

Pengaruh Penundaan Sampel Terhadap Nilai Agregasi Trombosit Darah Sitrat Pada Suhu Ruang (25°C)

Effect Of Sample Delay On Platelet Aggregation Values In Citrated Blood At Room Temperature (25°C)

Gela Setya Ayu Putri^{1*}

Iha Himatul Ulya²

Andri Sukeksi³

^{*1}D4 Teknologi Laboratorium Medik,
Fakultas Ilmu Keperawatan dan
Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
Semarang

²D4 Teknologi Laboratorium Medik,
Fakultas Ilmu Keperawatan dan
Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
Semarang

³D4 Teknologi Laboratorium Medik,
Fakultas Ilmu Keperawatan dan
Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
Semarang

*email: gela@unimus.ac.id

Abstrak

Pemeriksaan agregasi trombosit merupakan pemeriksaan penting untuk mengevaluasi fungsi trombosit. Pemeriksaan ini bersifat sangat sensitif dan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti konsentrasi sodium sitrat, jumlah trombosit, suhu penyimpanan, dan waktu penundaan pemeriksaan. Metode pemeriksaan dapat dilakukan secara otomatis maupun manual, salah satunya menggunakan metode Velaskar. Permasalahan yang sering terjadi di laboratorium adalah penundaan pemeriksaan, yang berpotensi menyebabkan kerusakan fungsi trombosit sehingga meningkatkan persentase agregasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan persentase agregasi trombosit berdasarkan variasi waktu penundaan sampel darah sitrat pada suhu ruang (25°C). Desain penelitian yang digunakan adalah analitik eksperimental. Sampel darah vena diperoleh dari enam responden, kemudian dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan yaitu kelompok segera diperiksa (kontrol), ditunda 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Agregasi trombosit diperiksa menggunakan metode Velaskar dengan pewarnaan Giemsa. Data dianalisis dengan One-Way Anova dan Post-Hoc. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata persentase agregasi trombosit pada kelompok kontrol, penundaan 2 jam, 3 jam, dan 4 jam berturut-turut adalah 56,3%, 59,6%, 71,5%, dan 75,5%. Analisis One-Way Anova menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), menandakan adanya perbedaan bermakna antar kelompok. Uji Post Hoc mengungkap bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan penundaan 2 jam ($p > 0,05$), sedangkan penundaan 3 dan 4 jam menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Dengan demikian, pemeriksaan agregasi trombosit masih dapat dilakukan hingga 2 jam setelah pengambilan sampel pada suhu ruang, namun penundaan lebih dari 2 jam tidak direkomendasikan karena dapat memengaruhi akurasi hasil.

Kata Kunci:

Agregasi trombosit, metode Velaskar, natrium sitrat, suhu ruang, waktu penundaan

Keywords:

Platelet aggregation, Velaskar method, sodium citrate, room temperature, delay time

Abstract

Platelet aggregation testing is an important procedure to evaluate platelet function. This examination is highly sensitive and influenced by various factors, including sodium citrate concentration, platelet count, storage temperature, and the delay time before testing. The assessment can be performed automatically or manually, one of which is the Velaskar method. A common issue encountered in laboratories is delayed testing, which may lead to impaired platelet function and an increased percentage of aggregation. This study aimed to determine the differences in platelet aggregation percentages based on varying delay times of citrated blood samples at room temperature (25°C). This research used an analytical experimental design. Venous blood samples were collected from six respondents and divided into four treatment groups: samples tested immediately (control), delayed for 2 hours, 3 hours, and 4 hours. Platelet aggregation was examined using the Velaskar method with Giemsa staining. Data were analyzed using One-Way Anova and Post-Hoc tests. The results showed that the mean percentages of platelet aggregation in the control, 2-hour delay, 3-hour delay, and 4-hour delay groups were 56.3%, 59.6%, 71.5%, and 75.5%, respectively. One-Way ANOVA analysis indicated a significance value of 0.000 ($p < 0.05$), suggesting significant differences among the groups. Post-Hoc testing revealed no significant difference between the control and 2-hour delay groups ($p > 0.05$), while significant differences were observed in the 3-hour and 4-hour delay groups ($p < 0.05$). Thus, platelet aggregation testing can still be reliably performed up to 2 hours after sample collection at room temperature, but delays longer than 2 hours are not recommended as they may affect the accuracy of the results. but has the same content.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan fungsi trombosit merupakan salah satu analisis yang sering dilakukan di laboratorium klinik karena memiliki peran penting dalam proses diagnostik maupun pemantauan terapi pasien dengan gangguan hemostasis (Apriani & Gea, 2021). Trombosit adalah fragmen sitoplasma tanpa inti yang berasal dari megakariosit di sumsum tulang. Sel ini memiliki fungsi vital dalam hemostasis primer dengan cara melekat (adhesi), mengaktifkan, serta beragregasi untuk membentuk sumbat hemostatik pada lokasi cedera vaskular. Proses tersebut mencegah kehilangan darah lebih lanjut dan menjadi tahap awal sebelum terbentuknya hemostasis sekunder melalui pembentukan fibrin (Memah, 2014). Oleh karena itu, kelainan trombosit baik dari sisi kuantitas maupun kualitasnya akan berdampak pada kecenderungan perdarahan maupun trombosis yang dapat membahayakan pasien (Abidin, 2020).

