Specimen darah, antikoagulan K₃EDTA , alcohol 70%, larutan Giemza, larutan buffer pH 6,4.

- **Prinsip tes**

Prinsip sediaan apus : di buat apusan darah pada kaca objek.

Prinsip pewarnaan didasarkan pada sifat kimiawi dalam sel. Zat warna yang bersifat asam akan bereaksi dengan komponen sel yang sifatnya alkalis, demikian pula sebaliknya. Pewarnaan sediaan apus menggunakan prinsip Romanowsky yaitu menggunakan dua zat warna yang berbeda yang terdiri dari AZURA B (trimethyltionin)

yang bersifat basa dan Eosin Y (tetrabromofluorescein) yang bersifat asam seperti yang dianjurkan oleh The International Council For Standardization in Haematology, dan pewarnaan yang dianjurkan oleh Wright-Giemsa dan May Grundwald-Giemsa (MGG).

III.8 Prosedur Kerja

III.8.1 Persiapan sampel darah

1. Identifikasi sampel : nama, nomor, waktu pengambilan
2. Pengambilan sampel darah vena

Dengan menggunakan jarum dan semprit dilakukan pengambilan spesimen darah dengan cara :

- a. Tempat penusukan yang telah dipilih dibersihkan dengan antiseptik (alkohol 70%) untuk mencegah kontaminasi mikroba ke pasien dan spesimen, dan dibiarkan sampai kering sebelum dilakukan penusukan
- b. Dipasang tourniquet pada lengan atas dan pasien diminta mengempal dan membuka tangannya berkali-kali agar vena jelas terlihat.
- c. Kulit diatas vena ditegangkan dengan jari-jari tangan kiri agar vena tidak bergerak.
- d. Kulit ditusuk dengan jarum spoit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena

yang bersifat basa dan Eosin Y (tetrabromofluorescein) yang bersifat asam seperti yang dianjurkan oleh The International Council For Standardization in Haematology, dan pewarnaan yang dianjurkan oleh Wright-Giemsa dan May Grundwald-Giemsa (MGG).

III.8 Prosedur Kerja

III.8.1 Persiapan sampel darah

1. Identifikasi sampel : nama, nomor, waktu pengambilan
2. Pengambilan sampel darah vena

Dengan menggunakan jarum dan sempit dilakukan pengambilan spesimen darah dengan cara :

- a. Tempat penusukan yang telah dipilih dibersihkan dengan antiseptik (alkohol 70%) untuk mencegah kontaminasi mikroba ke pasien dan spesimen, dan dibiarkan sampai kering sebelum dilakukan penusukan
- b. Dipasang tourniquet pada lengan atas dan pasien diminta mengepal dan membuka tangannya berkali-kali agar vena jelas terlihat.
- c. Kulit diatas vena ditegangkan dengan jari-jari tangan kiri agar vena tidak bergerak.
- d. Kulit ditusuk dengan jarum spoit dengan tangan kanan sampai ujung jarum masuk ke dalam lumen vena

- e. Setelah itu pembendung (tourniquet) dilepaskan atau diregangkan dan perlahan-lahan ditarik pengisap spoit sampai jumlah darah yang dikehendaki didapat.
- f. Pembendungan dilepaskan jika masih terpasang
- g. Dipegang bantalan kain kasa/kapas 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.
- h. Jarum diangkat dari semprit , kemudian darah dialirkan (jangan disemprotkan) ke dalam tiga buah tabung yang telah disediakan (yang masing-masing telah berisi antikoagulan K₃EDTA). Tabung I langsung diperiksa, tabung II didiamkan 1 jam dan tabung III didiamkan 3 jam sebelum diperiksa.

III.8.2. Pembuatan apusan darah tepi

Diteteskan 1 tetes darah di atas kaca sediaan lebih kurang 2 cm dari tepi. Letakkan kaca tersebut di atas meja dengan tetesan darah di sebelah kanan.

1. Dengan tangan kanan diletakkan kaca perata disebelah kiri tetesan darah.
2. Digerakkan kaca perata ke kanan hingga menyentuh tetesan darah.
3. Dibiarkan darah menempel dan menyebar rata dipinggir kaca perata.

4. Segera digeserkan kaca tersebut ke kiri dengan sudut 30° - 45° . Jangan menekan kaca perata tersebut ke bawah.
5. Dibiarkan sediaan tersebut kering di udara lalu tuliskan tanggal pembuatan sediaan dan nama pasien dengan pensil kaca.

