

PENGARUH GARIS BAGI PADA BILIK HITUNG *IMPROVED NEUBAUER* TERHADAP KESESUAIAN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

Sabrina Savira Putri^{1*} · Eva Ayu Maharani² · Dewi Astuti³

^{1,2,3} D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes KemenKes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail : sabrinaputri2992@gmail.com
No Tlp WA : 085774202183

Abstract

Platelet count is routine examination in clinical laboratories, and the manual counting chamber method is performed as confirmatory examination. Currently, the Improved Neubauer counting chamber type (two outer lines variation type) has been invented, which is different from the outer limits of the counting chamber area (three outer lines standard type). The purpose of this study was to determine whether there is an effect of the dividing line in the Improved Neubauer counting chamber on the suitability of platelet counts between the standard type and the variation of the counting chamber. The design of this study was experimental using 20 samples of students in good health. The significant difference test was measured to see the effect of the dividing line on the Improved Neubauer counting chamber on the accuracy of platelet count. The results showed that the data were normally distributed and the significant difference test obtained the Sig value of the standard type counting chamber 0.000 (<0.05) and the variation type counting chamber 0.000 (<0.05) indicating a significant difference. In conclusion, there is an effect of the dividing line in the Improved Neubauer counting chamber on the suitability of platelet count. The use of standard Improved Neubauer counting chamber is more recommended than Improved Neubauer variation counting chamber.

Keywords: Platelet Count, Improved Neubauer Counting Chamber, Standard Type, Variation Type.

Abstrak

Hitung jumlah trombosit merupakan pemeriksaan rutin di laboratorium klinik, dan metode manual bilik hitung dilakukan sebagai pemeriksaan konfirmasi. Saat ini, telah ditemukan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* (tipe variasi batas dua garis terluar) yang berbeda dari batas terluar area bilik hitung (tipe standar tiga garis terluar). Tujuan penelitian ini mengetahui apakah ada pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit antara tipe standar dan variasi bilik hitung tersebut. Desain penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan 20 sampel mahasiswa dalam kondisi sehat. Uji perbedaan bermakna diukur untuk melihat pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan uji beda bermakna didapatkan nilai Sig bilik hitung tipe standar 0.000 (<0.05) dan bilik hitung tipe variasi 0.000 (<0.05) menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Kesimpulan penelitian ini adanya pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit. Penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* standar lebih disarankan dibanding bilik hitung *Improved Neubauer* variasi.

Kata Kunci : Hitung Jumlah Trombosit, Bilik Hitung *Improved Neubauer*, Tipe Standar, Tipe Variasi.

PENDAHULUAN

Trombosit disebut juga keping darah atau platelet merupakan salah satu jenis sel darah yang berfungsi sebagai pembekuan darah dan hemostasis (mekanisme menghentikan kehilangan darah yang berlebihan) (AMK, 2014). Hitung jumlah

trombosit merupakan salah satu parameter pemeriksaan darah rutin yang dilakukan untuk menentukan adanya kondisi trombositopenia (hitung jumlah trombosit di bawah nilai normal) dan kondisi trombositosis (hitung jumlah trombosit di atas nilai normal). Kondisi trombositosis ini dapat dijumpai pada kasus infeksi, inflamasi, dan keganasan. Trombositopenia dapat disebabkan oleh produksi trombosit yang berkurang, kelainan distribusi atau destruksi yang meningkat, kelainan mekanisme autoimun (anemia hemolitik autoimun) dan anemia aplastik (Dosen Teknologi Laboratorium Medis 2020).

Saat ini pemeriksaan hitung trombosit dilakukan menggunakan alat hitung otomatis (hematology analyzer) menggunakan beberapa teknik pengukuran atau prinsip kerja. Teknik pengukuran impedansi aliran listrik menggunakan prinsip hambatan arus listrik untuk mengukur sel darah dan teknologi flowcytometry menggunakan prinsip-hamburan dan pemancaran cahaya untuk mengukur karakteristik sel darah. Keuntungan penggunaan hematology analyzer adalah pada proses pemeriksaan lebih cepat dibandingkan dengan pemeriksaan secara manual (hanya membutuhkan waktu sekitar 2-3 menit) sehingga lebih efisien, volume sampel yang dibutuhkan lebih sedikit, serta memiliki ketepatan hasil dengan didukung oleh quality control internal laboratorium yang baik (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020).

