

~~2605/1~~
615-718
HUE

P 01
KARYA AKHIR



**PERBEDAAN JUMLAH
ERITROSIT, LEUKOSIT DAN TROMBOSIT
PADA PEMBERIAN ANTIKOAGULAN
EDTA KONVENSIONAL DENGAN EDTA *VACUTAINER***

Oleh :

HARUN NURRACHMAT

**PEMBIMBING : dr. IMAM BUDIWIYONO, SpPK
dr. BANUNDARI RACHMAWATI, SpPK**

**BAGIAN PATOLOGI KLINIK FK UNDIP
RS Dr. KARIADI SEMARANG
TAHUN 2005**

**PERBEDAAN JUMLAH
ERITROSIT, LEUKOSIT DAN TROMBOSIT
PADA PEMBERIAN ANTIKOAGULAN
EDTA KONVENSIONAL DENGAN EDTA *VACUTAINER***

**Karya Ilmiah Akhir
Untuk memenuhi persyaratan
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Patologi Klinik**

Pada

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

Oleh

HARUN NURRACHMAT

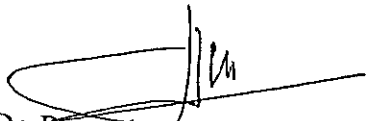
**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2005

Karya ilmiah akhir ini telah disetujui untuk dipertahankan dihadapan
Tim Penguji PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP

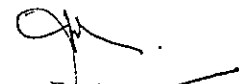
Telah disetujui,

Pembimbing II


Dr. Banundari Rachmawati H, SpPK


NIP. 131 803 124

Pembimbing I


Dr. Imam Budiwiyono, SpPK

NIP. 131 125 893


Ketua Bagian patologi Klinik
FK UNDIP


Dr. Lisyani Suromo, SpPK(K)

NIP. 130 354 869

Ketua Program Studi Patologi Klinik
FK UNDIP




Dr. Purwanto AP, SpPK

NIP. 131 252 963

EPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft: 3603K/PR/24
Tgl. : 11 Mei 2015

**THE DIFFERENCES IN
ERITHROCYTE, LEUKOCYTE AND THROMBOCYTE COUNT
IN ADMINISTRATION OF
CONVENTIONAL EDTA AND VACUTAINER EDTA ANTICOAGULANT**

ABSTRACTS

Backgrounds: Erythrocyte, leukocyte and thrombocyte count are highly affected by the accuracy of proportion of EDTA dosage administered and the blood volume. The accuracy of conventional EDTA dosage is very dependent on the skill, precision and experience of laboratory personnel, whereas vacutainer EDTA has exact proportion between anticoagulant dosage and blood volume.

Purpose: To find out the differences in erythrocyte, leukocyte and thrombocyte count in administration of conventional EDTA and vacutainer EDTA anticoagulant.

Material and Method: Total responden 70 persons. Venous blood was obtained from the right and left arm of patients using 3-mL syringe for conventional EDTA and using vacutainer needle for vacutainer EDTA. Each samples were examined for erythrocyte, leukocyte and thrombocyte count using automated haematology analyzer Cell Dyn 3700 device. We used paired t test for differences in the result of erythrocyte count, whereas the differences result leukocyte count and thrombocyte count using wilcoxon signed ranks test.

Results: The mean value of erithrocyte count using conventional EDTA was $4532857/\text{mm}^3$ while vacutainer EDTA was $4551000/\text{mm}^3$. Statistically, the result showed no significant difference ($t = -0,974$ $p = 0,333$). The mean value of leukocyte count using conventional EDTA was $7607/\text{mm}^3$ while vacutainer EDTA was $7647/\text{mm}^3$. Statistically, the result showed no significant difference ($z = -1,481$ $p = 0,139$). The mean value of thrombocyte count using conventional EDTA was $264920/\text{mm}^3$ while vacutainer EDTA was $270545/\text{mm}^3$. Statistically, the result showed a significant difference ($z = -3,467$ $p = 0,001$).

Conclusion: There were no significant difference between the counts of erithrocyte and leukocyte and a significant difference between the counts of thrombocyte using conventional EDTA and vacutainer EDTA anticoagulant.

Key words : *Erithrocyte, leukocyte, thrombocyte counts, conventional EDTA, vacutainer EDTA.*

**PERBEDAAN JUMLAH
ERITROSIT, LEUKOSIT DAN TROMBOSIT
PADA PEMBERIAN ANTIKOAGULAN
EDTA KONVENSIONAL DENGAN EDTA *VACUTAINER***

ABSTRAK

Latar Belakang : Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit sangat dipengaruhi ketepatan perbandingan pemberian dosis EDTA dengan volume darah. Ketepatan dosis EDTA konvensional sangat tergantung dari keterampilan, ketelitian dan pengalaman petugas laboratorium, sedangkan EDTA *vacutainer* mempunyai perbandingan dosis antikoagulan dengan volume darah yang tepat.

Tujuan : Mengetahui perbedaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.

Bahan dan Metoda : Jumlah responden 70 orang. Diambil darah vena lengan kanan dan kiri responden dengan spuit 3 ml untuk EDTA konvensional dan jarum *vacutainer* untuk EDTA *vacutainer*. Masing masing sampel diperiksa jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit dengan alat *automated haematology analyzer Cell Dyn 3700*. Dipakai uji *paired t test* untuk perbedaan jumlah eritrosit, sedangkan perbedaan jumlah leukosit dan trombosit dipakai uji *wilcoxon signed ranks test*.

Hasil : Rerata hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dengan EDTA konvensional adalah $4532857/\text{mm}^3$, sedangkan dengan EDTA *vacutainer* $4551000/\text{mm}^3$. Kedua hasil tidak ada perbedaan yang bermakna ($t = -0,974$ $p = 0,333$). Rerata hasil pemeriksaan jumlah leukosit EDTA konvensional adalah $7607/\text{mm}^3$, sedangkan EDTA *vacutainer* $7647/\text{mm}^3$. Hasil tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($z = -1,481$ $p = 0,139$). Rerata jumlah trombosit dengan pemberian EDTA konvensional adalah $264920/\text{mm}^3$ dan EDTA *vacutainer* $270545/\text{mm}^3$. Secara statistik didapatkan perbedaan yang bermakna ($z = -3,467$ $p = 0,001$).

Simpulan : Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dan leukosit antara pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*, sedangkan hasil pemeriksaan jumlah trombosit menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Kata Kunci : *Jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, EDTA konvensional, EDTA vacutainer*

RIWAYAT HIDUP

Nama : Harun Nurrachmat

Alamat : Villa Ngaliyan Permai II / P 3-4 Semarang.

Tempat dan tanggal lahir : Semarang, 27 April 1970

Agama : Islam

Nama orang tua : H. Sufat Djari (Alm)
Joice Hendrika Klavert

Nama istri : Dr. Rosita Indriani

Riwayat Pendidikan : 1. Lulus SDN. Djomblang Barat II Semarang 1983
2. Lulus SMP St. Yoris Semarang 1986
3. Lulus SMA St. Louis Semarang 1989
4. Lulus FK Unissula Semarang 1998

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadapan Allah SWT, karena dengan perkenan dan kuasanya kami dapat menyelesaikan tulisan ini sebagai karya akhir dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran UNDIP, RS Dr. Kariadi.

Sehubungan dengan selesainya karya akhir ini, perkenankanlah kami dengan tulus hati menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **Dr. Imam Budiwiyono, SpPK** selaku pembimbing, sekaligus guru kami yang dengan gigih telah memberikan bimbingan, pengarahan, semangat dan dorongan demi mencapai cita-cita kami. **Dr. Banundari Rachmawati H, SpPK** selaku pembimbing dan guru kami yang dengan sabar dan bijaksana telah meluangkan waktu untuk membimbing, mendorong dan mengarahkan demi terselesainya program pendidikan ini. Disamping itu rasa terima kasih yang dalam kami sampaikan juga kepada yang terhormat :

1. **Dr. Lisyani Suromo, SpPK (K)** selaku ketua bagian Patologi Klinik FK UNDIP yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini.
2. **Dr. Purwanto AP, SpPK** selaku Ketua PPDS I Patologi Klinik yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini.

3. **Dr. Ml. Tjahjati, SpPK** selaku Manajer Laboratorium dan guru kami yang telah memberikan bimbingan dan kesempatan untuk melakukan kegiatan selama menempuh pendidikan ini.
4. Staf pengajar PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP, para guru kami ; **Dr. AP Pradana, SpPK (K), Dr. Sabardiman, SpPK (K), Dr. Affandi Ichsan, SpPK (K), Dr. Indrawati, SpPK, Dr. Indranila KS, SpPK, Dr. Herniah Asti, SpPK** yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini.
5. **DR. Dr. Hertanto Wahyu S, MS, SpGK** yang telah memberi bimbingan dan masukan tentang statistik pada karya ilmiah kami.
6. **Prof. Dr. Kabulrachman, SpKK (K)** Dekan FK UNDIP atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS I Patologi Klinik.
7. **Dr. H. Gatot Suharto, M Kes.MMR** Direktur RS Dr. Kariadi atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS I Patologi Klinik.
8. **Segenap Tim Penguji PPDS I Patologi Klinik FK UNDIP** yang telah memberi kesempatan bagi kami untuk mempertahankan karya akhir ini.
9. **Seluruh Staf laboratorium sub divisi Patologi Klinik RS Dr. Kariadi** yang telah banyak membantu, membimbing dan bekerja sama selama kami menempuh program pendidikan ini.