III.8.3. Pewarnaan sediaan apusan darah tepi

1. Diletakkan sediaan apus yang telah difiksasi di atas rak pewarnaan.
2. Digenangi sediaan apus dengan zat warna MGG yang telah siap pakai lalu biarkan 2 menit.
3. Ditambahkan larutan buffer pH 6,4 sama banyak dengan larutan MGG yang telah diberikan sebelumnya. Tiup agar larutan dapat tercampur rata dengan zat warna. Biarkan selama 2 menit.
4. Sisa air dibuang.
5. Digenangi dengan larutan giemsa 5 % yang terbuat dari larutan buffer pH 6,4 10 cc + giemsa 0,5cc. Biarkan selama 10-15 menit.
6. Dibilas dengan air ledeng, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna. Letakkan sediaan dalam sikap vertical dan biarkan mengering sendiri.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. Hasil Penelitian

Hasil penelitian mengenai morfologi sel trombosit pada sampel darah dengan antikoagulan K₃EDTA yang mengalami penyimpanan disajikan pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Hasil Pengamatan Trombosit setelah Penyimpanan darah pada Waktu yang Berbeda

No.	Kode	Hasil Pengamatan		
		segera	1 jam	3 jam
1.	A	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
2.	B	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
3	C	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
4.	D	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
5.	E	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak

6.	F	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
7.	G	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
8.	H	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
9.	I	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
10.	J	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
11.	K	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
12.	L	Keping darah	Berubah, tepi trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
13.	M	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
14.	N	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
15.	O	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak

16.	P	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
17.	Q	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
18.	R	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
19.	S	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
20.	T	Keping darah	Berubah, tepi granula tidak beraturan	Trombosit membengkak

IV.2. Pembahasan

Pada pemeriksaan hematologi diperlukan bahan darah yang tidak beku, karena itu bila pemeriksaan tidak segera dilakukan diperlukan antikoagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Antikoagulan yang dipakai adalah EDTA dengan garam kaliumnya. Garam EDTA adalah chelating agent yang akan mengikat ion kalsium menjadi bentuk yang tidak terionisasi. Hal ini akan mencegah proses pembekuan darah dan juga akan menghambat agregasi trombosit.

Bila darah dengan antikoagulan EDTA tidak segera diperiksa akan terjadi perubahan morfologi pada sel darah. Perubahan ini tergantung dari jenis sel serta dipengaruhi oleh waktu.

16.	P	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
17.	Q	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
18.	R	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
19.	S	Keping darah	Berubah, tepi Trombosit tidak beraturan	Trombosit membengkak
20.	T	Keping darah	Berubah, tepi granula tidak beraturan	Trombosit membengkak

IV.2. Pembahasan

Pada pemeriksaan hematologi diperlukan bahan darah yang tidak beku, karena itu bila pemeriksaan tidak segera dilakukan diperlukan antikoagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Antikoagulan yang dipakai adalah EDTA dengan garam kaliumnya. Garam EDTA adalah chelating agent yang akan mengikat ion kalsium menjadi bentuk yang tidak terionisasi. Hal ini akan mencegah proses pembekuan darah dan juga akan menghambat agregasi trombosit.

Bila darah dengan antikoagulan EDTA tidak segera diperiksa akan terjadi perubahan morfologi pada sel darah. Perubahan ini tergantung dari jenis sel serta dipengaruhi oleh waktu.

Dari hasil penelitian tentang pengaruh lamanya penyimpanan darah dengan antikoagulan K3EDTA terhadap morfologi sel trombosit menunjukkan adanya perubahan bentuk terhadap sel trombosit. Hal ini dibuktikan dengan penelitian dengan penarikan kesimpulan hasil penelitian dari pemeriksaan 20 sampel pasien pada tes apusan darah tepi dengan menggunakan mikroskop.

Pada apusan darah tepi dengan antikoagulan K3EDTA yang disimpan menunjukkan adanya perubahan bentuk trombosit. Darah yang diberi antikoagulan K3EDTA setelah disimpan selama 1 jam tepi trombosit tidak beraturan, setelah 3 jam trombosit membesar atau membengkak.. Kesalahan yang dapat menyebabkan hasil pemeriksaan tidak sesuai adalah pewarnaan yang kurang baik, sediaan hapus dengan penyebaran sel yang tidak merata, adanya perubahan morfologi karena fiksasi yang kurang baik, kesalahan dalam menentukan jenis sel, mikroskop yang kurang baik.

