

PENGARUH WAKTU SIMPAN DARAH DAN JENIS ANTIKOAGULAN TERHADAP JUMLAH RETIKULOSIT PADA SUHU LEMARI ES

*EFFECT OF BLOOD STORAGE TIME AND TYPE OF ANTICOAGULANT
ON RETICULOCYTE COUNT AT REFRIGERATOR TEMPERATURE*

Wilda Noor Ayuningsih¹, Eem Hayati², Betty Nurhayati³, Ganjar Noviar⁴

^{1,2,3,4} Poltekkes Kemenkes Bandung, Prodi Teknologi Laboratorium Medis

ABSTRACT

Reticulocyte examination is a hematological examination. One of the pre-analytical stages of laboratory examination is the use of anticoagulants. The reticulocyte counts is used to assess the accuracy of the bone marrow reaction to anemia. Examination of reticulocytes uses supravital staining which can stain ribosome remnants and RNA in living reticulocyte cells. The thing that need to be considered in hematological testing are anticoagulants, the time lag after the sample is obtained until is examined, and storage. The purpose of this study was to see the effect of the anticoagulants K_2EDTA and K_3EDTA with various storage time of 0 hours, 30 hours, and 36 hours on the number of reticulocytes at refrigerator temperature. This type of research is quasi-experimental. The number of samples in this study was 1 person. Research data on the number of reticulocytes was processed statistically using the General Linear Model (GLM) method. The average data on the number of reticulocytes with K_2EDTA and K_3EDTA anticoagulants at each blood storage time, namely 0 hours 1,3%; 30 hours 0,72%; and 36 hours 0,63%. The results of the data for the time variations of 0 hours, 30 hours, and 36 hours had a sig value $0,000 < 0,05$, so it can be concluded that there is an effect of reticulocyte count with K_2EDTA and K_3EDTA anticoagulants at refrigerator temperature.

Keywords : K_2EDTA , K_3EDTA , blood storage time, reticulocyte count

ABSTRAK

Pemeriksaan retikulosit merupakan pemeriksaan hematologi. Tahap pra analitik pemeriksaan laboratorium salah satunya yaitu penggunaan antikoagulan. Jumlah retikulosit digunakan untuk menilai keakuratan respons sumsum tulang terhadap anemia. Pemeriksaan retikulosit menggunakan pewarna supravital yang dapat mewarnai sisa-sisa ribosom dan RNA dalam retikulosit yang hidup. Hal-hal yang perlu mendapat perhatian khusus saat pemeriksaan hematologi yaitu antikoagulan, waktu dari pengumpulan sampel hingga pengujian dan penyimpanan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh antikoagulan K_2EDTA dan K_3EDTA dengan variasi penyimpanan waktu yaitu 0 jam, 30 jam, dan 36 jam pada jumlah retikulosit pada suhu lemari es. Jenis penelitian ini adalah eksperimen semu. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 1 orang. Data penelitian jumlah retikulosit diolah secara statistik dengan metode *General Linear Model (GLM)*. Data rata-rata jumlah retikulosit dengan antikoagulan K_2EDTA dan K_3EDTA pada masing-masing waktu simpan darah yaitu 0 jam 1,3%; 30 jam

0,72%; dan 36 jam 0,63%. Hasil data untuk variasi waktu 0 jam, 30 jam, dan 36 jam memiliki nilai sig $0,000 < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh jumlah retikulosit dengan antikoagulan K_2 EDTA dan K_3 EDTA pada suhu lemari es.

Kata Kunci : K_2 EDTA, K_3 EDTA, waktu simpan darah, jumlah retikulosit

PENDAHULUAN

Kumpulan tes laboratorium yang dikenal sebagai tes hematologi terdiri dari beberapa pemeriksaan yaitu, hemoglobin, jumlah sel darah putih, jumlah leukosit, dan Laju Endap Darah (LED).¹ Hitung darah lengkap (*complete blood count*) meliputi pemeriksaan darah rutin beserta pemeriksaan sel darah putih dan morfologi sel, sediaan apus darah tepi (SADT), Gambaran darah tepi (GDT) morfologi darah tepi (MDT) yang meliputi pengukuran ukuran, kadar hemoglobin, anisositosis, poikilositosis, polikromasi.²

Tes retikulosit sebaiknya dilakukan segera, yaitu dalam waktu 6 jam pada suhu kamar setelah pengambilan darah vena jika sampel disimpan pada suhu kamar.³ Sementara itu, sampel dapat ditunda hingga 24 jam jika disimpan pada suhu 4°C (Gandasoebrata, 2016). Biasanya, retikulosit dalam sirkulasi perifer matang menjadi eritrosit setelah sekitar 1-2 hari.⁴

