

EVALUASI HAPUSAN DARAH TEPI DARAH K₃EDTA SEGERA DI PERIKSA DAN DI TUNDA 24 JAM DALAM SUHU 2-8°C

Novi Ersanto¹⁾, Adinda Dika Infantria²⁾, Titik Sundari³⁾, Andita Ayu Mandasari⁴⁾
Siti Nur Husnul Yusmiati⁵⁾

1)Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim 2,3,4,5)Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim
Email: siti_nur_husnul@dosen.umaha.ac.id

ABSTRACT

Since specimen collection, preanalytical factors such as time and temperature could affect the peripheral blood smear morphology of erythrocytes, leukocytes, and thrombocytes. Delays are often caused by the limited number of medical personnel so work is not properly organized. This research is an observational qualitative descriptive study to determine the morphology of blood smears immediately checked and delay 24 hours at 2-8 °C. This study aims to determine the evaluation of K3EDTA venous peripheral blood smears immediately checked and delayed 24 hours at 2-8°C. From 25 K3EDTA blood samples of Maarif Hasyim Latif Sidoarjo University students, it was found that there were no changes in the morphology of erythrocytes and platelets. Meanwhile, in leukocyte cells, changes occur in the neutrophil segment and stab granules, which is the granules fade, and the leukocyte nuclei can still be identified properly, so that do not affect the examination results. In conclusion, the Evaluation of the K3EDTA Peripheral Blood Smear was immediately checked and delay 24 Hours at the temperature of 2-8 °C has no change, which is still within normal limits.

Keywords : *Blood Smear, Delayed, K3EDTA, Immediately checked*

PENDAHULUAN

Terdapat tiga tahapan pemeriksaan laboratorium, yaitu: tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Kesalahan dalam proses pemeriksaan seringkali terjadi pada tahap pra analitik dibandingkan pada tahap analitik (Lippi & Guidi, 2011). Tahap pra analitik merupakan serangkaian tahapan meliputi: persiapan pasien, proses pengambilan specimen, transportasi, penerimaan dan penyimpanan sampel, dan persiapan sampel untuk dianalisa. Kompleksitas dan kerumitan dalam pengendalian tahapan pra analitik merupakan faktor penyebab terjadinya kesalahan pada beberapa titik kritis dalam pemeriksaan (Letelier et al., 2021).

Menurut (Neogi et al., 2016) Sekitar 60% kesalahan pemeriksaan terjadi selama pra

analitik. Faktor kurangnya kuantitas specimen yang dibutuhkan dan kualitas specimen yang kurang baik menjadi penyebab utama kesalahan. Ketepatan dan kecepatan waktu dalam pemeriksaan laboratorium berpengaruh bagi kepuasan pelayanan laboratorium bagi pasien (Wankar, 2014).

Hapusan darah tepi (*Peripheral Blood Smear*) merupakan metode diagnostik yang digunakan sebagai evaluasi dan diagnosis unsur sel darah tepi seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit. Selain itu, dapat juga digunakan sebagai perilaku standar jika dokter menduga adanya tanda penyakit seperti deteksi penyakit malaria, tripanasoma, microfilaria, dan lainnya (Faradisa & Nurcahyo, 2016). Pemeriksaan hapusan darah berfungsi dalam menentukan

dan memperkirakan jumlah sel darah tepi yang tidak sesuai. Suhu dan waktu pengumpulan specimen akan mempengaruhi hasil pemeriksaan morfologi eritrosit, leukosit, trombosit ini. Berdasarkan Peng, *et al* (2001) proses penyimpanan yang tepat pada suhu 18-24°C atau pada pendingin (4-8°C) hingga 24 jam memiliki tingkat keakuratan hasil yang dapat dipercaya dalam pemeriksaan darah lengkap. Sampel darah dijaga kondisinya supaya tidak rusak dengan cara disimpan pada pendingin bertemperatur 4 °C selama beberapa jam hingga beberapa hari.

Dilakukannya penundaan pemeriksaan karena suatu alasan akan menyebabkan perubahan pada hasil uji (jumlah sel dan morfologi sel darah nya). Hal ini disebabkan karena darah memiliki sifat cepat rusak bila dibiarkan pada kondisi tidak ideal. Jumlah sel darah seperti trombosit dapat mengalami penurunan dan perubahan morfologi pabila pemeriksaan darah tidak segera dilakukan (ditunda). Meskipun demikian, penundaan pemeriksaan tetap dapat dilakukan jika sampel

disimpan pada suhu 4 – 8 °C. Pemeriksaan darah lebih baik segera dilakukan dalam waktu kurang dari 1 jam setelah proses pengambilan darah (Sujud *et al.*, 2015).