Kelainan morfologi trombosit yaitu :

a. Trombosit raksasa atau giant platelet

Trombosit normal berbentuk bulat dengan diameter sangat kecil, bila ukuran trombosit mendekati 7 um disebut trombosit raksasa. Keadaan ini di dapat pada trombositemia, mielo skelerosis dan trombositopenia yang disertai dengan trombopoiesis yang aktif.

b. Bentuk bizarre

Bila bentuk trombosit tidak bulat, sehingga bentuk trombosit bermacam-macam disebut trombosit yang bizarre. Keadaan seperti ini di dapatkan pada idiopathic thrombocytopenic purpura.

BAB V

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian tentang "Pengaruh Waktu Penyimpanan Darah EDTA terhadap Morfologi Trombosit" yang di lakukan di RSUD Labuang Baji Makassar pada bulan Mei 2009 dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

V.1. Kesimpulan

Penelitian yang dilakukan terjadi perubahan bentuk trombosit terhadap sampel darah dengan antikoagulan K₃EDTA setelah disimpan selama 1 jam dan 3 jam.

V.2. Saran

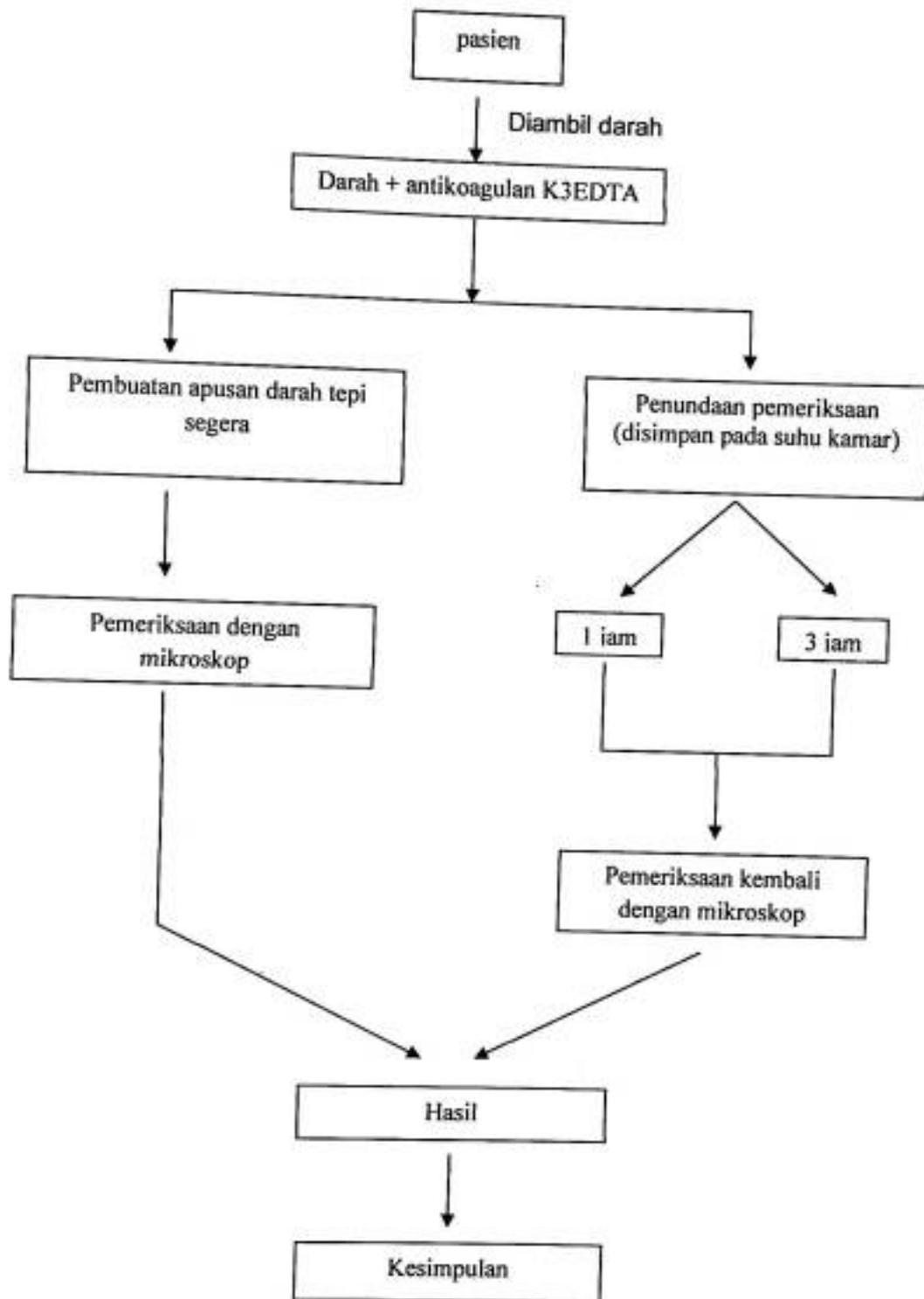
Untuk penelitan selanjutnya dapat dilakukan pemeriksaan terhadap morfologi eritrosit.