10. **Istri** tercinta yang banyak berkorban dan dengan penuh kasih dan tulus mendampingi kami dalam menyelesaikan pendidikan ini.
11. **Ayahanda (Alm) dan ibunda** tercinta yang dengan tulus dan tidak ada henti-hentinya memanjatkan doa untuk keberhasilan dan kebahagiaan kami.
12. **Kakak dan adik** saya ; Nurharto, Dewi, Hedy yang selalu memberikan dorongan dan semangat.
13. **Bapak (Alm) dan ibu mertua** yang dengan tulus memberikan bantuan selama menjalani pendidikan ini.
14. Saudara kami seangkatan ; **Dr. Anna Martiana Afida dan Dr. Erma Lestari** yang selalu memberi semangat, saran, kritik serta tempat berbagi suka dan duka selama pendidikan ini. Semoga kesuksesan dan kebahagiaan memayungi langkah kita selanjutnya.
15. Teman sejawat **Residen Patologi Klinik** yang telah banyak membantu selama pendidikan.
16. **Pasien Laboratorium sub divisi Patologi Klinik RS Dr. Kariadi** yang dengan sukarela ikut berpartisipasi dalam menyelesaikan karya akhir ini.
17. Semua pihak yang tidak bisa kami sebut satu-persatu, yang turut membantu dan mendukung pendidikan kami selama ini.

Akhirnya kami menyadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangannya, oleh karena itu sumbang saran dan kritik dari para guru serta pembaca lainnya akan kami terima dengan senang hati demi perbaikan dimasa mendatang.

Tak lupa kami memohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menempuh pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan. Semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada kita semua.

Semarang, Maret 2005

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ABSTRAK.....	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Antikoagulan EDTA.....	5
2.2. Eritrosit.....	8
2.3. Leukosit.....	11
2.4. Trombosit.....	13
2.5. Pengaruh Bahan Pemeriksaan, Alat, Reagen, dan Pemeriksa Terhadap Pemeriksaan Jumlah Eritrosit, Leukosit dan Trombosit.....	15
2.5.1. Bahan Pemeriksaan.....	15
2.5.2. Alat.....	16

2.5.3. Reagen.....	17
2.5.4. Pemeriksa	17
2.6. Kerangka Teori.....	18
2.7. Kerangka konsep	19
2.8. Variabel Definisi dan Variabel Operasional	19
2.9. Hipotesis.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1. Rancangan Penelitian.....	21
3.2. Ruang Lingkup	21
3.2.1. Lingkup Bidang Ilmu	21
3.2.1. Lingkup Wilayah	21
3.2.3. Lingkup Waktu	21
3.3. Populasi.....	22
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	22
3.4.1. Kriteria Inklusi.....	22
3.4.2. Kriteria Eksklusi	22
3.5. Besar Sampel.....	22
3.6. Bahan dan Alat	23
3.6.1. Bahan.....	23
3.6.2. Alat.....	24
3.7. Strategi Penelitian.....	24
3.8. Cara Kerja	25
3.8.1. Pembuatan larutan EDTA 10%.....	25
3.8.2. Pengambilan Bahan.....	25
3.8.3. Perhitungan dengan alat otomatisik <i>cell dyn 3700</i>	26
3.8.4. Cara Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dan Jumlah Trombosit	26

3.8.5. Cara Pemeriksaan Jumlah Leukosit	27
3.8.6. Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1. Deskripsi Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit, Leukosit, Trombosit EDTA Konvensional Dan EDTA <i>Vacutainer</i>	28
4.2. Uji Normalitas Data.....	30
4.3. Perbedaan Jumlah Eritrosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA <i>Vacutainer</i>	31
4.4. Perbedaan Jumlah Leukosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA <i>Vacutainer</i>	32
4.5. Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA <i>Vacutainer</i>	33
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1. Simpulan	34
5.2. Saran	34
BAB VI RINGKASAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	38

DAFTAR TABEL

1. Batas waktu pemeriksaan hematologi dengan menggunakan EDTA	6
2. Hasil Deskripsi Jumlah Eritrosit, Leukosit, Trombosit EDTA Konvensional Dan EDTA <i>Vacutainer</i>	29
3. Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov	31

DAFTAR LAMPIRAN

1. Formulir Informed Consent.
2. Data Penelitian Pemeriksaan Jumlah Eritrosit, Leukosit Dan Trombosit.
3. Hasil Analisis Statistik Penelitian.
4. Foto Dokumen.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG MASALAH

Pemeriksaan hematologi, merupakan pemeriksaan yang sering diminta klinisi. Pemeriksaan ini berguna untuk menegakkan diagnosis, memberikan terapi, gambaran prognosis dan *follow up* seorang penderita.^{1,2}

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 yang berbeda.²

Rangkaian pemeriksaan laboratorium yang meliputi preanalitik, analitik dan post analitik merupakan tahapan yang penting pada penentuan hasil yang terpercaya.^{1,3}

Tahapan Preanalitik pemeriksaan laboratorium yang diantaranya meliputi pengambilan bahan pemeriksaan dan penanganannya termasuk pemberian antikoagulan merupakan hal yang mutlak harus diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang baik.

Bahan pemeriksaan untuk pemeriksaan hematologi biasanya diambil dari darah vena dengan pemberian antikoagulan agar tidak membeku. Antikoagulan yang dipakai bermacam-macam seperti EDTA, Natrium Sitrat, Heparin, dan sebagainya. Untuk pemeriksaan hematologi dipakai EDTA dengan ukuran dosis $1,50 \pm 0,25$ mg/ml darah. Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit sangat dipengaruhi ketepatan

UPT-PUSTAK-UNDIP

perbandingan pemberian dosis EDTA dengan volume darah, bila perbandingan pemberian EDTA dengan darah tidak tepat maka akan memberikan hasil tidak sesuai dengan kenyataan.^{1,2,4}

Sampai saat ini Na_2EDTA dalam bentuk serbuk atau larutan (pada penelitian ini disebut konvensional) masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Sementara dengan cara ini pembuatan larutan Na_2EDTA dimana cara pipetasi yang seharusnya tegak lurus dan dalam keadaan kosong masih sering diabaikan oleh petugas laboratorium serta ketepatan dosis dan volume darah sangat tergantung keterampilan, ketelitian petugas laboratorium sehingga variasi hasil yang ditimbulkan akibat ketidaktepatan dosis dan volume darah sangat mungkin terjadi. Biasanya EDTA konvensional yang digunakan adalah Na_2EDTA dengan perbandingan 1,5 mg $\text{Na}_2\text{EDTA}/\text{ml}$ darah. Semua garam EDTA bersifat hiperosmolar, sehingga dapat menyebabkan eritrosit mengerut dan dapat menyebabkan hitung jumlah eritrosit menurun.⁵

Dewasa ini tersedia tabung *vacutainer* yang sudah berisi antikoagulan diantaranya EDTA, yang biasanya berupa K_3EDTA yang mempunyai stabilitas yang lebih baik daripada garam EDTA yang lain karena mempunyai pH mendekati pH darah, namun bila digunakan K_3EDTA lebih banyak daripada ukuran yang dibutuhkan dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada morfologi neutrofil, seperti pembengkakan, hilangnya lobus neutrofil dan sel akan mengalami disintegrasi yang dapat menyebabkan penurunan jumlah leukosit, dan dapat juga menyebabkan trombosit membengkak dan

menyebabkan terjadinya fragmentasi trombosit yang mengakibatkan peningkatan atau penurunan palsu jumlah trombosit. Hal ini juga terjadi pada Na₂EDTA.⁵ Penggunaan tabung *vacutainer* ini pada pengambilan darah vena tidak perlu menggunakan spuit dan perbandingan antara dosis antikoagulan dengan volume darah dapat dipertanggungjawabkan. EDTA *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^{6,7,8}, namun demikian memerlukan biaya yang lebih mahal. Dari segi ekonomi harga EDTA *vacutainer* per sampel 4 kali harga EDTA konvensional per sampel.

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Dari latar belakang yang ada, maka masalah yang akan dikaji pada penelitian ini adalah apakah ada perbedaan jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

1.3.1.1. Mengetahui perbedaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mendeskripsikan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 1.3.2.2. Mendeskripsikan hasil pemeriksaan jumlah leukosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 1.3.2.3. Mendeskripsikan hasil pemeriksaan jumlah trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 1.3.2.4. Mendeskripsikan perbedaan jumlah eritrosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 1.3.2.5. Mendeskripsikan perbedaan jumlah leukosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 1.3.2.6. Mendeskripsikan perbedaan jumlah trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.

