

**PERBANDINGAN PEMERIKSAAN JUMLAH TROMBOSIT
METODE MANUAL DAN METODE PENCITRAAN DIGITAL PADA
KAMAR HITUNG *IMPROVED NEUBAUER*
*COMPARISON OF PLATELITE COUNT EXAMINATION USING MANUAL
METHOD AND DIGITAL IMAGING METHOD IN IMPROVED NEUBAUER
COUNTING CHAMBER***

**Riki Gusmana¹, Mohamad Firman Solihat², Betty Nurhayati³, Adang Durachim⁴,
Erick Kristian⁵**

¹Prodi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes
Bandung,

e-mail: rikigusmana@gmail.com

²Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung,

e-mail: firmanlmpoltekkesbdq@gmail.com

³Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung,

e-mail: betty.nurhayati4@gmail.com

⁴Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung,

e-mail: adangdurachim65@gmail.com

⁵Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani,

e-mail: erick.khristian@gmail.com

ABSTRACT

Platelet count examination is a crucial parameter in evaluating hemostatic function, especially in diagnosing diseases such as dengue fever. This study compares the manual method using Ammonium Oxalate reagent with the digital imaging method utilizing ImageJ software on the Improved Neubauer chamber. The research aims to evaluate the differences between these methods and compare them with the automated method (Hematology Analyzer) as the gold standard. The study employed an observational analytic design with a cross-sectional approach. Samples consisted of blood from patients undergoing complete hematology examinations at RSUD Bedas Kertasari, Bandung Regency. Results from the three methods were compared to determine accuracy, efficiency, and objectivity. The results of the study showed the quantitative distribution of platelet counts using automatic (Hematology Analyzer), manual (Ammonium oxalate) and digital imaging (ImageJ) tools obtained the average values respectively: 302,400 cells/mm³, 297,500 cells/mm³, 305,000 cells/mm³. There was no statistically significant difference in the test of platelet count examination data pairs between the automatic method (Hematology Analyzer) and the manual method (Ammonium oxalate) and between the automatic method data pairs (Hematology Analyzer) and the digital imaging method (ImageJ). While in the test of platelet count examination data pairs in the Improved Neubauer counting chamber between the manual method (Ammonium oxalate) and the digital imaging method (ImageJ) there was a statistically significant difference, but clinically the difference was still within the permissible threshold.

Keywords: *platelets, manual method, digital imaging, ImageJ, Improved Neubauer.*

ABSTRAK

Pemeriksaan jumlah trombosit merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi fungsi hemostasis, khususnya pada diagnosis penyakit seperti demam berdarah. Penelitian ini membandingkan metode manual menggunakan reagen Amonium oksalat dengan metode pencitraan digital menggunakan perangkat lunak *ImageJ* pada kamar hitung *Improved Neubauer*. Tujuan penelitian adalah untuk mengevaluasi perbedaan

hasil antara kedua metode tersebut, serta membandingkannya dengan metode otomatis (*Hematology Analyzer*) sebagai standar emas. Penelitian menggunakan desain observasional analitik dengan rancangan cross-sectional. Sampel terdiri dari darah pasien yang menjalani pemeriksaan hematologi lengkap di RSUD Bedas Kertasari Kabupaten Bandung. Hasil dari ketiga metode dibandingkan untuk menentukan tingkat akurasi, efisiensi, dan objektivitas. Hasil penelitian menunjukkan distribusi kuantitatif dari perhitungan jumlah trombosit menggunakan alat otomatis (*Hematology Analyzer*), manual (Amonium oksalat) dan pencitraan digital (*ImageJ*) didapatkan nilai rerata berturut-turut adalah : 302.400 sel/mm³, 297.500 sel/mm³, 305.000 sel/mm³. Tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik pada pengujian pasangan data pemeriksaan jumlah trombosit antara metode otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan metode manual (Amonium oksalat) dan antara pasangan data metode otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan metode pencitraan digital (*ImageJ*). Sedangkan pada pengujian pasangan data pemeriksaan jumlah trombosit pada kamar hitung Improved Neubauer antara metode manual (Amonium oksalat) dan metode pencitraan digital (*ImageJ*) terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik, namun secara klinis perbedaan tersebut masih dalam batas ambang yang diperbolehkan.

