

Distinction in *Differential Leukocyte Count* Results in *Whole Blood* Stored with K_3EDTA and Na_2EDTA Anticoagulants Using Manual and Automatic Methods

[Perbedaan Hasil *Differential Leukocyte Count* pada *Whole Blood* yang Disimpan dengan Antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA Menggunakan Metode Manual dan Otomatis]

Vicha Arinda Nindiyatri¹⁾, Andika Aliviameita^{1)*}

¹⁾Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Psikologi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: aliviameita@umsida.ac.id

Abstract. *Leukocyte differential count results can be influenced by pre-analytical factors, such as the type of anticoagulant and sample storage duration. The Differential Leukocyte Count (DLC) determines the percentage of specific leukocyte types—neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils, and basophils—present in the blood. This study aimed to investigate differences in DLC results for whole blood samples anticoagulated with K_3EDTA and Na_2EDTA , stored at 2–8°C, and analyzed using both automated and manual methods. A laboratory-based experimental design with a repeated-measures approach was employed. Whole blood samples were obtained from a group of healthy male subjects (aged 17–25 years) and analyzed at three time points: 0, 24, and 60 hours. Analyses were performed using an automated hematology analyzer and the manual peripheral blood smear method (microscopy). The results showed no significant differences ($p > 0.05$) in lymphocyte, MID, and granulocyte values regarding storage duration, analysis method, or anticoagulant type. It is concluded that whole blood samples anticoagulated with either K_3EDTA or Na_2EDTA and stored at 2–8°C for up to 60 hours maintain stable DLC results, despite the onset of morphological changes in the leukocytes.*

Keywords – *Differential Leukocyte Count (DLC), Whole Blood, Anticoagulan, Storage Duration, Method*

Abstrak. *Pemeriksaan hitung jenis leukosit dapat dipengaruhi oleh faktor pra-analitik, seperti jenis antikoagulan dan lama penyimpanan sampel. Differential Leukosit Count (DLC) merupakan pemeriksaan untuk menentukan persentase masing-masing jenis leukosit dalam darah, meliputi neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil DLC pada whole blood dengan antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA yang disimpan pada suhu 2–8°C menggunakan metode otomatis dan manual. Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan rancangan repeated measures. Sampel berupa whole blood dengan kelompok responden berdasarkan kriteria inklusi, yaitu laki-laki berusia 17–25 tahun, dalam kondisi sehat yang diperiksa pada waktu 0 jam, 24 jam, dan 60 jam. Pemeriksaan dilakukan menggunakan metode otomatis dengan Hematology Analyzer dan metode manual dengan hapusan darah tepi menggunakan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada nilai limfosit, mid cell, dan granulosit berdasarkan faktor lama penyimpanan, metode pemeriksaan dan jenis antikoagulan. Disimpulkan bahwa penyimpanan whole blood menggunakan K_3EDTA maupun Na_2EDTA yang disimpan pada suhu 2–8°C hingga 60 jam masih mempertahankan stabilitas hasil DLC, meskipun mulai terjadi perubahan morfologi leukosit.*

Keywords – *Differential Leukocyte Count (DLC), Whole Blood, Antikoagulan, Lama Penyimpanan, Metode*

I. PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium berfungsi sebagai penunjang dalam menegakkan diagnosis berbagai penyakit, menentukan prognosis, serta memantau perkembangan dan respons terapi pasien. Salah satu pemeriksaan laboratorium yang paling sering dilakukan adalah pemeriksaan hematologi, khususnya pemeriksaan darah lengkap, yang mencakup berbagai parameter sel darah. Secara umum, pemeriksaan laboratorium ini menggunakan sampel *whole blood* dengan antikoagulan [1].

Ethylene Diamine Tetracetic Acid (EDTA) merupakan antikoagulan yang umum digunakan dalam pemeriksaan hematologi. EDTA bekerja dengan mengikat kalsium bebas sehingga mencegah pembekuan darah. Jenis EDTA yang sering digunakan yaitu K_2EDTA , K_3EDTA , dan Na_2EDTA [2]. Na_2EDTA merupakan antikoagulan konvensional berbentuk serbuk yang banyak digunakan dalam pemeriksaan hematologi dengan konsentrasi 1,4–2,0 mg/mL darah. Namun, penggunaan Na_2EDTA yang berlebihan dapat menyebabkan perubahan morfologi leukosit [3]. Antikoagulan

ini bekerja mencegah pembekuan darah dan digunakan dalam bentuk kering atau serbuk [4]. K_3EDTA merupakan antikoagulan cair yang memiliki osmolalitas lebih tinggi dibandingkan K_2EDTA . Penggunaan K_3EDTA yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan membran leukosit dan penyusutan eritrosit. Selain itu, K_3EDTA memiliki pH yang mendekati pH darah sehingga relatif stabil digunakan sebagai antikoagulan pada pemeriksaan hematologi [5]. Konsentrasi K_3EDTA yang dianjurkan yaitu 1,5-2,2 mg/mL darah [3].

