

The Effect of Wholeblood Storage with K_3 EDTA and Na_2 EDTA Anticoagulants on Leukocyte Count, Neutrophil Count, and Leukocyte Morphology

[Pengaruh Penyimpanan *Wholeblood* dengan Antikoagulan K_3 EDTA dan Na_2 EDTA Terhadap Jumlah Leukosit, Neutrofil dan Morfologi Leukosit]

Igfina El Savitra¹⁾, Andika Aliviameita^{1)*}

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

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

Abstract. Hematological examinations play a crucial role in disease diagnosis and are influenced by pre-analytical factors, such as the type of anticoagulant and storage temperature. EDTA is widely used due to its minimal impact on blood cell morphology. This study aims to determine the effect of whole blood storage using K_3 EDTA vacutainer and conventional Na_2 EDTA anticoagulants on leukocyte count, neutrophil count, and leukocyte morphology. This was a laboratory-based cross sectional experimental study involving D4 TLM students at UMSIDA as respondents. Samples were stored at room temperature and cold temperature, and examined at three hours after blood collection. Cell counts were analyzed using a Hematology Analyzer, while morphology was observed through peripheral blood smears. The results no significant differences in leukocyte and neutrophil counts based on the type of anticoagulant, storage temperature, or storage duration ($p > 0.05$). Morphological changes began to appear after 12 hours at room temperature and after 24 hours under cold storage..

Keywords - Leukocytes, Neutrophils, EDTA, Morphology, Blood storage

Abstrak. Pemeriksaan hematologi memainkan peran penting dalam diagnosis penyakit dan dipengaruhi oleh faktor pra-analitik, seperti jenis antikoagulan dan suhu penyimpanan. EDTA banyak digunakan karena dampaknya yang minimal terhadap morfologi sel darah. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh penyimpanan darah lengkap menggunakan vakutainer K_3 EDTA dan antikoagulan Na_2 EDTA konvensional terhadap jumlah leukosit, jumlah neutrofil, dan morfologi leukosit. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental potong lintang berbasis laboratorium yang melibatkan mahasiswa D4 TLM di UMSIDA sebagai responden. Sampel disimpan pada suhu kamar dan suhu dingin, dan diperiksa tiga jam setelah pengambilan darah. Jumlah sel dianalisis menggunakan Hematology Analyzer, sedangkan morfologi diamati melalui apusan darah tepi. Hasilnya tidak menunjukkan perbedaan signifikan jumlah leukosit dan neutrofil berdasarkan jenis antikoagulan, suhu penyimpanan, atau lama penyimpanan ($p > 0,05$). Perubahan morfologi mulai tampak setelah 12 jam pada suhu kamar dan setelah 24 jam dalam penyimpanan dingin.

Kata Kunci – Leukosit, Neutrofil, EDTA, Morfologi, Penyimpanan darah

I. PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium dasar yang paling awal dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis berbagai penyakit [1]. Pemeriksaan darah atau pemeriksaan hematologi secara umum dapat dikategorikan menjadi dua yaitu pemeriksaan hematologi rutin dan hematologi lengkap. Pemeriksaan hematologi rutin meliputi pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, jumlah sel leukosit, eritrosit dan trombosit serta pemeriksaan hitung jenis leukosit. Pemeriksaan hematologi lengkap meliputi, pemeriksaan darah rutin ditambahkan pemeriksaan laju endap darah (LED) [2]. Dalam praktiknya, pemeriksaan hematologi dapat dilakukan secara manual maupun otomatis. Metode otomatis menggunakan alat *hematology analyzer* dinilai lebih cepat, akurat, dan efisien dibandingkan metode manual [3].

Keakuratan hasil pemeriksaan laboratorium termasuk analisis hematologi, sangat dipengaruhi oleh beberapa tahapan yaitu : pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Tahapan pra-analitik merupakan sumber kesalahan terbesar, mencakup sekitar 61% dari total kesalahan. Salah satu proses penting dalam tahap pra-analitik adalah homogenisasi, yaitu pencampuran darah dengan antikoagulan. Homogenisasi ini dapat dilakukan secara manual atau otomatis. Jika

proses homogenisasi tidak optimal, dapat terjadi pembentukan bekuan atau kerusakan sel darah merah (hemolisis), yang berisiko menghasilkan nilai hematokrit yang tidak sesuai, terutama nilai hematokrit rendah palsu [4].

