

Pengaruh Penyimpanan *Wholeblood* dengan Antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA Terhadap Jumlah Leukosit, Neutrofil dan Morfologi Leukosit

Oleh:

IGFINA EL SAVITRA / 211335300015

Dosen Pembimbing

Andika Aliviameita S.ST., M.Si

Progam Studi Teknologi Laboratorium Medis

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Juli, 2025



Pendahuluan

Pemeriksaan Hematologi

Pemeriksaan laboratorium dasar yang dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis berbagai penyakit

- Pemeriksaan Rutin : Pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, jumlah sel leukosit, eritrosit dan trombosit serta pemeriksaan hitung jenis leukosit.
- Pemeriksaan Lengkap : Pemeriksaan darah rutin ditambahkan pemeriksaan laju endap darah (LED)

Faktor yang mempengaruhi keakuratan hasil pemeriksaan :

- Pra-Analitik
- Analitik
- Pasca-Analitik

Faktor pra-analitik memiliki peran penting dalam memastikan keakuratan hasil pemeriksaan. Contoh faktor tersebut adalah penggunaan antikoagulan pada sampel serta proses homogenisasi. Antikoagulan dapat ditambahkan dengan metode konvensional atau langsung menggunakan tabung vacutainer. Sementara itu, homogenisasi sampel terdiri dari dua tahap, yaitu homogenisasi primer dan homogenisasi sekunder.

Pendahuluan

Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh lama waktu penundaan pada suhu penyimpanan *wholeblood* di K_3EDTA Vacutainer dan Na_2EDTA Konvensional terhadap Jumlah Leukosit, Neutrofil dan Morfologi Leukosit ?

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh lama waktu penundaan pada suhu penyimpanan *wholeblood* di K_3EDTA Vacutainer dan Na_2EDTA Konvensional terhadap jumlah leukosit, neutrofil dan morfologi Leukosit

Metode Penelitian

Uji Etik

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
Surabaya No.

0525/HRECC.FODM/IV/2025

Tempat,Waktu Pelaksanaan

Tempat : Lab. Patologi Klinik
D-IV TLM UMSIDA
Waktu : Mei-Juni 2025

Populasi dan Sampel

- Populasi : Mahasiswa FIKES UMSIDA
- Sampel : Mahasiswa D4 TLM UMSIDA
- Keseluruhan besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer
- Perhitungan
$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$
$$(12 - 1) (r - 1) \geq 15$$
$$11r - 11 \geq 15$$
$$11r \geq 26$$
$$r \geq 2,3 \rightarrow 4$$

→ 4 pasien → 48 sampel → 12 perlakuan

Teknik Sampling Purposive Sampling

Desain Penelitian Eksperimental laboratorik dengan pendekatan *cross sectional*

Metode Penelitian

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif, disajikan bentuk gambar dan tabel. Uji statistik menggunakan SPSS versi 23 dilakukan uji normalitas. Uji *Friedman* untuk parameter leukosit dan uji *ANOVA* untuk parameter neutrofil.

Tahap Penelitian

- Pengambilan Sampel Darah menggunakan antikoagulan K_3EDTA dan Na_2EDTA
- Dilakukan penundaan pada 2 variasi, yaitu suhu ruang $18-25^{\circ}C$ dan suhu dingin $2-8^{\circ}C$
- Pemeriksaan Jumlah Leukosit dan Neutrofil menggunakan Hematology Analyzer
- Pembuatan Hapusan Darah

Hasil Penelitian

Tabel 1. Jumlah Leukosit dan Neutrofil \pm Standart Deviasi pada tabung K₂EDTA *vacutainer*

Variabel	Penundaan	Rerata Jumlah Leukosit dan Neutrofil (μ L) \pm Standart Deviasi	
		Suhu ruang 18-25°C	Suhu dingin 2-8°C
Leukosit	Pemeriksaan segera (0 Jam)	7.275 \pm 1.623	7.200 \pm 1.745
	Penundaan 12 Jam	7.250 \pm 1.447	7.425 \pm 1.530
	Penundaan 24 Jam	7.200 \pm 1.995	7.320 \pm 1.541
Neutrofil	Pemeriksaan segera (0 Jam)	4.325 \pm 1,637	4.700 \pm 2.051
	Penundaan 12 Jam	4.475 \pm 1,631	4.850 \pm 1.713
	Penundaan 24 Jam	4.575 \pm 1,995	4.850 \pm 1.541