DAFTAR PUSTAKA



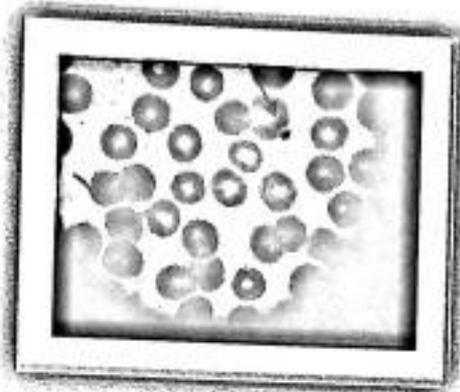
1. Handayani W, Haribowo A S.. *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Salemba Medika: Jakarta 2008.
2. Bakta I Made. *Hematologi Klinik Ringkas*. EGC: Jakarta. 2003.
3. Hardjoeno. H, dkk. *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*. LEPHAS: Makassar 2003.
4. Penuntun Praktikum Hematologi III. *Keganasan Darah..* Fakultas Farmasi. Unhas : Makassar. 2008.
5. Gandasoebrata,. *Penuntun Laboratorium Klinik*, Dian Rakyat: Jakarta 1967.
6. Mohamad Sadikin, Dr.H.. *Biokimia Darah*. Widya Medika: Jakarta 2001.
7. Robbins dan Kumar, *Buku Ajar Patologi I edisi 4*, EGC:Jakarta 1992.
8. Dahlan M, Akmalia Y, Rahman A. *Kamus istilah medis*. ARKOLA. Surabaya. 2001
9. Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan Departemen Kesehatan. *Hematologi*. EGC. Jakarta. 1989.
10. Widman, K.F. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta. 1995.
11. Subarna. Catatan Kuliah Hematologi. PAM Analisis Kesehatan Bandung. 2000.
12. Subarna. Catatan Kuliah Hematologi. PAM Analisis Kesehatan Bandung. 2000.
13. Isbister, P.J., & Pittiglio, D.H. *Hematologi Klinik Pendekatan Berorientasi- Masalah*. Hipokrates . Jakarta. 1999.
14. Hoffbrand,A.V, Pettit,J.E, Moss, P.A.H. *Hematologi*.Edisi IV.penerbit buku kedokteran.EGC:Jakarta. 2001.

15. Rusli B. *Penanganan Pengiriman dan Penyimpanan Bahan Pemeriksaan. Workshop Flebotomi.* PDS PATKLIN Cabang Makassar. Makassar 2 - 4 Juni. 2008.
16. Sacher RA & Mcpherson RA. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium* Ed. 9. Terjemahan oleh Pendit Brahm U & Wulandari D. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2004.

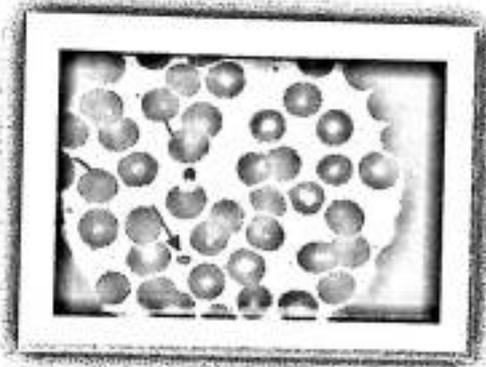


Gambar. Skema kerja penelitian

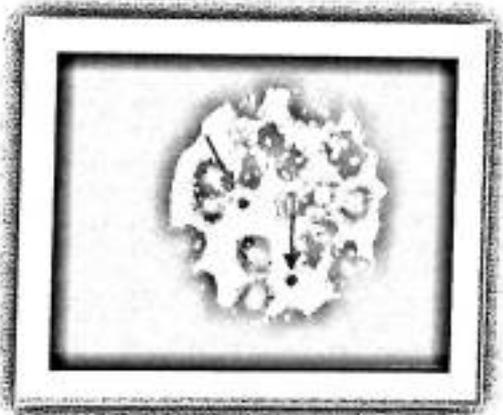
Gambar Sel Trombosit



Gambar 1. Trombosit pada darah segar

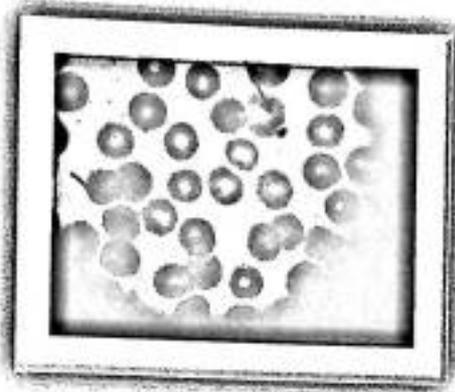


Gambar 2. Trombosit pada darah yang disimpan setelah satu jam.