Proses maturasi eritrosit sel yang mengandung hemoglobin masih memerlukan beberapa hari untuk melepaskan sisa-sisa asam ribonukleat (RNA) setelah inti dikeluarkan. Sebagian dari proses ini berlangsung dalam sumsum tulangsebagian lagi dalam darah tepi. Pada saat proses terakhir maturasi ini, sel yang masih mengandung berbagai pecahan mitokondria organel lain disamping RNA ribosom. Sel ini disebut retikulosit yang sering dapat dibedakan dari eritrosit matang

dengan pewarnaan wright karena berukuran lebih besar dan berwarna lebih biru daripada eritrosit. Retikulum yang terdapat didalam sel ini hanya dapat dilihat dengan pewarnaan supravital, tetapi sebenarnya retikulum ini dapat juga terlihat sebagai bintik-bintik abnormal dalam eritrosit pada sediaan apus biasa.⁵

Orang dewasa sekitar 2 juta sel darah merah baru diproduksi setiap detik. Seiring dengan pematangan diperlukan waktu beberapa hari untuk sel berisi hemoglobin ini menyingkirkan RNA sitoplasma setelah nukleus dikeluarkan. Selama fase terakhir pematangan retikulosit yang berisi RNA berukuran sedikit lebih besar dari sel matang.⁶

International Council for Standardization of Hematology (ICSH) menyarankan untuk menggunakan antikoagulan K_2 EDTA. Karena K_2 EDTA berbentuk semprotan yang mengering pada dinding tabung sesuai dengan diagnosa klinis dan pengujian menggunakan teknik laboratorium, maka sampel tidak diencerkan, K_3 EDTA adalah antikoagulan cair yang berdasarkan rekomendasi klinis Tietz untuk uji laboratorium.⁷

Pemeriksaan retikulosit ada dua macam metode, yaitu metode manual dan metode flowsitometer. Hitung retikulosit sering digunakan sebagai ukuran produksi eritroid oleh sumsum tulang. Hitung retikulosit sampai saat ini masih didasarkan

pada penilaian visual terhadap sel yang diwarnai oleh atau dengan perwarna supravital yang memperlihatkan serat-serat retikulum. Hitung ini adalah penilaian semikuantitatif jumlah retikulosit.⁸

1. Metode manual

a. Incubation metode atau sediaan kering

b. Cover slip metode atau sediaan basah

2. Metode flowsitometer. Metode ini menggunakan alat hematology analyzer Metode flowcytometri menggunakan alat Hematologi Analyzer XN 1000, prinsip metode flowcytometri sampel darah EDTA dihitung berdasarkan aliran retikulosit yang diwarnai dengan zat warna fluoresens yang mengikat RNA.

Berdasarkan hasil di lapangan, khususnya laboratorium di beberapa fasilitas pelayanan tertentu terdapat hambatan yang dapat menyebabkan keterlambatan penyimpanan sampel di laboratorium, misalnya pada pasien rawat inap yang menolak diambil darahnya kembali untuk pemeriksaan tambahan dari dokter di keesokan harinya, atau pada pasien rawat inap lansia yang sulit diambil darahnya kembali.⁹ Oleh karena itu, ATLM menggunakan sampel cadangan yang disimpan di lemari es selama lebih dari 24 jam untuk memeriksa jumlah retikulosit tambahan.¹⁰

Jumlah retikulosit merupakan data dasar rutin. Sel normal muncul 1-2 hari 120 hari beredar dalam bentuk matang, sekitar 0,5% sampai 25% dari sel darah merah yang beredar. Hitung retikulosit biasanya dilaporkan sebagai presentase dari eritrosit yang beredar.¹¹

Merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan digunakan pada tahap– tahap selanjutnya. Pada

tahap ini meliputi : ketatausahaan, persiapan penderita, pengumpulan spesimen, penanganan specimen .¹²

1) Persiapan Pasien Ada beberapa sumber kesalahan yang kurang terkontrol dari proses pra analitik yang dapat mempengaruhi pemeriksaan laboratorium seperti aktivitas fisik, puasa, diet, stres, efek posisi, menstruasi, kehamilan, gaya hidup (konsumsi alkohol, rokok, kopi, obat) usia, jenis kelamin, pasca transfusi, pasca donasi, pasca operasi dan lainnya. Karena hal-hal tersebut memiliki pengaruh yang kuat terhadap beberapa pemeriksaan hematologi, maka persiapan pasien harus selalu dipertimbangkan sebelum pengambilan sampel.