Untuk menilai fungsi trombosit, terdapat beberapa jenis pemeriksaan, antara lain pemeriksaan jumlah trombosit dan pemeriksaan agregasi trombosit. Pemeriksaan agregasi trombosit secara khusus digunakan untuk mengevaluasi respons trombosit terhadap agonis tertentu, serta sering diaplikasikan dalam menilai efektivitas terapi antiplatelet, skrining gangguan fungsi trombosit hereditas, maupun evaluasi risiko perdarahan sebelum tindakan pembedahan (Memah, 2014; Abidin, 2020). Keunggulan pemeriksaan ini adalah kemampuannya mendeteksi kelainan fungsi trombosit yang tidak dapat diketahui hanya dengan menghitung jumlah trombosit.

Meskipun demikian, pemeriksaan agregasi trombosit bersifat sangat sensitif terhadap berbagai faktor teknis. Hasil uji agregasi dipengaruhi oleh jenis antikoagulan, jumlah trombosit, konsentrasi agonis, suhu penyimpanan, serta waktu antara pengambilan darah dan pemeriksaan (Abidin, 2020). Secara umum, pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan dua pendekatan, yaitu metode otomatis dan metode

manual. Pemeriksaan otomatis menggunakan alat agregometer berbasis turbidimetri atau nefelometri, yang mampu memberikan hasil presisi namun membutuhkan biaya tinggi, fasilitas khusus, serta ketersediaan reagen standar internasional. Hal ini menjadi tantangan di banyak laboratorium di Indonesia, terutama laboratorium menengah dan puskesmas dengan sumber daya terbatas (Sachs et al, 2023).

Sebagai alternatif, metode manual yang dikembangkan oleh Velaskar & Chitre (1982) menjadi pilihan praktis. Prinsip metode ini adalah menghitung jumlah trombosit bebas dan trombosit yang beragregasi pada sedimen apus darah tepi setelah diberi agonis seperti adrenalin. Dengan metode ini, agregasi trombosit dapat diamati secara mikroskopis menggunakan pewarnaan sederhana dan penghitungan diferensial. Keunggulan metode manual adalah tidak memerlukan peralatan canggih, relatif murah, serta tetap memiliki nilai diagnostik yang memadai, sehingga banyak digunakan di laboratorium skala kecil hingga menengah (Abidin, 2020).

Namun, faktor preanalitik seperti keterlambatan pemeriksaan masih menjadi tantangan serius dalam praktik laboratorium. Menurut pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), pemeriksaan agregasi trombosit sebaiknya dilakukan maksimal tiga jam setelah pengambilan darah. Penundaan pemeriksaan dapat menurunkan kemampuan trombosit untuk beragregasi sehingga memengaruhi akurasi hasil (Bret et al, 2019). Dalam kenyataannya, penundaan sering terjadi akibat keterbatasan tenaga analis, tingginya jumlah sampel, keterlambatan distribusi dari bangsal, maupun kendala teknis selama pemeriksaan (Sarkar dan Hinz, 2023).

Selain itu, penundaan juga dapat menimbulkan perubahan fisiologis pada trombosit (Ling et al, 2017). Sel trombosit yang terus melakukan metabolisme akan menghasilkan akumulasi laktat sehingga pH sampel darah menurun. Bila pH turun di bawah 6,0–6,2, stabilitas membran trombosit berkurang, daya

hidupnya menurun, dan jumlah trombosit yang dapat berfungsi optimal semakin sedikit (Sarkar dan Hinz, 2023). Kondisi ini berpotensi menyebabkan hasil pemeriksaan agregasi trombosit tidak mencerminkan keadaan sebenarnya dari pasien.