Pemeriksaan hematologi dapat dilakukan secara manual yang relatif memerlukan waktu lebih lama atau dengan metode otomatis menggunakan alat *hematology analyzer* yang memungkinkan proses lebih cepat dan efisien [6]. Alat ini telah banyak dimanfaatkan di laboratorium hematologi dengan berbagai macam teknologi, merek, dan spesifikasi [7]. Perbedaan metode perhitungan, baik manual maupun otomatis dapat menghasilkan variasi dalam hitung sel leukosit. Kedua metode tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing [8].

Alat hematologi otomatis ini digunakan untuk pemeriksaan *DLC 3-part differential* yang bekerja berdasarkan prinsip *electrical impedance (coulter principle)*, yaitu menghitung jumlah dan ukuran sel darah melalui perubahan hambatan listrik yang terjadi saat sel melewati aperture. Berdasarkan prinsip tersebut, sel leukosit kemudian diklasifikasikan ke dalam kelompok limfosit, mid cell, dan granulosit [9]. Berdasarkan volume atau ukuran sel yang terdeteksi, leukosit dikelompokkan menjadi tiga bagian utama, yaitu limfosit, mid cell, dan granulosit. Limfosit merupakan kelompok sel berukuran kecil, sedangkan mid cell terdiri atas monosit, eosinofil, dan basofil yang memiliki ukuran sedang. Granulosit adalah kelompok sel leukosit berukuran besar yang terutama terdiri atas neutrofil sebagai komponen utamanya. Oleh karena itu, *hematology analyzer 3-part differential* tidak membedakan monosit, eosinofil, dan basofil secara terpisah, melainkan mengelompokkan dalam satu kelompok mid cell berdasarkan kemiripan ukuran sel [10].

Leukosit merupakan kumpulan sel berinti yang bersifat heterogen dan terdapat dalam sirkulasi darah. Jenis leukosit dibedakan menjadi neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, serta monosit. Penundaan analisis, baik pada suhu ruang maupun pada suhu lemari pendingin sekitar $\pm 4^\circ C$, dapat memengaruhi hasil pemeriksaan *DLC* [11]. Pemeriksaan hitung jenis leukosit memerlukan antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah di luar tubuh selama proses analisis. Antikoagulan yang paling sering digunakan adalah *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA), baik dalam bentuk garam natrium (Na_2EDTA) maupun kalium (K_2EDTA), karena tidak memengaruhi morfologi sel darah [12].

Pada penundaan selama 24 jam telah ditemukan penurunan signifikan dalam jumlah neutrofil segmen. Penelitian ini juga mencatat adanya peningkatan sel apoptosis dan perubahan morfologi lainnya akibat tekanan mekanis selama pembuatan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) pada sampel yang disimpan lebih lama. Penelitian ini menunjukkan bahwa hitung jenis leukosit secara manual dapat dilakukan dengan hingga 12 jam setelah pengambilan darah dengan K_3EDTA , sedangkan penilaian morfologi yang akurat harus dilakukan dalam 8 jam pertama untuk menghindari kesalahan interpretasi akibat perubahan morfologi yang diinduksi oleh EDTA dan waktu penyimpanan [13].

Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa terdapat 25 sampel darah vena K_3EDTA yang disimpan selama 24 jam pada suhu $2-8^\circ C$ menunjukkan bahwa morfologi leukosit sebagian besar masih normal. Pada hapusan darah tepi terlihat sedikit pemudaran granula sitoplasma neutrofil, namun inti sel tetap normal, sedangkan limfosit dan monosit tidak menunjukkan perubahan. Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan 24 jam pada suhu $2-8^\circ C$ masih dapat mempertahankan morfologi leukosit, meskipun mulai terjadi perubahan degeneratif ringan pada neutrofil [14].

Studi yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya menunjukkan bahwa sampel darah dengan antikoagulan EDTA yang disimpan pada suhu kamar mengalami perubahan hasil pemeriksaan hematologi rutin seiring lamanya waktu penundaan. Pemeriksaan menggunakan *Hematology Analyzer* menunjukkan perbedaan bermakna pada penundaan selama 24 jam pada suhu ruang memberikan hasil yang signifikan ($p < 0,5$) terhadap sebagian besar parameter leukosit. Hasil tersebut menunjukkan adanya perubahan morfologi sel dan penurunan nilai pada sebagian besar parameter leukosit, sehingga pemeriksaan sampel darah sebaiknya dilakukan segera untuk menjaga akurasi hasil [15].