Pemeriksaan sel trombosit secara manual masih menjadi pemeriksaan rujukan jika pada alat otomatisasi terdapat status flagging yang membutuhkan konfirmasi perhitungan. Metode yang direkomendasikan adalah metode manual bilik hitung menggunakan ammonium oxalat 1% (brecher concrite) dengan bilik hitung *Improved Neubauer* (Yani et al., 2018). Bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar memiliki batas kesalahan toleransi $\pm 2\%$ untuk kedalaman 0,1 mm. Oleh karena itu, alat ini digunakan untuk menghitung sel darah dengan tingkat kesalahan yang rendah. Bilik hitung ini memiliki area mikroskopis berukuran 9,0 mm², yang terbagi menjadi 9 kotak besar (masing-masing kotak berukuran 1,0 mm²). Kotak besar di tengah (1 mm²) dibagi lagi menjadi 25 kotak, yang masing-masing berisi 16 kotak kecil (masing-masing berukuran 0,05 x 0,05 mm) untuk hitung trombosit. Setiap area kotak di dalam bilik hitung didesain sesuai peruntukannya untuk hitung setiap sel darah dalam volume tertentu. Ketentuan penghitungan sel darah sudah terstandar dengan memperhitungkan batas kotak

terluar yaitu batas tiga garis (Labmart, 2024).

Penggunaan bilik hitung yang terstandar menjadi hal mutlak yang harus dilakukan karena terkait dengan faktor perhitungan yang menjadi penentu dalam hitung jumlah trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Oleh karena itu, pemilihan bilik hitung yang digunakan menjadi salah satu tahapan pra-analitik yang penting untuk dilakukan dengan tepat. Saat ini, telah ditemukan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* variasi yang berbeda dari tipe yang terstandar, yaitu batas terluar area hitung. Pada bilik hitung tipe standar batas terluar area hitung terdapat tiga garis sedangkan pada tipe bilik hitung variasi terdapat dua garis. Ketentuan hitung jumlah trombosit dengan memperhatikan ketentuan “kiri atas” yaitu sel yang dihitung merupakan sel trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kiri dan batas atas sedangkan trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung. Perbedaan garis pada batas terluar area perhitungan dapat saja menimbulkan perbedaan hitung trombosit dengan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar. Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan analisis perbedaan hitung jumlah trombosit antara bilik hitung *Improved Neubauer* standar (tiga garis batas terluar area hitung) dan bilik hitung *Improved Neubauer* variasi (dua garis batas terluar area hitung).

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium untuk menguji adanya perbedaan bermakna dan variasi hasil dari hitung jumlah trombosit menggunakan dua tipe bilik hitung *Improved Neubauer*. Populasi penelitian ini berasal dari mahasiswa tingkat empat prodi Sarjana Terapan Poltekkes Jakarta III tahun akademik 2024, sebanyak 20 mahasiswa dalam kondisi fisik sehat yang dipilih sebagai sampel. Kedua puluh mahasiswa tersebut dilakukan pengambilan darah EDTA.

Darah EDTA dilakukan pengenceran dengan reagensia ammonium oksalat sebanyak 200 kali. Campuran tersebut dihomogenisasi, larutan tersebut dimasukkan ke dalam bilik hitung dan diinkubasi selama 10 menit. Trombosit dihitung pada 25 kotak kecil di bagian tengah bilik hitung dengan luas 1mm^2 menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40X. Perhitungan

dilakukan dengan memperhatikan ketentuan “kiri atas”. Ketentuan “kiri atas” adalah trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kiri dan batas atas dihitung, sedangkan trombosit yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung. Jumlah trombosit yang ditemukan dikalikan dengan faktor pengenceran (Iverson & Dervan, 2018).

Analisis data dilakukan terhadap hasil hitung jumlah trombosit pada bilik hitung tipe standar dan tipe variasi. Rekap hasil dilakukan uji statistik beda bermakna dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Jika nilai sig. (p) < 0.05 maka dinyatakan beda bermakna yang berarti ada pengaruh garis bagi bilik hitung improved Neubauer terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit.

HASIL

Berikut ini adalah rekap data hasil hitung trombosit pada metode manual antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi.

Tabel 1. Rekap Hasil Pemeriksaan Hitung jumlah trombosit

No	Uji Univariat	Bilik Hitung Standar	Bilik Hitung Variasi
1	Rentang (/ μL darah)	190.000-306.000	180.000-290.000
2	Rata-rata (/ μL darah)	247.100	234.100
3	Standar Deviasi (/ μL darah)	34.861	33.919

Hasil pada Tabel 1 kemudian dilanjutkan ke uji beda bermakna yang diawali dengan uji kenormalan data, pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Uji Kenormalan data (Shapiro-wilk)

Tipe bilik Hitung	Statistik	Df	Sig.
Bilik Hitung Standar	0.935	20	0.192
Bilik Hitung Variasi	0.928	20	0.142

Berdasarkan Tabel 2 uji kenormalan data, didapatkan nilai Sig. pada kedua hasil hitung trombosit > 0.05 , yang diinterpretasikan sebagai sebaran data normal dan uji statistik dilanjutkan dengan uji Paired T-Test.

Tabel 3. Hasil Uji Berpasangan (*Paired T-test*)

Hitung Jenis Trombosit	Nilai (2 tailed Sig)
Bilik Hitung Standar	0.000
Bilik Hitung Variasi	0.000

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan nilai Sig. 0.000 (<0.05) yang menunjukkan adanya bermakna. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah trombosit.