Antikoagulan yang umum digunakan dalam pemeriksaan hematologi adalah *Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (EDTA), baik dalam bentuk K_3 EDTA, K_2 EDTA, maupun Na_2 EDTA. EDTA bekerja dengan cara mengikat ion kalsium untuk mencegah pembekuan darah, tanpa mengganggu morfologi sel darah [5]. *Antikoagulan Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (EDTA) dapat digunakan dalam dua bentuk, yaitu *konvensional* dan *vacutainer*. Dalam bentuk *konvensional*, pemakaian antikoagulan EDTA adalah 1 mg per 1 mL darah. Sementara dalam bentuk *vacutainer*, jumlah antikoagulan EDTA adalah 10 μ L per 1 mL darah, sehingga setiap 1 mg EDTA dapat mencegah pembekuan 1 mL darah. Biasanya, EDTA digunakan dalam bentuk larutan dengan konsentrasi 10% [6]. Perbedaan jenis EDTA dapat mempengaruhi keandalan hasil pemeriksaan. Penggunaan EDTA yang berlebihan diketahui dapat menyebabkan kerusakan sel, seperti morfologi leukosit yang menyebabkan pada penurunan jumlah sel darah yang diperiksa menggunakan *hematology analyzer* [7]. Berdasarkan penelitian 2019, didapatkan hasil jumlah leukosit sampel darah EDTA *Konvensional* dan EDTA *Vacutainer* dinyatakan dengan hasil menunjukkan $p=0,411$ ($p>0,05$), sehingga tidak ada perbedaan signifikan antara kedua jenis antikoagulan [8].

Penelitian ini sejalan dengan penelitian Khansa Amaniyah Muti (2021) yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan jumlah leukosit pada penggunaan antikoagulan Na_2 EDTA, K_2 EDTA dan K_3 EDTA yang diperiksa dengan *hematology analyzer* [5]. Dari sudut pandang klinis, kelemahan dari pemeriksaan otomatis yakni *CBC (Complete Blood Count)* adalah ketidakmampuannya untuk mengidentifikasi morfologi sel yang abnormal atau adanya kelainan morfologi yang signifikan secara klinis sehingga perlunya pemeriksaan apusan darah tepi untuk mengkonfirmasi ketika terjadi abnormalitas pada sel darah merah, ketika peningkatan atau penurunan pada jumlah sel darah putih (WBC) dan juga jumlah trombosit yang tinggi atau rendah [9].

Menurut penelitian Rahmitarini A dkk (2019) pada suhu lemari es (2-8°C) pada penyimpanan 48 jam terjadi perubahan morfologi leukosit, sedangkan pada suhu ruang (18-24°C) penyimpanan 8 jam mulai terjadi beberapa perubahan yaitu morfologi pada neutrophil [10].

Melihat pentingnya akurasi hasil pemeriksaan hematologi, terutama pada jumlah dan morfologi leukosit, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh penyimpanan *wholeblood* dengan antikoagulan K_3 EDTA dan Na_2 EDTA terhadap jumlah leukosit, neutrofil, dan morfologi leukosit. Penelitian ini menggunakan metode pemeriksaan darah lengkap dan sediaan apus darah sebagai pendekatan untuk mengevaluasi perbedaan antara oleh kedua jenis antikoagulan tersebut terhadap parameter hematologi yang diuji.

II. METODE

Penelitian ini telah memperoleh sertifikat etik dengan nomor 0525/HRECC.FODM/IV/2025 pada tanggal 29 April 2025 dari Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Desain penelitian ini adalah kuantitatif menggunakan metode eksperimental laboratorik cross-sectional. Penelitian ini menggunakan subjek populasi pada Mahasiswa Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Mei 2025. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *purposive sampling* dengan kriteria sampel yang diambil yaitu 4 responden berjenis kelamin laki-laki, berusia 17-25 tahun dengan persetujuan mengisi dan mendatangkan *informed consent*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah holder, tourniquet, rak tabung, mikropipet 5-50 μ l, pipet maat 10ml, *Hematologi Analyzer* (Medonic M-series M32), pipet tetes, jembatan pewarnaan, obyek glass, bulb, mikroskop. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini meliputi: darah, larutan Na_2 EDTA, tabung *vacutainer* K_3 EDTA, alkohol 96 %, larutan giemsa induk, larutan Buffer Phosphat pH 7, kapas alkohol, oil imersi. Peneliti menggunakan pengambilan sampel darah vena sebanyak 16 ml pada masing-masing responden. Darah yang diperoleh dimasukan ke tabung *vacutainer* K_3 EDTA dan tabung *konvensional* dengan penambahan Na_2 EDTA. Sampel disimpan di suhu ruang (18-25°C) dan suhu dingin (2-8°C), lalu dilakukan penundaan dengan 3 waktu yaitu pemeriksaan segera (0 jam), 12 jam, 24 jam. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah lengkap menggunakan *Hematologi Analyzer* dan dilakukan pemeriksaan hapusan darah tepi. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 23, dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji parametrik *MANOVA* untuk parameter neutrofil dan uji non parametrik *Friedman* untuk parameter leukosit.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Data