1.4. MANFAAT PENELITIAN

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi :

- 1.4.1. Bagi Laboratorium untuk mempertimbangkan pilihan terhadap antikoagulan EDTA pada sampling untuk pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit.
- 1.4.2. Bagi peneliti lain sebagai informasi untuk penelitian lanjutan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. ANTIKOAGULAN EDTA

Antikoagulan adalah zat-zat yang digunakan untuk mencegah terjadinya penjendalan darah.² EDTA bekerja dengan mengubah ion kalsium menjadi bentuk bukan ion.^{3,4} *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) adalah antikoagulan yang digunakan oleh laboratorium hematologi sebab dapat mempertahankan komponen selular dan morfologi sel darah.⁹

EDTA dipakai dalam bentuk garamnya seperti garam natrium (Na_2EDTA) atau kalium ($\text{K}_2\text{EDTA}/\text{K}_3\text{EDTA}$). Semua garam EDTA bersifat hiperosmolar yang dapat menyebabkan eritrosit mengerut. pH Na_2EDTA dan K_2EDTA bersifat lebih asam daripada K_3EDTA . Garam EDTA bekerja sebagai *chelating agent* terhadap kalsium sehingga darah tidak membeku,^{1,5,10,11} yang lazim dipakai adalah K_3EDTA yang dipakai didalam *vacutainer*. Darah dengan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan stabilitas yang lebih baik dari garam EDTA lain karena darah dengan antikoagulan K_3EDTA menunjukkan pH yang mendekati pH darah.^{5,10,11,12}

Pada pemeriksaan hematologi penggunaan antikoagulan EDTA perlu diperhatikan batas waktu penyimpanan mengingat perubahan-perubahan yang terjadi invitro selama penyimpanan maupun oleh karena pengaruh antikoagulan, maka penyimpanan bahan

pemeriksaan sedapat mungkin dihindarkan artinya darah segera diperiksa setelah berhasil ditampung. Bila dipergunakan EDTA maka batas waktu penyimpanan dalam suhu kamar untuk keperluan pemeriksaan hematologi adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Batas waktu pemeriksaan hematologi dengan menggunakan EDTA¹³

JENIS PEMERIKSAAN	BATAS WAKTU MAKSIMUM PEMERIKSAAN
Kadar Hemoglobin	Relatif stabil
Jumlah Eritrosit	6 jam
Jumlah Trombosit	1 jam
Jumlah Leukosit	2 jam
Laju Endap Darah	2 jam
Hematokrit	6 jam
Jumlah Retikulosit	6 jam
Preparat Darah Apus	1 jam

Bila darah disimpan pada suhu 4°C maka pada umumnya pemeriksaan hematologi dapat dilakukan tidak lebih dari 12-18 jam penyimpanan.¹³

Dosis EDTA yang dipakai adalah $1,50 \pm 0,25$ mg/ml darah.^{12,14,15} Cara konvensional yang biasa dipakai adalah 1,5 mg Na₂EDTA/ml darah. Untuk pemeriksaan hematologi diperlukan 3 ml darah sehingga Na₂EDTA yang dibutuhkan sebanyak 4,5 mg (bentuk serbuk) Untuk memudahkan pengukuran maka dibuat

larutan 10 % dengan cara melarutkan 10 gram Na₂EDTA dilarutkan dalam 100 ml aquadest (1 mg Na₂EDTA/10 µl). Untuk darah sebanyak 3 ml dibutuhkan 4,5 mg serbuk EDTA, bila diberikan dalam bentuk larutan 10 % dibutuhkan 45 µl atau 1 tetes pipet pasteur (1 tetes = 50 µl), pemipetan seharusnya dilakukan secara tegak lurus dan pipet dalam keadaan kosong, tetapi pada kenyataannya sering diabaikan sehingga volume tetesan larutan Na₂EDTA 10% menjadi tidak tepat. Perbandingan jumlah darah dengan antikoagulan harus tepat, apabila : ^{10,12,13,14,15,16, 17,18,19}

1. Darah yang ditampung lebih banyak dari yang seharusnya atau antikoagulan yang kurang menyebabkan :

- Hitung jumlah trombosit menurun.

2. Darah yang ditampung kurang dari yang seharusnya atau antikoagulan yang ada berlebihan menyebabkan :

- Hitung jumlah eritrosit menurun.

- Hitung jumlah leukosit menurun.

- Hitung jumlah trombosit menurun atau meningkat.

Suatu fenomena invitro aglutinasi trombosit dengan EDTA adalah adanya antibodi dalam darah yang reaktif terhadap trombosit. Antibodi ini ditujukan pada antigen seperti kompleks glikoprotein IIb/IIIa yang tersembunyi di dalam membran trombosit. EDTA yang bekerja sebagai chelating terhadap kalsium, akan menyingkap antigen. Antigen trombosit yang diekspose dimodifikasi pada suhu rendah dan suhu kamar, menyebabkan antibodi trombosit mengaglutinasi trombosit. *EDTA-induced pseudotrombocytopenia*

tidak dijumpai bila spesimen darah dihangatkan pada suhu 37°C, karena kompleks glikoprotein IIb/IIIa akan terpisah pada temperatur yang lebih tinggi. *EDTA-induced pseudotrombocytopenia* pada suhu 4°C atau suhu-kamar dapat menyebabkan hitung trombosit rendah palsu. Suatu *epitope* pada membran trombosit glikoprotein IIb dikenali oleh antibodi IgG *EDTA-dependent*, menyebabkan pseudotrombositopenia.^{18,20,21,22}

2.2. ERITROSIT

Eritrosit berasal dari sel induk pluripotensial yang kemudian melalui sel induk mieloid multipotensial membentuk sel eritroid pelopor. Eritrosit dibentuk melalui suatu proses pematangan yang terdiri atas beberapa tahap, yaitu pembelahan dan perubahan-perubahan morfologi sel-sel berinti mulai dari proeritroblas sampai ortokromatik eritroblas, disusul kemudian oleh pembentukan eritrosit tidak berinti yang disebut retikulosit dan akhirnya menjadi eritrosit.²³

Aktivitas eritropoietik diatur oleh hormon eritropoietin, yang dihasilkan oleh gabungan faktor ginjal dengan protein plasma. Rangsang untuk produksi eritropoietin adalah tekanan O₂ dalam jaringan ginjal. Kadar oksigen dalam jaringan ditentukan antara lain oleh aliran darah, kadar hemoglobin, saturasi oksigen hemoglobin, dan afinitas oksigen terhadap hemoglobin.²⁴

Segala keadaan yang menurunkan oksigenasi ginjal, misalnya kadar hemoglobin yang rendah, gangguan pelepasan oksigen oleh hemoglobin, gangguan pertukaran

oksigen pada pernapasan, dan hambatan aliran darah. dapat meningkatkan kadar eritropoietin apabila fungsi ginjal adekuat.²³

Karena jumlah Eritrosit baru yang diproduksi setiap hari sangat banyak, maka sumsum tulang memerlukan banyak prekursor untuk mensintesis dalam jumlah banyak. Golongan zat berikut dibutuhkan untuk eritropoiesis :²⁴

1. Logam : besi, mangan, kobalt.
2. Vitamin : B₁₂, folat, C, E, B₆ (piridoksin), tiamin, riboflavin, asam pantotenat.
3. Asam amino
4. Hormon : eritropoietin, androgen, tiroksin.

Besi merupakan komponen hem yang sangat penting. Salah satu cara untuk mendapatkan besi yang diperlukan adalah melalui diet. Tidak semua besi dapat diabsorpsi walaupun kebutuhan akan besi sangat besar. Unsur besi diabsorpsi dari saluran cerna dalam bentuk garam ferro. Penyerapan dipermudah dengan adanya vitamin C, asam lambung, fruktosa, glukosa, dan asam amino. Sebagian besi dilepaskan ke dalam sirkulasi dan dalam sirkulasi besi diikat oleh transferin yaitu suatu beta-1-globulin yang berfungsi mengangkut besi dan mengantarkannya ke tempat pembentukan hemoglobin. Sebagian lagi besi dipertahankan dalam sel epitel, berikatan dengan apoferritin menjadi ferritin.²³

Fungsi utama eritrosit yaitu membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh dan transfer karbondioksida dari jaringan tubuh ke paru-paru. Transfer oksigen berlangsung melalui hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit. Agar berhasil mengangkut

hemoglobin untuk sampai ke jaringan dan untuk pertukaran gas yang baik, eritrosit yang berdiameter 8 μm harus sanggup melewati secara berulang-ulang mikrosirkulasi yang diameter minimumnya 3,5 μm . Eritrosit yang mengandung hemoglobin merupakan komponen hematologi utama dari transpor oksigen. Eritrosit membutuhkan energi untuk transpor gas, mempertahankan integritas dan fleksibilitas membran.^{24,25}

Membran eritrosit merupakan lapisan lipid bipolar yang mengandung protein struktural, kontraktil dan enzim dalam jumlah banyak, serta antigen permukaan. Kirakira 50% membran adalah protein, 40% lemak dan 10% karbohidrat. Lipid terdiri dari 60% fosfolipid, 30% lipid netral (terutama kolesterol) dan 10% glikolipid.²⁴

Morfologi eritrosit dapat diamati pada sediaan apus yang dicat dengan pulasan *Wright*, *Giemsa* atau menggunakan zat warna lain. Eritrosit normal berbentuk bikonkav dengan diameter 7-9 μm . Pada sediaan apus yang dicat dengan *Giemsa*, eritrosit normal menunjukkan warna kemerah-merahan, dengan bagian tepi berwarna lebih gelap dan berangsur-angsur menjadi lebih pucat pada bagian tengah.

