



**PERBEDAAN JUMLAH TROMBOSIT CARA MANUAL PADA PEMBERIAN  
ANTIAGOAGULAN EDTA KONVENSIONAL (PIPET MIKRO) DENGAN EDTA  
VACUTAINER**

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan  
melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

**CHARLES KING WIJAYA  
G2A002044**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

## HALAMAN PENGESAHAN

Telah diseminarkan di hadapan Dosen Penguji dan Dosen Pembimbing pada tanggal 25 Juli 2006 serta telah diperbaiki sesuai saran yang diberikan, Artikel Karya Tulis Ilmiah dari:

Nama : Charles King Wijaya  
NIM : G2A002044  
Fakultas : Kedokteran  
Universitas : Universitas Diponegoro Semarang  
Tingkat : Program Pendidikan Sarjana  
Bagian : Patologi Klinik  
Judul : Perbedaan Jumlah Trombosit Cara Manual pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional (Pipet Mikro) dengan EDTA *Vacutainer*  
Pembimbing : dr . Banundari Rachmawati, Sp.PK

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana.

Semarang, 26 Juli 2006

Dosen Penguji

Dosen Pembimbing

dr. Pudjadi, SU  
NIP. 130 530 278

dr . Banundari Rachmawati, Sp.PK  
NIP. 131 803 124

Ketua Penguji

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes  
NIP. 131 916 037

# THE DIFFERENCE OF MANUALLY PLATELET COUNT ON CONVENTIONAL EDTA (MICROPIPET) AND VACUTAINER EDTA ANTICOAGULANT ADDITION

Charles King Wijaya\*, Banundari Rachmawati\*\*

## ABSTRACT

**Background :** Pasteur pipets as generally used pipets on conventional EDTA addition certainly result in significant difference of platelet count than vacutainer EDTA. This is caused by the overdose of EDTA that spuriously increases the platelet count. One of the way in reducing the possibility in making mistake with still using the conventional EDTA is the use of pipets which drop volume correctly as needed. Micropipet is a solution.

**Objectives :** To prove that there was no difference of platelet count on conventional EDTA (micropipet) and vacutainer EDTA addition.

**Method :** This study was an observational analytic with cross sectional approach. Thirty seven samples from both kinds of EDTA with inclusion criterias that were unstatic blood sampling, rightly 3ml blood for conventional EDTA, no partly coagulated blood, and less than 2 hours of blood storage in room temperature. Computer programme was used for processing the data. Hypothesis test was paired-samples t test.

**Result :** The mean of platelet count on conventional EDTA (micropipet) was lower than vacutainer EDTA, that were  $269594,59 \pm 29489,367/\text{mm}^3$  and  $273918,92 \pm 29607,036/\text{mm}^3$ . Paired-samples t test resulted significant difference with  $p= 0.000$ .

**Conclusion :** There was significant difference between platelet count on conventional EDTA (micropipet) and vacutainer EDTA addition.

**Keyword :** EDTA, micropipet, vacutainer, platelet count

\* Student of Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

\*\* Lecturer Staff of Clinical Pathology Department of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

## PENDAHULUAN

Pemeriksaan hitung sel darah terutama trombosit merupakan pemeriksaan yang banyak diminta di klinik. Hal ini disebabkan oleh peranannya yang penting dalam upaya membantu menegakkan diagnosis, memberikan terapi, gambaran prognosis, dan *follow up* seorang penderita.<sup>1,2,3</sup>

Laboratorium klinik sebagai penunjang diagnosis, dituntut untuk dapat memberikan hasil yang akurat atau memberikan hasil yang dapat mendeteksi kondisi sebenarnya penderita, karena dengan hasil yang didapat akan dapat ditegakkan diagnosis dan diberikan tindakan dan terapi terhadap pasien.<sup>4</sup>

Rangkaian pemeriksaan laboratorium yang meliputi preanalitik, analitik, dan post analitik merupakan tahapan yang penting pada penentuan hasil yang terpercaya.