Menurut penelitian oleh Unalli, O.S. dkk menunjukkan bahwa penundaan pemeriksaan *whole blood* hingga 48 jam pada berbagai suhu ($4^\circ C$, $10^\circ C$, dan $23^\circ C$) dapat mempengaruhi hasil hitung jenis leukosit. Penyimpanan pada suhu dingin ($\pm 4^\circ C$) relatif mampu mempertahankan stabilitas sebagian besar parameter hematologi dibandingkan suhu ruang. Namun, morfologi *DLC* seperti neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil mulai mengalami perubahan setelah penyimpanan lebih dari 24 jam akibat proses degeneratif sel selama penyimpanan [16]. Berdasarkan latar belakang, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan *whole blood* menggunakan antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA terhadap hasil *Differential Leukosit Count* (DLC) dengan metode manual dan otomatis pada pemeriksaan segera (0 jam), setelah penyimpanan 24 jam, dan 60 jam pada suhu dingin ($2-8^\circ C$).

II. METODE

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor sertifikat 0502/HRECC.FODM/V/2026 dari Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen laboratorium dan rancangan *repeated measures*. Populasi

penelitian adalah mahasiswa Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2026 di Laboratorium Patologi Klinik, Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *purposive sampling* yaitu teknik penentuan sampel berdasarkan pertimbangan atau kriteria tertentu yang telah ditetapkan peneliti sesuai dengan tujuan penelitian. Berdasarkan kriteria inklusi meliputi, mahasiswa laki-laki berusia 17-25 tahun yang bersedia menjadi responden dengan mengisi serta menandatangani *informed consent*, dalam kondisi sehat serta tidak memiliki riwayat hematologi. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 36 sampel. Peralatan yang digunakan meliputi holder, tourniquet, rak tabung, mikropipet 5-50 μL , pipet ukur 10 mL, *Hematology Analyzer (Medonic-M32)*, pipet tetes, jembatan pewarnaan, obyek glass, bulb, dan mikroskop (*Olympus CX33*). Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas darah, larutan Na_2EDTA , tabung vacutainer K_3EDTA , alkohol 96%, larutan Giemsa induk, larutan buffer fosfat pH 7, kapas alkohol, serta minyak imersi. Pengambilan sampel darah vena oleh peneliti yang diambil sebanyak 12 mL pada *whole blood* kemudian dimasukkan ke dalam tabung vakum berisi antikoagulan, yaitu K_3EDTA dan Na_2EDTA . Masing-masing tabung diisi sebanyak 2 mL darah, sehingga setiap jenis antikoagulan menerima volume sampel yang sama, kemudian dilakukan homogenisasi sebanyak 8–10 kali. Lalu dilakukan pemeriksaan segera, penundaan pemeriksaan 24 jam dan 60 jam pada suhu dingin ($2-8^\circ\text{C}$). Tahap selanjutnya dilakukan pemeriksaan *DLC* menggunakan alat *hematology analyzer* secara otomatis serta menggunakan metode manual dengan pembuatan apusan darah tepi, kemudian dilakukan pewarnaan Giemsa. Preparat yang telah kering selanjutnya diamati menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 100x menggunakan minyak imersi untuk menghitung persentase masing-masing jenis leukosit pada pemeriksaan *DLC*.

Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data. Berdasarkan analisis parametrik *One-Way ANOVA* digunakan pada parameter limfosit dan granulosit, sedangkan parameter mid cell dan granulosit dianalisis menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Nilai rata-rata persentase *Differential Leukocyte Count (DLC)* yang disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Berdasarkan hasil pada kedua tabel tersebut, rerata persentase *DLC* pada seluruh perlakuan, baik menggunakan antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA , serta berbagai waktu pemeriksaan segera dan lama penyimpanan pada pemeriksaan 24 jam dan 60 jam pada suhu dingin ($2-8^\circ\text{C}$).

Tabel 1. Nilai Rata-Rata *DLC* pada Tabung Na_2EDTA dengan Variasi Lama Penyimpanan Menggunakan Metode Otomatis dan Manual

Variabel	Lama Penyimpanan	Nilai Rata-Rata <i>DLC</i> %	
		Otomatis	Manual
Limfosit	0 Jam	$35,300 \pm 7,6663$	$37,500 \pm 8,7350$
	24 Jam	$36,567 \pm 4,4230$	$36,167 \pm 5,2313$
	60 Jam	$36,217 \pm 8,1160$	$37,167 \pm 7,4140$
Mid Cell	0 Jam	$7,750 \pm 0,7556$	$6,333 \pm 0,5164$
	24 Jam	$6,967 \pm 0,6154$	$6,667 \pm 1,9664$
	60 Jam	$9,050 \pm 4,4801$	$8,000 \pm 4,0497$
Granulosit	0 Jam	$56,950 \pm 8,2803$	$56,167 \pm 9,0646$
	24 Jam	$56,467 \pm 4,9168$	$57,167 \pm 6,5549$
	60 Jam	$54,733 \pm 12,2127$	$54,833 \pm 10,6286$

Berdasarkan Tabel 1, pada tabung Na_2EDTA nilai limfosit dengan metode otomatis cenderung meningkat pada penyimpanan 24 jam, kemudian cenderung stabil hingga 60 jam. Pada metode manual, nilai limfosit cenderung menurun pada penyimpanan 24 jam, kemudian cenderung meningkat kembali pada 60 jam. Nilai MID cell baik dengan metode otomatis maupun manual cenderung menurun pada penyimpanan 24 jam, kemudian cenderung meningkat pada penyimpanan 60 jam. Sementara itu, nilai granulosit pada metode otomatis maupun manual cenderung mengalami penurunan seiring bertambahnya lama penyimpanan.