Penelitian Isti *et al.*, (2018) memperoleh bahwa berdasarkan perbedaan Waktu Penyimpanan, dilaporkan 7 sampel mengalami perubahan bentuk⁹ (morfologi) eritrosit. Gunawardena *et al.*, (2017) menyatakan bahwa apabila terjadi penundaan pemeriksaan dan penyimpanan, maka jumlah trombosit sel darah dapat berkurang serta rentan mengalami perubahan morfologi sebab terjadi pembesaran dan disintegrasi trombosit yang berkontribusi pada berkurangnya jumlah trombosit.

Pemeriksaan hapusan darah seringkali mengalami penundaan pemeriksaan umumnya karena jumlah tenaga medis yang terbatas sehingga pekerjaan tidak terorganisir dengan baik. Oleh sebab itu dilakukanlah penelitian untuk mengetahui adanya perbedaan morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit dari hasil evaluasi hapusan darah tepi K₃EDTA segera diperiksa dan ditunda 24 jam pada suhu 2-8°C.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian bersifat observasional *cross sectional* analitik. Subyek penelitian adalah Mahasiswa Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo yang diambil secara acak.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo pada Bulan April 2021.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tourniquet, Spuit 5 ml, jarum vacutainer, holder, tabung K3EDTA, hairdryer, objek *glass*, cover *glass*, pipet tetes, rak pengecetan, mikroskop, dan lemari es.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu darah pasien, kapas, alcohol 70 %, plester, *icepack*, tissue, larutan *Wright* stain, buffer phospat, air mengalir (air kran), oil imersi, dan xylol.

Metode Penelitian

Sebanyak 25 pasien yang merupakan mahasiswa dari Universitas Maarif Hasyim Latif disiapkan untuk proses pengambilan specimen. Specimen yang diperoleh untuk pemeriksaan adalah darah vena mediana cubiti. Pengambilan darah dilakukan sesuai standar operasional menggunakan *holder* dan vacutainer.

Darah K3EDTA yang sudah diperoleh dihomogenkan dengan dibolak-balik 8-10 kali kemudian diberi label dengan menuliskan ID

sampel dan jam pengambilan sampel. Darah siap diproses untuk pembuatan hapusan darah tepi. Sampel yang segera diperiksa disimpan pada suhu 35°C dan bebas matahari, sedangkan sampel yang ditunda pemeriksaannya disimpan pada lemari es suhu 2 – 8 °C selama 24 jam.

Pembuatan hapusan darah untuk pemeriksaan dilakukan sesuai dengan perlakuan sampel. Sampel darah dengan perlakuan yang segera diperiksa dibuat hapusannya dengan cat *Wright* (maksimal penundaan 30 menit pada suhu kamar). Sampel darah dengan perlakuan penundaan pemeriksaan, disimpan terlebih dahulu selama 24 jam. Darah yang disimpan diambil,

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diambil secara acak (*random sampling*) dari 25 sampel darah vena K3EDTA Mahasiswa Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo disajikan pada tabel 1, tabel 2 dan tabel 3. Parameter evaluasi pemeriksaan yang diamati meliputi evaluasi darah tepi (morfologi eritrosit, leukosit dan trombosit) yang segera di periksa dan ditunda 24 jam pada suhu 2-8 °C. Pada sampel darah K3EDTA setelah dilakukan pembuatan hapusan darah tepi dilakukan pengecatan dengan cat *Wright*.

Berdasarkan tabel 1, evaluasi hapusan darah tepi yang segera di periksa untuk pembacaan eritrosit di dapatkan hasil Anisositosis rata-rata memperoleh hasil +1, Acantosit rata-rata memperoleh hasil +3, Eliptosit rata-rata memperoleh hasil + 1, Tear drop cell rata-rata memperoleh hasil + 3. Normokrom Normositer beberapa Mikrositer ditemukan pada dua sampel. Hipokrom Anisositosis pada kode sampel dua, ditunjukkan dengan eritrosit yang berwarna pucat (hipokrom) tetapi ukuran eritrosit yang besar (Makrositer) dan kecil (Mikrositer). Normokrom Normositer Poikilositosis (Normokrom Poikilositosis) ditemukan pada semua sampel dengan warna dan ukuran

kemudian hapusan dibuat dengan pengecatan *Wright*. Evaluasi pemeriksaan dari kedua perlakuan sampel darah dilakukan di bawah pengamatan mikroskop. Evaluasi darah tepi yang diamati adalah ada tidaknya perubahan pada morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit.

Analisa data

Analisa data berupa Analisa deskriptif. Perubahan morfologi sel darah diamati secara langsung berdasarkan hasil observasi pengamatan. Hasil pengamatan dicatat dan dikelompokkan sesuai dengan perubahan morfologi sel darah yang terlihat.

eritrosit normal tetapi terdapat berbagai macam bentuk eritrosit. Hipokrom Anisositosis Poikilositosis ditunjukkan dengan eritrosit berwarna pucat tetapi terdapat ukuran eritrosit yang besar dan kecil (beberapa macam bentuk eritrosit).