2) Persiapan Pengumpulan Spesimen Spesimen yang akan diperiksa laboratorium haruslah memenuhi persyaratan jenis sesuai jenis pemeriksaan, volume mencukupi, kondisi : tidak lisis, segar/tidak kadaluarsa, pemakaian antikoagulan atau pengawet yang tepat, ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat, identitas benar sesuai data pasien.

3) Suhu dan penundaan pemeriksaan Suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan hematologi rutin. Oleh karena itu harus diperhatikan batas waktu penyimpanan dari masing-masing parameter pemeriksaan.

Tahap analitik meliputi persiapan reagen atau media, pipetasi reagen dan sampel, inkubasi, pemeriksaan serta pembacaan hasil. Tahap pasca analitik meliputi pencatatan dan pelaporan hasil (Kemenkes, 2013).

¹³

Bagian dari tahap pasca analitik meliputi :

- a. Pembacaan hasil meliputi :
penghitungan, pengukuran,
dan penilaian sudah benar
- b. Pelaporan hasil : format hasil
berisi, tidak ada transkrip,
tulisan jelas, dan tidak ada
kesalahan penulisan angka
dan satuan yang digunakan
pencantuman nilai normal,
pencantuman keterangan
yang penting bila dilakukan
pengulangan pemeriksaan,
penyampaian hasil segera
dilakukan setelah
pemeriksaan dilakukan,
mempunyai dokumen atau
arsip yang lengkap jelas dan
mudah dimengerti, disiapkan
buku ekspedisi.¹⁴

Menurut Dinda Arini, pada penelitiannya pada tahun 2016 yang

berjudul “Perbandingan Jumlah Retikulosit Sampel Yang Segera Diperiksa Dan Ditunda Selama 6 Jam”. Dari hasil penelitian tersebut diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (Arini, 2016).¹⁵

Sedangkan menurut Trifanny Nur Azizah, pada penelitiannya yang berjudul “Perbandingan Jumlah Retikulosit Segera Dan Ditunda 24, 48 Jam Pada Suhu Lemari Es” Menurut temuan penelitian, ada perbedaan substansial dalam jumlah sampel retikulosit yang dianalisa segera dan sampel yang ditunda selama 48 jam pada suhu lemari es.¹⁶

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui rata-rata retikulosit yang diperiksa pada waktu 0 jam, 30 jam, dan 36 jam, serta untuk mengetahui apakah hasil tes darah dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA terhadap jumlah retikulosit

METODE

Mengidentifikasi metode penelitian sebagai bentuk penelitian eksperimen semu. Pada penelitian ini, darah diperlakukan untuk mengubah jumlah dan jenis jumlah retikulosit dengan mengawetkan darah selama 0 jam, 30 jam, dan 36 jam dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Untuk mengetahui pengaruh variasi lama penyimpanan darah terhadap jumlah retikulosit, pengujian dilakukan dengan menggunakan sampel darah yang disimpan dalam tabung Vacutainer. *Statistica Group Comparison* adalah metodologi studi yang digunakan..

Penelitian dilakukan pada bulan April – Mei 2023, di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis..

Antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA diperiksa dengan metode mikroskopis menggunakan

pewarnaan BCB 1% untuk mengetahui perubahan waktu penyimpanan darah, dan jumlah retikulosit dalam darah diuji untuk mengetahui perubahan tersebut. Data yang digunakan dalam penelitian ini kemudian dikumpulkan dalam bentuk tabel. Pengolahan data dalam penelitian ini akan dilakukan dengan uji statistik menggunakan :

1. Uji Normalitas
2. General Linear Model (GLM) – Repeated Measures
3. Uji Friedman dan Wilcoxon

Alat-alat yang digunakan disajikan sebagai berikut:

Mikroskop, Objek glass, Tip kuning, Mikropipet, Rak tabung, Beaker glass, Tabung Vacutainer K₂EDTA 3 mL, Tabung Vacutainer K₃EDTA 3 mL, Waterbath, Lemari Es, dan Tourniquet.

Bahan-bahan yang

digunakan disajikan sebagai berikut:
Reagen Brilliant Cressyl Blue (b/v).

Tissue, Plaster, Kapas alkohol, dan Minyak imersi.