Oleh karena itu, penelitian mengenai pengaruh penundaan sampel terhadap nilai agregasi trombosit pada darah sitrat yang disimpan pada suhu ruang menjadi penting. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran ilmiah mengenai sejauh mana faktor waktu memengaruhi hasil pemeriksaan, serta menjadi dasar rekomendasi bagi laboratorium klinik untuk meningkatkan kualitas preanalitik dan menjamin keandalan hasil uji agregasi trombosit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan nilai agregasi trombosit berdasarkan penundaan sampel darah sitrat pada suhu ruang 25°C.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain analitik eksperimental untuk mengevaluasi pengaruh penundaan waktu pemeriksaan terhadap nilai agregasi trombosit pada sampel darah sitrat yang disimpan pada suhu ruang. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi, Universitas Muhammadiyah Semarang (UNIMUS) pada bulan April 2025.

Populasi penelitian adalah mahasiswa Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis UNIMUS yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan. Total sampel yang diperoleh adalah 72 preparat apus darah tepi, yang kemudian dibagi secara proporsional ke dalam empat kelompok perlakuan, yaitu: Segera diperiksa (kontrol); Penundaan 2 jam; Penundaan 3 jam; dan Penundaan 4 jam.

Pengambilan sampel darah responden dilakukan menggunakan tabung vacutainer berisi natrium sitrat 3,2% (BD) melalui prosedur venipungsi sesuai standar keamanan dan keselamatan kerja laboratorium (K3). Preparat apus darah tepi untuk pemeriksaan agregasi trombosit dibuat menggunakan objek glass (Sail Brand),

difiksasi dengan metanol (Merck), kemudian diwarnai dengan giemsa (Merck). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX23) pada pembesaran 1000×. Prosedur pemeriksaan dan perhitungan agregasi trombosit sesuai dengan protokol pada penelitian sebelumnya (Putri dan Sukeksi, 2023).

Tabel 1. Pembagian kelompok eksperimen

Kel	Perlakuan	Jumlah Sampel
K	Segera diperiksa (Kontrol)	18
T2	Sampel darah sitrat yang ditunda 2 jam pada suhu ruang (25°C)	18
T3	Sampel darah sitrat yang ditunda 3 jam pada suhu ruang (25°C)	18
T4	Sampel darah sitrat yang ditunda 4 jam pada suhu ruang (25°C)	18
	Jumlah unit sampel	72

Data yang digunakan merupakan data primer hasil pemeriksaan agregasi trombosit yang dihitung secara diferensial berdasarkan metode Velaskar & Chitre (1982).

Analisis data dilakukan menggunakan SPSS versi terbaru, dengan uji One-Way ANOVA untuk mengidentifikasi perbedaan rata-rata nilai agregasi trombosit antar kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), uji Post-Hoc dilanjutkan untuk menentukan kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang No.332/V/2025/Komisi Bioetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

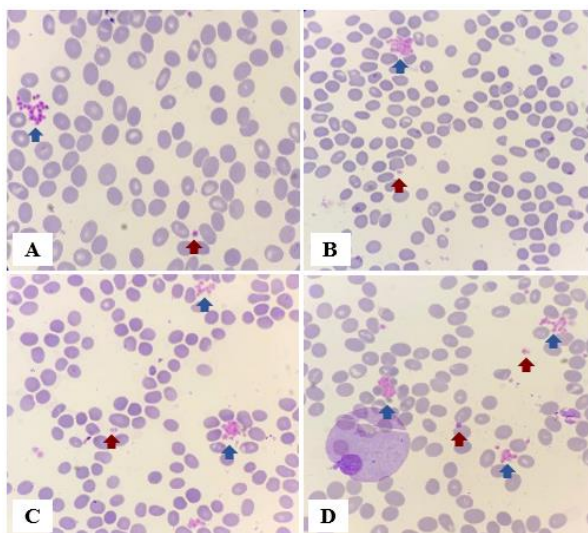
HASIL

Hasil pemeriksaan persentase agregasi trombosit pada kelompok eksperimen disajikan pada tabel 1.

Tabel II. Distribusi nilai agregrasi trombosit sampel

Kelompok	N	Rerata (%)	Min (%)	Max (%)	SD
Segera diperiksa (K)	18	56,3	51,0	61,0	4,0
Ditunda 2 Jam	18	59,6	55,0	64,0	3,6
Ditunda 3 Jam	18	71,5	69,0	74,0	1,8
Ditunda 4 Jam	18	75,5	73,0	80,0	2,4

Tabel II menunjukkan bahwa kelompok sampel yang segera diperiksa (kontrol) memiliki persentase rerata terendah yaitu 56,3% dan kelompok sampel yang ditunda 4 jam memiliki persentase rerata tertinggi yaitu 75,5%. Semakin lama penundaan, nilai agregrasi trombosit semakin meningkat. Hal tersebut sejalan dengan pengamatan mikroskopis yang disajikan pada Gambar I.