Tabel 2. Nilai Rata-Rata *DLC* pada Tabung K₃EDTA dengan Variasi Lama Penyimpanan Menggunakan Metode Otomatis dan Manual

Variabel	Lama Penyimpanan	Nilai Rata-Rata <i>DLC</i> %	
		Otomatis	Manual
Limfosit	0 Jam	35,417 ± 7,5959	36,500 ± 8,1179
	24 Jam	33,917 ± 9,1973	35,333 ± 8,4538
	60 Jam	38,317 ± 9,9381	37,833 ± 9,4322
Mid Cell	0 Jam	7,200 ± 0,8922	6,667 ± 2,4221
	24 Jam	6,583 ± 0,4491	6,500 ± 1,0488
	60 Jam	6,850 ± 1,2566	6,667 ± 2,9439
Granulosit	0 Jam	57,383 ± 8,4072	56,667 ± 8,2138
	24 Jam	59,500 ± 9,4839	58,167 ± 8,6120
	60 Jam	54,833 ± 11,1315	55,500 ± 12,0789

Berdasarkan Tabel 2, pada tabung K₃EDTA hasil limfosit dan Mid Cell dengan metode otomatis mengalami penurunan pada penyimpanan 24 jam, kemudian meningkat kembali pada 60 jam. Pada metode manual, limfosit dan Mid Cell juga mengalami penurunan pada 24 jam dan kembali meningkat pada 60 jam. Sementara itu, nilai granulosit dengan metode otomatis dan manual mengalami peningkatan pada 24 jam kemudian menurun pada 60 jam.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Berdasarkan Lama Penyimpanan, Metode dan Jenis Antikoagulan pada pemeriksaan *Differential Leukocyte Count (DLC)*

Faktor	Hasil Uji Normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)		
	Limfosit	Mid Cell	Granulosit
Lama Penyimpanan			
0 Jam	0,399*	0,915*	0,327*
24 Jam	0,936*	0,738*	0,958*
60 Jam	0,161*	0,000	0,088*
Metode			
Manual	0,351*	0,000	0,420*
Otomatis	0,564*	0,000	0,345*
Jenis Antikoagulan			
Na ₂ EDTA	0,251*	0,000	0,035
K ₃ EDTA	0,303*	0,068*	0,731*

*: Data terdistribusi normal

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, data variabel limfosit menunjukkan distribusi normal pada seluruh faktor yang diuji, meliputi lama penyimpanan, metode pemeriksaan, dan jenis antikoagulan. Pada variabel mid cell, data terdistribusi normal berdasarkan faktor lama penyimpanan, kecuali pada penyimpanan 60 jam, serta tidak terdistribusi normal berdasarkan faktor metode pemeriksaan. Berdasarkan faktor jenis antikoagulan, hanya pada faktor jenis antikoagulan K₃EDTA yang terdistribusi normal. Variabel granulosit menunjukkan distribusi normal pada seluruh lama penyimpanan dan metode pemeriksaan, namun berdasarkan faktor jenis antikoagulan hanya tabung K₃EDTA yang terdistribusi normal.

Tabel 4. Hasil Uji Statistik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney U* terhadap *DLC*

Variabel	Faktor yang diuji	Uji Statistik	(<i>p-value</i>)
Mid Cell	Lama Penyimpanan	<i>Kruskal-Wallis</i>	0,745
Mid Cell	Metode	<i>Mann-Whitney</i>	0,051
Mid Cell	Jenis Antikoagulan	<i>Mann-Whitney</i>	0,218
Granulosit	Jenis Antikoagulan	<i>Mann-Whitney</i>	0,800

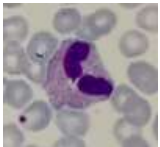
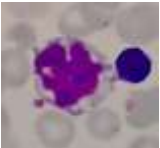
Berdasarkan Tabel 4, hasil uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa seluruh faktor yang diuji pada variabel mid Cell dan granulosit memiliki nilai signifikansi (*p-value*) > 0,05. Faktor lama penyimpanan pada mid Cell memperoleh nilai (*p* = 0,745), metode pemeriksaan (*p* = 0,051), dan jenis antikoagulan (*p* = 0,218). Sementara itu, pada granulosit berdasarkan jenis antikoagulan diperoleh nilai (*p* = 0,800).