Tahapan preanalitik pemeriksaan laboratorium yang diantaranya meliputi pengambilan spesimen dan penanganannya termasuk pemberian antikoagulan merupakan hal yang mutlak harus diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang baik.<sup>3</sup>

Spesimen untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit paling baik diambil dari darah vena dengan pemberian antikoagulan EDTA agar tidak membeku.<sup>5</sup> Untuk pemeriksaan hematologi dipakai EDTA dengan takaran  $1,50 \pm 0,25$  mg/ml darah.<sup>5,6</sup>

Sampai saat ini  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dalam bentuk serbuk (pada penelitian ini disebut EDTA konvensional) masih banyak digunakan di berbagai laboratorium dan untuk memudahkan pengukuran maka dibuat menjadi larutan 10%. Takaran optimum EDTA konvensional adalah 1,5 mg  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ /ml darah.<sup>7</sup> Pipet yang lazim digunakan adalah pipet Pasteur. Hal ini menyebabkan ada pemakaian sejumlah EDTA yang berlebih karena 1 tetes pipet Pasteur = 50  $\mu\text{l}$  sedangkan untuk darah sebanyak 3 ml hanya dibutuhkan 4,5 mg serbuk EDTA atau 45  $\mu\text{l}$  dalam bentuk larutan 10 %. Sementara itu cara pemipetan yang seharusnya tegak lurus dan dalam keadaan kosong masih sering diabaikan oleh petugas laboratorium serta ketepatan takaran EDTA dan volume darah sangat tergantung keterampilan dan ketelitian petugas laboratorium sehingga variasi hasil yang ditimbulkan akibat ketidaktepatan takaran EDTA dan volume darah sangat mungkin terjadi.<sup>8</sup>

Kelebihan EDTA menyebabkan trombosit membengkak sehingga tampak adanya trombosit raksasa yang pada akhirnya mengalami fragmentasi membentuk fragmen-fragmen yang masih dalam rentang pengukuran trombosit oleh alat hitung sel otomatis sehingga dapat menyebabkan peningkatan palsu jumlah trombosit.<sup>7</sup>

Fragmen-fragmen tersebut juga cukup besar untuk dihitung sebagai trombosit normal oleh pemeriksaan hitung jumlah trombosit cara manual.<sup>5</sup> Dengan demikian, ketepatan perbandingan pemberian takaran EDTA dengan volume darah harus dengan benar diperhatikan.<sup>8</sup>

Dewasa ini tersedia tabung *vacutainer* yang sudah berisi antikoagulan di antaranya EDTA,<sup>5</sup> yang biasanya berupa K<sub>3</sub>EDTA yang mempunyai stabilitas yang lebih baik daripada garam EDTA yang lain karena mempunyai pH mendekati pH darah.<sup>7</sup> Namun demikian, saat ini tabung EDTA yang berisi larutan K<sub>3</sub>EDTA sudah tidak diproduksi lagi, penggunaannya digantikan oleh tabung EDTA yang berisi serbuk K<sub>2</sub>EDTA, yang mana merupakan jenis antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Haematology*. Penggunaan tabung *vacutainer* ini pada pengambilan darah vena tidak perlu menggunakan *sputit* dan kondisi vakum mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan antara takaran antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggungjawabkan.<sup>5</sup> Walaupun demikian, pada penggunaan EDTA *vacutainer* juga dapat terjadi peningkatan palsu jumlah trombosit misalnya sebelum tabung vakum berhenti mengisap sudah dilakukan pencabutan jarum *vacutainer* sehingga perbandingan antara takaran antikoagulan dan volume darah sudah tidak tepat lagi.<sup>7</sup> Tabung *vacutainer* merupakan tabung yang direkomendasikan oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) untuk pemeriksaan hematologi karena mempunyai ketepatan perbandingan antikoagulan dan darah yang tepat dibandingkan cara konvensional, namun demikian memerlukan biaya yang lebih mahal. Dari segi ekonomi harga EDTA *vacutainer* per spesimen 4 kali harga EDTA konvensional per spesimen.<sup>8</sup>

Nurrachmat (2005) mendapatkan perbedaan jumlah trombosit yang bermakna pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional (pipet Pasteur) dengan EDTA *vacutainer*.<sup>8</sup> Salah satu cara mengurangi kemungkinan terjadinya kesalahan dengan tetap mempertahankan penggunaan EDTA konvensional adalah dengan menggunakan pipet yang volume tetesannya tepat sesuai dengan takaran EDTA yang diperlukan. Pipet mikro adalah salah satu solusinya. Volume pipet mikro memakai satuan mikroliter dan tersedia dalam ukuran mulai dari 1 sampai 500  $\mu\text{l}$ .<sup>4</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah trombosit cara manual pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional (pipet mikro) dengan EDTA *vacutainer*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi laboratorium untuk mempertimbangkan pilihan terhadap jenis pipet

antikoagulan EDTA konvensional pada sampling untuk pemeriksaan jumlah trombosit dan bagi peneliti lain sebagai informasi untuk penelitian lanjutan.