Menurut (Kiswari, 2014), Normokrom Anisositosis disebabkan karena adanya anemia berat. Penurunan sintesis hemoglobin yang dapat disebabkan karena defisiensi besi gangguan system globulin, atau kelainan mitokondria yang berpengaruh pada sintesis hemoglobin, menyebabkan terbentuknya Normokrom Mikrositer Hipokrom Normositer terjadi karena kurangnya cadangan besi sehingga mengakibatkan penurunan sintesis hemoglobin. Normokrom Normositer Poikilositosis membrane eritrosit mengalami kerapuan sehingga pada saat sel darah merah melewati pembuluh darah yang paling kecil akan mengalami kerusakan.

Hasil penelitian morfologi leukosit yang segera diperiksa (Tabel 2), di dapatkan morfologi yang normal, tidak terjadi pembengkakan sel serta tidak mengalami perubahan inti sel (kromatin inti), sitoplasma (granula, vacuola), serta dinding sel. Adapun sel yang ditemukan adalah Neutrophil segmen

dan stab, Limfosit, dan Monosit. Morfologi trombosit normal, dan tidak terjadi pembengkakan sel.

Berdasarkan Tabel 1, evaluasi hapusan darah tepi yang ditunda 24 jam pada suhu 2-8°C diperoleh hasil pengamatan mikroskopis terhadap morfologi bentuk krenasi Eritrosit tidak memberikan pengaruh terhadap morfologi bentuk eritrosit, artinya semua sediaan hapusan darah tepi masih dalam keadaan baik, seperti sediaan yang segera diperiksa. Pada penundaan sampel selama 24 jam, di dapatkan hasil morfologi leukosit yaitu sel neutrophil segmen dan sel neutrophil stab,

kedua sel tersebut mengalami perubahan pada sitoplasmanya yang menjadi memudar sedikit dan ada kerusakan (tabel 2). Sedangkan pada intinya tidak terjadi perubahan bentuk maupun kromatin intinya atau normal. Pada sel limfosit dan monosit tidak terjadi perubahan pada inti dan sitoplasmanya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penundaan 24 jam pada sel leukosit tidak terjadi perubahan yang bermakna. Pada trombosit, tidak terjadi perubahan morfologi akibat agregasi trombosit dan hipogranular sehingga trombosit dikatakan masih normal (tabel 3).

Tabel 1. Eritrosit pada sampel segera diperiksa dan ditunda 24 jam

Morfologi Eritrosit	Hapusan darah segera diperiksa		Hapusan darah ditunda	
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Normokrom normositik	23	92%	23	92%
Anisositosis hipokromik	2	8%	2	8%
Poikilositosis	25	100%	25	100%
Mikrositer	2	8%	2	8%
Jumlah Sampel	25	100%	25	100%

Sel yang Ditemukan	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Akantosis	21	84%	21	84%
Burr cell	17	68%	17	68%
Eliptosis	3	12%	3	12%
Tear drop cell	22	88%	22	88%
Jumlah Sampel	25	100%	25	100%

Penelitian Gunawardena et al., (2017) memperoleh rata-rata hasil trombosit lebih rendah pada pemeriksaan sampel darah ditunda 48 jam dan disimpan pada suhu ruang bila dibandingkan dengan sampel dengan perlakuan pemeriksaan ditunda 48 jam yang disimpan dalam pendingin suhu 4°C. Rendahnya jumlah trombosit ini disebabkan karena kerentanan sampel darah yang ditambah koagulan dalam mengalami perubahan morfologi. Pada suhu ruang, trombosit akan tetap aktif bermetabolisme mengakumulasi laktat. Akumulasi tersebut dapat menyebabkan

suasana sampel menjadi lebih asam (pH 6,0 – 6,2) sehingga trombosit mengalami kerusakan. Selain itu jumlah trombosit akan berkurang karena adanya pembesaran dan disintegrasi trombosit. Dibandingkan dengan hasil penelitian, menunjukkan bahwa morfologi trombosit masih dikatakan normal sebab belum terjadi perubahan morfologi akibat adanya pembengkakan sel dan agregasi trombosit. Hal ini menandakan bahwa proses penyimpanan dan penundaan pada 24 jam dengan suhu 2-8°C tidak memberikan perubahan yang bermakna pada morfologi trombosit.

Menurut Ekanem et al., (2012) jumlah leukosit dapat dipengaruhi oleh lama waktu penundaan pemeriksaan. Jumlah sel akan semakin berkurang karena mengalami hemolisis apabila tidak segera dilakukan pemeriksaan. Proses penundaan pemeriksaan juga dapat mempengaruhi biokimia,

biomekanis dan reaksi imunologis dari sel darah. Hal ini yang kemudian mengarahkan pada kerusakan struktur atau morfologi. Konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga dapat menyebabkan gangguan tonisitas yang mengarahkan pada peristiwa hemolisis sel.