Tabel 2. Jumlah Leukosit dan Neutrofil \pm Standar Deviasi pada tabung Na₂EDTA *konvensional*

Variabel	Penundaan	Rerata Jumlah Leukosit dan Neutrofil (μ L) \pm Standart Deviasi	
		Suhu ruang 18-25°C	Suhu dingin 2-8°C
Leukosit	Pemeriksaan segera (0 Jam)	7.025 \pm 1.596	7.025 \pm 1.674
	Penundaan 12 Jam	7.670 \pm 1.705	7.150 \pm 1.558
	Penundaan 24 Jam	6.975 \pm 1.571	7.720 \pm 1.892
Neutrofil	Pemeriksaan segera (0 Jam)	4.500 \pm 1.794	4.475 \pm 1.995
	Penundaan 12 Jam	4.450 \pm 2.027	4.675 \pm 1.772
	Penundaan 24 Jam	3.500 \pm 1.485	4.870 \pm 1.774

Hasil Penelitian

Tabel 3 Hasil Uji Normalitas

Variabel	Hasil Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	
	Leukosit	Neutrofil
Penundaan 0 Jam	0,037	0,113*
Penundaan 12 Jam	0,015	0,426*
Penundaan 24 Jam	0,029	0,716*
Penyimpanan		
Penyimpanan Suhu Dingin	0,007	0,080*
Penyimpanan Suhu Ruang	0,002	0,215*
Antikoagulan		
Antikoagulan K ₃ EDTA	0,003	0,260*
Antikoagulan Na ₂ EDTA	0,004	0,114*

Berdasarkan uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk* didapatkan hasil untuk jumlah leukosit $p\text{-value} < 0,05$ yang menyatakan data tidak berdistribusi normal sedangkan untuk jumlah neutrofil didapatkan hasil $p\text{-value} > 0,05$ dinyatakan data berdistribusi normal.

Hasil Penelitian

Tabel 4 Hasil Uji Statistik Friedman Jumlah Leukosit berdasarkan Antikogulan K₃EDTA *Vacutainer*

Parameter	Perbandingan Penundaan	Suhu Penyimpanan	Nilai p (Sig.)
Jumlah Leukosit	0 Jam vs 12 Jam	Suhu Dingin	0,317
	0 Jam vs 24 Jam	Suhu Dingin	0,317
	12 Jam vs 24 Jam	Suhu Dingin	0,317
	0 Jam vs 12 Jam	Suhu Ruang	1,564
	0 Jam vs 24 Jam	Suhu Ruang	0,317
	12 Jam vs 24 Jam	Suhu Ruang	0,564

Tabel 5 Hasil Uji Statistik Friedman Jumlah Leukosit berdasarkan Antikogulan Na₂EDTA *Konvensional*

Parameter	Perbandingan Penundaan	Suhu Penyimpanan	Nilai p (Sig.)
Jumlah Leukosit	0 Jam vs 12 Jam	Suhu dingin	1,000
	0 Jam vs 24 Jam	Suhu dingin	0,564
	12 Jam vs 24 Jam	Suhu dingin	0,317
	0 Jam vs 12 Jam	Suhu Ruang	0,157
	0 Jam vs 24 Jam	Suhu Ruang	1,000
	12 Jam vs 24 Jam	Suhu Ruang	0,083

Berdasarkan uji *Friedman*, diperoleh p -value $>0,05$ pada seluruh perbandingan waktu (0, 12, dan 24 jam) baik pada suhu dingin maupun suhu ruang, yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan jumlah leukosit pada K₃EDTA maupun Na₂EDTA

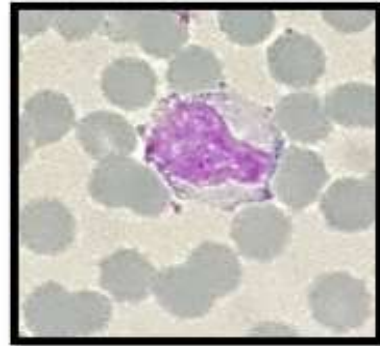
Hasil Penelitian

Tabel 6 Hasil Uji Statistik ANOVA Jumlah Neutrofill

<u>Variabel</u>	<i>P-Value</i>
<u>Penundaan</u>	0,716
<u>Penyimpanan</u>	0,252
<u>Antikoagulan</u>	0,916
<u>Penundaan x Penyimpanan</u>	0,505
<u>Penundaan x Antikoagulan</u>	0,980
<u>Penyimpanan x Antikoagulan</u>	0,891
<u>Penundaan x Penyimpanan x Antikoagulan</u>	1,000