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan belah lintang. Populasi penelitian adalah mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Jurusan Kedokteran Umum Angkatan 2002 yang bersedia ikut dalam penelitian ini dengan menandatangani *inform consent*. Besar sampel sebanyak 37 sampel dari masing-masing jenis EDTA (lengan kanan dan lengan kiri) dihitung berdasarkan rumus uji hipotesis terhadap rerata dua populasi dua kelompok berpasangan. Kriteria inklusi adalah pengambilan darah tidak stasis, darah harus 3 ml untuk tabung dengan EDTA konvensional, darah tidak membeku sebagian, dan lama penyimpanan dalam suhu kamar kurang dari 2 jam. Penelitian dikerjakan pada tanggal 19 April 2006 sampai 8 Mei 2006 di salah satu laboratorium swasta di Semarang. Probandus diambil darah venanya dari kedua lengan dimana lengan kanan dengan menggunakan spuit 3 cc kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi EDTA konvensional sebanyak 45  $\mu$ l dengan menggunakan pipet mikro sedangkan lengan kiri dengan menggunakan jarum *vacutainer* yang selanjutnya dihubungkan dengan tabung *vacutainer* 3 cc yang sudah berisi EDTA *vacutainer* di dalamnya. Kondisi vakum akan mengontrol jumlah darah yang masuk ke dalam tabung sampai volume tertentu sehingga perbandingan antara takaran antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggungjawabkan. Kemudian kedua darah vena dilakukan penghitungan jumlah trombosit dengan cara manual metode Brecker–Cronkite.

Definisi operasional:

1. EDTA konvensional :  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dalam bentuk serbuk.
2. EDTA *vacutainer* :  $\text{K}_2\text{EDTA}$  dalam bentuk serbuk yang sudah tersedia di dalam tabung *vacutainer*.

Data primer yang didapat ditabulasi dan dimasukkan sebagai data komputer. Berlaku sebagai variabel bebas adalah EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer* sedangkan variabel tergantung adalah jumlah trombosit. Kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan program komputer dengan rincian:

1. Untuk menentukan distribusi data normal atau tidak dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk karena besar sampel kecil ( $n \leq 50$ ).

2. Karena didapatkan distribusi data normal maka uji hipotesis dilakukan dengan uji t berpasangan.

## HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Deskripsi Jumlah Trombosit pada Pemberian EDTA Konvensional (Pipet Mikro) dan EDTA

*Vacutainer*

	Jumlah Terendah (/mm <sup>3</sup> )	Jumlah Tertinggi (/mm <sup>3</sup> )	Rerata (/mm <sup>3</sup> )	Simpang Baku (/mm <sup>3</sup> )
Jumlah Trombosit pada Pemberian EDTA Konvensional (Pipet Mikro)	215000	330000	269594,59	29489,367
Jumlah Trombosit pada Pemberian EDTA <i>Vacutainer</i>	217500	335000	273918,92	29607,036

Pada tabel 1 dapat dilihat: jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) jumlah terendah 215000/mm<sup>3</sup>, jumlah tertinggi 330000/mm<sup>3</sup>, rerata 269594,59/mm<sup>3</sup>, dan simpang baku 29489,367/mm<sup>3</sup>; sedangkan jumlah trombosit pada pemberian EDTA *vacutainer* jumlah terendah 217500/mm<sup>3</sup>, jumlah tertinggi 335000/mm<sup>3</sup>, rerata 273918,92/mm<sup>3</sup>, dan simpang baku 29607,036/mm<sup>3</sup>; dan nilai rerata jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah trombosit pada pemberian EDTA *vacutainer*.

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk didapatkan distribusi data jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) dan EDTA *vacutainer* adalah normal.

Uji hipotesis dilakukan dengan uji t berpasangan, didapatkan hasil:  $t = -10.070$ ,  $p = 0.000$ ; hal ini berarti jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) dan pada pemberian EDTA *vacutainer* terdapat perbedaan yang bermakna.