Hasil pemeriksaan jumlah leukosit bertujuan untuk mengetahui nilai tunggal dari data yang diperoleh serta melihat sebaran data pada setiap perlakuan. Oleh karena itu, dilakukan perhitungan rerata jumlah leukosit \pm standar deviasi yang disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Berdasarkan hasil pada Tabel 1 dan 2, rerata jumlah leukosit dan neutrofil pada seluruh perlakuan, baik menggunakan antikoagulan K₃EDTA vacutainer maupun Na₂EDTA konvensional, serta pada berbagai waktu penundaan (0, 12, dan 24 jam) dan suhu penyimpanan (suhu ruang dan suhu dingin), masih berada dalam batas referensi normal yaitu 5.000–10.000/ μ L. Hal ini menunjukkan bahwa variasi suhu, jenis antikoagulan, dan waktu penundaan tidak memberikan perbedaan mencolok terhadap hasil rerata jumlah leukosit secara klinis.

Tabel 1 Jumlah Leukosit dan Neutrofil \pm Standart Deviasi pada tabung K₃EDTA *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

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa rerata jumlah leukosit pada sampel darah K₃EDTA *vacutainer* dengan penyimpanan suhu ruang selama 0 jam adalah 7.275/ μ L, pada 12 jam adalah 7.250/ μ L, dan pada 24 jam sebesar 7.200/ μ L. Sedangkan pada suhu dingin, rerata jumlah leukosit pada 0 jam adalah 7.200/ μ L, pada 12 jam sebesar 7.425/ μ L, dan pada 24 jam sebesar 7.320/ μ L. Untuk jumlah neutrofil, pada suhu ruang, rerata pada 0 jam adalah 4.325/ μ L, pada 12 jam sebesar 4.475/ μ L, dan pada 24 jam sebesar 4.575/ μ L. Sementara itu, pada suhu dingin, rerata jumlah neutrofil pada 0 jam adalah 4.700/ μ L, dan pada 12 dan 24 jam menunjukkan nilai yang sama yaitu 4.850/ μ L.

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 yang ditampilkan pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa rerata jumlah leukosit pada sampel darah Na₂EDTA *konvensional* dengan penyimpanan suhu ruang selama 0 jam adalah 7.025/ μ L, pada 12 jam sebesar 7.670/ μ L, dan pada 24 jam 6.975/ μ L. Sedangkan pada suhu dingin, rerata jumlah leukosit pada 0 jam adalah 7.025/ μ L, pada 12 jam sebesar 7.150/ μ L, dan pada 24 jam 7.720/ μ L. Untuk jumlah neutrofil, pada suhu ruang rerata pada 0 jam adalah 4.500/ μ L, kemudian pada 12 jam 4.450/ μ L, dan pada 24 jam 3.500/ μ L. Sementara itu, pada suhu dingin, rerata jumlah neutrofil pada 0 jam adalah 4.475/ μ L, pada 12 jam 4.675/ μ L, dan pada 24 jam 4.870/ μ L.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Berdasarkan Waktu Penundaan (Jam)

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*

*: Data Terdistribusi normal

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 3 hasil uji normalitas berdasarkan waktu penundaan untuk jumlah leukosit yaitu penundaan 0 jam yaitu 0,037, 12 jam yaitu 0,015, dan 24 jam yaitu 0,029, yang semuanya $< 0,05$,

sehingga dapat disimpulkan bahwa data leukosit tidak berdistribusi normal. Sementara itu, untuk jumlah neutrofil adalah 0,113 pada penundaan 0 jam, 0,426 pada 12 jam, dan 0,716 pada 24 jam, yang semuanya $> 0,05$, menunjukkan bahwa data neutrofil berdistribusi normal.

Tabel 4 Hasil Uji Normalitas Berdasarkan Penyimpanan

Variabel	Hasil Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	
	Leukosit	Neutrofil
Penyimpanan Suhu Dingin	0,007	0,080*
Penyimpanan Suhu Ruang	0,002	0,215*

*: Data Terdistribusi normal

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 4 hasil uji normalitas berdasarkan penyimpanan untuk jumlah leukosit yaitu penyimpanan suhu dingin yaitu 0,007, dan suhu ruang yaitu 0,002, yang keduanya $< 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data leukosit tidak berdistribusi normal. Sementara itu, untuk jumlah neutrofil adalah 0,080 pada suhu dingin dan 0,215 pada suhu ruang, yang keduanya $> 0,05$, menunjukkan bahwa data neutrofil berdistribusi normal.