HASIL

Bahan-bahan yang digunakan disajikan sebagai berikut: Reagen Brilliant Cressyl Blue (b/v). Tissue, Plaster, Kapas alkohol, dan Minyak imersi di Laboratorium

Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung. Maka didapat hasil penelitian yang disajikan pada tabel 1.1 berikut

Tabel 1.1 Data Hasil Jumlah Retikulosit dengan Antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA pada waktu simpan darah 0 jam, 30 jam, dan 36 jam

Pengulangan	Jumlah Retikulosit (%)					
	K ₂ EDTA			K ₃ EDTA		
	0 Jam	30 Jam	36 Jam	0 Jam	30 Jam	36 Jam
1	1.5	0.9	0.7	1.1	0.8	0.7
2	1.2	0.8	0.8	1.3	0.6	0.5
3	1.1	0.6	0.6	1.5	0.7	0.6
4	1.4	0.7	0.7	1.4	0.6	0.5
5	1.3	0.6	0.6	1.2	0.9	0.6

Tabel 1.2 Hasil Uji Normalitas Antikoagulan K₂EDTA

Shapiro Wilk					
Waktu	Antikoagulan	Statistic	Df	Sig.	Keterangan
0 Jam	K ₂ EDTA	0.987	5	0.967	Distribusi Normal
30 Jam	K ₂ EDTA	0.902	5	0.421	Distribusi Normal
36 Jam	K ₂ EDTA	0.881	5	0.314	Distribusi Normal

Tabel 1.3 Hasil Uji Normalitas Antikoagulan K3EDTA

Shapiro Wilk					
Waktu	Antikoagulan	Statistic s	Df	Sig.	Keterangan
0 Jam	K ₃ EDTA	0.987	5	0.967	Distribusi Normal
30 Jam	K ₃ EDTA	0.902	5	0.421	Distribusi Normal
36 Jam	K ₃ EDTA	0.881	5	0.314	Distribusi Normal

PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian dengan didapatkan hasil rata-rata jumlah retikulosit pada antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA yang segera diperiksa (0 jam) sebanyak 1,3 % dan 1,3%, pada penyimpanan selama 30 jam pada suhu lemari es diperoleh nilai rata-rata retikulosit yaitu 0,72% dan 0,72%, dan pada penyimpanan selama 36 jam pada suhu lemari es diperoleh nilai rata-rata retikulosit sebanyak 0,68% dan 0,58%. Namun, rata-rata dari ketiga waktu penyimpanan tersebut masih dalam batas nilai normal yaitu 0,5% - 1,5%.

Hasil hitung retikulosit tersebut kemudian dilakukan Uji Normalitas darah dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA yang disimpan pada waktu segera (0 jam), 30 jam, dan 36 jam dengan nilai sig >0,05 jumlah retikulosit segera (0 jam) dan jumlah retikulosit penundaan selama 30, dan 36 jam pada suhu lemari es.

Setelah dilakukan Uji Normalitas dilanjutkan dengan Uji *General Linear Model* dengan menguji pengaruh waktu penyimpanan darah dengan

antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA pada jumlah retikulosit. Hasil data untuk variasi waktu 0 jam, 30 jam, dan 36 jam memiliki nilai Sig 0,000 < 0,05, menunjukkan adanya pengaruh hitung retikulosit dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA setelah pemeriksaan 0 jam, 30 jam, dan 36 jam sebagai hasil studi memberikan angka rata-rata tiap jam nya terjadi penurunan jumlah retikulosit, namun masih dalam batas nilai normal. Hal ini dikarenakan sesuai dengan waktu dan tempat penyimpanan yang dilakukan pada penelitian ini, darah akan berpengaruh terhadap jumlah retikulosit Maka, dapat disimpulkan destruksi sel diluar tubuh tanpa adanya produksi alami proses penghancuran sel akan lebih cepat saat melakukan pengerjaan. Ditambahkannya antikoagulan sel darah yang masih terbentuk, menghasilkan jumlah yang sedikit karena sel retikulosit sudah berubah menjadi sel eritrosit.dan RNA yang tidak terwarnai pada pewarnaan supravital sehingga tidak membentuk endapan butiran biru atau filamen. Hal tersebut selaras dengan

penelitian Trifanny Nur Azizah (2020) menyatakan bahwa pemeriksaan yang segera diperiksa dan yang ditunda selama 24 Jam, dan 48 Jam terdapat perbedaan hasil yang signifikan Hal ini menunjukkan bahwa

H₀ ditolak dan H₁ diterima, yaitu H₀ tidak berpengaruh pada berapa lama darah disimpan dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA pada jumlah retikulosit sedangkan H₁ berdampak pada berapa lama darah disimpan.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian mengenai pengaruh waktu simpan darah dengan pemeriksaan segera (0 jam) dan ditunda selama 30, dan 36 jam pada suhu lemari es dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA terhadap jumlah retikulosit yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan rata-rata jumlah retikulosit pada waktu 0 jam dengan

antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA yaitu 1,3%, pada waktu 30 jam mempunyai rata-rata 0,72%, dan waktu 36 jam mempunyai rata-rata 0,68%., serta adanya pengaruh penyimpanan dan jenis antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA terhadap pemeriksaan retikulosit yang disimpan pada suhu lemari es.