Kata Kunci: trombosit, metode manual, pencitraan digital, *ImageJ*, *Improved Neubauer*.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan darah rutin adalah komponen diagnostik penting untuk menilai kondisi kesehatan secara keseluruhan. Pemeriksaan ini menganalisis jumlah dan klasifikasi sel hematopoietik dalam organisme, termasuk eritrosit, leukosit, dan trombosit. Salah satu yang terpenting dalam pemeriksaan hematologi rutin adalah jumlah sel trombosit¹

Trombosit merupakan hasil fragmentasi sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang. Regulator utama produksi trombosit adalah hormon trombopoietin (TPO) yang di sintesis di hati dan ginjal. Trombosit berperan penting dalam sistem hemostasis untuk menghentikan perdarahan dari pembuluh darah yang terluka^{2,3}

Pemeriksaan jumlah trombosit merupakan salah satu aspek penting dalam evaluasi fungsi hemostasis, terutama dalam diagnosis penyakit seperti demam berdarah dan gangguan hematologi lainnya. Trombosit memiliki peran vital dalam proses koagulasi dan pencegahan perdarahan. Salah satu peran pemeriksaan jumlah trombosit adalah dalam menegakkan diagnosa

demam berdarah. Sekitar 400 juta kasus demam berdarah terjadi di seluruh dunia setiap tahun, yang menyebabkan sekitar 22.000 kematian setiap tahun, seperti yang dilaporkan dalam makalah penelitian tentang epidemiologi virus dengue.⁴

Sedangkan di Indonesia sendiri insiden demam berdarah telah menunjukkan fluktuasi yang signifikan selama bertahun-tahun. Dari tahun 2012 hingga 2022, tingkat kejadian / *Incidence Rate* (IR) bervariasi, dengan puncak dan terendah yang menonjol. Misalnya, pada tahun 2012, IR adalah 37,3 per 100.000 1 2 penduduk, meningkat menjadi 52,07 per 100.000 pada tahun 2022.⁵

Oleh karena itu, metode pemeriksaan jumlah trombosit harus memiliki tingkat akurasi yang tinggi untuk membantu diagnosis dan manajemen klinis pasien, terutama dalam diagnosis penyakit seperti demam berdarah dan gangguan hematologi lainnya.

Metode pemeriksaan jumlah trombosit yang umum digunakan di laboratorium adalah metode manual menggunakan reagen Amonium Oksalat dan metode otomatis dengan

Hematology Analyzer sebagai *gold standard*.⁶.

Namun, metode manual memiliki keterbatasan dalam hal subjektivitas dan tingkat kesalahan dari petugas teknisi laboratorium medis, sedangkan metode otomatis membutuhkan biaya yang lebih tinggi dan ketersediaan yang terbatas di beberapa laboratorium Kesehatan yang terletak di daerah pelosok. Sebagai alternatif, metode pencitraan digital menggunakan perangkat lunak ImageJ telah dikembangkan untuk meningkatkan akurasi dan objektivitas dalam penghitungan jumlah trombosit.⁷

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan metode manual dan metode pencitraan digital serta mengkaji keunggulan dan kelemahan dari masing-masing metode.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan cross-sectional. Sampel penelitian terdiri dari darah pasien yang menjalani pemeriksaan hematologi lengkap di RSUD Bedas Kertasari, Kabupaten Bandung.

Sampel yang di gunakan adalah darah pasien yang telah ditambahkan anti koagulan EDTA.