Tabel 5 Hasil Uji Normalitas berdasarkan Jenis Antikoagulan

Variabel	Hasil Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	
	Leukosit	Neutrofil
Antikoagulan K ₃ EDTA	0,003	0,260*
Antikoagulan Na ₂ EDTA	0,004	0,114*

*: Data Terdistribusi normal

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 5 uji normalitas berdasarkan jenis antikoagulan untuk jumlah leukosit yaitu Antikoagulan K₃EDTA yaitu 0,003 dan Antikoagulan Na₂EDTA 0,004 yang keduanya $< 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data leukosit tidak berdistribusi normal. Sementara itu, untuk jumlah neutrofil adalah 0,260 pada Antikoagulan K₃EDTA dan 0,114 pada Antikoagulan Na₂EDTA , yang keduanya $> 0,05$ menunjukkan bahwa data neutrofil berdistribusi normal.

Tabel 6 Hasil Uji Stastistik 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
Jumlah Leukosit	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

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 6 bahwa hasil uji Friedman terhadap data jumlah leukosit dengan menggunakan Antikoagulan K₃EDTA pada suhu dingin, nilai signifikansi (*p-value*) untuk perbandingan antara 0 jam dengan 12 jam adalah ($p=0,317$), antara 0 jam dengan 24 jam sebesar ($p=0,317$), dan antara 12 jam dengan 24 jam sebesar ($p=0,317$). Pada penyimpanan dengan suhu ruang, nilai signifikansi pada perbandingan waktu 0 jam dengan 12 jam adalah ($p=1,564$), 0 jam dengan 24 jam sebesar ($p=0,317$) dan 12 jam dengan 24 jam sebesar ($p=0,564$). Semua nilai $>0,05$ yang berarti menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam jumlah leukosit di Antikoagulan K₃EDTA pada dua kondisi suhu penyimpanan (suhu dingin dan suhu ruang) antara waktu pemeriksaan 0 jam, 12 jam, dan 24 jam.

Tabel 7 Hasil Uji Stastistik Friedman Jumlah Leukosit berdasarkan Antikogulan Na₂EDTA *Konvensional*

Parameter	Perbandingan Penundaan	Suhu Penyimpanan	Nilai p (Sig.)
	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
Jumlah Leukosit			
	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

Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 7 bahwa hasil uji Friedman terhadap data jumlah leukosit dengan menggunakan Antikoagulan Na₂EDTA pada suhu dingin, nilai signifikansi (*p-value*) untuk perbandingan antara 0 jam dengan 12 jam adalah (*p*=1,000), antara 0 jam dengan 24 jam sebesar (*p*=0,564), dan antara 12 jam dengan 24 jam sebesar (*p*=0,317). Pada penyimpanan dengan suhu ruang, nilai signifikansi pada perbandingan waktu 0 jam dengan 12 jam adalah (*p*=0,157), 0 jam dengan 24 jam sebesar (*p*=1,000) dan 12 jam dengan 24 jam sebesar (*p*=0,083). Semua nilai $>0,05$ yang berarti menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam jumlah leukosit di Antikoagulan Na₂EDTA pada dua kondisi suhu penyimpanan (suhu dingin dan suhu ruang) antara waktu pemeriksaan 0 jam, 12 jam, dan 24 jam.

Tabel 8 Hasil Uji Stastistik MANOVA Jumlah Neutrofill

Variabel	P-Value
Penundaan	0,716
Penyimpanan	0,252
Antikoagulan	0,916
Penundaan x Penyimpanan	0,505
Penundaan x Antikoagulan	0,980
Penyimpanan x Antikoagulan	0,891
Penundaan x Penyimpanan x Antikoagulan	1,000

Pada penelitian yang ditampilkan pada Tabel 8 dapat diketahui bahwa hasil uji statistik *MANOVA* terhadap jumlah neutrofil menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh variabel maupun interaksi antar variabel, karena nilai signifikansi (*p-value*) dari semua variabel $> 0,05$. Nilai *p* untuk variabel penundaan sebesar (*p*=0,716), penyimpanan sebesar (*p*=0,252), dan antikoagulan sebesar (*p*=0,916). Sementara itu, nilai *p* untuk interaksi (penundaan \times penyimpanan) adalah (*p*=0,505), (penundaan \times antikoagulan) sebesar (*p*=0,980), (penyimpanan \times antikoagulan) sebesar (*p*=0,891), dan interaksi ketiga variabel (penundaan \times penyimpanan \times antikoagulan) sebesar (*p*=1,000). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa faktor-faktor tersebut tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap jumlah neutrofil