DISKUSI

Penghitungan jumlah trombosit, selain menggunakan alat otomatisasi dapat juga dilakukan secara manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* (Yani et al., 2018). Penggunaan bilik hitung yang terstandar adalah hal yang penting karena terkait dengan faktor perhitungan yang mempengaruhi jumlah trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Garis batas pada area bilik hitung mempunyai fungsi sebagai area hitung untuk memungkinkan menghitung jumlah sel trombosit secara sistematis dan mengurangi kemungkinan terjadinya kesalahan hitung. Bilik hitung tipe standar dengan tiga garis terluar, merupakan bilik hitung yang direkomendasikan untuk hitung jumlah trombosit metode manual. Penelitian ini menganalisis hasil hitung jumlah trombosit antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* standar (tiga garis batas terluar area hitung) dengan tipe bilik hitung variasi (dua garis batas terluar area hitung).

Bilik hitung dengan dua garis batas terluar (tipe variasi) memungkinkan jumlah trombosit yang terhitung lebih sedikit dibandingkan bilik hitung dengan tiga garis terluar (tipe standar). Hal ini dibuktikan dengan jumlah rata-rata trombosit yang terhitung pada bilik hitung tipe variasi lebih rendah dibandingkan tipe standar (Tabel 1).

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah trombosit antara penghitungan dengan bilik hitung tipe standar dengan tipe variasi (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa garis are terluar yang merupakan batas perhitungan trombosit mempunyai pengaruh terhadap perhitungan jumlah trombosit. Selain itu, kualitas bilik hitung seperti garis bagi menjadi berpengaruh pada proses penghitungan trombosit. Pengamatan secara mikroskopik diketahui bahwa garis bagi pada bilik hitung tipe standar lebih jelas

terlihat dibandingkan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi yang memiliki garis batas terlihat samar, garis terlihat tidak lurus dan terdapat perbedaan ketebalan pada garisnya. Oleh karena itu pada proses pemilihan bilik hitung harus diperhatikan benar kesesuaiannya dengan bilik hitung tipe standar, mengingat saat ini terdapat berbagai variasi bilik hitung improved Neubauer dengan berbagai merk dagang.

Pada praktiknya, hitung trombosit metode manual kurang dapat diaplikasikan pada pelayanan laboratorium klinik rutin, namun metode manual masih diandalkan untuk pemeriksaan konfirmasi. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan variasi proses penghitungan trombosit diantaranya proses pemipetan pada saat pengenceran, tidak menghomogenkan terlebih dahulu sebelum dipipet, tidak meratanya sebaran sel trombosit di kamar hitung, penghitungan sel trombosit berulang, serta terbentuknya agregasi trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Pada penelitian ini, faktor-faktor yang menyebabkan variasi hitung trombosit dapat diminimalisir melalui beberapa cara seperti pengerjaan duplo yang langsung dikerjakan setelah pemeriksaan pertama selesai tanpa penundaan, pengerjaan setiap pemeriksaan dilakukan oleh satu orang untuk meminimalisir variasi hitung sel, waktu antara pengambilan sampel dan tahap perhitungan jumlah trombosit tidak terlalu jauh artinya sampel masih mempunyai stabilitas sesuai, dan pengambilan darah yang sesuai, yaitu tidak reposisi untuk mencegah terbentuknya agregasi trombosit (Dosen Teknologi Laboratorium Medik, 2020). Selain itu, alat dan bahan yang digunakan sesuai dengan standar, yaitu penggunaan mikroskop dengan tipe standar, reagensia yang belum kadaluwarsa serta ketentuan batas penghitungan yang seragam yaitu menggunakan “kiri atas” untuk meminimalisir adanya perbedaan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan terdapat pengaruh penggunaan tipe bilik hitung terhadap hasil hitung jumlah trombosit. Penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar lebih disarankan dibanding bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Ketua Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III serta seluruh pihak yang telah membantu tim peneliti menyelesaikan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam publikasi prosiding ini.

REFRENSI

- Syaifuddin. (2019). Ilmu Biomedik Dasar I: anatomi fisiologi. Jakarta: EGC.
- Dosen Teknologi Laboratorium Medik. (2020). *Hematologi Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC
- Yani, N., & Chairan (2018). Validasi Hasil Pemeriksaan Jumlah Trombosit Secara Autoanalyzer Dan Manual Menggunakan Amonium Oksalat 1%. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis E*, (Vol. 1 No. 1, p. 2622-2256). 1 Stikes Perintis Padang.
- Astuti, D., & Durachim, A., (2018). *Hemostasis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Eva, A. M., & Dewi. A., (2022). Pemeriksaan Penyaringan Hemostasis. Modul Hematologi III. (pp. 19-27). Poltekkes Kemenkes Jakarta III.