

PERBEDAAN GARIS BAGI PADA BILIK HITUNG IMPROVED NEUBAUER TERHADAP KESESUAIAN HITUNG JUMLAH LEUKOSIT

Zidan Pramudya Sastra¹, Eva Ayu Maharani², dan Dewi Astuti³

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III,

Jawa Barat, Indonesia

E-mail : astuti_analis@yahoo.com

DOI: <https://doi.org/10.59946/jfki.2024.369>

Abstract

Leukocyte count is an examination which often carried out in clinical laboratories. Leukocyte cell can be counted using a hematology analyzer or a counting chamber for manual methods. Manual leukocyte cell counting must use a standardized counting chamber. Currently, variations of the Improved Neubauer counting chamber type have been found which has differences in the outer limits of the counting area. Standardized Improved Neubauer counting chamber has three lines on outer boundary, whereas variations of Improved Neubauer only has one line. The aim of this study was to determine whether there was a difference in the lines for the Improved Neubauer counting chamber regarding the suitability of the leukocyte count between the standard type of Improved Neubauer counting chamber and the variation type Improved Neubauer counting chamber. This research is observational analytic (Cross-Sectional) using 20 EDTA blood. Data of research showed normal distribution. Data tested using a Dependent Parametric Test (Paired T-Test) with a confidence level of 95%. The results of the Paired T-test show that the Sig (2-tailed) value is 0.000 (<0.05). The conclusion of the study was that there was a significant difference in the results of leukocyte counts between the use of standard Improved Neubauer counting chambers and the variation Improved Neubauer counting chambers. The use of a standard Improved Neubauer counting chamber is recommended than a variation of the Improved Neubauer counting chamber.

Keywords: *Leukocyte Count; Counting Room Improved Neubauer; Standard Type; Variation Type; Manual Method*

Abstrak

Pemeriksaan hitung jumlah leukosit merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan di laboratorium klinik. Pemeriksaan hitung jumlah sel leukosit dapat dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer* atau bilik hitung untuk metode manual. Penghitungan sel leukosit metode manual harus menggunakan bilik hitung yang terstandar. Saat ini, telah ditemukan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* variasi yang berbeda dari tipe yang terstandar, yaitu perbedaan pada batas terluar area hitung. Pada bilik hitung tipe standar batas terluar area hitung terdapat tiga garis sedangkan pada tipe bilik hitung variasi terdapat hanya satu garis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ada perbedaan garis bagi bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah leukosit antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi. Desain Penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu analitik observasional (*Cross-Sectional*) dengan jumlah sampel 20 darah EDTA. Hasil penelitian didapatkan data terdistribusi normal. kemudian dilakukan Uji Parametrik Dependen (*Paired T-Test*) dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji *Paired T-test* menunjukkan nilai Sig.(2-tailed) adalah 0,000 (<0.05). Simpulan penelitian terdapat perbedaan bermakna hasil hitung jumlah leukosit antara penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* standar dengan bilik hitung *Improved Neubauer* variasi. Penggunaan

bilik hitung *Improved Neubauer* standar lebih disarankan dibanding bilik hitung *Improved Neubauer* variasi.

Kata kunci: Hitung Jumlah leukosit; Bilik Hitung *Improved Neubauer*; Tipe Standar; Tipe Variasi; Metode Manual

Pendahuluan

Sel darah putih atau leukosit, merupakan salah satu bagian dari susunan sel darah manusia yang memiliki peranan utama dalam sistem imunitas dengan membunuh kuman yang masuk ke dalam aliran darah manusia. Leukosit tidak berwarna, memiliki inti, dapat bergerak secara ameboid dan dapat menembus dinding kapiler (diapedesis)¹. Leukosit dibagi menjadi lima jenis tipe berdasarkan bentuk morfologinya yaitu *basofil*, *eosinofil*, *neutrofil*, *limfosit* dan *monosit*⁵.

