

## Comparison between the Sheath Flow DC Detection Method with Platelet-Clumps Flag and Blood Smear on Thrombocyte Count [Perbandingan antara Metode Sheath Flow DC Detection disertai Platelet-Clumps Flag dengan metode Apusan Darah Tepi terhadap Jumlah Trombosit ]

Budi Setyo Julianto<sup>1)</sup>, Puspitasari<sup>1)\*</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

\*Email Penulis Korespondensi: puspitasari@umsida.ac.id

**Abstract.** *One method for measuring platelet count uses absolute counting with the sheath flow DC detection method with hydrodynamic focusing. Blood cells enveloped in sheath fluid pass through the center of an aperture. As cells pass through the center of the aperture, electrical resistance occurs that is proportional to the volume of the blood cells.. A common abnormal condition in platelet count is the presence of platelet aggregation, which results in pseudothrombocytopenia. The purpose of this study is to determine the difference between the Sheath Flow DC Detection method accompanied by the Platelet-Clumps Flag and the peripheral blood smear method in measuring platelet counts. The research design is quantitative with an experimental approach. The experiment was conducted by examining the platelet count using the sheath flow DC detection method with the Platelet-Clumps Flag at Q values of 100-200 and 300, compared to the peripheral blood smear method. The study was conducted at the Central Laboratory Installation of Dr. Saiful Anwar Hospital, with a population of inpatients who underwent examinations from May to June 2024. The number of samples used in this study was 100 samples, 50 samples with a Q value of 100-200 and 50 samples with a Q value of 300, taken using non-probability sampling through purposive sampling. Using the non-parametric Wilcoxon Signed Ranks test, Asymp. Sig=0.000, it can be concluded that there is a significant difference between the Sheath Flow DC Detection method accompanied by Platelet-Clumps Flag and the peripheral blood smear method in the platelet count.*

**Keywords -** *Sheath Flow DC Detection, Platelet-Clumps Flag, the peripheral blood smear, platelet count.*

**Abstrak.** *Trombosit adalah sel kecil tanpa inti yang berasal dari garis keturunan hematopoietik melalui megakariosit. Salah satu metode pengukuran jumlah trombosit menggunakan penghitungan absolut dengan sheath flow DC detection method with hydrodynamic focusing, sel darah yang telah terselubungi cairan melewati bagian tengah dari aperture. Saat sel melewati bagian tengah aperture akan muncul hambatan listrik yang sebanding dengan volume sel darah tersebut. Keadaan abnormal yang sering terjadi pada hitung trombosit adalah adanya platelet agregation yang mengakibatkan trombositopenia semu atau pseudothrombocytopenia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan antara metode Sheath Flow DC Detection disertai Platelet-Clumps Flag dengan metode apusan darah tepi terhadap jumlah trombosit. Desain penelitian adalah penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental. Eksperimen dilakukan melalui pemeriksaan jumlah hitung trombosit dengan metode sheath flow DC detection disertai Platelet-Clumps Flag dengan nilai Q sebesar 100-200 dan 300 dengan metode apusan darah tepi. Penelitian dilaksanakan di Instalasi Laboratorium Sentral RSUD Dr. Saiful Anwar. Populasi penelitian ini adalah pasien rawat inap yang melakukan pemeriksaan di Laboratorium Sentral RSUD Dr. Saiful Anwar Provinsi Jawa Timur mulai bulan Mei – Juli 2024. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 100 sampel, 50 sampel dengan nilai Q sebesar 100-200 dan 50 sampel dengan nilai Q sebesar 300 yang diambil menggunakan metode non probability sampling melalui purposive sampling. Uji non parametrik Wilcoxon Signed Ranks, didapatkan Asymp. Sig=0,000, sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara metode Sheath Flow DC Detection disertai Platelet-Clumps Flag dengan metode apusan darah tepi terhadap jumlah trombosit.*