Gambaran sediaan apus yang menunjukkan sebagian besar eritrosit berdiameter < 7 μm disebut dengan istilah mikrositosis. Keadaan ini dijumpai antara lain pada anemia defisiensi besi, thalasemia, dan anemia karena penyakit menahun. Gambaran makrositosis menunjukkan eritrosit lebih besar daripada normal yaitu rata-rata > 9 μm , dijumpai misalnya pada anemia megaloblastik. Gambaran yang menunjukkan berbagai ukuran sel disebut anisositosis, terdapat antara lain pada retikulositosis. Eritrosit dengan zone tengah yang lebih pucat dan lebar disebut

eritrosit hipokrom, merupakan petunjuk bahwa kadar hemoglobin eritrosit itu rendah. Polikromasi menunjukkan banyak eritrosit muda yang ukurannya lebih besar daripada eritrosit normal dan berwarna kebiru-biruan, dijumpai pada retikulositosis.²³

Menghitung jumlah eritrosit dengan cara manual menggunakan volume darah yang sangat kecil dan pengenceran yang tinggi. Cara ini memakan waktu dan kurang teliti, cara otomatis memungkinkan jumlah eritrosit dihitung lebih teliti.⁶ Jumlah eritrosit pada orang dewasa wanita 4.8 ± 0.6 juta/ mm^3 , pria 5.4 ± 0.8 juta/ mm^3 .²⁶

Peningkatan jumlah eritrosit dijumpai pada polisitemia vera, dehidrasi, hipoksia. Sedangkan penurunan jumlah eritrosit dijumpai pada anemia, perdarahan, hemolisis, malnutrisi.²⁷

Bila pemakaian antikoagulan EDTA berlebihan baik Na_2EDTA maupun K_3EDTA akan menyebabkan pengerutan dan perubahan degeneratif, serta penurunan jumlah eritrosit oleh karena EDTA bersifat hiperosmolar.^{5,18,28}

2.3. LEUKOSIT

Pada orang dewasa darah tepi mempunyai jumlah leukosit berkisar antara 4500-11000 sel/ mm^3 .²⁹

Leukosit dapat dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu fagosit dan non fagosit. Granulosit yang mencakup tiga jenis sel, neutrofil, eosinofil, dan basofil, bersama-sama dengan monosit merupakan fagosit. Limfosit membentuk populasi imunosit. Normal hanya sel fagosit matang dan limfosit yang ditemukan dalam darah tepi.^{24,29}

Fungsi umum leukosit ini sangat berbeda dengan eritrosit. Leukosit umumnya berperan dalam mempertahankan tubuh terhadap penyusupan benda asing yang selalu dipandang mempunyai kemungkinan untuk mendatangkan bahaya bagi kelangsungan hidup individu.³⁰

Hitung jumlah leukosit merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk menunjukkan adanya infeksi dan dapat juga untuk mengikuti perkembangan dari suatu penyakit tertentu. Dua metoda yang digunakan untuk menghitung jumlah leukosit yaitu metoda manual atau mikroskopik, dan otomatis untuk metoda elektronik.¹

Leukositosis berarti jumlah leukosit yang meningkat melebihi normal misalnya terjadi pada infeksi bakteri, apendisitis, leukemia, ulkus.^{1,31} Hitung jumlah leukosit menurun di bawah harga normal disebut Leukopenia misalnya terjadi pada penyakit virus (seperti campak), brucellosis, demam tifoid, infeksi hepatitis. Radiasi dan terapi obat-obatan cenderung menurunkan jumlah leukosit.³¹

Bila pemakaian antikoagulan EDTA berlebihan baik Na_2EDTA maupun K_3EDTA menyebabkan perubahan pada morfologi neutrofil, seperti pembengkakan, hilangnya lobus neutrofil dan sel akan mengalami disintegrasi yang dapat menyebabkan penurunan jumlah leukosit.^{5,18,28}

2.4. TROMBOSIT

Trombosit disebut juga platelet atau keping darah. Sebenarnya, trombosit tidak dapat dipandang sebagai sel utuh karena ia berasal dari sel raksasa yang berada di sumsum tulang, yang dinamakan megakariosit. Dalam pematangannya, megakariosit ini pecah menjadi 3000-4000 serpihan sel, yang dinamai sebagai trombosit.³⁰ Trombosit berbentuk seperti cakram bikonveks (dalam keadaan inaktif) dengan diameter 2-3 μm dan volume 8-10 fl.³²

Regulasi trombosit di darah tepi dilakukan oleh mekanisme kontrol bahan humoral yang disebut trombopoetin yang menyebabkan konsentrasi trombosit di sirkulasi konstan. Bila jumlah trombosit menurun, tubuh akan mengeluarkan trombopoetin lebih banyak untuk merangsang trombopoiesis.³³

Umur trombosit setelah pecah dari sel asalnya dan masuk darah ialah antara 8 sampai 14 hari. Jumlah trombosit normal adalah antara 150000-450000/ mm^3 dengan rata-rata 250000/ mm^3 .³⁰

Fungsi utama trombosit adalah pembentukan sumbatan mekanis selama respon hemostatik normal terhadap luka vaskular.³² Trombosit berfungsi penting pada usaha tubuh untuk mempertahankan jaringan bila terjadi luka. Trombosit ikut serta dalam usaha menutup luka, sehingga tubuh tidak mengalami kehilangan darah dan terlindung dari penyusupan benda atau sel asing. Untuk itu, trombosit melekat (adesi) pada permukaan asing terutama serat kolagen. Disamping melekat pada permukaan asing, trombosit akan melekat pada trombosit lain (agregasi). Selama proses agregasi terjadi

perubahan bentuk trombosit yang menyebabkan trombosit akan melepaskan isinya. Masa agregasi trombosit akan melekat pada endotel, sehingga terbentuk sumbat trombosit yang dapat menutup luka pada pembuluh darah, sedangkan pembentukan sumbat trombosit yang stabil melalui pembentukan fibrin.³⁰

Hitung trombosit sangat penting dan menunjang diagnosa gangguan perdarahan. Untuk menghitung jumlah trombosit, pungsi vena harus hati-hati tanpa menimbulkan trauma dan darah harus dihisap dengan cepat dan segera dicampur dengan antikoagulan dengan adekuat. Hindari pengocokan berlebihan karena akan menyebabkan perlekatan-perlekatan trombosit sehingga hasil penghitungan tidak tepat.^{23,29}

Cara menghitung jumlah trombosit dapat dilakukan dengan metoda manual menggunakan mikroskop yaitu metoda *Rees-Ecker* atau *Brecker-Cronkite*, dan metoda otomatis dengan alat penghitung elektronik.¹ Tes hitung trombosit cara otomatis akurasi jauh lebih baik dibandingkan penghitungan cara manual.^{33,34} Namun, mempunyai keterbatasan bila ada *clump* trombosit tidak dapat dihitung oleh alat sehingga hasil penghitungan trombosit menurun yang disebut sebagai pseudotrombositopenia.¹⁹

Peningkatan jumlah trombosit disebut trombotosis, misalnya dijumpai pada trombotemia idiopatik dan setelah splenektomi.¹ Penurunan jumlah trombosit atau trombotopenia dapat dijumpai pada penyakit infeksi tertentu, misalnya demam berdarah dengue yang disebabkan oleh virus dengue, adalah penyakit yang dapat menurunkan jumlah trombosit darah sampai ke tingkat yang rendah. Akibatnya,

penderita akan sangat rentan akan perdarahan yang sukar dihentikan. Trombositopenia dapat menyebabkan epistaksis, perdarahan pada saluran cerna. Perdarahan kecil di bawah kulit juga sering terjadi.³⁰ Keadaan lain yang dapat menyebabkan trombositopenia ialah trombositopenia purpura, anemia aplastik, leukemia akut, dan kadang-kadang setelah kemoterapi dan terapi radiasi.¹

Pemakaian Na_2EDTA maupun K_3EDTA kurang dari yang dibutuhkan akan menyebabkan hitung trombosit menurun karena terjadi mikrotrombi di dalam penampung yang dapat menyumbat alat, sedangkan bila berlebihan akan menyebabkan sel membengkak kemudian disintegrasi, membentuk fragmen dalam ukuran yang sama dengan trombosit sehingga terhitung oleh alat penghitung elektronik, berakibat peningkatan palsu hitung jumlah trombosit, bila disintegrasi membentuk fragmen dalam ukuran yang berbeda dengan ukuran trombosit akan menyebabkan penurunan palsu hitung jumlah trombosit.^{5,10,12,18,28,35,36}

2.5 PENGARUH BAHAN PEMERIKSAAN, ALAT, REAGEN, DAN PEMERIKSA TERHADAP PEMERIKSAAN JUMLAH ERITROSIT, LEUKOSIT DAN TROMBOSIT

2.5.1 Bahan Pemeriksaan³⁷

Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit dapat menggunakan darah vena maupun darah kapiler. Pemeriksaan dengan darah kapiler memberikan hasil lebih rendah dibandingkan darah vena. Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit

dengan darah kapiler menggunakan alat otomatis diperlukan darah kapiler sebanyak 180 μ l.