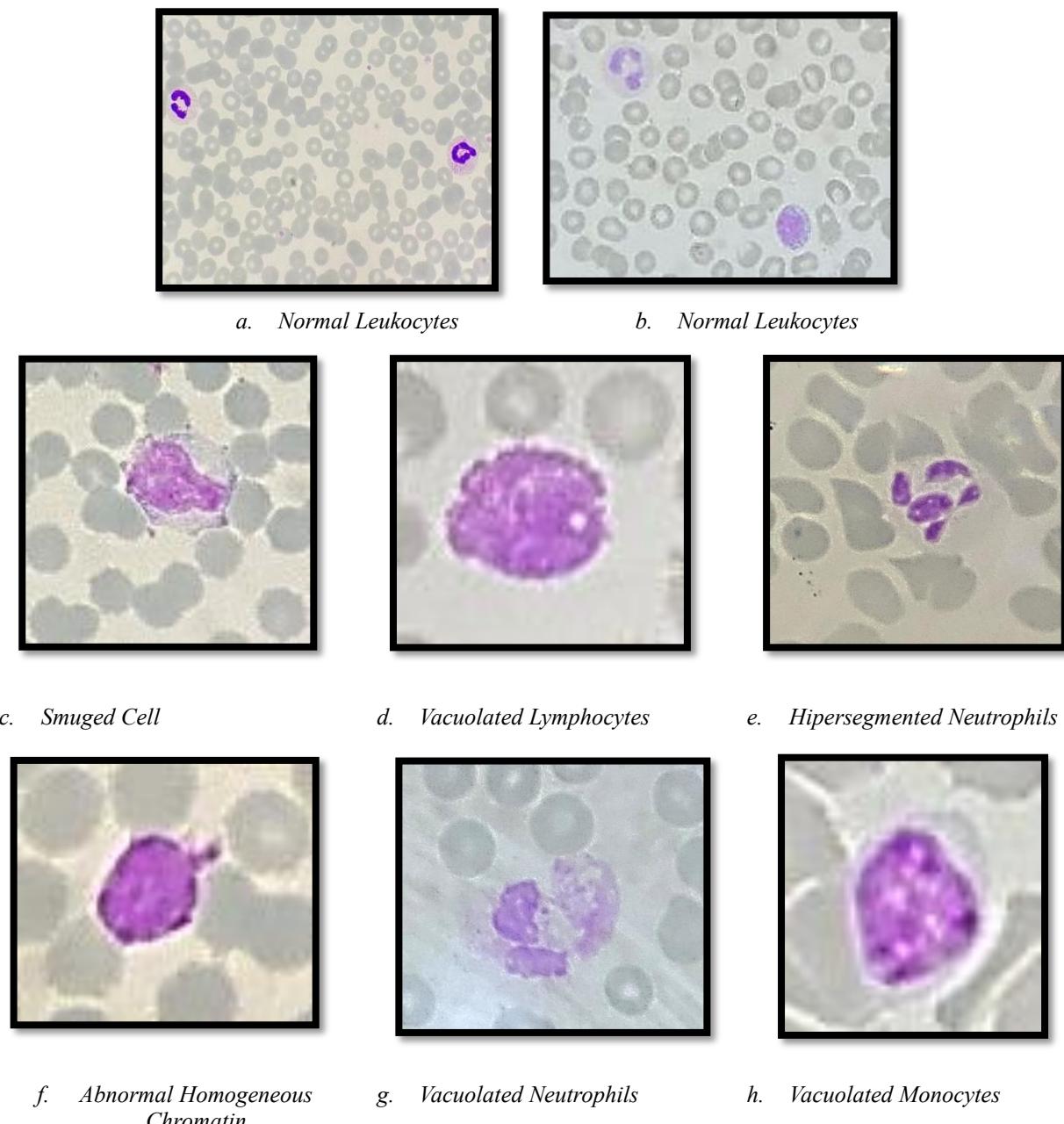
B. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil yang menyatakan tidak terdapat perbedaan pada jumlah leukosit maupun neutrofil pada pemeriksaan *hematology analyzer* akan tetapi ada perbedaan untuk hasil morfologi terdapat kerusakan. Dalam praktiknya, penggunaan tabung *vacutainer* lebih disarankan dibandingkan dengan antikoagulan *konvensional* karena beberapa faktor dapat mempengaruhi hasil saat menggunakan metode *konvensional*. Posisi pipet saat mengambil antikoagulan harus diperhatikan, pipet tidak boleh miring karena hal ini dapat mengurangi volume larutan yang diambil dan memengaruhi hasil pemeriksaan. Meskipun tabung *vacutainer* lebih praktis dan menguntungkan, faktor kesalahan manusia tetap dapat memengaruhi hasil, baik dengan tabung *vacutainer* maupun antikoagulan *konvensional*. Oleh karena itu, ketelitian dalam pelaksanaannya sangat diperlukan[11].