Gambar I. Gambaran mikroskopis hasil pemeriksaan agregrasi trombosit. Keterangan: A. Kontrol, B. Ditunda 2 jam, C. Ditunda 3 jam, Ditunda 4 jam; panah biru: trombosit agregrasi, panah merah: trombosit bebas

Gambar I menunjukkan gambaran hasil pemeriksaan agregrasi trombosit pada zona 6 apusan darah. Nampak trombosit yang beragregrasi pada kelompok yang ditunda 4 jam semakin banyak bisa dibandingkan kelompok lainnya. Data primer yang terdistribusi normal dan homogen selanjutnya diuji One Way Anova dan Post-Hoc, hasil ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel III. Hasil analisis statistik

Uji	Kelompok	Sig	Ket
One Way Anova	Kontrol-Kel eksperimen	0,000	Ada Perbedaan
Post-Hoc	Kontrol-Ditunda 2 Jam	0,260	Tidak Ada Perbedaan
Post-Hoc	Kontrol-Ditunda 3 Jam	0,000	Ada Perbedaan
Post-Hoc	Kontrol-Ditunda 4 Jam	0,000	Ada Perbedaan

Tabel III menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok yang ditunda 3 dan 4 jam. Sedangkan pada kelompok kontrol dengan kelompok yang ditunda 2 jam menunjukkan tidak terdapat perbedaan. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa penundaan sampel 2 jam pada suhu 25°C tidak berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan agregrasi trombosit. Selanjutnya penundaan sampel selama 3-4 jam pada suhu 25°C berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan agregrasi trombosit.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol (0 jam) dengan kelompok penundaan 3 jam dan 4 jam ($p < 0,05$), sedangkan antara kelompok kontrol dan kelompok penundaan 2 jam tidak ditemukan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Temuan ini mengindikasikan bahwa penundaan sampel hingga 2 jam pada suhu ruang (25 °C) tidak memengaruhi hasil pemeriksaan agregasi trombosit, namun penundaan selama 3–4 jam dapat menurunkan akurasi hasil pemeriksaan.

Peningkatan persentase agregasi trombosit pada kelompok yang mengalami penundaan 3 jam dan 4 jam dibandingkan dengan kelompok kontrol dapat disebabkan oleh aktivitas metabolisme trombosit yang berkelanjutan selama penyimpanan. Aktivitas metabolik ini menghasilkan akumulasi laktat dan penurunan pH, yang dapat memengaruhi stabilitas membran trombosit, meningkatkan adhesi, aktivasi, dan kecenderungan agregasi, bahkan sebelum dilakukan

pemeriksaan (Stratmann et al, 2019; Sarkar dan Hinz, 2023). Proses ini selaras dengan prinsip dasar agregasi trombosit, yaitu kemampuan trombosit untuk saling berikatan membentuk agregat ketika terpapar agonis atau mengalami perubahan kondisi lingkungan.

Selain faktor metabolisme, faktor preanalitik lain seperti konsentrasi antikoagulan (natrium sitrat), suhu penyimpanan, dan kekuatan induktor juga turut memengaruhi hasil agregasi trombosit (Pagana & Pagana, 2014; Abidin, 2020). Induktor yang digunakan dalam metode Velaskar, seperti epinefrin, termasuk kategori induktor lemah yang menginduksi agregasi trombosit secara lambat dan tidak stabil dibandingkan dengan agonis kuat seperti tromboksan A₂ atau kolagen (Putri & Sukeksi, 2023). Oleh karena itu, keterlambatan pemeriksaan dapat menyebabkan trombosit menjadi lebih sensitif terhadap induktor, sehingga nilai agregasi yang terbaca menjadi lebih tinggi dari kondisi aktual fisiologis pasien.

Temuan ini konsisten dengan laporan Nugraha (2017) yang menunjukkan bahwa sampel darah sitrat yang diperiksa segera setelah pengambilan (0 jam) maupun setelah penundaan 60 menit masih menunjukkan hasil normoagregasi, sedangkan penundaan selama 120 menit mengarah pada hasil hipoagregasi. Hal ini menguatkan bahwa stabilitas fungsi trombosit sangat dipengaruhi oleh waktu pemeriksaan. Lebih lanjut, pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) menekankan bahwa pemeriksaan agregasi trombosit idealnya dilakukan maksimal dalam 3 jam setelah pengambilan darah, untuk mencegah penurunan fungsi trombosit yang dapat mengarah pada hasil pemeriksaan yang tidak reliabel (CLSI, 2018).