Hitung jumlah leukosit merupakan salah satu parameter pemeriksaan darah rutin yang dilakukan untuk membantu dalam menentukan adanya peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) atau penurunan jumlah leukosit (leukopenia) yang menjadi suatu tanda adanya infeksi atau melihat proses perjalanan penyakit, serta pengaruh pengobatan. Satuan yang digunakan dalam hitung jumlah leukosit adalah sel/mm³ atau sel/ μ L¹.

Pemeriksaan hitung jumlah leukosit umumnya dilakukan dengan alat hitung otomatis (*hematology analyzer*) menggunakan berbagai 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. tetapi pada kondisi dengan ketiadaan *hematology analyzer*, metode manual menggunakan bilik hitung masih dilakukan¹.

Alat otomatisasi memiliki banyak keunggulan, namun bukan berarti metode ini bebas kelemahan. Kelemahan metode otomatis ini adalah ketidakmampuannya dalam membedakan abnormalitas struktur sel sehingga perlu pemeriksaan yang dapat menilai bentuk sel darah secara langsung, Selain itu, metode otomatis menggunakan alat pemeriksaan yang besar dan memerlukan bahan pengencer khusus yang tentu tidak ekonomis untuk pelayanan perifer seperti puskesmas dan klinik sederhana¹.

Hitung sel leukosit metode manual menggunakan prinsip pengenceran dengan mengeliminasi sel selain leukosit dan dihitung menggunakan bilik hitung serta dikonversi dengan faktor perhitungan¹. Bilik hitung yang digunakan adalah *Improved Neubauer* yang memiliki toleransi batas kesalahan $\pm 2\%$ untuk kedalaman 0,1 mm. Oleh karena itu, alat ini digunakan untuk menghitung sel darah dengan tingkat kesalahan yang rendah. Pada bilik hitung ini memiliki area garis-garis mikroskopis berukuran 9 mm², yang terbagi menjadi 9 kotak besar (masing-masing berukuran 1 mm²). Empat kotak besar diantaranya yang terletak di pojok kiri dan kanan, atas dan bawah merupakan

area hitung leukosit dengan ketentuan batas kotak terluar yang digambarkan dengan tiga garis⁶.

Penggunaan bilik hitung yang terstandar menjadi hal mutlak yang harus dilakukan karena terkait dengan faktor perhitungan yang menjadi penentu dalam hitung jumlah leukosit¹. Oleh karena itu, pemilihan bilik hitung yang digunakan menjadi salah satu tahapan pra-analitik yang penting untuk dilakukan dengan tepat. Saat ini, terdapat tipe bilik hitung *Improved Neubauer* yang berbeda dengan bilik hitung standar. Perbedaannya yaitu pada garis terluar area hitung. Pada bilik hitung standar terdapat tiga garis terluar di area hitung leukosit sedangkan pada bilik hitung *Improved Neubauer* variasi tidak ditemukan adanya tiga garis terluar, melainkan hanya ada satu garis terluar di area hitung. Garis terluar pada area hitung menjadi penentu batas hitung jumlah leukosit yang menyentuh garis. Perbedaan model bilik hitung *Improved Neubauer* ini memungkinkan perbedaan hasil hitung jumlah leukosit. Penelitian ini akan menganalisis perbedaan hitung jumlah leukosit antara bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar (tiga garis terluar pada area hitung leukosit) dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi (satu garis terluar pada area hitung leukosit).

Metode

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian analitik observasional (*Cross-Sectional*). Data dikumpulkan menggunakan data primer dari hasil penelitian. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga bulan Juni 2024 dan dilakukan di laboratorium hematologic Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Sampel penelitian adalah 20 Mahasiswa darah EDTA Prodi Sarjana Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III tahun akademik 2024. Besar sampel dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus besar sampel analitik komparatif numerik berpasangan. Data diolah dan dideskripsikan dalam bentuk tabel dan narasi, kemudian dilakukan analisis untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan garis bagi pada bilik hitung *Improved Neubauer* terhadap hitung jumlah leukosit.