Antikoagulan EDTA yang umum digunakan hingga saat ini adalah Na₂EDTA dan K₃EDTA . Penggunaan EDTA sangat baik untuk pemeriksaan hematologi karena tidak memengaruhi sel-sel darah. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, digunakan Na₂EDTA sebagai antikoagulan *konvensional* dan K₃EDTA sebagai antikoagulan *vacutainer*, karena pH K₃EDTA mendekati pH darah [12]. Pada penelitian yang dilakukan Febby Yolanda bahwa suhu dan waktu penyimpanan darah dengan antikoagulan K₂EDTA maupun K₃EDTA dengan metode *hematology analyzer* tidak berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah leukosit (nilai signifikansi suhu sebesar 0,744 dan waktu sebesar 0,964; keduanya $> 0,05$) [13].

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil jumlah leukosit dan jumlah neutrofil pada sampel darah dengan antikoagulan K_3 EDTA *vacutainer* dan Na_2 EDTA *konvensional*, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maria Yovita Kuman (2019) Hasil leukosit yang dilakukan dengan menggunakan EDTA *Konvensional* dan EDTA *Vacutainer* memiliki hasil yaitu $3.000 - 15.000 / \mu\text{L}$ darah, menunjukkan nilai yang normal. Dapat dilihat kedua antikoagulan ini tidak mempengaruhi hasil leukosit [8].

Dikuatkan pada penelitian sebelumnya tahun (2024) hasil penelitian tidak terdapat perbedaan yang signifikan hasil pemeriksaan hematologi rutin pada spesimen darah menggunakan tabung *Vacutainer* K_3 EDTA dan *Microtainer* K_3 EDTA dengan kriteria sampel riwayat anemia, wanita yang sedang menstruasi, wanita hamil, riwayat kelainan fungsi hati dan olahraga ekstrem sebelum pemeriksaan [2].



Gambar 1. Kerusakan pada morfologi leukosit dan neutrofil

Pada hasil penelitian ini terlihat adanya perubahan pada morfologi hapusan darah tepi menggunakan pemeriksaan mikroskop dan beberapa perlakuan mengalami kerusakan pada leukosit dan neutrofil. Pemeriksaan preparat apus darah tepi merupakan bagian yang penting dari rangkaian pemeriksaan hematologi. Keunggulan dari pemeriksaan apus darah tepi ialah mampu menilai berbagai unsur sel darah tepi seperti morfologi sel (eritrosit, leukosit, dan trombosit), menentukan jumlah dan jenis leukosit, mengestimasi jumlah trombosit dan mengidentifikasi adanya parasit [14]. Perubahan pada variasi antikoagulan K_3 EDTA, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pemeriksaan segera (0 jam), baik pada suhu ruang maupun suhu dingin, masih mampu mempertahankan morfologi leukosit dalam keadaan normal. Namun, penyimpanan pada suhu ruang selama 6 jam telah menunjukkan tanda-tanda awal degradasi seluler, seperti pemudaran sitoplasma dan penggabungan lobus pada neutrofil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Fadilah Dwi Cahyati (2021) yang menyatakan ada pengaruh sampel darah dengan antikoagulan K_3 EDTA terhadap vakuolisasi neutrofil pada apusan darah tepi selama penundaan 3 jam [15].