Tabel 5. Hasil Uji Parametrik *One-Way Anova* terhadap *DLC*

Variabel	Faktor	Signifikan (<i>p-value</i>)
Limfosit	Lama Penyimpanan	0.681
	Metode	0.655
	Jenis Antikoagulan	0.881
Granulosit	Lama Penyimpanan	0.525
	Metode	0.913

Berdasarkan Tabel 5, hasil uji parametrik menggunakan *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa seluruh faktor yang diuji memiliki nilai signifikansi (*p-value*) > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara faktor penundaan pemeriksaan, metode pemeriksaan, dan jenis antikoagulan terhadap hasil *DLC*. Pada variabel limfosit, faktor lama penyimpanan menunjukkan (*p*=0,681), faktor metode pemeriksaan diperoleh (*p*=0,655) dan faktor jenis antikoagulan menunjukkan (*p*=0,881). Sedangkan pada variabel granulosit, faktor lama penyimpanan menunjukkan (*p*=0,525) dan faktor metode pemeriksaan diperoleh (*p*=0,913).

Tabel 6. Gambar Morfologi Leukosit pada *Whole Blood* dengan Antikoagulan Na_2EDTA dan K_3EDTA terhadap Lama Penyimpanan pada Metode Manual dan Otomatis

Jenis Perlakuan			
1. K_3EDTA – Pemeriksaan Segera			
	<i>Lymphocyte</i>		<i>Neutrophil Segmen</i>
2. Na_2EDTA – Pemeriksaan Segera			
	<i>Neutrophil Stab</i>		<i>Neutrophil Segmen</i>
3. K_3EDTA - Penyimpanan 24 Jam			
	<i>Vacuolated Eosinophyl</i>		<i>Elongated Nucleoplasm Neutrophil</i>
4. Na_2EDTA - Penyimpanan 24 Jam			
	<i>Vacuolated Monocyte</i>		<i>Hypogranulated Neutrophil</i>
5. K_3EDTA - Penyimpanan 60 Jam			
	<i>Vacuolated Lymphocyte</i>		<i>Smudge Cell</i>
6. Na_2EDTA - Penyimpanan 60 Jam			
	<i>Hipersegmented Neutrophil</i>		<i>Smudge Cell</i>

Berdasarkan tabel 6, pengamatan morfologi leukosit pada sediaan apus darah tepi, pemeriksaan segera (0 jam) pada sampel dengan antikoagulan K₃EDTA maupun Na₂EDTA masih menunjukkan morfologi leukosit yang normal. Setelah penyimpanan selama 24 jam mulai ditemukan perubahan morfologi berupa vakuolisasi eosinofil dan monosit, neutrofil hipogranulasi, serta *elongated nucleoplasm neutrophil*. Perubahan morfologi semakin jelas pada penyimpanan 60 jam, ditandai dengan munculnya vakuolisasi limfosit, neutrofil hipersegmentasi, dan *smudge cell*. Semakin lama waktu penundaan pemeriksaan, semakin banyak perubahan morfologi yang terjadi pada leukosit.

B. Pembahasan

Berdasarkan data penelitian, dari ketiga faktor (jenis antikoagulan, metode dan lama penyimpanan), tidak ada faktor yang menunjukkan pengaruh signifikan terhadap *DLC*. Berdasarkan data penelitian, ditemukan bahwa suhu penyimpanan sampel darah tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap hasil pemeriksaan *DLC* yang terdiri dari limfosit, mid cell dan granulosit, hal ini berlaku untuk penyimpanan suhu dingin selama 24 jam dan 60 jam. Lama penyimpanan sampel *whole blood* pada suhu dingin tidak menyebabkan perubahan yang signifikan secara statistik pada parameter yang diperiksa. Penelitian yang telah dilakukan sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan parameter leukosit relatif tetap stabil selama 48 jam ketika sampel darah EDTA disimpan pada suhu rendah (4°C dan 10°C) [16].

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perubahan yang signifikan pada hasil *DLC* yang meliputi limfosit, mid cell, dan granulosit antara metode manual dan otomatis. Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemeriksaan leukosit menggunakan metode manual dan otomatis tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0.242$), sehingga kedua metode memiliki kemampuan yang sebanding dalam mengevaluasi parameter leukosit. Tidak adanya perbedaan antara metode manual dan otomatis pada penelitian ini disebabkan oleh karakteristik leukosit masih stabil selama penyimpanan pada suhu 2–8°C, sehingga kedua metode masih mampu mengidentifikasi leukosit dengan baik. Pada metode otomatis, pengelompokan leukosit berdasarkan ukuran dan volume sel menggunakan prinsip *impedansi listrik (prinsip coulter)*. Sementara itu, metode manual dilakukan dengan menghitung jenis leukosit berdasarkan morfologi sel menggunakan mikroskop. Meskipun terdapat perubahan morfologi selama penyimpanan, tetapi tidak mempengaruhi identifikasi jenis leukosit, sehingga hasil pemeriksaan pada kedua metode tetap sebanding [17].