Secara praktis, hasil penelitian ini menegaskan pentingnya pengendalian faktor preanalitik di laboratorium hematologi. Penundaan pemeriksaan lebih dari 2 jam pada suhu ruang perlu dihindari, atau bila tidak memungkinkan, sampel perlu disimpan pada kondisi yang dapat memperlambat metabolisme trombosit, seperti pada suhu dingin yang terkontrol

(2–8 °C), dengan tetap memperhatikan risiko lain yang dapat memengaruhi fungsi trombosit (Hasanah et al., 2019). Dengan demikian, penelitian ini memberikan bukti ilmiah yang mendukung pentingnya manajemen waktu pemeriksaan sebagai bagian dari quality control (QC) untuk menjamin validitas hasil pemeriksaan agregasi trombosit di laboratorium klinik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penundaan pemeriksaan sampel darah sitrat pada suhu ruang (25°C) berpengaruh terhadap hasil agregasi trombosit. Penundaan hingga 2 jam tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan pemeriksaan segera (kontrol), sehingga sampel masih stabil untuk dianalisis. Namun, penundaan selama 3 hingga 4 jam menyebabkan perubahan signifikan pada persentase agregasi trombosit, yang menunjukkan adanya penurunan stabilitas sampel. Temuan ini menegaskan pentingnya melakukan pemeriksaan agregasi trombosit sesegera mungkin setelah pengambilan sampel, atau paling lama dalam waktu 2 jam, untuk memperoleh hasil yang akurat dan reliabel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. (2020). *Hematologi Klinik*. Jakarta: Trans Info Media.
- Apriani, S., & Gea, Y. R. (2021). Pemeriksaan fungsi trombosit dalam praktik laboratorium klinik. *Jurnal Analis Kesehatan Indonesia*. 10(2), 45–52. <https://doi.org/10.46799/jhs.v2i1.96>
- Bret, V. E., Pougault, B., Guy, A., Castet, S., Huguenin, Y., Pillois, X., James, C., & Fiore, M. (2019). Assessment of light transmission aggregometry on the routine coagulation analyzer Sysmex CS-2500 using CE-marked agonists from Hyphen Biomed. *Platelets*. 30(4), 540–542. <https://doi.org/10.1080/09537104.2018.15283>

- CLSI. (2018). Platelet Function Testing by Aggregometry; *Approved Guideline*. Clinical and Laboratory Standards Institute. Thrombosis/Hemostasis, 25, 1076029619885184. <https://doi.org/10.1177/1076029619885184>
- Hasanah, N., Istika, E., Marlina, S., Hayati, N., & Nurhayati. (2019). Pengaruh suhu penyimpanan dan variasi konsentrasi epinefrin terhadap nilai agregasi trombosit metode Velaskar. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung*. 11(2), 45–52. <https://doi.org/10.34011/juriskes.v11i2.761>
- Ling, L. Q., Liao, J., Niu, Q., Wang, X., Jia, J., Zuo, C. H., Jiang, H., & Zhou, J. (2017). Evaluation of an automated light transmission aggregometry. *Platelets*. 28(7), 712–719. <https://doi.org/10.1080/09537104.2016.1265923>
- Memah, J. M. (2014). Pemeriksaan fungsi trombosit dalam diagnosis kelainan hemostasis. *Jurnal Biomedik*, 6(3), 145–152.
- Nugraha, G. (2017). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Ke-2 Jakarta: Trans Info Media.
- Pagana, K. D., & Pagana, T. J. (2014). *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference* (12th ed.). St. Louis: Mosby Elsevier.
- Putri, G. S. A., & Sukeksi, A. (2023). The potential of Aloe vera gel as an alternative inductor in platelet aggregation test: Potensi Gel Lidah Buaya Sebagai Induktor Alternatif Pada Pemeriksaan Agregasi Trombosit. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 12(1), 33–40. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v12i1.392>
- Sachs, U. J., Röder, L., Cooper, N., Radon, C., & Kolde, H. J. (2023). Automated Light Transmission Aggregometry with and without Platelet Poor Plasma Reference: A Method Comparison. *TH open : companion journal to thrombosis and haemostasis*, 7(1), e56–e64. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1762588>
- Sarkar, M. K., & Hinz, C. (2023). Assessment of Platelet Function by Automated Light Transmission Aggregometry. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2663, 611–625. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_40
- Stratmann, J., Karmal, L., Zwinge, B., & Miesbach, W. (2019). Platelet Aggregation Testing on a Routine Coagulation Analyzer: A Method Comparison Study. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied*