

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

#### **6.1 Karakteristik Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu 9 sampel darah dengan antikoagulan EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) dan 9 sampel darah dengan antikoagulan EDTA yang disimpan pada suhu lemari es (2–8°C). Sampel penelitian berasal dari 9 pasien dengan hasil pemeriksaan darah lengkap (*complete blood count*) sesuai dengan rentang nilai normal.

Pemeriksaan darah lengkap (*complete blood count*) dilakukan menggunakan alat *Hematology Analyzer Sysmex XP-100* yang merupakan alat analisis hematologi otomatis *3-part differential*. Prinsip analisis sel eritrosit, leukosit, dan trombosit menggunakan metode deteksi *direct current*, sedangkan prinsip analisis kadar hemoglobin menggunakan metode analisis non sianida hemoglobin dengan teknologi deteksi FR/DC dengan cara sel darah yang telah tersuspensi dilewatkan melalui *aperture* sehingga merubah resistensi *Direct Current* (DC) dan resistensi *signal* Frekuensi Radio (FR) antara kedua elektroda. Ukuran sel akan terdeteksi oleh perubahan resistensi pada arus DC, sedangkan kepadatan sel akan diukur oleh perubahan resistensi pada *signal* FR. Dengan data tersebut maka ukuran dan kepadatan sel dapat diketahui serta dianalisis distribusinya (Sysmex, 2021).

## **6.2 Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Darah EDTA pada Suhu Ruang dan Lemari Es terhadap Parameter Darah Lengkap**

### **6.2.1 Jumlah Eritrosit**

Pada penelitian ini sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) dan lemari es (2–8°C) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata jumlah eritrosit pada hari ke-0 dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5, dan 7 hari yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu penyimpanan sampel darah EDTA pada kedua suhu penyimpanan hingga 7 hari. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ramya *et al* (2020) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada jumlah eritrosit yang disimpan pada suhu ruang dan lemari es. Penelitian lain dilakukan oleh Ozmen & Ozarda (2021) yang menunjukkan bahwa sampel darah EDTA pada penyimpanan suhu lemari es (2–8°C) memberikan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit yang stabil hingga 2 hari penyimpanan. Selain itu, Rahmanitarini (2018) menunjukkan bahwa sampel darah EDTA pada penyimpanan suhu lemari es (2–8°C) memberikan hasil pemeriksaan jumlah eritrosit yang stabil hingga 4 hari penyimpanan. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ali (2017) yang menyebutkan bahwa jumlah eritrosit mulai mengalami penurunan setelah penyimpanan selama 24 jam pada suhu 4°C. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Daves *et al* (2015) menunjukkan bahwa jumlah eritrosit mengalami penurunan setelah penyimpanan 6 jam pada suhu ruang (18–24°C). Penelitian lain dilakukan oleh Pintér *et al* (2016) yang menyebutkan bahwa

jumlah eritrosit mengalami penurunan setelah penyimpanan 8 jam pada suhu ruang.

Terjadinya penurunan jumlah eritrosit setelah penyimpanan dapat disebabkan oleh adanya proses hemolisis, proses metabolisme sel, dan ketidaktepatan perbandingan antikoagulan dengan volume darah. Penyimpanan sampel darah dengan antikoagulan EDTA pada suhu ruang yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada sel eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga jumlah eritrosit mengalami penurunan. Eritrosit merupakan sel darah yang paling mudah mengalami kerusakan jika disimpan terlalu lama pada suhu yang tidak ideal (Muslim, 2015). Penyimpanan sampel darah dengan antikoagulan EDTA pada suhu lemari es dapat menghambat proses metabolisme sel diluar tubuh sehingga dapat mempertahankan keutuhan strukturnya, sedangkan penyimpanan pada suhu ruang sel darah secara aktif masih melakukan proses metabolisme walaupun sudah berada diluar tubuh sehingga dalam kurun waktu tertentu dapat mempengaruhi morfologi sel secara *invitro* diantaranya yaitu pengkerutan eritrosit sehingga jumlah eritrosit mengalami penurunan (Guyton & Hall, 2008). Perbandingan antara antikoagulan dengan volume darah harus seimbang, jika penggunaan konsentrasi antikoagulan terlalu tinggi maka dapat menyebabkan hipertonisitas plasma sehingga sel eritrosit akan menyusut karena air dalam sel akan berpindah keluar sel yang tekanan osmotiknya lebih tinggi (Afriansyah *et al.*, 2021).