Penyimpanan *whole blood* pada suhu rendah (2–8°C) diketahui dapat meningkatkan stabilitas *DLC*. Hasil Penelitian ini menunjukkan bahwa lama penyimpanan selama 24 jam dan 60 jam pada *whole blood* yang disimpan pada suhu dingin tidak adanya pengaruh yang signifikan terhadap *DLC* yang terdiri dari limfosit, mid cell dan granulosit. Didukung dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa suhu penyimpanan dan waktu penundaan pemeriksaan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah leukosit. Kestabilan hasil *DLC* pada penelitian ini disebabkan oleh penyimpanan pada suhu 2–8°C yang memperlambat proses degenerasi leukosit sehingga integritas sel tetap terjaga [18], [20].

Peningkatan dan penurunan nilai rata-rata terjadi berkaitan dengan stabilitas sel leukosit selama penyimpanan pada *whole blood* dengan antikoagulan Na₂EDTA dan K₃EDTA. Na₂EDTA merupakan antikoagulan berbentuk serbuk yang bekerja mengikat ion kalsium (Ca²⁺) sehingga dapat mencegah proses koagulasi [3]. Mekanisme kerja antikoagulan dengan pengikatan ion kalsium (Ca²⁺) yang menghambat aktivasi faktor-faktor koagulasi, termasuk konversi protrombin menjadi trombin, sehingga pembentukan fibrin tidak terjadi dan darah tetap berada dalam keadaan cair [3]. Peningkatan dan penurunan nilai rata-rata limfosit, mid cell, dan granulosit pada penelitian ini merupakan variasi biologis dan variasi analitik yang masih berada dalam batas stabilitas leukosit selama penyimpanan. Fluktuasi dapat terjadi akibat respons masing-masing jenis leukosit terhadap penyimpanan serta variasi pengukuran alat, namun belum cukup besar untuk mengubah klasifikasi leukosit secara bermakna. Meskipun nilai rata-rata setiap kelompok leukosit mengalami sedikit peningkatan dan penurunan pada setiap waktu penyimpanan, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan [19].

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa faktor pra-analitik, terutama suhu dan lama penyimpanan sampel, berperan penting dalam menjaga stabilitas parameter hematologi. Penyimpanan *whole blood* pada suhu 4°C mampu mempertahankan stabilitas sebagian besar parameter leukosit [21]. Faktor pra-analitik dikendalikan melalui penggunaan antikoagulan K₃EDTA dan Na₂EDTA sesuai volume darah, penyimpanan sampel secara konsisten pada suhu 2–8°C, serta homogenisasi sampel sebelum pemeriksaan manual maupun otomatis. Hal ini disebabkan oleh kemampuan EDTA dalam mempertahankan darah tetap tidak membeku melalui pengikatan ion kalsium. Berdasarkan hasil penelitian tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara penggunaan antikoagulan K₃EDTA dan Na₂EDTA terhadap hasil *DLC*. Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna antara penggunaan K₂EDTA dan K₃EDTA serta lama penyimpanan hingga 8 jam [23].

Penggunaan K₃EDTA merupakan antikoagulan yang direkomendasikan pada pemeriksaan hematologi karena mampu menjaga morfologi sel darah dengan baik. K₃EDTA dalam bentuk cair pada tabung vacutainer dan memiliki pH yang lebih mendekati pH fisiologis darah sehingga mampu mempertahankan integritas sel darah dengan lebih baik [2]. Namun, penundaan pemeriksaan tetap dapat memengaruhi kualitas spesimen, terutama pada sel leukosit.

Selama penyimpanan, perubahan biokimia, biomekanik, dan reaksi imunologis pada sel darah dapat menyebabkan perubahan struktur sel sehingga memengaruhi morfologi leukosit. Selain itu, konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga dapat mengganggu tonisitas sel dan berpotensi menyebabkan kerusakan sel [14]. Selain jenis antikoagulan dan lamanya penyimpanan, keterlambatan proses fiksasi pada sediaan apusan darah tepi juga dapat memengaruhi morfologi leukosit, serta suhu yang digunakan selama proses pengeringan preparat dapat menyebabkan perubahan morfologi leukosit, seperti kerusakan pada membran sel [24].

Berdasarkan tabel 6, dalam penelitian ini mulai ditemukan perubahan morfologi leukosit berupa *vacuolated eosinophil*, *vacuolated lymphocyte* dan *vacuolated monocyte* setelah penyimpanan 24 dan 60 jam. Penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa penundaan spesimen darah K₂EDTA menyebabkan perubahan morfologi leukosit berupa vakuolisasi sitoplasma. Vakuolisasi mulai tampak setelah penundaan 2 jam dan semakin jelas pada penundaan 5 jam, yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka semakin besar kemungkinan terjadinya perubahan morfologi leukosit [6]. Vakuolisasi sitoplasma disebabkan oleh proses degeneratif pada leukosit selama penyimpanan. Penundaan pemeriksaan menyebabkan sel mengalami perubahan morfologi secara bertahap sehingga terbentuk vakuola di dalam sitoplasma. Perubahan ini merupakan artefak penyimpanan yang dapat muncul pada neutrofil, monosit, maupun limfosit ketika sampel darah dibiarkan terlalu lama sebelum dilakukan pemeriksaan. Oleh karena itu, semakin lama waktu penyimpanan, semakin besar kemungkinan terjadinya vakuolisasi degenerasi sel secara *in vitro* [22].