2.5.2 Alat³⁷

Alat pemeriksaan bila tidak dilakukan perawatan secara rutin maupun kalibrasi maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit menjadi lebih tinggi atau menjadi rendah .

Dengan demikian perlu dilakukan perawatan alat secara rutin dengan melakukan perawatan harian yaitu *auto clean* untuk menghilangkan fibrin dan kotoran, membersihkan jarum *closed sampler*; perawatan mingguan dengan membersihkan *shear valve*, mengganti selang pompa peristaltik aspirasi; perawatan bulanan membersihkan *fan filter*, membersihkan *syringe* ; dan melakukan kalibrasi dengan menggunakan kalibrator komersial atau sampel darah segar. Kalibrasi hendaknya diperiksa secara teratur dengan menggunakan program pemantapan mutu yang biasa dilakukan setiap laboratorium, sesuai dengan persyaratan laboratorium yang baik , verifikasi yang mencakup *quality control* harian pada setiap *shift* dan juga pada setiap perubahan nomor lot reagen. Alat yang digunakan untuk penelitian ini sudah dilakukan pemeliharaan alat secara rutin dan kalibrasi.

2.5.3 Reagen³⁷

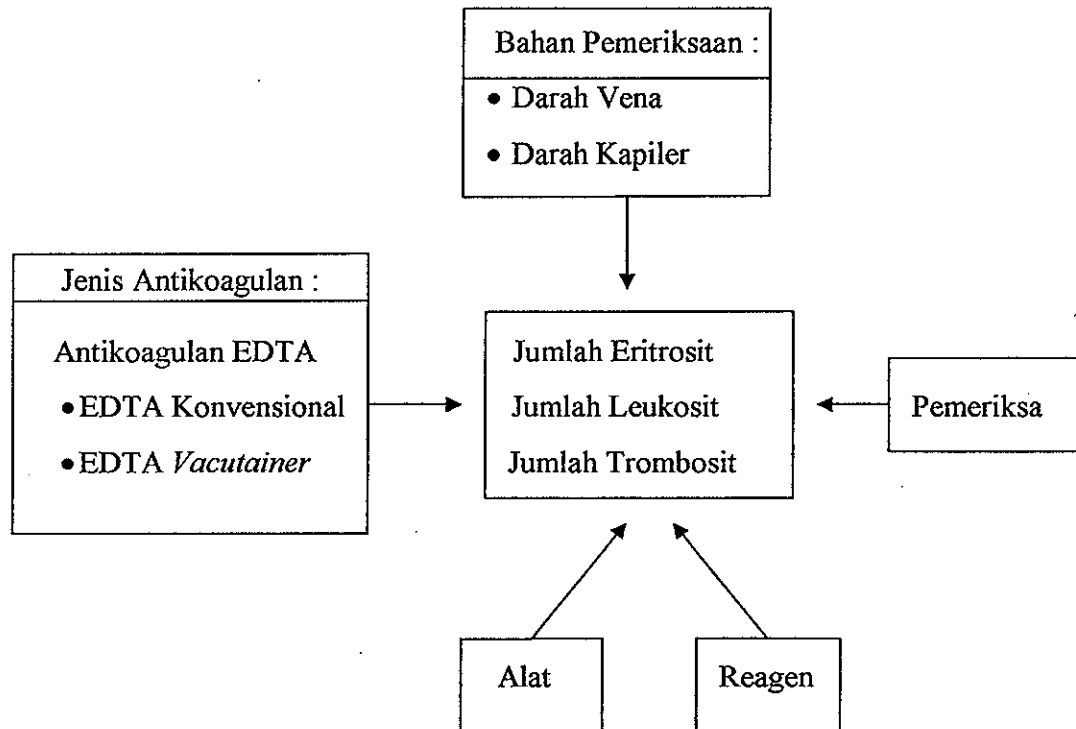
Reagen harus diperlakukan sesuai aturan yang diberikan pabrik pembuatnya termasuk cara penyimpanan, penggunaan dan *expired* nya.

Pemakaian reagen yang sudah rusak oleh karena sudah *expired* maupun salah dalam suhu penyimpanan akan menyebabkan penurunan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit. Hal ini dapat diatasi dengan pemakaian reagen yang tidak *expired* dan penyimpanan reagen pada suhu yang sudah ditentukan pabrik pembuatnya yaitu pada suhu 15-30⁰ C.

2.5.4 Pemeriksa³⁷

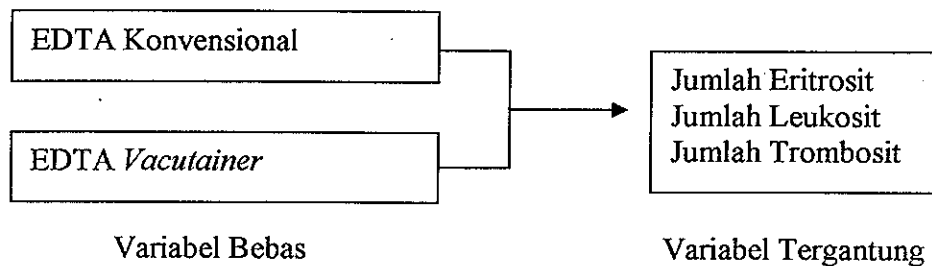
Faktor pemeriksa juga dapat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit, bila sampel tidak dicampur/dikocok dengan benar sebelum sampel diperiksa atau pada saat sampel dihisap oleh penghisap sampel tidak sampai dasar tabung sampel atau hanya pada permukaan tabung sampel, maka hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit menjadi rendah. Hal ini memerlukan pemeriksa yang berpengalaman dan terlatih.

2.6 KERANGKA TEORI



Pengaruh bahan sampel dapat diatasi karena penelitian ini menggunakan darah vena. Demikian juga pengaruh alat dan reagen dimana alat sudah dilakukan perawatan secara rutin maupun dilakukan kalibrasi. Reagen diperlakukan sesuai aturan pabrik pembuatnya yaitu penyimpanan reagen pada suhu 15-20⁰ C serta reagen yang digunakan belum *expired*. Sedangkan pengaruh pemeriksa dapat diatasi karena pemeriksa sudah berpengalaman dan terlatih.

2.7 KERANGKA KONSEP



2.8 DEFINISI DAN OPERASIONAL VARIABEL

EDTA Konvensional : Pemakaian 1 tetes pipet pasteur Na_2EDTA 10 % untuk 3 ml darah.

EDTA *Vacutainer* : Pemakaian K_3EDTA *Vacutainer* untuk 3 ml darah

Jumlah Eritrosit : Kuantitas eritrosit yang diukur dengan prinsip impedansi elektrik dalam mm^3 .

Jumlah Leukosit : Kuantitas leukosit yang diukur dengan prinsip impedansi elektrik dalam mm^3 .

Jumlah Trombosit : Kuantitas trombosit yang diukur dengan prinsip impedansi elektrik dalam mm^3 .

2.9 HIPOTESIS

Ada perbedaan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit dengan menggunakan antikoagulan EDTA Konvensional dan EDTA *vacutainer*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. RANCANGAN PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang.

3.2. RUANG LINGKUP

3.2.1. Lingkup bidang ilmu

Ruang Lingkup bidang ilmu yang diteliti ialah bidang Ilmu Patologi Klinik dengan titik berat pada cabang hematologi khususnya pada tahap pre analitik.

3.2.2. Lingkup wilayah

Ruang lingkup wilayah penelitian ini adalah Laboratorium sub divisi Patologi Klinik RS Dr Kariadi Semarang.

3.2.3. Lingkup waktu

Waktu penelitian dikerjakan dari bulan Desember 2004 sampai dengan Pebruari 2005.

3.3. POPULASI

Populasi penelitian adalah Responden yang melakukan pemeriksaan hematologi yaitu jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit di Laboratorium sub divisi Patologi Klinik RS. Dr Kariadi Semarang.

3.4. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI

3.4.1. Kriteria Inklusi

- Dewasa.
- Darah tidak membeku.
- Darah harus 3 ml untuk tabung dengan EDTA konvensional.
- Darah mengalir ke dalam tabung *vacutainer* dengan lancar sampai berhenti secara otomatis bila mencapai 3 ml.

3.4.2. Kriteria Eksklusi

- Ada *flagging* pada eritrosit, leukosit, dan trombosit pada hasil pemeriksaan dengan *automated haematology analyzer*.