## PEMBAHASAN

Adanya perbedaan jumlah trombosit cara manual pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional (pipet mikro) dengan EDTA *vacutainer* dimana nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional (pipet mikro) lebih rendah dibandingkan *vacutainer* kemungkinan disebabkan oleh karena takaran EDTA konvensional yang kurang. Menurut teori, hasil rendah jumlah trombosit terjadi apabila darah yang ditampung lebih banyak dari yang seharusnya atau antikoagulan yang kurang sehingga menyebabkan darah membeku sehingga terbentuk

mikrotrombi yang berakibat penurunan palsu jumlah trombosit.<sup>1,8,9</sup> Kelebihan darah seharusnya tidak mungkin terjadi oleh karena menggunakan *sput* 3 cc. Jadi, hasil yang lebih rendah kemungkinan besar disebabkan oleh takaran EDTA yang kurang. Namun demikian, kemungkinan *human error* masih mungkin terjadi baik pada EDTA konvensional (pipet mikro) maupun EDTA *vacutainer* oleh karena penghitungan jumlah trombosit keduanya memakai cara manual, sehingga perlu kehati-hatian dalam melakukan interpretasi hasil. Dari data hasil pemeriksaan jumlah trombosit (lampiran 1) dapat dilihat bahwa dari 37 sampel yang diperiksa, semua hasil pemeriksaan jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) lebih rendah dibandingkan EDTA *vacutainer*. Ada kecenderungan hasil pemeriksaan jumlah trombosit pada pemberian EDTA konvensional (pipet mikro) lebih rendah dibandingkan EDTA *vacutainer*.

## **KESIMPULAN**

Terdapat perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan jumlah trombosit cara manual pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional (pipet mikro) dengan EDTA *vacutainer* dimana nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional (pipet mikro) lebih rendah dibandingkan EDTA *vacutainer*.

## **SARAN**

Untuk pemeriksaan hitung jumlah trombosit dengan menggunakan cara manual sebaiknya dilakukan secara hati-hati untuk mencegah kesalahan interpretasi.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian ini dengan sebaik mungkin dan tepat pada waktunya; Papa, Mama, dan Kakak saya yang paling saya cintai, atas segala dorongan semangatnya; dr. Banundari

Rachmawati, Sp.PK selaku dosen pembimbing, atas bimbingan dan nasehatnya yang sangat berarti bagi peneliti; dr. Pudjadi, SU dan dr. Ratna Damma Purawati, M.Kes selaku penguji dan ketua penguji; dr. Purwanto AP, Sp.PK dan dr. Niken Puruhita, M.MedSc selaku konsultan statistik; dr. Harun Nurrachmat, Sp.PK atas ide, saran, dan buku-bukunya; Laboratorium Medis Sarana Medika Semarang beserta seluruh stafnya yang telah membantu terlaksananya penelitian ini; dan teman-teman yang telah bersedia menjadi probandus serta semua pihak yang telah turut membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Wirawan R, Setiabudi R, Satyawirawan FS, Silman E, Loho T, Pitono I. Pemeriksaan laboratorium hematologi sederhana, 2<sup>nd</sup> ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 1996 : 3, 12.
2. Brown BA. Hematology : principles and procedures, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1984 : 59.
3. Adipireno P. Sampling pada pemeriksaan darah dan mikroskopis urin. Di dalam: Adipireno P, Budiwiyono I, editor. Seminar pemeriksaan preparat darah tepi dan mikroskopis urin. Semarang: Ikatan Laboratorium Klinik Indonesia Jawa Tengah, 1995: 13.
4. Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz fundamentals of clinical chemistry, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1996: 2, 10.
5. Lewis SM, Bain BJ, Bates I, editors. Dacie and Lewis practical haematology, 9<sup>th</sup> ed. London: Churchill Livingstone, 2002: 2, 5, 596.
6. Sutrisno B. Bahan pemeriksaan hematologi, cara memperoleh dan mempersiapkannya. Di dalam: Sutrisno B, Pradono AP, editor. Workshop diagnosa hematologi I. Semarang: Laboratorium Patologi Klinik FK UNDIP/RS Dr. Kariadi, 1987: 33.
7. Narayanan S. The preanalytic phase: an important component of laboratory medicine. Am J Clin Pathol 2000; 113: 429-52.
8. Nurrachmat H. Perbedaan jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer* (tesis). Semarang: Bagian Patologi Klinik FK UNDIP, 2005; 1-3, 6-7, 33-34, 37.
9. Wirawan R. Pemantapan kualitas uji hematologik, 1<sup>st</sup> ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2002: 9.