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Febby Yolanda (2022) bahwa perubahan morfologi pada leukosit pada suhu penyimpanan 2-8°C mulai terjadi pada masa penyimpanan 48 jam, sedangkan pada suhu penyimpanan 18-24°C perubahan mulai terjadi pada masa penyimpanan 8 jam. Beberapa perubahan morfologi pada neutrofil adalah pemisahan lobus inti, kerusakan batas sitoplasma, granula menghilang dan vakuola kecil dalam sitoplasma terlihat [13]. Seiring dengan bertambahnya waktu, terutama setelah 12 jam dan 24 jam, perubahan morfologi menjadi semakin berubah. Pada suhu ruang selama 24 jam, tampak jelas terjadinya pembesaran inti pada monosit, sitoplasma yang tidak teratur, dan adanya vakuola kecil pada inti sel. Kondisi ini menunjukkan bahwa waktu penundaan juga dapat mempengaruhi jumlah leukosit, makin lama penundaan maka jumlah sel leukosit terhitung makin berkurang karena sel-sel rusak (hemolisis) atau mati. Selama penundaan sel-sel darah mengalami perubahan biokimia, biomekanis, dan reaksi imunoogis menyebabkan terjadinya kerusakan morfologi [16].

Hasil penelitian penggunaan antikoagulan Na_2 EDTA menunjukkan sama seperti penggunaan antikoagulan K_3 EDTA bahwa pemeriksaan segera setelah pengambilan sampel mempertahankan morfologi leukosit normal pada suhu ruang dan suhu dingin. Setelah 12 jam penyimpanan di suhu dingin, morfologi tetap stabil menandakan proses degradasi belum cepat. Namun, pada suhu ruang mulai muncul vakuola kecil di sitoplasma monosit dan perubahan homogenitas inti, yang menunjukkan kerusakan awal. Setelah 24 jam, perubahan semakin jelas di suhu ruang, sitoplasma neutrofil memudar, dan pada suhu dingin, terjadi kehilangan sitoplasma pada neutrofil dan limfosit. Meskipun suhu dingin memperlambat degradasi, lama penyimpanan tetap berisiko merusak morfologi leukosit. Penelitian lain yang dilakukan Aunisajidah N dan Afriansyah M (2024) menyatakan bahwa hasil pemeriksaan apusan darah tepi dari spesimen darah K_2 EDTA menunjukkan bahwa pada pemeriksaan yang dilakukan segera (0 jam), tidak ditemukan kelainan morfologi seperti vakuolisasi, piknosis, atau lobulasi nukleus. Namun, pada spesimen yang ditunda 2 jam menunjukkan adanya vakuolisasi. Penundaan lebih lama hingga 5 jam menunjukkan vakuolisasi yang semakin membesar pada semua preparat. Hal ini menunjukkan bahwa penundaan waktu pemeriksaan dapat menyebabkan perubahan morfologi sel darah, terutama berupa vakuolisasi yang semakin jelas seiring bertambahnya waktu [17].

Penyebab leukosit mengalami penurunan secara signifikan pada penyimpanan 48 jam di suhu ruang yang kemungkinan disebabkan oleh degradasi sel atau perubahan morfologi yang menyebabkan sel tidak dikenali oleh alat analisis otomatis [18]. Untuk di suhu dingin leukosit maupun neutrofil relatif stabil karena proses metabolisme dan degradasi sel yang melambat sehingga mencegah kerusakan morfologi dan pecahnya sel dan menjaga konsistensi nilai hitung leukosit hingga 48 jam [18].

Pada penelitian sebelumnya oleh Rahmmitarini A dkk (2019) yaitu mengatakan perubahan morfologi leukosit menggunakan tabung berisi K_2 EDTA lebih cepat terjadi pada suhu ruang (18-24°C) dibandingkan suhu kulkas (2-8°C), dengan neutrofil, monosit, dan trombosit menunjukkan kerusakan paling awal. Hitung diferensial leukosit menunjukkan perubahan signifikan mulai 16 jam pada neutrofil dan eosinofil, sementara limfosit dan basofil tetap stabil hingga 96 jam pada kedua suhu [10]. Secara keseluruhan, perubahan morfologi leukosit bergantung pada jenis antikoagulan, suhu, dan lama penyimpanan. Kualitas morfologi terbaik dipertahankan pada penyimpanan (0-12 jam) di suhu dingin.

VII. SIMPULAN

Dapat disimpulkan berdasarkan hasil analisis statistik, jumlah leukosit dan neutrofil tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap variasi jenis antikoagulan (K_3 EDTA dan Na_2 EDTA), suhu penyimpanan (ruang 18-25 °C dan dingin 2-8 °C), maupun waktu penundaan (0, 12, dan 24 jam). Namun, perubahan morfologi leukosit mulai terlihat setelah 12 jam pada suhu ruang dan setelah 24 jam pada suhu dingin, terutama pada sampel dengan Na_2 EDTA. Oleh karena itu, untuk menjaga akurasi jumlah dan morfologi leukosit, pemeriksaan disarankan dilakukan maksimal dalam 12 jam dan disimpan pada suhu dingin (2-8 °C). Untuk penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar, memperpanjang waktu penyimpanan, serta meneliti jenis leukosit lain dan membandingkan berbagai jenis antikoagulan untuk memperoleh hasil yang lebih komprehensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesainya artikel ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak, terutama kedua orang tua dan keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan moril maupun materil dalam menyelesaikan artikel ini.