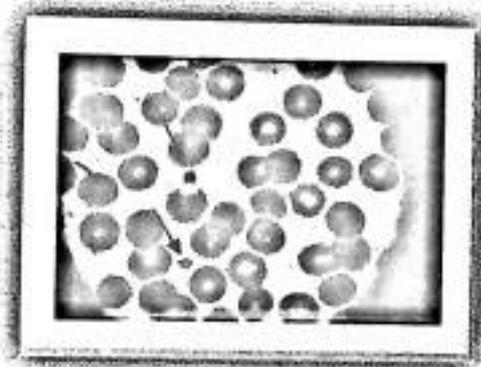


Gambar 3. Trombosit pada darah yang disimpan setelah tiga jam.

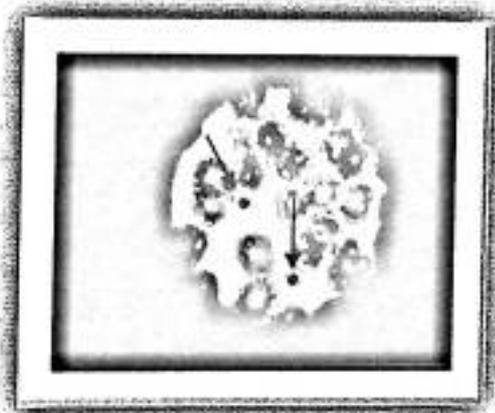
Gambar Sel Trombosit



Gambar 1. Trombosit pada darah segar

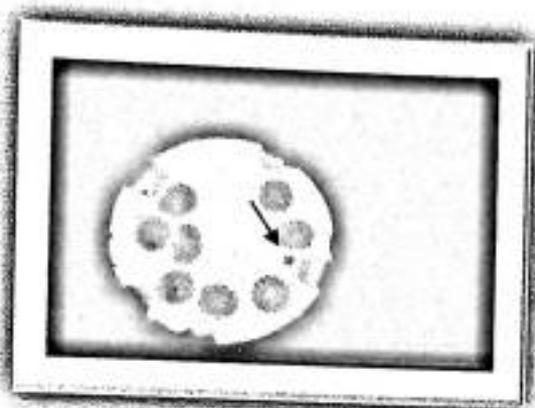


Gambar 2. Trombosit pada darah yang disimpan setelah satu jam.

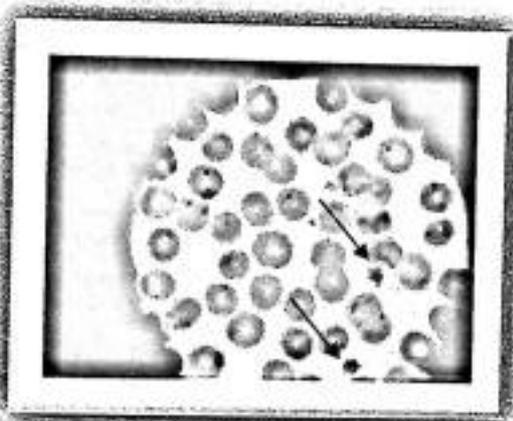


Gambar 3. Trombosit pada darah yang disimpan setelah tiga jam.

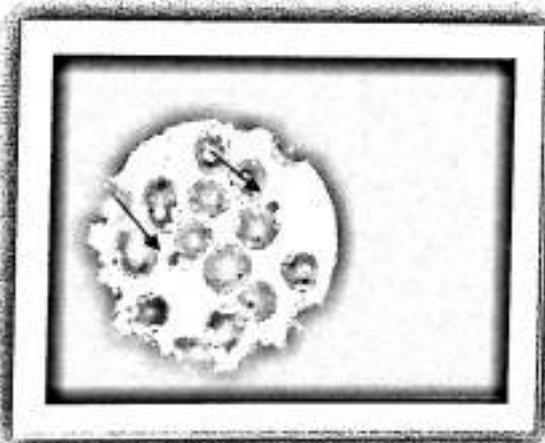
Gambar Sel Trombosit



Gambar 4. Trombosit pada darah segar



Gambar 5. Trombosit pada darah yang disimpan setelah satu jam.



Gambar 6. Trombosit pada darah yang disimpan setelah tiga jam.