Terjadinya perubahan pada jumlah sel eritrosit juga dapat mempengaruhi perubahan pada parameter indeks eritrosit kadar MCV (*Mean Corpuscular*

*Volume*) dan MCH (*Mean Corpuscular Haemoglobin*) karena berdasarkan rumus perhitungan, kadar MCV dan MCH berbanding terbalik dengan jumlah eritrosit. Indeks MCV merupakan volume rata-rata eritrosit, sedangkan indeks MCH merupakan nilai yang menunjukkan besar hemoglobin rata-rata di dalam eritrosit (Gandasoebrata, 2013).

### **6.2.2 Jumlah Leukosit**

Pada penelitian ini sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata jumlah leukosit pada hari ke-0 dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5, dan 7 hari yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu penyimpanan sampel darah EDTA pada suhu ruang hingga 7 hari penyimpanan. Sedangkan pada penyimpanan suhu lemari es (2–8°C) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh waktu penyimpanan jumlah leukosit mulai 1 hari penyimpanan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) yang menyebutkan bahwa jumlah leukosit pada suhu 2–8°C menunjukkan penurunan setelah 24 jam. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ali (2017) yang menyebutkan bahwa jumlah leukosit menunjukkan hasil yang stabil sampai 72 jam pada suhu 4°C. Penelitian lain dilakukan oleh Daves *et al* (2015) yang menyebutkan bahwa jumlah leukosit menunjukkan hasil yang stabil selama 24 jam pada suhu 4°C dan suhu ruang. Serta penelitian yang dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) yang menyebutkan bahwa jumlah leukosit pada suhu 18–24°C menurun setelah 8 jam. Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan dikarenakan adanya perbedaan lingkungan

penelitian yang mempengaruhi suhu penyimpanan serta sel leukosit tidak dapat hidup dalam jangka waktu yang lama pada penyimpanan suhu lemari es (Maharani & Noviar, 2018).

Terjadinya penurunan jumlah leukosit setelah penyimpanan dapat disebabkan oleh adanya kerusakan sel leukosit akibat penuaan sel kemudian terjadi autolisis menjadi smudge cell (Prianita, 2018). Semakin lama waktu penyimpanan sampel maka jumlah sel-sel akan semakin berkurang karena terjadinya kerusakan sel-sel atau hemolisis. Selama penyimpanan sel darah mengalami serangkaian perubahan proses biokimiawi, biomekanis, serta reaksi imunologis yang menyebabkan terjadinya kerusakan struktural atau morfologi. Penggunaan konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga mengakibatkan terjadinya gangguan tonisitas sehingga terjadi pembengkakan sel dan hemolisis (Darmadi & Permatasari, 2018).

### **6.2.3 Jumlah Trombosit**

Pada penelitian ini sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata jumlah trombosit pada hari ke-0 dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5, dan 7 hari yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu penyimpanan sampel darah EDTA pada suhu ruang hingga 7 hari penyimpanan. Sedangkan pada penyimpanan suhu lemari es (2–8°C) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh waktu penyimpanan jumlah trombosit mulai 3 hari penyimpanan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ali (2017) yang menyebutkan bahwa jumlah trombosit mengalami penurunan seiring

dengan lamanya penyimpanan pada suhu lemari es. Rahmanitarini (2018) menyebutkan bahwa terdapat pengaruh waktu penyimpanan pada suhu lemari es setelah 48 jam penyimpanan. Serta penelitian Daves *et al* (2015) yang menyebutkan bahwa jumlah trombosit menunjukkan hasil pemeriksaan yang stabil hingga 24 jam pada suhu ruang. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) yang menyebutkan bahwa terdapat pengaruh waktu penyimpanan pada suhu ruang setelah 72 jam penyimpanan serta penelitian oleh Lestari (2019) yang menyebutkan bahwa jumlah trombosit tidak stabil pada penyimpanan suhu lemari es dalam waktu 24 jam.

Waktu penyimpanan sampel darah EDTA yang terlalu lama dapat menyebabkan perubahan morfologi sel darah. Pada penyimpanan suhu lemari es, trombosit tidak dapat hidup dalam jangka waktu yang lama karena trombosit akan kehilangan fungsinya (Strobel, 2014). Pada penyimpanan yang terlalu lama trombosit akan terus aktif melakukan proses metabolisme. Hasil metabolisme tersebut yaitu akumulasi laktat dan penurunan pH. Trombosit dengan pH asam dapat menurunkan ketahanan trombosit karena trombosit melepas isi granula berupa ADP dan isi sel yang berfungsi untuk menghasilkan energi. Semakin lama waktu penyimpanan maka trombosit akan menumpuk dan membengkak kemudian pecah menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil sehingga tidak terhitung sebagai trombosit. Sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang, trombosit secara progresif akan kehilangan asam sialat di glikoprotein pada permukaan trombosit sehingga dapat mempermudah penempelan trombosit dengan trombosit lainnya