Prosedur penelitian:

1. Metode Otomatis (*Hematology Analyzer*):

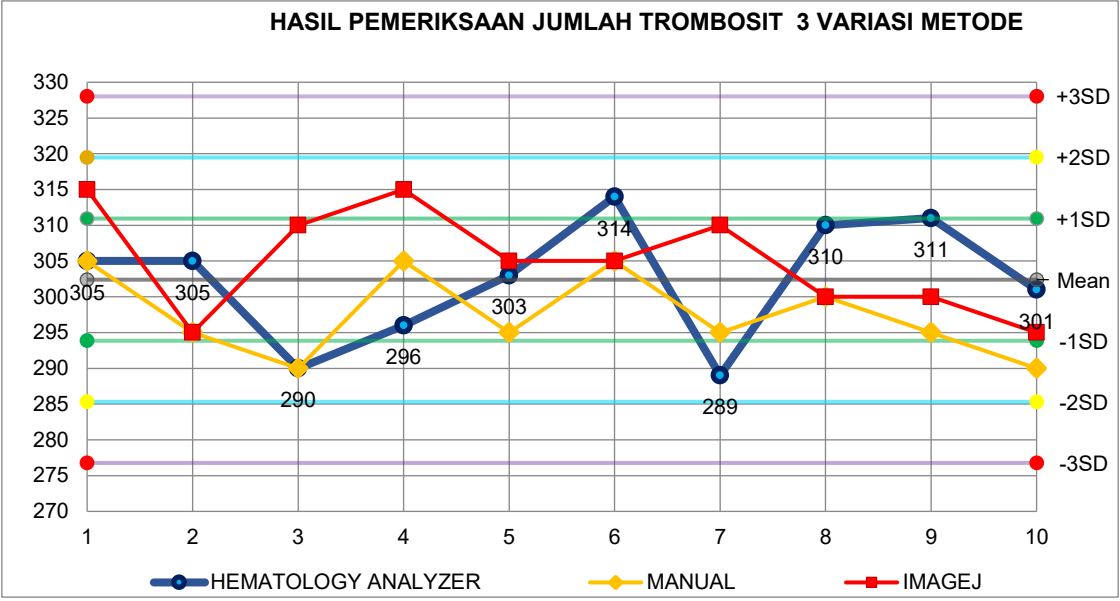
Metode ini merupakan *gold standard* dari pemeriksaan jumlah trombosit. Hasil dari pemeriksaan dari metode ini dijadikan pembandingan untuk hasil pemeriksaan dari kedua metode lainnya. Penelitian ini menggunakan alat *Hematology Analyzer* Mindray BC 5150 dengan mode CBC(*Cell Blood Count*). Sampel darah EDTA dari pasien diuji sebanyak 10 kali untuk mendapatkan 10 data jumlah trombosit.^{8, 9}

2. Metode Manual (Amonium Oksalat): Sampel darah EDTA yang telah diuji oleh metode otomatis tadi lalu diencerkan dengan larutan Amonium Oksalat 1%, lalu di masukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*, kemudian dihitung sel trombosit di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Langkah ini dilakukan sebanyak 10 kali pengulangan.^{10, 11}

3. Metode Pencitraan Digital (*ImageJ*): Pemeriksaan jumlah trombosit dengan metode pencitraan digital ini merupakan kelanjutan dari preparasi yang sudah

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Jumlah Trombosit Metode Otomatis, Metode Manual dan Metode Pencitraan Digital

No.	Hematology Analyzer (sel/mm ³)	Amonium Oksalat (sel/mm ³)	Pencitraan Digital (sel/mm ³)
1	305000	305000	315000
2	305000	295000	295000
3	290000	290000	310000
4	296000	305000	315000
5	303000	295000	305000
6	314000	305000	305000
7	289000	295000	310000
8	310000	300000	300000
9	311000	295000	300000
10	301000	290000	295000
Rata-rata	302400	297500	305000



Gambar 2. Grafik Hasil Pemeriksaan Jumlah Trombosit Metode Otomatis, Metode Manual dan Metode Pencitraan Digital

dilakukan pada pemeriksaan jumlah trombosit metode manual. Setelah pembacaan manual, lapang pandang yang terlihat di mikroskop dipotret menggunakan telepon genggam yang sudah dilengkapi adaptor agar dapat mengambil gambar memakai lensa mikroskop. Kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ untuk mendeteksi dan menghitung jumlah trombosit secara otomatis. Proses ini dilakukan dengan bantuan algoritma analisis gambar untuk meningkatkan ketepatan.^{12, 13}

Data dianalisis menggunakan uji statistik deskriptif untuk menentukan rata-rata dan standar deviasi, serta uji Paired T-test untuk melihat perbedaan signifikan antara metode yang dibandingkan.