Berdasarkan uji *ANOVA*, diperoleh p-value $>0,05$ pada semua variabel, yang menyatakan tidak terdapat perbedaan signifikan pada jumlah neutrofil berdasarkan penundaan, suhu penyimpanan, maupun jenis antikoagulan.

Hasil Penelitian



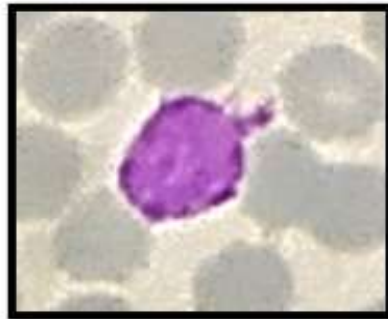
a. Smuged Cell



b. Vacuolated Lymphocytes



c. Hipersegmented Neutrophils



d. Abnormal Homogeneous Chromatin



e. Vacuolated Neutrophils



f. Vacuolated Monocytes

Gambar 1. Kerusakan pada morfologi neutrofil

Pembahasan

Peneliti	Keterkaitan	Penelitian Sebelumnya	Hasil Penelitian
Maria Yovita Kuman (2019)	Sejalan	Tidak terdapat perbedaan jumlah leukosit menggunakan EDTA Konvensional dan EDTA Vacutainer	Tidak terdapat perbedaan hasil jumlah leukosit dan jumlah neutrofil pada sampel darah dengan antikoagulan K ₃ EDTA vacutainer dan Na ₂ EDTA konvensional
Mery Dwi Rahayu (2024)	Sejalan	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan hasil pemeriksaan hematologi rutin pada spesimen darah menggunakan tabung Vacutainer K ₃ EDTA dan Microtainer K ₃ EDTA	Tidak terdapat perbedaan hasil hematologi rutin pada spesimen darah sampel laki-laki menggunakan tabung antikoagulan K ₃ EDTA vacutainer dan Na ₂ EDTA konvensional
Fadilah Dwi Cahyati (2021)	Sejalan	Terdapat pengaruh sampel darah dengan antikoagulan K ₃ EDTA terhadap vakuolisasi neutrofil pada apusan darah tepi selama penundaan 3 jam	Terdapat perubahan pada K ₃ EDTA suhu ruang penundaan 12 jam menunjukkan tanda-tanda awal degradasi seluler, seperti pemudaran sitoplasma dan penggabungan lobus pada neutrofil.
Febby Yolanda (2022)	Sejalan	Perubahan morfologi leukosit muncul setelah 48 jam (2–8°C) dan 8 jam (18–24°C), ditandai dengan lobus inti terpisah, kerusakan sitoplasma, hilangnya granula, dan vakuola pada neutrofil.	Perubahan morfologi leukosit mulai terlihat setelah 12 jam pada suhu ruang dan 24 jam pada suhu dingin, terutama pada sampel dengan antikoagulan Na ₂ EDTA. Perubahan tersebut meliputi pemudaran sitoplasma dan munculnya vakuola pada sel-sel darah putih

Pembahasan

Peneliti	Keterkaitan	Penelitian Sebelumnya	Hasil Penelitian
Arie Rahmнитарini, Yetti Hernaningsih, dan Yulia Nadar Indrasari (2019)	Sejalan	Dengan K ₂ EDTA, kerusakan leukosit lebih cepat pada suhu ruang, terutama neutrofil, monosit, dan trombosit. Perubahan signifikan muncul sejak 16 jam, sementara limfosit dan basofil stabil hingga 96 jam.	Pemeriksaan segera (0 jam) dengan K ₃ EDTA masih menjaga morfologi leukosit normal, namun pada suhu ruang selama 12 jam mulai terlihat degradasi, seperti sitoplasma memudar dan lobus inti menyatu.
Noviyani Aunisajidah, M. Ardi Afriansyah (2024)	Sejalan	Pemeriksaan apusan darah K ₂ EDTA segera (0 jam) menunjukkan morfologi normal. Setelah 2 jam muncul vakuolisasi, dan pada 5 jam vakuolisasi membesar di semua preparat.	Pada Na ₂ EDTA stabil pada morfologi leukosit saat pemeriksaan segera 0 jam. Setelah 12 jam, morfologi stabil di suhu dingin, namun mulai rusak di suhu ruang. Pada 24 jam, kerusakan tampak di kedua suhu, meski lebih ringan di suhu dingin.