Berdasarkan tabel 6, dalam penelitian ini ditemukan adanya perubahan morfologi leukosit setelah penundaan pemeriksaan selama 24 jam. Perubahan yang ditemukan yaitu *elongated nucleoplasm neutrophil*. Munculnya *elongated nucleoplasm neutrophil* disebabkan oleh proses perubahan struktur kromatin dan membran inti sehingga inti neutrofil tampak memanjang (*elongated*) dan bentuk lobus inti menjadi tidak normal. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya perubahan morfologi leukosit pada *whole blood* yang mengalami penundaan pemeriksaan. Perubahan yang ditemukan antara lain *hypersegmented neutrophil*, *vacuolated neutrophil*, *smudge cell* dan *elongated nucleoplasm neutrophil*. Penundaan pemeriksaan dapat menyebabkan kerusakan membran sel, perubahan inti sel, hilangnya granula sitoplasma sehingga morfologi leukosit menjadi abnormal [23].

V. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penundaan pemeriksaan *whole blood* menggunakan antikoagulan K₃EDTA dan Na₂EDTA yang disimpan pada suhu 2-8°C hingga 60 jam tidak memberikan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap hasil *Differential Leukocyte Count* (DLC) pada parameter limfosit, mid cell, dan granulosit, baik dengan metode otomatis maupun manual.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ibu dan keluarga atas dukungan yang diberikan selama proses penelitian dan penyusunan artikel ini. Terima kasih juga disampaikan kepada dosen pembimbing atas bimbingan, arahan, dan masukan yang diberikan selama penelitian. Selain itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada teman-teman serta seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan kerja sama sehingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat diselesaikan dengan baik.

REFERENSI

- [1] Y. Fuana, U. N. Fidarotul, C. D. Pratiwi, and D. S. Niagrum, "Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K₃EDTA Konvensional dan Vacutainer Terhadap Kadar Indeks Eritrosit Menggunakan *Hematology Analyzer*," *Borneo J. Med. Technol.*, vol. 7, no. 2, pp. 647–652, 2021.
- [2] H. Zahraini, Y. N. Indrasari, and H. Kahar, "Comparison of K₂ and K₃ EDTA Anticoagulant on Complete Blood Count and Erythrocyte Sedimentation Rate," *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, vol. 28, no. 1, pp. 75–79, 2021. doi: 10.24293/ijcpml.v28i1.1735
- [3] U. Sukorini, T. Ratnaningsih, and D. Ikarumi, "The Effect Of Excessive Disodium Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (Na₂EDTA) Anticoagulant Concentration On Leukocytes Profile In Peripheral Blood Examination," *Med J Indones*, vol. 16, no. (3), pp. 168–175. doi.org/10.13181/mji.v16i3.271
- [4] L. S. Dewi and D. P. Kusuma, "Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit Menggunakan EDTA Konvensional dan Vacutainer," *Jurnal Surya Medika (JSM)*, vol. 7, no. 2, pp. 181-184, 2022.