Tabel 2. Leukosit pada sampel segera diperiksa dan ditunda 24 jam

Morfologi Leukosit	Hapusan darah segera diperiksa		Hapusan darah ditunda	
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Normal	25	100%	0	0%
Neutrofil segmen tidak normal	0	0%	16	64%
Neutrofil segmen dan stab tidak normal	0	0%	10	40%
Eosinofil tidak normal	0	0%	1	4%
Limfosit normal	25	100%	9	36%
Monosit normal	25	100%	1	4%
Limfosit dan Monosit normal	25	100%	15	60%
Jumlah Sampel	25	100%	25	100%

Sel yang Ditemukan	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Neutrofil segmen	25	100%	25	100%
Neutrofil stab	10	40%	10	40%
Limfosit	24	96%	24	96%
Eosinofil	1	4%	1	4%
Monosit	15	60%	15	60%
Jumlah Sampel	25	100%	25	100%

Tabel 3. Leukosit pada sampel segera diperiksa dan ditunda 24 jam

Morfologi Trombosit	Hapusan darah segera diperiksa		Hapusan darah ditunda	
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Normal	25	100%	25	100%
Tidak Normal	0	0%	0	0%
Jumlah Sampel	25	100%	25	100%

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Sampel yang ditunda 24

jam tidak terjadi perubahan pada morfologi Eritrosit dan Trombosit sedangkan pada morfologi Leukosit terjadi perubahan sedikit

pada granula sitoplasma Neutrofil segmen dan Neutrofil stab yakni memudar sedang kromatin inti baik. Pada Limfosit dan Monosit tidak terjadi perubahan inti dan sitoplasmanya. Sehingga, evaluasi hapusan darah tepi darah k3edta segera di periksa dan di tunda 24 Jam Suhu 2-8°C tidak ada perubahan yakni masih dalam batas normal

DAFTAR PUSTAKA

- Ekanem, A. P., Udoh, A. J., & Inyang Etoh, A. P. (2012). Effect of Different Anticoagulants on Hematological Parameters of *Oreochromis niloticus*. *IJSAT*, 2(6), 17–20.
- Faradisa, I. S., & Nurcahyo, E. (2016). Aplikasi Arduino Untuk Otomatisasi Apusan Darah Tepi Dan Pengecatan Menggunakan Pewarna Giemsa. *Seniati*, 221, 221–228.
- Gunawardena, D., Jayaweera, S., Madhubhashini, G., Lokumarakkala, D., & Senanayake, S. (2017). Platelets: Still a Therapeutical Target for Haemostatic Disorders. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 31(2).
- Isti, R., Rofinda, Z. D., & Husni, H. (2018). Gambaran Morfologi Eritrosit Packed Red Cell Berdasarkan Waktu Penyimpanan Di Bank Darah RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(Supplement 2), 17. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i0.819>
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi Dan Transfusi*. Erlangga.
- Letelier, P., Guzmán, N., Medina, G., Calcumil, L., Huencho, P., Mora, J., Quiñones, F., Jara, J., Reyno, C., Farías, J. G., Belén, L. H., Brebi, P., Riquelme, I., & Martín, A. S. (2021). Workflow optimization in a clinical laboratory using lean management principles in the pre-analytical phase. *Journal of Medical Biochemistry*, 40(1), 26–32. <https://doi.org/10.5937/jomb0-26055>
- Lippi, G., & Guidi, G. C. (2011). The preanalytical phase in quality assurance. *Quality Assurance in the Pathology Laboratory: Forensic, Technical, and Ethical Aspects, October 2015*, 3–13. <https://doi.org/10.1201/b10601-3>
- Neogi, S., Mehndiratta, M., Gupta, S., & Puri, D. (2016). Pre-analytical phase in clinical chemistry laboratory. *Journal of Clinical and Scientific Research*, 5(3), 171. <https://doi.org/10.15380/2277-5706.jcsr.15.062>
- Peng, L., Yang, H., Jiang, H., Su, J., & Peng, Z. (2001). Automated reticulocyte counting using the Sysmex RAM-1. *Clinical and Laboratory Haematology*, 23(2), 97–102. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2257.2001.00365.x>
- Sujud, S., Hardiasari, R., & Nuryati, A. (2015). Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Darah EDTA Yang Segera Diperiksa dan Penundaan Selama 1 Jam di Laboratorium RSJ Grhasia Yogyakarta. *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2), 91. <https://doi.org/10.31964/mltj.v1i2.21>
- Wankar, A. (2014). Study of determination of laboratory turnaround time in tertiary care hospital in India. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 2(4), 1396. <https://doi.org/10.5455/2320-6012.ijrms20141129>