3.5. BESAR SAMPEL

Besar sampel dihitung berdasarkan rumus sampel tunggal dengan uji hipotesis yaitu:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta) S}{(Xa - X_0)} \right]^2$$

$Z\alpha$ = 1,960 (tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$)

$Z\beta$ = 0,842 (power penelitian $\beta = 80\%$)

S = 0,54 (simpang baku, ditetapkan peneliti)

$Xa - X_0$ = 0,20 (perbedaan klinis, ditetapkan peneliti)

Perhitungan yang diperoleh :

$$n = \left[\frac{(1,96 + 0,842) \times 0,54}{0,20} \right]^2$$

$$= (7,55)^2$$

$$= 57,0 \rightarrow \text{Dibuat 70 sampel}$$

3.6. BAHAN DAN ALAT

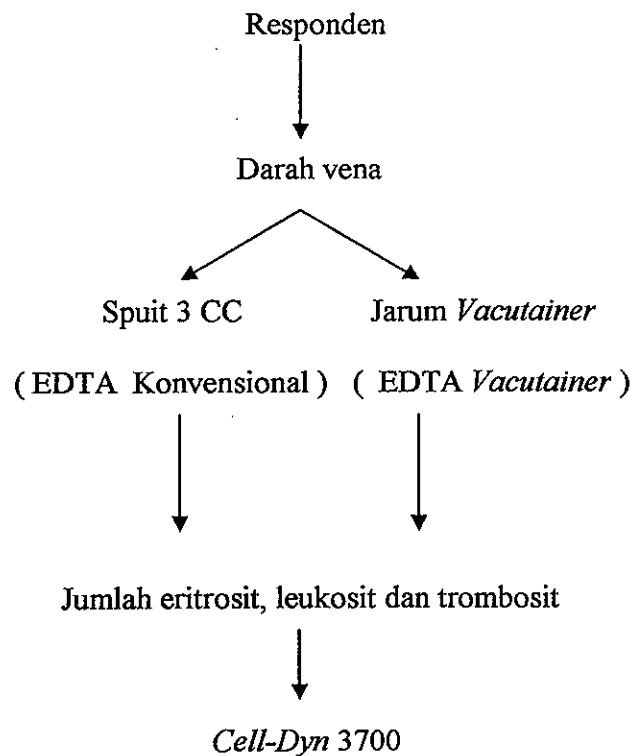
3.6.1. Bahan

- Bahan berupa darah vena. Darah diambil dari pembuluh darah vena mediana cubiti penderita dengan jarum suntik sebanyak 3 ml dan dengan jarum khusus untuk *vacutainer* sampai 3 ml secara otomatis.
- Reagen *Cell Dyn 3700*

3.6.2. Alat

- *Sprit* 3 ml dan tabung EDTA konvensional, Jarum khusus untuk tabung *vacutainer* dan tabung EDTA *vacutainer*
- Kaps, alkohol 70% dan pembendung yang dapat digunakan dan mudah dilepas
- *Cell Dyn 3700*

3.7. STRATEGI PENELITIAN



3.8. CARA KERJA

3.8.1. Pembuatan larutan EDTA 10%

- Ditimbang 10 g serbuk EDTA
- Dilarutkan dengan aquadest ad 100 ml
- Campur dan aduk dengan stirer sampai larut sempurna
- Diteteskan satu tetes pipet pasteur EDTA 10% pada masing masing tabung

3.8.2. Pengambilan bahan ^{1,5,10}

- Dipersiapkan : spuit 3 ml, EDTA konvensional, tabung EDTA *vacutainer* beserta jarumnya, alat pembendung lengan, kapas dan alkohol 70%, masing-masing tabung diberi identitas.
- Dilakukan pembendungan pada lengan atas yaitu 3-10 cm diatas tempat punksi. Lama pembendungan tidak lebih 1 menit, tekanan tidak melebihi 60 mmHg.
- Dilakukan desinfektan dengan alkohol 70% pada daerah yang akan dilakukan pengambilan darah.
- Setelah kering darah diambil dengan menggunakan spuit 3 ml pada vena mediana cubiti sampai penuh.
- Bendungan dilepas.
- Jarum dibuka

UPT-PUSTAK-UNDIR

- Darah dimasukkan perlahan-lahan ke dalam tabung EDTA konvensional sebanyak 3 ml.
- Pengambilan darah dilakukan juga pada lengan yang lain dengan menggunakan jarum khusus dengan tabung EDTA *vacutainer*. Darah akan mengalir secara otomatis ke dalam tabung *vacutainer* dan berhenti bila darah mencapai 3 ml.

3.8.3. Penghitungan dengan alat otomatis *cell dyn 3700* ³⁷

- * - Disiapkan alat otomatis hematologi analiser *cell dyn 3700*.
 - Tabung EDTA konvensional / 3ml darah didekatkan pada jarum penghisap sampel.
 - Tombol penghisap sampel ditekan.
 - Selanjutnya tes berjalan secara otomatis.
 - Hasil tes tampak pada kertas *print out*.
- * - Dilakukan juga pada tabung EDTA *vacutainer* yang telah berisi darah.

3.8.4. Cara Pemeriksaan Jumlah Eritrosit dan Jumlah Trombosit ³⁷

Dengan menggunakan prinsip impedansi elektrik :

Sel disuspensikan dalam cairan elektrolit, dimana cairan elektrolit merupakan konduktor listrik yang baik sedangkan sel secara relatif merupakan konduktor listrik yang kurang baik. Aliran listrik konstan dialirkan ke dalam suspensi sel dengan menggunakan dua elektroda yang terletak pada setiap sisi *orifice* (celah).

Ketika satu sel bergerak melalui *orifice*, maka terjadi gangguan terhadap arus listrik yang sedang mengalir. Perubahan arus listrik ini disebut pulsa. Amplitudo masing masing pulsa adalah proporsional dengan volume partikel yang dideteksi.

Prinsip reagen : Melisiskan leukosit

3.8.5. Cara Pemeriksaan Jumlah Leukosit³⁷

Dengan menggunakan prinsip impedansi elektrik, Cara pemeriksaan seperti pada pemeriksaan jumlah eritrosit dan trombosit.

Prinsip reagen : melisiskan eritrosit dan trombosit

3.8.6. Analisis Data

Data primer yang didapat ditabulasi dan dimasukkan sebagai data komputer. Kemudian dilakukan uji statistik deskriptif menggunakan perangkat lunak SPSS *for window* versi 10,0 dengan rincian :

1. Untuk menentukan distribusi data normal atau tidak dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov
2. Analisis hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dilakukan uji *paired t test*, sedangkan hasil pemeriksaan jumlah leukosit dan trombosit dilakukan uji *wilcoxon signed ranks test*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dilakukan pengambilan sampel pada 70 responden yang memenuhi kriteria inklusi. Masing-masing diambil dua kali dengan spuit 3 ml kemudian ditambahkan EDTA sesuai takaran (EDTA konvensional) dan dengan jarum *vacutainer* yang mengalir secara otomatis kedalam tabung EDTA *vacutainer* bila volume darah telah mencapai 3 ml.

Masing-masing pasang sampel dilakukan pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit dengan alat *automated haematology analyzer Cell Dyn 3700*. Setelah pemeriksaan selesai data dikumpulkan kemudian dilakukan 'data entry' dan dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS *for window versi 10,0*

4.1. Deskripsi Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit, Leukosit, Trombosit EDTA Konvensional Dan EDTA *Vacutainer*.

Data yang terkumpul dibuat Statistik Deskripsi untuk mengetahui nilai minimal, maksimal, nilai rerata, simpang baku untuk masing masing data (tabel 2)

Tabel 2. Hasil Deskripsi Jumlah Eritrosit, Leukosit, Trombosit EDTA Konvensional
Dan EDTA *Vacutainer*

	Jumlah Terendah (mm ³)	Jumlah Tertinggi (mm ³)	Rerata	Simpang baku
Jumlah Eritrosit EDTA konvensional	2440000	6000000	4532857	641922
Jumlah Eritrosit EDTA <i>vacutainer</i>	2450000	6070000	4551000	635683
Jumlah Leukosit EDTA konvensional	3660	16600	7607	2154
Jumlah Leukosit EDTA <i>vacutainer</i>	3750	17100	7647	2151
Jumlah Trombosit EDTA konvensional	32400	562000	264920	83438
Jumlah Trombosit EDTA <i>vacutainer</i>	30600	570000	270545	84340

Pada tabel 2 dapat dilihat : Jumlah eritrosit EDTA konvensional didapatkan jumlah terendah = 2440000/mm³, jumlah tertinggi = 6000000/mm³, rerata = 4532857/mm³, simpang baku = 641922/mm³, jumlah eritrosit EDTA *vacutainer* jumlah terendah = 2450000/mm³, jumlah tertinggi = 6070000/mm³, rerata = 4551000/mm³,

simpang baku = $635683/\text{mm}^3$, jumlah leukosit EDTA konvensional jumlah terendah = $3660/\text{mm}^3$, jumlah tertinggi = $16600/\text{mm}^3$, rerata = $7607/\text{mm}^3$, simpang baku = $2154/\text{mm}^3$, jumlah leukosit EDTA *vacutainer* jumlah terendah = $3750/\text{mm}^3$, jumlah tertinggi = $17100/\text{mm}^3$, rerata = $7647/\text{mm}^3$, simpang baku = $2151/\text{mm}^3$, jumlah trombosit EDTA konvensional jumlah terendah = $32400/\text{mm}^3$, jumlah tertinggi = $562000/\text{mm}^3$, rerata = $264920/\text{mm}^3$, simpang baku = $83438/\text{mm}^3$, jumlah trombosit EDTA *vacutainer* jumlah terendah = $30600/\text{mm}^3$, jumlah tertinggi = $570000/\text{mm}^3$, rerata = $270545/\text{mm}^3$, simpang baku = $84340/\text{mm}^3$

Nilai rerata jumlah eritrosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah eritrosit EDTA *vacutainer*, nilai rerata jumlah leukosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah leukosit EDTA *vacutainer*, nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah trombosit EDTA *vacutainer*.