Penelitian ini telah layak etik dengan nomor *ethical approval* No.11/KEPK/EC/XII/2024, dilaksanakan di Laboratorium RSUD Bedas Kertasari, Kabupaten Bandung.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah trombosit yang diperoleh dari masing-masing metode adalah:

- Metode Otomatis: 302.400 sel/mm³ (standar emas)
- Metode Manual: 297.500 sel/mm³
- Metode Pencitraan Digital: 305.000 sel/mm

Analisis statistik menggunakan Paired T-test menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara metode otomatis dengan metode manual maupun pencitraan digital ($p > 0,05$). Namun, terdapat perbedaan yang signifikan antara metode manual dan pencitraan digital ($p < 0,05$),

Uji Deskriptif

Berikut ini adalah data statistik deskriptif dari penelitian ini :

Tabel 2 Hasil Uji Deskriptif

Statistik Deskriptif					
Trombo sit	Rata-rata (sel/mm ³)	Standar Deviasi	Kekeliruan Standar	Minimu m (sel/mm ³)	Maksi mum (sel/mm ³)
Hemato logy Analyz er	302400	8540,10	2700,62	289000	314000
Manual (Aminiu m oksalat)	297500	5892,56	1863,39	290000	305000
Pencitr aan Digital (Image J)	305000	7453,56	2357,02	295000	315000

Uji Normalitas

Dari hasil uji normalitas yang dilakukan, hasil nilai Sig. > 0,05 untuk ketiga metode pemeriksaan jumlah trombosit. Artinya data yang diperoleh terdistribusi normal.

Tabel 3 Hasil Uji Normalitas

Pengujian Normalitas			
Statistik	Hematology Analyzer	Manual	ImageJ
Rata-rata (sel/mm ³)	302400	297500	305000
Standar Deviasi	8540,10	5892,56	7453,56
Skor Absolut	0,14	0,26	0,15
Skor Positif	0,13	0,26	0,15
Skor Negatif	-0,14	-0,20	-0,15
Kolmogorov-Smirnov	0,14	0,26	0,15
Signifikansi	0,20	0,05	0,20

Uji T Berpasangan (*Paired T-Test*)

Tabel 4. Hasil Uji T Berpasangan (*Paired T-Test*)

Pengujian Data Uji T Berpasangan (<i>Paired T-Test</i>)						
Pengujian Pasangan	Perbedaan Rata-rata	Standar Deviasi	Kekeliruan Standar	Statistik t	derajat kebebasan	Signifikansi
Hematology Analyzer - Manual	4900	8.157,48	2.579,62	1,90	9	0,09
Hematology Analyzer - ImageJ	-2600	13.647,96	4.315,86	-0,60	9	0,56
Manual - ImageJ	-7500	6.770,03	2.140,87	-3,50	9	0,01

Berdasarkan uji t berpasangan (*paired t test*) dari data-data di atas, didapatkan hasil sebagai berikut :

- Pada pengujian pasangan data Metode Otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan Metode Manual (Amonium oksalat) bisa dikatakan tidak terdapat perbedaan yang

signifikan (nilai sig = 0.09).

- Pada pengujian pasangan data Metode Otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan Metode Pencitraan Digital (*ImageJ*) tidak berbeda signifikan (nilai sig = 0.56).
- Pada pengujian pasangan data Metode Manual (Amonium oksalat) dengan Metode Pencitraan Digital (*ImageJ*) terdapat perbedaan yang signifikan (nilai sig = 0.01).