Referensi

- [1] 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>
- [2] R. D. M. Sinaga Elsyana, B. Nurhayati, A. Durachim, and N. Marliana, “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>.
- [3] M. Dwi, R. E. Sinaga, B. Nurhayati, A. Durachim, N. Marliana, and P. Kemenkes Bandung, “Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hematologi Rutin Menggunakan Tabung Vacutainer Dan Microtainer K3edta”, doi: 10.34011/jks.v4i3.1208.
- [4] 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>
- [5] Khansa Amaniyah Muti, “Perbedaan Penggunaan Antikoagulan Na2edta, K2edta Dan K3edta terhadap Profil Leukosit yang Diperiksa dengan Hematology Analyzer,” Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan, Yogyakarta, 2021. Accessed: Jun. 16, 2025. [Online]. Available: <https://eprints.poltekkesjogja.ac.id/6397/>
- [6] S. Syuhada, T. Triwahyuni, and A. D. Nugraheni, “Perbandingan Indeks Eritrosit Pada Sampel Darah 3 ML, 2 ML, Dan 1 ML Dengan Antikoagulan K2edta Di Rsud Dr. H. Abdul Moelok Bandar Lampung,” *Jurnal Medika Malahayati*, vol. 5, no. 1, pp. 1–7, 2021, doi: 10.33024/jmm.v5i1.4108.
- [7] H. Nurrachmat, “Perbedaan Jumlah Eritrosit, Leukosit Dan Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan Konvensional Dan EDTA Vacutainer,” Universitas Diponegoro Semarang, 2005. [Online]. Available: <http://eprints.undip.ac.id/12759/>
- [8] 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.poltekkeskupang.ac.id/1902/1/KTI YOVITA pdf.pdf>
- [9] G. Gulati, J. Song, A. D. Florea, and J. Gong, “Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review,” *Ann Lab Med*, vol. 33, no. 1, pp. 1–7, 2013, doi: 10.3343/alm.2013.33.1.1.
- [10] A. Rahmhtarini, 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.
- [11] Nur Faizzah Faradilla, “Perbedaan Jumlah Trombosit Dengan Pemberian Antikoagulan Edta (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) Konvensional Dan Edta Vacutainer,” Jombang, Oct. 2018.
- [12] Hariyanto1 Andyanita Hanif Hermawati2* Hizkia Yustin Prastama3, “Perbedaan EDTA Konvensional Dan EDTA Vacutainer Pada Pemeriksaan Kadar Hemoglobin,” *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technolog*, vol. 6, no. 2, pp. 614–620, May 2024, Accessed: Jun. 10, 2025. [Online]. Available: <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- [13] Febby Yolanda, “Literatur Review: Pengaruh Stabilitas Penyimpanan Sampel Darah K2EDTA Dan K3EDTA Terhadap Jumlah Leukosit Metode Hematology Analyzer,” Yogyakarta, 2022.
- [14] Reni Yunus, Fina Astina, and Fonne E. Hasan, “Analisis Kualitatif Morfologi Eritrosit Pada Apusan Darah Edta (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) Untuk Pemeriksaan Segera (0 Jam) Dan Pemeriksaan Ditunda (2 Jam),” 2022. Accessed: Jun. 12, 2025. [Online]. Available: <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- [15] Fadilah Dwi Cahyati, “Pengaruh Waktu Penundaan Sampel Darah K3edta Terhadap Vakuolisasi Neutrofil Pada Sediaan Apus Darah Tepi Selama 3 Jam,” Surakarta, Sep. 2021.
- [16] Aristoteles and Nanik Puspitasari, “The Difference In Counting The Number Of Leukocytes Immediately And Stored For 6 Hours,” *Journal Health Applied Science and Technology*, vol. 1, no. 1, pp. 16–20, Jan. 2023, doi: 10.52523/jhast.v1i1.4.

- [17] N. Aunisajidah and M. A. Afriansyah, "Pengaruh Lama Penundaan Spesimen Darah K2EDTA Terhadap Morfologi Leukosit Pada Apusan Darah Tepi," vol. 7, pp. 734–740, Oct. 2024.
- [18] 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.

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.