

Perbedaan Hasil Pemeriksaan Hematologi yang segera dilakukan pemeriksaan dan yang ditunda pada suhu ruangan dan refrigerator menggunakan Sysmex XP-300

The difference between the hematology examination that was immediately carried out and which was delayed at room temperature and recommended using a sysmex xp-300

Nathalya Dwi Kartika Sari^{1*}

Gilang Nugraha²

Brina Thursina Dibiasi³

Mirshall Abiedama Prayoga⁴

*¹Universitas Nahdlatul Ulama,
Surabaya, Indonesia

² Universitas Nahdlatul Ulama,
Surabaya, Indonesia

³ Universitas Nahdlatul Ulama,
Surabaya, Indonesia

⁴Universitas Nahdlatul Ulama,
Surabaya, Indonesia

*dr.nathalya@unusa.ac.id

Abstrak

Penganalisis hematologi otomatis (hematology analyzer, HA) adalah alat pemeriksaan hematologi rutin yang banyak digunakan pada berbagai pelayanan laboratorium klinik . Sysmex XP-300 adalah HA 3-part diff yang merupakan HA paling sederhana, pemeriksaan jumlah sel dilakukan dengan metode impedansi yang hanya didasarkan pada ukuran sel .Pemeriksaan Complete Blood Count (CBC) merupakan pemeriksaan yang sering diminta oleh klinisi. Hasil pemeriksaan Complete Blood Count dipengaruhi suhu penyimpanan dan waktu inkubasi. Tujuan dari penelitian ini menentukan perbedaan hasil pemeriksaan hematologi pada sampel darah EDTA yang segera dilakukan pemeriksaan dan ditunda pada suhu ruang dan refrigerator menggunakan HA Sysmex XP-300. Diharapkan dari penelitian ini dapat dikembangkan suatu metode validasi hasil pemeriksaan untuk memperkecil kesalahan dalam pemeriksaan di laboratorium klinik. Metode penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian pre-eksperimental melalui pendekatan one group pretest-posttest design dengan sampel sebanyak 15 laboran, dan dilakukan uji analisis dengan ANOVA. Hasil penelitian ini didapatkan WBC, RBC, HGB,HCT, MCV,MCH dan MCHC perbedaan hasil pada suhu ruang 2, 24, 48 dan 72 jam dibandingkan suhu refrigerator,hanya parameter PLT saja yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna saat dilakukan pemeriksaan segera dengan yang ditunda di dalam refrigerator. Morfologi eritrosit dipengaruhi oleh suhu dan penyimpanan sebaiknya hapusan darah tepi dilakukan pemeriksaan sesegera mungkin.

Kata Kunci : Hematologi; Waktu; Suhu; Morfologi Eritrosit

Abstract

Automatic hematology analyzer (hematology analyzer, ha) is a routine hematology examination tool that is used extensively in clinical laboratory services. Sysmex xp-300 is the HA 3-part diff that is the simplest ha, impedance examination of the number of cells based solely on cell sizes. The complete blood count's examination was affected by the storage temperature and incubation times. The objective of this study determined the difference between hematology and edta's immediate examination of blood samples and was delayed at room temperature and temperature using a ha ssrmex xp-300. It is hoped that, this research could be developed with a method of validation of checks to minimize errors in clinical laboratories. Experimental experimental research methods with a preexperimental research design through the one group preafflicted posttest design with a sample of as many as 15 laboratories, and we conducted an analysis with anova. The results of this study have WBC, RBC, HGB,HCT, MCV,MCH and MCHC different results at room temperature 2, 24, 48 and 72 hours compared to temperature fluctuations, the PLT parameters alone show no significant difference when it comes to prompt examinations with delays in the application. Morphology of erythrocyte is influenced by temperature and storage should be hypotensive.

PENDAHULUAN

Keakuratan pemeriksaan hematologi dipengaruhi oleh preanalitik dimana saat sampel diambil , penanganan, penyimpanan (waktu pengiriman) sampel dan pemilihan antikoagulan akan mempengaruhi perhitungan dan pemeriksaanukuran sel pada alat hematologi otomatis

(Tendulkar et.al, 2015;A.M Diks,et.al.2019).