Hasil

Data hasil hitung jumlah leukosit pada kedua tipe bilik hitung *Improved Neubauer* sebagai berikut:

Tabel 1

Rata-rata, standar deviasi, rentang (minimum, dan maksimum) hitung jumlah leukosit pada metode manual antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi

No	Statistik	Bilik Hitung Tipe Standar	Bilik Hitung Tipe Variasi
1.	Rata-rata (sel/ μ L)	6.707	4.817
2.	Standar deviasi	0,775	0,378
3.	Rentang (sel/ μ L)	5.100 – 7.750	4.250 – 5.600

Berdasarkan Tabel 1 diketahui nilai rata-rata dari hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar 6.707 sel/ μ L sedangkan pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi 4.817 sel/ μ L. Nilai standar deviasi dari hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar 0,775 sel/ μ L sedangkan pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi 0,378 sel/ μ L. Nilai rentang dari hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar 5.100 – 7.750 sel/ μ L sedangkan pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi 4.250 – 5.600 sel/ μ L.

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 2
Uji Normalitas Data Menggunakan uji *Shapiro-Wilk*

Tipe Bilik Hitung	Statistik	Df	Sig.
Bilik Hitung Tipe Standar	0.931	20	0.162
Bilik Hitung Tipe Variasi	0.937	20	0.214

Pada tabel 2 hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa hasil bilik hitung tipe standar dan bilik hitung tipe variasi memiliki sebaran data yang berdistribusi normal.

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

Tipe Bilik Hitung	Sig. (2-tailed)
Pair 1 Bilik Hitung Tipe Standar - Bilik Hitung Tipe Variasi	0,000

Hasil uji *Paired T-test* menunjukkan bahwa nilai Sig.(2-tailed) adalah 0,000 (<0.05) yang berarti H_a diterima dan H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan secara signifikan antara garis bagi pada bilik hitung *Improved neubauer* terhadap kesesuaian hitung jumlah leukosit.

Pembahasan

Perhitungan sel darah secara manual menggunakan *hemocytometer* hingga saat ini masih menjadi pemeriksaan standar atau pembandingan, meskipun telah banyak dikembangkan penggunaan peralatan otomatis. Penggunaan bilik hitung yang terstandar menjadi hal mutlak yang harus dilakukan karena terkait dengan faktor perhitungan yang menjadi penentu dalam hitung jumlah leukosit¹.

Saat ini terdapat tipe bilik hitung *Improved Neubauer* variasi yang berbeda dari tipe bilik hitung *Improved Neubauer* standar. Perbedaan utamanya terletak pada jumlah garis batas terluar area hitung. Bilik hitung tipe standar memiliki tiga garis batas pada area terluar hitung leukosit sedangkan bilik hitung tipe variasi hanya memiliki satu garis batas area terluar hitung leukosit. Jumlah

garis batas terluar area yang berbeda kemungkinan dapat menimbulkan variasi hasil perhitungan jumlah leukosit.

Berdasarkan (tabel 1) nilai rata-rata jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar adalah 6.707 sedangkan nilai rata-rata jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi adalah 4.817. Hal ini menunjukkan bahwa nilai rata-rata jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar lebih tinggi dibandingkan nilai rata-rata bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi. Perbedaan nilai rata-rata yang cukup besar antara kedua tipe bilik hitung *Improved Neubauer* disebabkan karena jumlah garis yang merupakan batas pembacaan. Pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi mempunyai garis terluar lebih sedikit sehingga memungkinkan sel leukosit yang terhitung lebih sedikit dibandingkan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar.