PEMBAHASAN

Dari analisa data menggunakan Uji T Berpasangan (*Paired T Test*), didapatkan bahwa ada perbedaan signifikan antara hasil pemeriksaan jumlah trombosit Metode Manual (Amonium oksalat) dengan Metode Pencitraan Digital (*ImageJ*). Namun pada pengujian pasangan data Hematology Analyzer dengan manual dan pengujian pasangan data Hematology Analyzer dengan ImageJ tidak terdapat perbedaan signifikan diantara kedua metode tersebut (sig. > 0.05). Tidak adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antara data pemeriksaan jumlah trombosit Metode Otomatis (*Hematology Analyzer*), yang merupakan gold standard dengan Metode Pencitraan Digital (*ImageJ*) menunjukkan bahwa metode ini mampu memberikan hasil yang cukup baik dalam pemeriksaan jumlah trombosit. Adanya perbedaan signifikan secara statistik pada Uji T Berpasangan (*Paired T Test*) antara hasil data metode manual dan metode pencitraan digital, dapat disebabkan karena hasil rerata metode manual cenderung lebih rendah dari rerata hasil metode otomatis (*Hematology Analyzer*) yang merupakan gold standard untuk pemeriksaan jumlah trombosit.

Ini sesuai dengan penelitian dari Anwar pada tahun 2024 yang menunjukkan hasil pemeriksaan jumlah trombosit dengan metode manual (Amonium oksalat) menghasilkan jumlah trombosit rata-rata secara signifikan lebih rendah daripada metode

otomatis, menunjukkan perbedaan yang mencolok.¹⁴

Sedangkan rerata hasil metode pencitraan digital cenderung lebih tinggi, sehingga jika di bandingkan antara kedua metode ini menghasilkan rentang rerata 45 yang cukup jauh. Sehingga ini menjadikan perbedaan yang cukup signifikan secara statistik antara kedua metode tersebut. Meskipun begitu, jika masing-masing metode tersebut di Uji T Berpasangan (*Paired T Test*) terhadap metode *gold standard* (*Hematology Analyzer*), maka keduanya tidak memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik (lihat Tabel 4).

Ketika suatu perbandingan data dari dua metode pemeriksaan dinyatakan memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik, maka perlu dilanjutkan dengan pemeriksaan apakah perbedaan yang signifikan secara statistik tersebut berpengaruh secara klinis. Maka diperlukan perhitungan bias dari data tersebut.

Dari hasil perhitungan nilai bias dari perbandingan data hasil pemeriksaan jumlah trombosit metode manual dan metode pencitraan digital ini adalah 2,5 %. Sedangkan dikutip dari laman <https://westgard.com>, nilai bias yang masih diperbolehkan untuk jumlah pemeriksaan trombosit ini adalah hingga 5,9%.¹⁵ Maka nilai bias dari perbandingan data hasil pemeriksaan jumlah trombosit metode manual dan metode pencitraan digital ini masih dalam batas ambang yang di perbolehkan. Karena itu dapat disimpulkan bahwa meskipun ada perbedaan signifikan secara statistik antara data hasil pemeriksaan jumlah trombosit metode manual (Amonium oksalat) dengan metode pencitraan digital (*ImageJ*), tetapi secara klinis perbedaan tersebut masih dalam batas ambang yang diperbolehkan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah di lakukan oleh penulis, serta dari hasil pengolahan data statistik,

maka dapat disimpulkan :