Penganalisis hematologi otomatis (hematology analyzer, HA) adalah alat pemeriksaan hematologi rutin yang banyak digunakan pada berbagai pelayanan laboratorium klinik (Rahmanitarini, Hernaningsih and Indrasari, 2019). Sysmex XP-300 adalah HA 3-part diff

yang merupakan HA paling sederhana, pemeriksaan jumlah sel dilakukan dengan metode impedansi yang hanya didasarkan pada ukuran sel (Keohane, Smith and Walenga, 2016). Sehingga kemampuan untuk mengidentifikasi morfologi sel masih terbatas dan perlu dilakukan pemeriksaan apusan darah tepi (Rahmanitarini, Hernaningsih and Indrasari, 2019).

International Council for Standardization in Haematology (ICSH) merekomendasikan pemeriksaan apusan darah tepi tidak melebihi dari 1 jam, karena terjadi perubahan morfologi sel dalam 30 menit setelah pengambilan darah pada suhu ruang (Vives-Corrons et al., 2014; Zini, 2014). Perubahan morfologi sel akan mempengaruhi kemampuan HA dalam melakukan analisis, sehingga dapat mempengaruhi keakuratan pemeriksaan (Zini, 2014; Jain et al., 2018; Tang et al., 2019). Permasalahannya adalah bagaimana stabilitas pemeriksaan hematologi pada sampel darah EDTA yang ditunda pada suhu ruangan dan refrigerator menggunakan Sysmex XP-300. Penundaan pemeriksaan umumnya terjadi karena pemeriksaan yang tidak dapat dilakukan segera atau bisa di sebabkan karena penyimpanan. Alasan penundaan dapat disebabkan karena lokasi sampling yang jauh atau petugas laboratorium yang sibuk (Tang et al., 2019). Sedangkan penyimpanan dilakukan untuk antisipasi jika diminta pemeriksaan ulang atau barang bukti jika terjadi komplain (Rahmania, Kuntjoro and Suroto, 2019).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian pre-eksperimental melalui pendekatan one group pretest-posttest design. Penelitian menggunakan spesimen darah manusia yang kemudian dibagi menjadi kedalam dua kelompok yaitu suhu ruang dan suhu dingin. Observasi sebelum perlakuan merupakan kontrol, dan perlakuan dilakukan setelah penundaan pemeriksaan selama 2, 24, 48 dan 72 jam.

Penelitian dilakukan di laboratorium hematologi, fakultas kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya. Populasi penelitian ini yaitu responden laki-laki atau perempuan sehat dan sakit dengan sampel penelitian merupakan responden di lingkungan Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan besar sampel minimum dihitung menggunakan persamaan Federer :

$$(t - 1)(r - 1) > 15$$

$$(5 - 1)(r - 1) > 15$$

$$(15 + 4)$$

$$r = 4,75 \sim 5$$

Jumlah perlakuan pada penelitian ini sebanyak 10 kali. Ulangan minimum yang harus dilakukan pada masing-masing kelompok yaitu 5 untuk memenuhi jumlah minimum uji statistik maka masing-masing kelompok 15 ulangan. Sehingga jumlah ulangan untuk seluruh kelompok yaitu 150 ulangan dengan sampel yang diambil cukup 15 sampel penelitian.

Pengumpulan data dilakukan dengan pengambilan sampel darah vena kedalam tabung EDTA sebanyak 5 cc. Spesimen darah yang didapat dengan segera dilakukan pemeriksaan hematologi menggunakan alat hematology analyzer Sysmex XP-300 (Sysmex Corp., Japan), hasil pemeriksaan ini merupakan kontrol dalam penelitian. Kemudian darah dalam tabung di bagi kedalam 10 alukot masing-masing berisi 500 μL . Sebanyak 5 tabung alukot berisi darah disimpan pada suhu ruang dan 5 tabung lainnya pada suhu refrigerator. Setelah 2, 24, 48 dan 72 jam diambil satu tabung pendorf untuk dilakukan analisis menggunakan HA.