Pada penelitian ini nilai standar deviasi lebih kecil dibandingkan nilai rata-rata. Pada (tabel 1) nilai standar deviasi bilik hitung *Improved Neubauer* standar memiliki 0,775 dan nilai standar deviasi bilik hitung *Improved Neubauer* variasi 0,378. Standar deviasi merupakan cerminan dari penyimpangan data terhadap nilai rata-rata. Jika nilai standar deviasi lebih besar dari nilai rata-rata berarti nilai rata-rata merupakan perwakilan yang buruk dari keseluruhan data tetapi jika nilai standar deviasi lebih kecil dari nilai rata-rata, menunjukkan bahwa nilai rata-rata dapat digunakan sebagai perwakilan dari keseluruhan data¹⁴.

Berdasarkan (tabel 1) nilai rentang dari hasil pemeriksaan hitung jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar 5.100 – 7.750 sel/ μ L sedangkan pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi 4.250 – 5.600 sel/ μ L. Hal ini menunjukkan bahwa nilai rentang dari kedua bilik hitung masuk ke dalam Nilai normal jumlah leukosit. Nilai normal jumlah leukosit antara 4.000 hingga 10.000 per mikroliter (μ L)

Berdasarkan hasil uji kenormalan dan uji *Paired T-test* (tabel 2 dan tabel 3) diketahui keseluruhan hasil hitung jumlah leukosit menggunakan metode manual antara tipe bilik hitung *Improved Neubauer* standar dan tipe bilik hitung *Improved Neubauer* variasi, didapatkan hasil berbeda bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa hasil hitung jumlah leukosit pada sampel normal antara bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi memiliki tingkat ketelitian yang berbeda.

Pada praktiknya, hitung jumlah leukosit metode manual kurang dapat diaplikasikan pada pelayanan laboratorium klinik rutin. Hal ini dikarenakan faktor yang menyebabkan perbedaan perhitungan sangat besar, seperti jumlah garis bagi pada bilik hitung standar dan variasi yang berbeda, tahap pemipetan, homogenisasi yang kurang tepat, penyebaran sel di kamar hitung dan waktu inkubasi. Pada penelitian ini, faktor-faktor yang menyebabkan variasi hitung leukosit diminimalisir melalui beberapa cara seperti pengerjaan duplo setelah pemeriksaan pertama selesai tanpa penundaan, pengerjaan setiap pemeriksaan dilakukan oleh satu orang untuk meminimalisir variasi, waktu antara pengambilan sampel dan tahap perhitungan jumlah leukosit tidak terlalu jauh masih dalam rentang waktu stabilitas sampel. Teknik pengambilan darah yang tepat, suhu ruangan yang konstan dan penggunaan mikroskop yang sesuai.

Bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar merupakan bilik hitung yang direkomendasikan untuk hitung jumlah leukosit metode manual, hal tersebut sudah disesuaikan dengan volume sel darah dan perhitungan faktor. Bilik

hitung *Improved Neubauer* tipe standar memiliki tampilan mikroskopik dengan garis batas yang lebih terlihat jelas, tidak samar jika dibandingkan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi. Selain itu, bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi mempunyai tampilan mikroskopik dengan garis baca tidak terlalu jelas, tidak lurus dan terdapat perbedaan ketebalan pada garisnya. Oleh karena itu pada proses pemilihan bilik hitung harus diperhatikan benar kesesuaiannya dengan bilik hitung standar, mengingat saat ini sudah ada berbagai variasi tipe standar dengan merk dagang tertentu yang menyertakan nama bilik hitung *Improved Neubauer*.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna antara bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar dan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi dengan standar deviasi dan nilai rentang hitung jumlah leukosit pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar lebih tinggi dibandingkan dengan nilai rata-rata pada bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi.

Disarankan penggunaan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe variasi dengan satu garis terluar tidak dilakukan karena adanya perbedaan garis batas terluar pada area hitung dengan bilik hitung *Improved Neubauer* tipe standar. Kesesuaian bilik hitung harus diperhatikan terkait dengan pemilihan alat dan bahan untuk hitung sel leukosit sebagai tahap pra-analitik. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan analisis hitung jumlah leukosit menggunakan sampel abnormal seperti leukositosis atau leukopenia.