**Kata Kunci –** *Sheath Flow DC Detection, Platelet-Clumps Flag, apusan darah tepi, jumlah trombosit*

## I. PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium merupakan bagian penting dalam menentukan diagnosis. Selain akurasi dan presisi, kecepatan hasil pemeriksaan laboratorium diterima pengguna atau *turn around time* menjadi tantangan laboratorium klinik [1]. Kebutuhan akan ketepatan dan kecepatan menyebabkan pemeriksaan laboratorium mengalami perkembangan dari manual menuju otomatisasi. Pengotomatisasian pemeriksaan laboratorium mencakup bidang elektronika, robotika dan metodologi pemeriksaan laboratorium [2]. Pemeriksaan hematologi meliputi, hitung jumlah eritrosit, hitung jumlah leukosit, hematokrit, hemoglobin dan hitung jumlah trombosit[3]

Trombosit terbentuk dari megakariosit di sumsum tulang. Megakariosit merupakan sel yang sangat besar dalam susunan hematopoietik dalam sumsum tulang belakang yang kemudian memecah menjadi trombosit atau keping-keping darah. Trombosit dihasilkan dengan cara fragmentasi (melepaskan diri) dari perifer sitoplasma megakariosit akibat stimulus trombopoietin [4]. Produksi trombosit dari megakariosit adalah proses yang sistematis dan teratur yang diperkirakan terjadi di sumsum tulang. Beberapa laboratorium baru-baru ini telah menunjukkan bahwa trombosit dapat terbelah menjadi beberapa trombosit fungsional yang lebih kecil dalam kondisi eksperimental tertentu dengan memanfaatkan transkripsi dalam trombosit, proses ini jarang diamati di luar kondisi terkontrol di laboratorium [5].

Salah satu metode pengukuran jumlah trombosit menggunakan penghitungan absolut dengan *sheath flow DC detection method with hydrodynamic focusing*, sel darah yang telah *terselubungi sheath fluid* melewati bagian tengah dari aperture. Saat sel melewati bagian tengah aperture akan muncul hambatan listrik yang sebanding dengan volume sel darah tersebut. Metode ini meningkatkan akurasi dengan mencegah pembentukan sinyal sel abnormal dan menghambat reproduktivitas penghitungan jumlah sel karena sel darah melewati pusat celah dalam satu arah [6].

Keadaan abnormal yang sering terjadi pada hitung trombosit adalah adanya *platelet agregation* yang mengakibatkan trombositopenia semu atau *pseudothrombocytopenia*. Trombositopenia semu adalah jumlah hitung trombosit sangat rendah atau turun dari jumlah yang seharusnya. Alat analisis hematologi menjadi salah satu faktor penyebabnya. Ditemukan adanya *platelet agregation* pada morfologi trombosit disebabkan oleh *Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA)-dependent pseudothrombocytopenia* [7]. Hematologi analyzer modern dapat menandai sampel yang dicurigai mengandung agregasi trombosit. Penanda semacam itu dimasukkan ke dalam beberapa pedoman, namun terdapat dokumentasi yang terbatas mengenai akurasi diagnostiknya [8]. Pada Sysmex XN-1000 keberadaan *platelet agregation* dapat dinilai melalui saluran *White Cell Nucleat and Normoblast (WNR)/White Cell Nucleat and Differential Cell (WDF) channel* dan atau *fluorescence flowcytometry*. Algoritma penilaian ditampilkan dalam bentuk *platelet clump flagging* [8]. *Flag* tersebut menunjukkan adanya kelainan pada morfologi trombosit dan perlu dilakukan konfirmasi dengan hitung jumlah trombosit menggunakan apusan darah tepi [9].

*Platelet clump* didefinisikan dengan setidaknya ada lima trombosit yang menempel (konsensus *the French-speaking Cellular Hematology Group (GFHC)*). Ketidakhadiran *platelet clump* harus secara eksplisit disebutkan dalam laporan hasil laboratorium. Pada trombositopenia disertai *platelet clumping* maupun tidak, pemeriksaan apusan darah yang cermat wajib dilakukan, dan seperti yang telah disebutkan, baik International Society for Laboratory Hematology maupun GFHC merekomendasikan tinjauan apusan darah ketika jumlah trombosit  $< 100 \times 10^9/L$  pada orang dewasa dan  $< 150 \times 10^9/L$  pada anak-anak, di antara kriteria lainnya [10].

Penelitian sebelumnya pada tahun 2020 dengan melibatkan 60 pasien dewasa, didapatkan hasil 48% memiliki trombositopenia sejati, sedangkan 52% memiliki trombositopenia semu. Ketika diperiksa pada apusan darah tepi didapatkan jumlah trombosit yang lebih tinggi. Penyebab trombositopenia semu adalah 42% pasien dengan *platelet clumping*, 39% pasien dengan *giant thrombocyte* dan 19% pasien dengan keduanya [11] Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui perbedaaan antara metode *sheath flow DC detection* disertai *platelet-clumps flag* dengan metode apusan darah tepi terhadap jumlah trombosit.

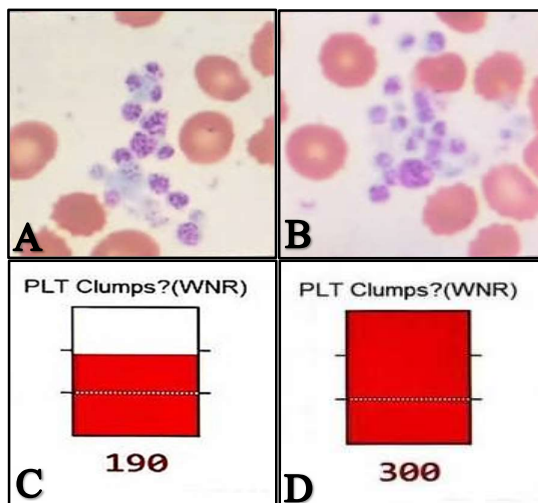
## II. METODE

Desain penelitian adalah penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental. Eksperimen dilakukan melalui pemeriksaan jumlah hitung trombosit dengan metode *Sheath Flow DC Detection* disertai *Platelet-Clumps Flag* dengan nilai Q sebesar 100-200 dan 300 dibandingkan dengan metode apusan darah tepi. Penelitian dilaksanakan di Instalasi Laboratorium Sentral RSUD Dr. Saiful Anwar. Penelitian dilaksanakan setelah mendapatkan uji laik etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Saiful Anwar nomor : 400 / 118 / K.3 / 102.7 / 2024. Populasi penelitian ini adalah pasien rawat inap yang melakukan pemeriksaan di Laboratorium Sentral RSUD Dr. Saiful Anwar Provinsi Jawa Timur mulai bulan Mei – Juli 2024. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 100 sampel, 50 sampel dengan nilai Q sebesar 100-200 dan 50 sampel dengan nilai Q sebesar 300 yang diambil menggunakan metode *non probability sampling* melalui *purposive sampling*. Sampel yang digunakan adalah sebanyak 3 ml sampel *whole blood* dengan antikoagulan EDTA. Kemudian diambil 200  $\mu L$  untuk dianalisis menggunakan *Hematology Analyzer XN2000*. Adapun kriteria sampel yaitu pasien berusia  $\geq 18$  tahun, berjenis

kelamin laki-laki dan perempuan, hasil pemeriksaan hitung trombosit disertai Platelet-Clumps Flag dengan nilai Q sebesar 100-200 dan 300. Data diuji normalitasnya menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu *wilcoxon signed rank test*.

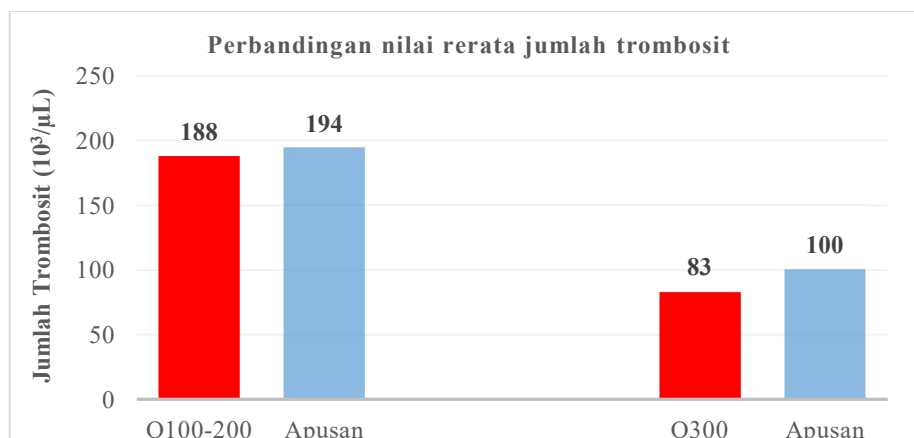
### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melibatkan 50 pasien dengan Q100-200 terdiri dari 28 perempuan dan 22 laki-laki dan 50 pasien dengan Q 300 terdiri dari 18 perempuan dan 32 laki-laki. Distribusi jumlah trombosit pada penelitian ini adalah terbanyak dengan trombosit dibawah normal sebanyak 78 (78%) sampel untuk Q100-200 dan Q300. Gambaran adanya *platelet clumping* pada apusan darah tepi dan *platelet clumping flagging* pada Hematology Analyzer XN2000 tampak seperti pada gambar 1.



Gambar 1. (A) dan (B) adalah gambaran platelet clumping pada apusan darah tepi, (C) dan (D) adalah tampilan *platelet clumping flagging* pada *hematology analyzer*

Jumlah trombosit yang mengalami *platelet clumping* terbanyak pada kondisi trombositopenia yang diinduksi oleh antikoagulan EDTA. Oleh karena pada kasus jumlah trombosit yang rendah harus diperhatikan adanya *EDTA-induced*, selain karena efek antikoagulan EDTA dapat menyebabkan agregasi trombosit dan *satellitisme*. Fenomena ini juga dimediasi secara imunologis oleh autoantibodi antitrombosit yang menyebabkan agregasi trombosit terhadap bahan antikoagulasi [7]. Data rerata hasil pemeriksaan hitung jumlah trombosit dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik perbandingan nilai rerata jumlah trombosit pada Q 100-200 dan Q 300 metode *sheath flow DC detection* dengan metode apusan darah

Dari gambar 2 didapatkan terjadi peningkatan rerata hitung trombosit sebanyak 4% pada Q100-200 dengan apusan darah tepi dan 21% pada Q300 dengan apusan darah tepi. Semakin tinggi nilai Q flag menggambarkan semakin banyak jumlah platelet clump yang terdeteksi oleh hematology analyzer. Sehingga ketika Q flag semakin tinggi maka perbedaan rerata antara metode *sheath flow DC detection* dengan metode apusan darah tepi akan semakin besar. Strategi penandaan platelet clumping didasarkan pada area di saluran *white cell nucleated* (WNR), *white blood cell differential* (WDF) dan atau *platelet-f*. Algoritma ini juga mempertimbangkan parameter seperti MicroR%, P-LCR dan jumlah trombosit. Ini mendeteksi kelainan seperti peningkatan *forward scattered light* (FSCW) di saluran WNR, WDF dan *platelet-f* (FSCW-FSC). Penandaan ini bernilai karena partikel dengan FSCW yang meningkat biasanya adalah trombosit. *Flagging platelet clumping* menunjukkan adanya trombosit berukuran besar yang tidak terhitung sehingga menurunkan jumlah trombosit yang seharusnya diperhitungkan atau trombositopenia semu [6].

Uji normalitas *kolmogorov smirnov* didapatkan  $p=0,000$  yang menunjukkan data tidak terdistribusi normal. Data yang didapatkan diuji menggunakan uji non parametrik *Wilcoxon Signed Ranks*, didapatkan Asymp. Sig= $0,000$ . Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah trombosit dengan metode *sheath flow DC detection* disertai *platelet-clumps flag nilai Q* sebesar 100-200 dan 300 dengan metode apusan darah tepi. Meskipun *hematologi analyzer* menghasilkan jumlah trombosit yang tepat namun ketepatan diragukan saat menghitung jumlah trombosit yang rendah, kelainan trombosit, gangguan dari fragmen yang mirip trombosit dan adanya *platelet clumping*. Ketika jumlah trombosit menggunakan *hematologi analyzer* rendah atau disertai *flagging*, maka perlu adanya konfirmasi menggunakan apusan darah tepi yang merupakan standar baku untuk hitung jumlah trombosit [11].

Pengukuran volumetrik trombosit menggunakan penghitungan absolut dengan metode deteksi *direct current* (DC) dengan pemfokusan hidrodinamik (HDF). Sampel yang telah diencerkan dikeluarkan dari ujung nosel dan sel-sel darah yang tertutup dalam cairan selubung melewati jalur yang ditentukan di tengah aperture, ketika setiap sel darah melewati pusat aperture, hambatan listrik sebanding dengan volume sel darah itu dibuat. Informasi ini diplot sebagai histogram, dan penyimpangan dari hasil yang diharapkan memicu *interpretive program messages*. Jumlah trombosit dihitung sebagai jumlah partikel antara dua diskriminator (*lower discriminator* (LD) dan *upper discriminator* (UD)), yang secara otomatis diatur dalam kisaran 2 - 6 fL dan 12 - 30 fl. Distribusi ukuran partikel trombosit diperiksa kelainannya, termasuk frekuensi relatif abnormal pada diskriminator bawah, lebar distribusi abnormal, dan adanya lebih dari satu puncak [12].

Penelitian sebelumnya yang dilakukan di RSUD Grati Pasuruan didapatkan bahwa antara hasil histogram trombosit disertai *IP message* dan apusan darah tepi memiliki kesesuaian sebesar 90,7 % terhadap pasien trombositopenia [13]. Sedangkan penelitian yang dilakukan di Bandung menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil hitung trombosit metode kamar hitung dan otomatis [14]. Hal tersebut disebabkan karena pada penelitian sebelumnya tidak memperhitungkan adanya *variable platelet clumping flag*. Sesuai panduan untuk melakukan pemeriksaan apusan darah tepi untuk meninjau adanya morfologi RBC atau PLT yang tidak normal, seperti: trombosit besar atau raksasa, *platelet clumping*, fragmen RBC dan mikrostitik RBC [12].

Penelitian di India menemukan bahwa ketika diperiksa pada apusan darah tepi, jumlah trombosit sebenarnya lebih tinggi daripada hasil hitung otomatis pada sebagian besar kasus trombositopenik, dengan perbedaan yang signifikan antara apusan darah tepi dan hitung otomatis (nilai  $p < 0,0001$ ) [15].