1. Distribusi kuantitatif dari perhitungan jumlah trombosit menggunakan alat otomatis (*Hematology Analyzer*), didapatkan nilai rerata 302.400 sel/mm³
2. Distribusi kuantitatif dari perhitungan jumlah trombosit secara manual (Amonium oksalat), didapatkan nilai rerata 297.500 sel/mm³
3. Distribusi kuantitatif dari perhitungan jumlah trombosit menggunakan metode pencitraan digital (*ImageJ*) pada kamar hitung *Improved Neubauer*, didapatkan nilai rerata 305.000 sel/mm³
4. Tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik pada pengujian pasangan data pemeriksaan jumlah trombosit antara metode otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan metode manual (Amonium oksalat) dan antara pasangan data metode otomatis (*Hematology Analyzer*) dengan metode pencitraan digital (*ImageJ*). Sedangkan pada pengujian pasangan data pemeriksaan jumlah trombosit pada kamar hitung *Improved Neubauer* antara metode manual (Amonium oksalat) dan metode pencitraan digital (*ImageJ*) terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik, namun secara klinis perbedaan tersebut masih dalam batas ambang yang diperbolehkan.

SARAN

1. Metode pencitraan digital (*ImageJ*) dapat digunakan sebagai metode alternatif dalam pemeriksaan jumlah trombosit.
2. Dilakukan penelitian pada sampel pasien dengan diagnose trombositopeni (jumlah trombosit dibawah normal).
3. Dilakukan penelitian pada sampel pasien dengan diagnosa trombositosis (jumlah trombosit di atas normal).

DAFTAR RUJUKAN

1. Ajeet K, Kumar P, Prajapati. Comparison of Platelet Counts Estimated by Peripheral Blood Smear Examination and Automated Haematology Analyzer. *Int J Multidiscip Res.* 2023;5(6). doi:10.36948/ijfmr.2023.v05i06.10262
2. Puspitasari AA. *Buku Ajar Hematologi*. Sidoarjo: UMSIDA Press; 2019.
3. Hoffbrand AV, Moss PAH. *Kapita Selekta Hematologi*. Edisi 6. Jakarta: EGC; 2016.
4. Sudipta D, et al. Epidemiology of Dengue: Global and Indian Perspective. *J Trop Med.* 2021;15(4):230-237.
5. Meyrita M, Suwarno S, Nur NH, Hanim S, Razi NM. Tren Kejadian Dengue (Incidence Rate) dan Kematian Akibat Dengue (Case Fatality Rate) di Indonesia. *Bioscientist.* 2023;11(2). doi:10.33394/bioscientist.v11i2.9500
6. Erly W, et al. Accuracy of Manual vs Automated Platelet Counting in Hematology Laboratory. *J Clin Pathol.* 2022;75(6):456-462.
7. Breen M, et al. Digital Imaging for Platelet Analysis Using AI Algorithms. *Med Comput Imaging.* 2022;18(3):210-219.
8. Mindray Bio-medical Electronics. *Auto Hematology Analyzer BC-5150 Operator's Manual*. Shenzhen; 2020.
9. Mohamed R, Boulassel R, Al-Farsi S, Al-Hashmi S, Al Riyami H, Khan H, Alkindi S. Accuracy of Platelet Counting by Optical and Impedance Methods in Patients with Thrombocytopaenia and Microcytosis. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2015;15(4):e487-e492. doi: 10.18295/SQUMJ.2015.15.04.004
10. Nazaruddin M. *Hematologi Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC; 2019.
11. Durachim A, Astuti D. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM): Hemostatis*. Pusat Pendidikan SDM, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan SDM Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI. Jakarta; 2018.
12. Labno C. University of Chicago Integrated Light Microscopy Core. https://cpb-us-w2.wpmucdn.com/voices.uchicago.edu/dist/c/2275/files/2020/01/cell_counting_automated_and_manual.pdf. Diakses 25 Agustus 2024.
13. Kaur P, Sharma V, Garg N. Platelet count using image processing. 2016.
14. Aan Y, Yulianingsih, Anwar. Jumlah trombosit menggunakan metode amonium oksalat 1% dengan metode otomatis: penelitian komparatif. *Jurnal Kesehatan.* 2024. doi:10.32763/7af84a30.
15. Westgard QC. Desirable Biological Variation Database specifications. Diakses dari: <https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/biodatabase1.html>. [10 Januari 2025].