4.2 Uji Normalitas Data

Setelah dideskripsikan kemudian dilakukan uji normalitas data, untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak normal (tabel 3) :

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

	Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$)		
	Statistik	df	Sig.
Jumlah Eritrosit EDTA konvensional	.062	70	.200*
Jumlah Eritrosit EDTA <i>Vacutainer</i>	.062	70	.200*
Jumlah Leukosit EDTA konvensional	.109	70	.040
Jumlah Leukosit EDTA <i>Vacutainer</i>	.088	70	.200*
Jumlah Trombosit EDTA konvensional	.107	70	.044
Jumlah Trombosit EDTA <i>Vacutainer</i>	.079	70	.200*

Dapat dilihat pada tabel 3 data Jumlah eritrosit EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer* berdistribusi normal, data jumlah leukosit dan trombosit EDTA konvensional berdistribusi tidak normal, data jumlah leukosit dan trombosit EDTA *vacutainer* berdistribusi data yang normal.

4.3 Perbedaan Jumlah Eritrosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA *Vacutainer*

Analisis data jumlah eritrosit menggunakan *paired t test* karena data berdistribusi normal. Setelah dilakukan uji *paired t test* didapatkan hasil : $t = - 0,974$ $p = 0,333$, hal ini berarti jumlah eritrosit EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer* tidak terdapat perbedaan yang bermakna, walaupun demikian pada tabel 2 dapat dilihat nilai rerata jumlah eritrosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan nilai rerata jumlah eritrosit EDTA *vacutainer*. Hal ini kemungkinan disebabkan

perbandingan volume EDTA dengan darah yang tidak tepat. Menurut teori hasil rendah jumlah eritrosit akibat ketidaktepatan perbandingan volume EDTA dengan darah karena volume EDTA yang berlebihan yang menyebabkan pengerutan dan perubahan degeneratif eritrosit oleh karena EDTA bersifat hiperosmolar, sehingga menyebabkan penurunan jumlah eritrosit karena tidak terhitung oleh alat penghitung elektronik.^{5,18,28}

4.4 Perbedaan Jumlah Leukosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA *Vacutainer*

Analisis data jumlah leukosit menggunakan *wilcoxon signed ranks test* karena data jumlah leukosit EDTA konvensional berdistribusi tidak normal. Setelah dilakukan uji *wilcoxon signed ranks test* didapatkan hasil : $z = -1,481$ $p = 0,139$, hal ini berarti jumlah leukosit EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer* tidak terdapat perbedaan yang bermakna, walaupun demikian pada tabel 2 dapat dilihat nilai rerata jumlah leukosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan nilai rerata jumlah leukosit EDTA *vacutainer*. Hal ini kemungkinan perbandingan volume EDTA dengan darah yang tidak tepat. Menurut teori hasil rendah jumlah leukosit akibat ketidaktepatan perbandingan volume EDTA dengan darah karena volume EDTA yang berlebihan sehingga menyebabkan perubahan morfologi neutrofil yaitu pembengkakan, hilangnya lobus neutrofil dan sel akan mengalami disintegrasi yang menyebabkan penurunan jumlah leukosit oleh karena tidak terhitung oleh alat penghitung elektronik.^{5,18,28}

4.5 Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan EDTA Konvensional Dengan EDTA Vacutainer

Analisis data jumlah trombosit EDTA menggunakan *wilcoxon signed ranks test* karena data jumlah trombosit EDTA konvensional berdistribusi tidak normal. Setelah dilakukan uji *wilcoxon signed ranks test* didapatkan hasil : $z = -3,467$ $p = 0,001$, hal ini berarti jumlah trombosit EDTA konvensional dan EDTA *vacutainer* terdapat perbedaan yang bermakna dan pada tabel 2 dapat dilihat adanya perbedaan nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional dengan jumlah trombosit EDTA *vacutainer*, diperoleh nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan nilai rerata jumlah trombosit EDTA *vacutainer*. Hal ini kemungkinan disebabkan perbandingan volume EDTA dengan darah yang tidak tepat. Menurut teori hasil rendah jumlah trombosit akibat ketidaktepatan perbandingan volume EDTA dengan darah, dapat disebabkan karena volume EDTA yang berlebihan atau kurang dari dosis yang dibutuhkan. Melihat penurunan jumlah eritrosit dan leukosit EDTA konvensional yang kemungkinan disebabkan karena volume EDTA yang berlebihan, penurunan jumlah trombosit EDTA konvensional kemungkinan juga disebabkan oleh karena volume EDTA berlebihan, yang secara teori dapat menyebabkan trombosit membengkak kemudian terjadi disintegrasi yang membentuk fragmen dalam ukuran yang lebih kecil dari ukuran trombosit sehingga tidak terhitung oleh alat penghitung elektronik, sehingga terjadinya penurunan jumlah trombosit. ^{5,10,12,18,28,35,36}

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. SIMPULAN

- 5.1.1. Rerata jumlah eritrosit EDTA konvensional $4532857/\text{mm}^3 \pm 641922/\text{mm}^3$
- 5.1.2. Rerata jumlah eritrosit EDTA *vacutainer* $4551000/\text{mm}^3 \pm 635683/\text{mm}^3$
- 5.1.3. Rerata jumlah leukosit EDTA konvensional $7607/\text{mm}^3 \pm 2154/\text{mm}^3$
- 5.1.4. Rerata jumlah leukosit EDTA *vacutainer* $7647/\text{mm}^3 \pm 2151/\text{mm}^3$
- 5.1.5. Rerata jumlah trombosit EDTA konvensional $264920/\text{mm}^3 \pm 83438/\text{mm}^3$
- 5.1.6. Rerata jumlah trombosit EDTA *vacutainer* $270545/\text{mm}^3 \pm 84340/\text{mm}^3$
- 5.1.7. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan jumlah eritrosit EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 5.1.8. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan jumlah leukosit EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.
- 5.1.9. Terdapat perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan jumlah trombosit EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*.

5.2. SARAN

- 5.2.9. Untuk penghitungan jumlah trombosit dengan menggunakan alat hitung elektronik sebaiknya memakai EDTA *vacutainer*.
- 5.2.10. Untuk penghitungan jumlah eritrosit dan leukosit dengan menggunakan alat hitung elektronik masih dapat digunakan EDTA konvensional.

BAB VI

RINGKASAN

Laboratorium klinik sebagai penunjang diagnosis, dituntut untuk dapat memberikan hasil yang akurat. Rangkaian pemeriksaan laboratorium yang meliputi preanalitik, analitik dan post analitik merupakan tahapan yang penting. Tahapan Preanalitik pemeriksaan laboratorium yang diantaranya meliputi pengambilan bahan pemeriksaan dan penanganannya termasuk pemberian antikoagulan merupakan hal yang mutlak harus diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang baik.

Untuk pemeriksaan hematologi dipakai EDTA dengan dosis $1,50 \pm 0,25$ mg/ml darah. Pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit sangat dipengaruhi ketepatan perbandingan pemberian dosis EDTA dengan volume darah, bila perbandingan pemberian EDTA dengan darah tidak tepat maka akan memberikan hasil tidak sesuai dengan kenyataan.

Na_2EDTA dalam bentuk serbuk atau larutan (EDTA konvensional) masih banyak digunakan di berbagai laboratorium. Dosis yang digunakan adalah 1,5 mg Na_2EDTA /ml darah. Pembuatan larutan Na_2EDTA serta ketepatan dosis sangat tergantung keterampilan, ketelitian petugas laboratorium karena dapat menyebabkan variasi hasil.

Tabung *vacutainer* yang sudah berisi antikoagulan diantaranya K_3EDTA 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.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui perbedaan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit pada pemberian antikoagulan EDTA konvensional dengan EDTA *vacutainer*. Sedangkan manfaat penelitian yang diharapkan adalah dapat memberikan informasi pimpinan dan petugas laboratorium untuk mempertimbangkan pilihan terhadap antikoagulan EDTA pada sampling untuk pemeriksaan jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit.