Daftar Pustaka

- Dosen Teknologi Laboratorium Medik Indonesia. HEMATOLOGI: Teknologi Laboratorium Medik. Ayu Maharani E, editor. Jakarta: EGC; 2021. xvii-341.
- Risky novia rahayu. Gambaran Hitung Jumlah Leukosit Dan Immature/Total Neutrophil Ratio (I/T Ratio) Pada Neonatus Diduga Sepsis Di RSUD Dr Chasbullah Abdulmadjid Kota; 2019
- Amaniyah Muti K. Perbedaan Penggunaan Antikoagulan NaEDTA, K2EDTA Dan K3EDTA Terhadap Profil Leukosit Yang Diperiksa Dengan Hematology Analyzer. 2021
- Ariyadi T, Sukeksi A. Perbedaan Jumlah Lekosit Sampel Segera Diperiksa Dan Tunda 2 Jam Dan 4 jam Pada Pasien Lekositosis [Internet]. Available from: <http://repository.unimus.ac.id>. 2018.
- Nur M, Harjoko A, Candradewi I. Klasifikasi Sel Darah Putih Berdasarkan Ciri Warna dan Bentuk dengan Metode K-Nearest Neighbor (K-NN). Vol.6, No.2, pp. 151~162; 2016.
- Labmart. Counting Chamber for Hemacytometer, Germany (not medical device, only for professional lab use) [Internet]. Labmart. 2024 [cited 2024 May 1]. Available from: <https://mylabmart.com/shop/counting-chamber-for-hemacytometer>
- Asiyah, Nur. Perbedaan Jumlah Leukosit Sampel Segera Diperiksa Dan Tunda 2 Jam Dan 4 Jam Pada Pasien Leukositosis. Manuscript.2018
- dr.Fadli R. Tes Hematologi Rutin [Internet]. halodoc. 2022. [cited 2024 May 1]. Available from: <https://www.halodoc.com/kesehatan/tes-hematologi-rutin>

- Iverson BL, Dervan PB. Hemostasis. 2018;7823–30.
- Ayu Eva Maharani, Astuti Dewi. Buku Penuntun Praktikum Hematologi I Bagi Mahasiswa DIV. Modul.2016
- Sugiyono. Metlit Sugiyono.pdf. 2015. p. 3361.
- Astuti Dewi, Ayu Eva Maharani. Buku Penuntun Praktikum Hematologi III Bagi Mahasiswa DIV. Modul.2018
- Ahmad, Hanifa. Hubungan Hitung Neutrofil Dan Limfosit Terhadap Keparahan Penyakit Pada Pasien Covid-19 Di Rumah Sakit X Di Jawa Barat. Skirpsi. 2021
- Raflanda, Hamidah. Perbandingan Hasil Hitung Jenis Leukosit Metode Manual Dengan Metode Otomatisasi Flowsitometri. Skirpsi. 2019
- Notoatmodjo S. Metodologi penelitian kesehatan (2018) [Internet]. perpustakaan terpadu polkestama.2018p.243. [cited 2024 May 1]. Available from:http://opac.poltekkestasikmalaya.ac.id/index.php?p=show_detail&iid=3190
- Mushlih M, Rosyadi R. Buku Ajar Mata Kuliah Statistika “Aplikasi di Dunia Kesehatan”. Universitas Muhammadiyah Sidoarjo 2020. Sidoarjo. UMSIDA Press; 2020
- Sopiyudin M Dahlan. Besar Sampel Dan Cara Pengambilan Sampel Dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Edisi 3 seri evidence based medicine 2. Jakarta. 2018
- Zhang M, Lingui Gu, Zheng Peihua, Chen Zhixin, Dou Xinqi, qin Qizhong. Improvement Of Cell Counting Method For Neubauer Counting Chamber. [Internet]. Journal of Clinical laboratory Analysis/Volume 34, Issue 1/e23024 [cited 2024 june 26]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcla.23024>