- [5] S. T. Wahdaniah, "Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit," *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, vol. 2, no. 2, pp. 21–25, 2018. doi.org/10.30602/jlk.v1i2.147
- [6] N. Aunisajidah and M. A. Afriansyah, "Pengaruh Lama Penundaan Spesimen Darah K₂EDTA Terhadap Morfologi Leukosit Pada Apusan Darah Tepi," *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, vol. 7, pp. 734–740, 2024.
- [7] M. F. Aminuddin, A. Soda, and M. T. Mawardani, "Gambaran Jumlah dan Jenis Leukosit pada pasien Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie Samarinda," *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*, vol. 5, no. 1, pp. 47–52, 2025. doi.org/10.35728/jutelmo.v5i1.1866
- [8] S. Darmayani, FE Hasan, and D. Ekafitria A, "Perbedaan Hasil Pemeriksaan Jumlah Leukosit Antara Metode Manual Improved Neubauer dengan Metode Automatic Hematology Analyzer," *Jurnal Kesehatan MANARANG*, vol. 2, no. 2, pp. 72–75, 2016. doi: 10.33490/jkm.v2i2.18
- [9] E. A. Maharani and D. Astuti, "Stability of Routine Hematology Sample Using the Medonic M-Series Analyzer," *Medical Laboratory Technology*, vol. 6, no. 2, pp. 108–114, 2020. doi.org/10.31964/mltj.v0i0.305
- [10] C. Coutaz, A. Mamin, and K. Mintzas, "Evaluation of the Sysmex XQ-320 Three-Part Differential Haematology Analyser and Its Flagging Capabilities," *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, vol. 38, no. 4, pp. 1–12. https://doi.org/10.1002/jcla.25017
- [11] G. Nugraha and N. A. Ningsih, "Penundaan Pemeriksaan Differential Count Terhadap Gambaran Scattergram Hematology Analyzer Cell-Dyn Ruby," *Jurnal Media Analis Kesehatan*, vol. 12, no. 1, pp. 9–17, 2021. doi.org/10.32382/mak.v12i1.2036
- [12] R. R. Azimata, A. T. Ningrum, and W. Rahmatullah, "Perbedaan Jumlah Leukosit Pada Darah EDTA Segar dan Darah EDTA yang Ditunda Selama 2 Jam," *Jurnal Ilmu Keperawatan*, vol. 13, no. 1, pp. 120–130, 2024. doi.org/10.35328/keperawatan.v13i1.2619
- [13] A. Irding, F. Landgren, and E. Aardal, "Time-Dependent EDTA Effect on Leukocyte Differential Count and Morphology Compared to Blood Smear Made by Direct Finger Prick," *International Journal of Laboratory Hematology*, vol. 47, no. 5, pp. 826–831, 2025, doi: 10.1111/ijlh.14498
- [14] N. Ersanto, A. D. Infantria, T. Sundari, A. A. Mandasari, S. Nur, and H. Yusmiati, "Evaluasi Hapusan Darah Tepi Darah K₃EDTA Segera Di Periksa dan Ditunda 24 Jam Dalam Suhu 2-8°C," *Jurnal SainHealth*, vol. 7, no. 2, pp. 79–84, 2023. doi.org/10.51804/jsh.v7i2.14357.79-84
- [15] G. Nugraha, N. A. Ningsih, T. Sulifah, and S. Fitria, "Stabilitas Pemeriksaan Hematologi Rutin Pada Sampel Darah yang Didiamkan Pada Suhu Ruang Menggunakan Cell-Dyn Ruby," *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, vol. 1, no. 4, pp. 21–29, 2021. doi.org/10.30651/jmlt.v4i1.8255
- [16] S. U. Ozmen and Y. Ozarda, "Stability Of Hematological Analytes During 48 Hours Storage at Three Temperatures Using Cell-Dyn Hematology Analyzer," *J Med Biochem*, vol. 40, no. 3, pp. 252–260, 2021, doi: 10.5937/jomb0-27945
- [17] E. Kurniasih and T. D. Astuti, "Perbandingan Hasil Hitung Jumlah Sel Darah Spesimen Darah Vena EDTA Menggunakan Metode Manual dan Otomatis (Comparison of Result Counting Blood Cell Number of EDTA Vena Blood Specimen Using Manual and Automatic Methods)," *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, vol. 6, no. 2, pp. 495–501, May 2024, doi: 10.33084/bjmlt.v6i2.5876
- [18] I. El Savitra and A. Aliviameita, "The Effect of Whole blood Storage with K₃EDTA and Na₂EDTA Anticoagulants on Leukocyte Count, Neutrophil Count, and Leukocyte Morphology," pp. 1–9. 2025. doi.org/10.21070/ups.8668
- [19] V. Roccaforte *et al.*, "Effects of Different Blood Storage Conditions on Leukocytes Cell Population Data Using The Sysmex XN Hematological Analyzer," *Biochemica Medica*, vol. 36, no. 2, pp. 1–13, 2026. doi.org/10.11613/BM.2026.020704
- [20] Puspitasari, A. Aliviameita, S. D. Y. Wahyudhi, dan F. P. Purwanti, "Stabilitas Sampel Darah Terhadap Profil Hematologi Dengan Metode Otomatis," *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, vol. 5, no. 1, pp. 1–7, 2022, doi: 10.30651/jmlt.v5i1.12667
- [21] A. Astrand, C. Wingren, C. Walton, J. Mattsson, K. Agrawal, M. Lindqvist, L. Odqvist, B. Burmeister, S. Eck, G. Hughes, G. Luporini Saraiva, A. Schantz, I. Psallidas, and C. McCrae, "A Comparative Study of Blood Cell Count in Four Automated Hematology Analyzers : An Evaluation of The Impact of Preanalytical Factors," *PloS ONE*, vol. 19, no. 5, pp. 1–19, 2024. doi.org/10.1371/journal.pone.0301845
- [22] I. Jamal, "Cytoplasmic vacuolations in peripheral blood smear: A significant finding that is often ignored: An overview," *Indian Journal of Pathology and Oncology*, vol. 9, no. 2, pp. 201–203, 2022, doi: 10.18231/j.ijpo.2022.048
- [23] A. Aliviameita, P. Puspitasari, W. I. Amilya, and I. El Savitra, "Optimization of Whole Blood Specimen Handling for Complete Blood Count (CBC) Results and Blood Cell Morphology," *Jurnal Kesehatan*, vol. 16, no. 2, pp. 285–296, 2025. doi.org/10.26630/jk.v16i2.5126

- [24] R. Febriyani and B. Santosa, "Kualitas Makroskopis dan Mikroskopis Morfologi Lekosit pada SADT Berdasarkan Variasi Suhu Pengeringan," *Medika Respati: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, vol. 15, no. 4, pp. 245–252, Nov. 2020.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.