Rancangan penelitian yang dipakai adalah deskriptif analitik dengan pendekatan belah lintang. Bidang ilmu yang diteliti ialah bidang Ilmu Patologi Klinik dengan titik berat pada cabang hematologi khususnya pada tahap pre analitik, sedangkan tempat penelitian dilakukan di Laboratorium sub divisi Patologi Klinik RS Dr Kariadi Semarang yang dilakukan pada bulan bulan desember 2004 sampai dengan Pebruari 2005. Kriteria inklusi : pasien Dewasa, darah tidak membeku, darah harus 3 ml untuk tabung dengan EDTA konvensional, darah mengalir ke dalam tabung *vacutainer* dengan lancar sampai berhenti secara otomatis bila mencapai 3 ml. Kriteria eksklusi : *flagging* pada eritrosit, leukosit dan trombosit pada hasil pemeriksaan dengan *automated haematology analyzer*

Besar sampel penelitian ini adalah 70 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pemeriksaan Jumlah eritrosit, leukosit dan Trombosit menggunakan alat *automated haematology analyzer Cell-Dyn 3700*.

Nilai rerata jumlah eritrosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah eritrosit EDTA *vacutainer*, tetapi secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna.

Nilai rerata jumlah leukosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata jumlah leukosit EDTA *vacutainer* tetapi secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna.

Nilai rerata jumlah trombosit EDTA konvensional lebih rendah dibandingkan nilai rerata jumlah trombosit EDTA *vacutainer* dan secara statistik terdapat perbedaan bermakna, hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena volume EDTA yang berlebihan sehingga menyebabkan trombosit membengkak kemudian terjadi disintegrasi yang membentuk fragmen dalam ukuran yang lebih kecil dari ukuran trombosit sehingga tidak terhitung oleh alat penghitung elektronik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brown BA. Hematology : principles and procedures. 4th ed. Philadelphia : Lea and Febiger, 1984 : p 9, 33-6, 59-61
2. Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 4th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1996 : p 33-5.
3. Adipireno P. Sampling Pada Pemeriksaan Darah Merah dan Mikroskopis Urin. Dalam : Seminar Pemeriksaan Preparat Darah Tepi dan Mikroskopis Urin, Ikatan Laboratorium Klinik Indonesia Jawa Tengah. Semarang, 1995.
4. Gandasoebrata R. Penuntun Laboratorium Klinik edisi ke-9. Jakarta : PT Dian Rakyat, 1999 : p 7-11.
5. Wirawan R. Kualitas Pelayanan Laboratorium Patologi Klinik Dalam Era Globalisasi. Dalam : Pemantapan Kualitas Hematologi Sebagai Model, Pidato Pada Upacara Pengukuhan Sebagai Guru Besar Tetap Dalam Ilmu Patologi Klinik Pada Fakultas Kedokteran UI. Jakarta, 2004.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evacuated Tubes and Additives for Blood Specimen Collection, NCCLS Document H1-A4, NCCLS. Villanova. PA, 1996.
7. Macey et al. Evaluation of the Anticoagulants EDTA and Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole (CTAD) for Assessing Platelet Activation on the

UPT-PUSTAK-UNDIP

- ADVIA 120 Hematology System. In : *Clinical Chemistry*. 2002; 48:891-9.
Available at url : <http://www.clinchem.org/cgi/content/full/48/6/891>
8. Lena A. Tech Talk. News Bulletin-Volume I, No.2. May 2002. Available at url : www.deseretmedical.com/vacutainer/pdfs/techtalk/TechTalk_May2002_VS5998.pdf
- 163k
 9. Franklin L. EDTA. In : Blood & Urine Collection. LabNotes-Volume 14, No.1, 2004. Available at url : <http://www.bd.tv/vacutainer/labnotes/2004winterspring/>
 10. Wirawan R. Pemantapan Kualitas Uji Hematologik. Jakarta : BP FKUI, 2002 : p 3-12.
 11. Wirawan R, Silman E. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana edisi ke-2. Jakarta : Balai Penerbit FKUI, 1996 : p 1-4.
 12. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Sample : from the patient to the laboratory. 1st ed. Darmstadt : Git verlag GMBH, 1996 : p 1-29.
 13. Sutrisno B. Bahan Pemeriksaan Hematologi, Cara Memperoleh dan Mempersiapkannya. Dalam : Workshop Diagnosa Hematologi. Semarang, 1987.
 14. Anonymous. Guidelines for specimen collection and identification. Asia Pacific Analyte Notes. Becton Dickinson, vol.2, no.2, November 1995.
 15. Anonymous. Characteristics of blood specimens and selected anticoagulants. Asia Pacific Analyte Notes, Becton Dickinson, vol.3, no.1, June 1997.
 16. Lewis SM. Collection and Handling of Blood. In : Dacie and Lewis Practical Haematology 9th ed. Churchill Livingstone, 2001 : p 1-8.

17. Dalimoenthe NZ. Penilaian Sediaan Hapus Darah Tepi dan Sumsum Tulang. Dalam : Kursus Penyegar Pemeriksaan Morfologi Sediaan Hapus Darah Tepi dan Sumsum Tulang. Bandung, 2002.
18. Narayana S. The Preanalytic Phase - An Important Component of Laboratory Medicine. *Am J Clin Pathol.* 2000 : 429 – 52.
19. Garewell G. Intricacies of Laboratory Haematology. In : *Haematology Today.* Mumbai : MB Agarwal, 2004 : p 1-9.
20. Fiorin F, Steffan A, Pradella P, et.al. IgG platelet antibodies in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein Iib. *Am J Clin Pathol.* 1998 : 178 – 83.
21. Hillyer CD, Knopf AN, Berkman EM. EDTA-dependent leukoagglutination. *Am J Clin Pathol.* 1998 : 458 – 61.
22. Kuhne T, Hornstein A, Semple J, Chang W, Blanchette V, Freedman J. Flow cytometric evaluation of platelet activation in blood collected into EDTA vs. Diatube-H, a sodium citrate solution supplemented with theophylline, adenosine, and dipyridamole. *Am J Hematol.* 1995 : 40 – 5.
23. Boedina SK. Pengantar Hematologi dan Imunohematologi. Jakarta : BP FKUI, 1988 : p 1-23.
24. Hoffbrand AV, Pettit JE. Alih bahasa : Darmawan I. *Essential Haematology : Kapita Selekta Haematologi edisi ke-2.* Jakarta : EGC, 1996 : p 5-14, 102-3.

25. Isbister JP, Pittiglio DH. Alih bahasa : Devy HR. Clinical Hematology, A Problem Oriented Approach : Hematologi Klinik, Pendekatan Berorientasi Masalah edisi ke-1. Jakarta : Hipokrates, 1999 : p 1-22.
26. Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests, A Synopsis of Laboratory Medicine. 5th ed. Little, Brown and Company, 1992 : p 1-6.
27. Uthman. Interpretation of Lab Test Profiles. Last update 6 January 2002. Available at url : http://www.neosoft.com/~uthman/lab_test.html.
28. International Council for Standardization in Haematology. Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for Ethylenediaminetetraacetic Acid Anticoagulation of Blood for Blood Cell Counting and Sizing. International Council for Standardization in Haematology : Expert Panel on Cytometry. Am J Clin Pathol. 1993 : 371 – 2.
29. Widmann FK. Alih bahasa : Boedina KS, Gandasoebrata R, Latu J. Clinical Interpretation of Laboratory Tests : Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratory edisi ke-9. Jakarta : EGC, 1995 : p 21, 129-30
30. Sadikin MH. Biokimia Darah edisi ke-1. Jakarta : Penerbit Widya Medika, 2002 : p 43-53.
31. Susumu I. Leukocytosis. January 24, 2002. Available at url : <http://www.emedicine.com/ped/topic1303.htm>
32. Firkin BG. Morphology of Platelet. In : Firkin BG ed. The Platelet and Its Disorder. Victoria : MTP Press Limited, 1994 : p 9-14.

33. Rusia U and Sood SK. Routine Haematological Tests in Mukherjee K.L : Medical Laboratory Technology, A Procedure Manual for Routine Diagnosis Test Vol I. New Delhi : Tata Mc Graw-Hill Publishing Co Ltd, 1998 : p 303-7.
34. Perkins SL. Examination of The Blood and Bone Marrow in Lee GR et all : Wintrobe's Clinical Hematology Vol 1. 10th ed. Philadelphia : Lippincott William & Wilkins A Wolter Kluwer Co, 1998 : p 10-19.
35. Thompson CB, Diaz DD, Quinn PG, Lapins M, Kurtz SR, Valeri CR. The role of anticoagulation in the measurement of platelet volumes. Am J Clin Pathol. 1993 : 327-32
36. Lippi U, Schinella M, Moena N, Nicoli M. Unpredictable effects of K3EDTA on mean platelet volume. Am J Clin Pathol. 1997 : 391-3
37. ABBOTT Diagnostic. Cell Dyn 3500/3700 Training manual.