DAFTAR RUJUKAN

1. Muyasaroh NR. PEMERIKSAAN LAJU ENDAP DARAH METODE WESTERGREN MENGGUNAKAN NATRIUM SITRAT 3,8 % DAN EDTA YANG DITAMBAH NaCl 0,85%. *J Novita Anal Kesehat*. Published online 2017:1-68.
2. Trisnawati N. Pengaruh Lama Penyimpanan Darah EDTA Yang Disimpan Selama 0 Jam, 1 Jam Dan 2 Jam Dalam Lemari Es Suhu 4°C Terhadap Jumlah Eritrosit Menggunakan Metode Hematology Analyzer. 2016;(1908):1-235.
3. Desty RBE, Endang Y, Kritianingrum DY. Gambaran Jumlah Retikulosit Pada Ibu Hamil Dengan Anemia. *Insa Cendekia Vol 7*. 2019;8(1):40-46.
4. Aningrum W. Perbedaan Jumlah Pemeriksaan Retikulosit Langsung Diperiksa Dan Ditunda Selama 7 Jam. *Univ Muhammadiyah Semarang*. Published online 2009:12-42.
5. Suparyanto dan Rosad (2015). Perbedaan Hitung Retikulosit Langsung Diperiksa Dan Ditunda 7 Jam. *Suparyanto dan Rosad (2015)*. 2020;5(3):248-253.
6. Suparyanto dan Rosad (2015). Pengaruh Hemolisis Serum Terhadap Aktifitas Enzim Alanin Aminotransferase (ALT). *Suparyanto dan Rosad (2015)*. 2020;5(3):248-253.
7. Permadi DA. Perbedaan Antikoagulan K₂EDTA Dengan K₃EDTA Terhadap Nilai Hematokrit Metode Automatic. *J Anal Kesehat Univ Muhammadiyah Semarang*. Published online 2018:1-4.
8. Balam Naik, P Karunakar, 1 M Jayadev 1 and V Rahul Marshal. Pengaruh Tekanan Pemasangan Spigmomanometer Terhadap Pemeriksaan Hematokrit Pada Pengambilan Darah Vena. *J Conserv Dent* 2013.

- 2013;16(4):2013.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23956527/>
9. Andika A. *Buku Ajar Mata Kuliah Hematologi.*; 2019. doi:10.21070/2019/978-623-7578-00-0
 10. Pratiwi AA. Perbedaan Jumlah Retikulosit Sebelum dan sesudah donor darah. *Univ Muhammadiyah Semarang.* Published online 2016:5-16.
 11. Sulistyarningsih D. Perbedaan Jumlah Retikulosit Terhadap Penyimpanan Darah Edta Pada Pasien Anemia. Published online 2017:1-14.
 12. Ii BAB, Internal PM. Pra analitik. 2010;(2):6-33.
 13. Anonim. Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Darah Vena Yang Ditambah Antikoagulan Na₂EDTA, K₂EDTA, dan K₃EDTA Yang Langsung Diperiksa Dengan Metode Otomatis. Published online 2006:1-9.
 14. Junitasari D. Pengaruh Lama Penanguhan Darah EDTA Terhadap Jumlah Eritrosit. *Univ Muhammadiyah Semarang.* Published online 2017. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
 15. Arini D. Perbandingan Jumlah Retikulosit Sampel Yang Segera Diperiksa Dan Ditunda Selama 6 Jam. *Poltekkes Kemenkes Bandung.* Published online 2016. <http://repository.poltekkesbdg.info/files/original/b6a994b2dfca42571292aeca21d2b1d1.pdf>
 16. Azizah TN. Perbandingan Jumlah Retikulosit Segera Dan Ditunda 24, 48 Jam Pada Suhu Lemari ES. *Poltekkes Kemenkes Bandung.* Published online 2020. <https://repo.poltekkesbandung.ac.id/904/>