(agregasi). Selain itu, trombosit juga mempunyai sifat adhesi yang dapat mempermudah penempelan trombosit dengan benda asing sehingga hasil pemeriksaan akan mengalami penurunan. Terjadinya penurunan jumlah trombosit juga dapat dipengaruhi oleh faktor dari peneliti, yaitu kurang baiknya dalam menghomogenkan sampel. Faktor lain yang mempengaruhi yaitu penggunaan antikoagulan, jika volume terlalu sedikit maka trombosit akan membesar dan mengalami disintegrasi. Sedangkan jika volume terlalu banyak maka akan terbentuk jendalan (Lestari, 2019).

#### **6.2.4 Kadar Hemoglobin**

Pada penelitian ini sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) dan lemari es (2–8°C) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata kadar hemoglobin pada hari ke-0 dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5, dan 7 hari yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu penyimpanan sampel darah EDTA pada kedua suhu penyimpanan hingga 7 hari. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ramya *et al* (2020) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada kadar hemoglobin yang disimpan pada suhu ruang dan lemari es. Penelitian lain dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) menyebutkan bahwa kadar hemoglobin relatif stabil sampai dengan 96 jam pada kedua suhu penyimpanan. Ali (2017) menyebutkan bahwa kadar hemoglobin relatif stabil sampai 72 jam pada penyimpanan suhu 4°C. Selain itu, dalam penelitiannya Ozmen & Ozarda (2021) juga menyebutkan bahwa kadar hemoglobin menunjukkan hasil pemeriksaan yang stabil sampai 48 jam pada suhu 4°C, 10°C, dan 23°C.

Waktu penyimpanan sampel darah EDTA yang terlalu lama pada suhu ruang dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin karena eritrosit mengalami krenasi atau *echinocyte*. Krenasi merupakan bentuk eritrosit yang mengkerut serta terdapat tonjolan-tonjolan pada permukaannya. Terjadinya krenasi pada sampel darah dapat disebabkan oleh faktor intrinsik seperti berkurangnya adenosine triphosphate (ATP) atau faktor ekstrinsik seperti peningkatan pH antikoagulan. Penggunaan antikoagulan EDTA menyebabkan penurunan tegangan permukaan membran eritrosit sehingga membran eritrosit lemah dan tidak stabil kemudian eritrosit membengkak dan terbentuklah tonjolan-tonjolan pada permukaan yang menyebabkan terjadinya perubahan bentuk dari discoid menjadi *echinocyte* (Muslim, 2015).

#### **6.2.5 Kadar Hematokrit**

Pada penelitian ini sampel darah EDTA yang disimpan pada suhu ruang (18–24°C) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh waktu penyimpanan kadar hematokrit mulai 3 hari penyimpanan. Sedangkan pada penyimpanan suhu lemari es (2–8°C) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara rerata kadar hematokrit pada hari ke-0 dengan waktu penyimpanan 1, 3, 5, dan 7 hari yang berarti tidak terdapat pengaruh waktu penyimpanan sampel darah EDTA pada suhu lemari es hingga 7 hari penyimpanan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) yang menyebutkan bahwa pada suhu 18–24°C kadar hematokrit meningkat setelah 16 jam. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmanitarini (2018) yang menyebutkan bahwa

pada suhu 2–8°C kadar hematokrit meningkat setelah 48 jam. Penelitian lain dilakukan oleh Ali (2017) yang menyebutkan bahwa kadar hematokrit mulai meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan sampel pada suhu 4°C.

Terjadinya peningkatan ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu waktu penyimpanan sampel dan penggunaan antikoagulan yang terlalu sedikit kemudian menyebabkan eritrosit membesar sehingga dapat mempengaruhi kadar hematokrit dalam sampel yang semakin meningkat (Rosidah & Wibowo, 2018). Terjadinya perubahan pada kadar hematokrit juga dapat mempengaruhi perubahan pada parameter indeks eritrosit kadar MCHC (*Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration*) karena berdasarkan rumus perhitungan, kadar hematokrit berbanding terbalik dengan kadar MCHC. Indeks MCHC merupakan perhitungan rata-rata konsentrasi hemoglobin dalam eritrosit (Rahmanitarini, 2018).