Simpulan

Berdasarkan hasil analisis statistika, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah leukosit dan neutrofil yang diperiksa menggunakan hematology analyzer, meskipun terdapat variasi jenis antikoagulan (K_3EDTA dan Na_2EDTA), suhu penyimpanan (ruang 18–25°C dan dingin 2–8°C), serta waktu penundaan pemeriksaan (0, 12, dan 24 jam). Akan tetapi, terjadi perubahan morfologi leukosit mulai teramati pada penundaan 12 jam pada suhu ruang dan penundaan 24 jam pada suhu dingin, terutama pada sampel dengan antikoagulan Na_2EDTA , yang ditandai dengan pemudaran sitoplasma dan munculnya vakuola. Oleh karena itu, untuk menjaga kestabilan jumlah dan morfologi leukosit maupun neutrofil, disarankan agar pemeriksaan dilakukan dalam waktu maksimal 12 jam dengan penyimpanan pada suhu dingin (2–8°C).

Referensi

- E. Kurniasih, T. Dyah Astuti, and A. Yogyakarta, “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.” [Online]. Available: <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- R. D. M. Sinaga Elsyana, B. Nurhayati, A. Durachim, and N. Marlina, “Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hematologi Rutin Menggunakan Tabung Vacutainer Dan Microtainer K3edta,” *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, vol. 4, no. 3, pp. 1208–1214, 2024, doi: <https://doi.org/10.34011/jks.v4i3.1208>.
- N. Fadillah, M. A. Afriansyah, A. Sukeksi, and B. Santosa, “Efek Homogenisasi Spesimen Darah Metode Inversi Terhadap Nilai Hematokrit Effect of Inversion Homogenization Method of Blood Specimens on Hematocrit Levels,” vol. 12, no. 18, pp. 52–57, 2021, [Online]. Available: <https://pdfs.semanticscholar.org/ebf4/776f84903c88ca90cadd7eb656802b38830d.pdf>
- M. Y. Kuman, “Perbedaan Jumlah Eritrosit, Leukosit Dan Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan Konvensional Dan EDTA Vacutainer,” Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang, 2019. [Online]. Available: http://repository.poltekeskupang.ac.id/1902/1/KTI_YOVITA_pdf.pdf
- R. D. M. Sinaga Elsyana, B. Nurhayati, A. Durachim, and N. Marlina, “Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hematologi Rutin Menggunakan Tabung Vacutainer Dan Microtainer K3edta,” *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, vol. 4, no. 3, pp. 1208–1214, 2024, doi: <https://doi.org/10.34011/jks.v4i3.1208>.
- Fadilah Dwi Cahyati, “Pengaruh Waktu Penundaan Sampel Darah K3edta Terhadap Vakuolisasi Neutrofil Pada Sediaan Apus Darah Tepi Selama 3 Jam,” Surakarta, Sep. 2021.
- Febby Yolanda, “Literatur Review: Pengaruh Stabilitas Penyimpanan Sampel Darah K2EDTA Dan K3EDTA Terhadap Jumlah Leukosit Metode Hematology Analyzer,” Yogyakarta, 2022.
- A. Rahmniarini, Y. Hernaningsih, and Y. N. Indrasari, “The stability of sample storage for complete blood count (CBC) toward the blood cell morphology,” *Bali Medical Journal*, vol. 8, no. 2, pp. 391–395, 2019, doi: 10.15562/bmj.v8i2.1369.
- N. Aunisajidah and M. A. Afriansyah, “Pengaruh Lama Penundaan Spesimen Darah K2EDTA Terhadap Morfologi Leukosit Pada Apusan Darah Tepi,” vol. 000, pp. 734–740.



TERIMA KASIH