#### IV. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara metode *Sheath Flow DC Detection* disertai *Platelet-Clumps Flag* dengan metode apusan darah tepi terhadap jumlah trombosit dengan  $p=0,000$

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Kepala Instalasi Laboratorium Sentral RSUD dr. Saiful Anwar Malang beserta semua rekan-rekan yang mendukung proses penelitian ini. Demikian juga peneliti ucapkan terima kasih kepada sivitas akademik Prodi Teknologi Laboratorium Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

#### REFERENSI

- [1] Y. L. Rahmania, T. Kuntjoro, and V. Suroto, "Proving the Accuracy and Legal Liability of Clinical Laboratory Examination Results Using Automatic Tools," *SOEPRA Jurnal Hukum Kesehatan*, vol. 5, no. 2, p. 358, 2020, doi: 10.24167/shk.v5i2.2565.
- [2] C. P. Yeo and W. Y. Ng, "Automation and productivity in the clinical laboratory: Experience of a tertiary healthcare facility," *Singapore Med J*, vol. 59, no. 11, pp. 597–601, 2018, doi: 10.11622/smedj.2018136.

- [3] A. Titi Purnama, "Analisis Quality Control Pemeriksaan Hemoglobin Pada Alat Hematology Analyzer," vol. 5, no. 1, pp. 53–59, 2021.
- [4] A. Aliviameita and Puspitasari, *Modul Praktikum Hematologi 1*. Sidoarjo: Umsida Press, 2018.
- [5] M. Holinostat, "Normal platelet function," *Cancer and Metastasis Reviews*, vol. 36, no. 2, pp. 195–198, 2017, doi: 10.1007/s10555-017-9677-x.
- [6] Sysmex Europe GmbH, "XN-Series Flagging Interpretation Guide," no. April, pp. 1–41, 2022.
- [7] J. W. Wijaya, M. Adisuhanto, and G. G. Singgih, "Laporan Kasus : Pseudotrombositopenia pada Pasien Pre-Operasi A Case Report : Pseudothrombocytopenia in Pre-operative Patient," *Jurnal Kedokteran MEDITEK*, vol. 29, no. 1, pp. 49–54, 2023.
- [8] H. E. Lunde, A. N. Hjelmtvedt, and E. K. Amundsen, "The diagnostic accuracy of Sysmex XN for identification of pseudothrombocytopenia using various thresholds for definition of platelet aggregation," *Int J Lab Hematol*, vol. 44, no. 5, pp. 854–860, 2022, doi: 10.1111/ijlh.13920.
- [9] A. Gupta, P. Gupta, and B. V M, "Interpretation of Histograms and Its Correlation With Peripheral Smear Findings," *J Evol Med Dent Sci*, vol. 6, no. 60, pp. 4417–4420, 2017, doi: 10.14260/jemds/2017/955.
- [10] V. Baccini *et al.*, "Platelet counting: Ugly traps and good advice. proposals from the french-speaking cellular hematology group (gfhc)," *J Clin Med*, vol. 9, no. 3, pp. 1–27, 2020, doi: 10.3390/jcm9030808.
- [11] A. Shafi, "Comparison Of Platelet Count By Automated And Manual Methods , A Study And Review Of Literature In A Medical College Hospital In Kashmir," vol. 2, no. 4, pp. 177–188, 2020.
- [12] Sysmex Europe SE, "Xn-1000 / 2000," 2020.
- [13] D. Ayu, P. Satya, A. Handayati, and S. Arifin, "Compatibility Between Platelet Histogram with IP Message and Platelet Morphology in Thrombocytopenia Patients," *International Journal of Advanced Health Science and Technology*, pp. 335–340, 2023, doi: : <https://doi.org/10.35882/ijahst.v3i6.292>.
- [14] Y. S. Mustika, A. Oktari, and D. Mahmud, "Perbandingan Hasil Hitung Jumlah Trombosit Menggunakan Metode Manual Dan Automatic Di Klinik Dr. Fakhurrozi Depok," *Jurnal Analisis Biologi*, vol. 06, no. 02, pp. 1–5, 2022.
- [15] Ajeet Kumar Prajapati, "Comparison of platelet count by automated hematology analyzer and peripheral blood smear in thrombocytopenic patient," *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, vol. 18, no. 1, pp. 381–387, 2024, doi: 10.30574/wjbpshs.2024.18.1.0218.

**Conflict of Interest Statement:**

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.