Data analisis yang digunakan meliputi hemoglobin (Hgb), hematokrit (Hct), jumlah eritrosit (red blood cell, RBC), jumlah trombosit (platelet, PLT), jumlah leukosit (white blood cell, WBC), MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin) dan MCHC. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabulasi dan grafik untuk mempermudah

analisis. Selanjutnya data dianalisis dengan mean, standar deviasi (SD) dan persentase (%).

Uji hipotesis dilakukan menggunakan Repeated Measures ANOVA jika data tidak terdistibusi normal dan homogen maka dilakukan uji non-parametrik menggunakan ANOVA Friedman. Hasil uji dinyatakan secara bermakna terdapat perbedaan jika nilai-p < α dengan signifikansi two-tailed dan $\alpha = 0,05$. Analisis dilakukan menggunakan SPSS versi 21 (IBM, United States).

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Profil Sampel Penelitian

Penelitian tentang perbedaan pemeriksaan hematologi darah EDTA dilakukan pada 15 orang laboran unusa dan dilakukan sebanyak 6 kali selama rentang waktu 0 jam, 2 jam, 24 jam, 48 jam dsn 72 jam. Profil sampel penelitian adalah sebagai berikut:

Table I. Profil Sampel Penelitian

Profil	F(%)
Jenis Kelamin	
Laki-Laki	4 (26.7)
Perempuan	11 (73.3)
Usia	
< 30 tahun	11 (73.3)
\geq 30 tahun	4 (26.7)

Sumber: Data diolah (2021)

Sampel penelitian menurut jenis kelamin adalah 4 orang (26,7%) laki-laki dan 11 orang (73,3%) perempuan. Semantara itu, untuk profil usia sampel diketahui lebih banyak yang berusia kurang dari 30 tahun yaitu 11 orang (73,3%) dan hanya 4 orang (26,7%) yang berusia lebih dari 30 tahun.

Profil Pemeriksaan Darah EDTA

Hasil pemeriksaan darah EDTA menggunakan Sysmex XP-300 di dalam ruangan pada 15 orang sampel diketahui bahwa parameter HGB, HCT, MCH, 281

MCV, PLT. cenderung mengalami peningkatan nilai seiring dengan lamanya waktu pengamatan. Semantara itu, untuk hasil pemeriksaan darah EDTA yang cenderung mengalami penurunan nilai adalah parameter WBC, RBC, MCHC.

Sedangkan untuk hasil pemeriksaan darah EDTA menggunakan Sysmex XP-300 di dalam refrigerator pada 15 orang sampel diketahui bahwa parameter RBC, HGB, HCT, MCH dan PLT cenderung mengalami peningkatan nilai seiring dengan lamanya waktu pengamatan. Semantara itu, untuk hasil pemeriksaan darah EDTA yang cenderung mengalami penurunan nilai adalah parameter WBC, MCV dan MCHC. Hasil pemeriksaan selanjutnya secara umum gambaran hasil pemeriksaan darah EDTA menggunakan Sysmex XP-300 yang dilakukan di dalam ruang cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan pemeriksaan daengen metode sama di dalam refrigerator, sebagaimana tercantum di Tabel 2 dan Tabel 3.

¹NB :Tabel dan grafik tertera dalam lampiran

Uji Asumsi Normalitas

Sesuai dengan tujuan dan rumusan masalah yang ada, maka uji statistik yang dipergunakan adalah Repeated Measures ANOVA untuk sampel berpasangan pada banyak kelompok. Analisis dengan Repeated Measures ANOVA memiliki syarat bahwa sebaran dari nilai residual model harus menyebar mengikuti sebaran normal. Berikut adalah hasil dari pengujian sebaran nilai residual Repeated Measures ANOVA:

²NB : Tabel tertera dalam lampiran

Berdasarkan hasil uji normalitas data pemeriksaan EDTA dalam ruang dengan Shapiro Wilks diketahui bahwa terdapat 5 parameter pemeriksaan yang memiliki sebaran data residual normal pada tiap pengamatannya yaitu WBC, RBC, HGB, HCT dan PLT dimana semua nilai p-value uji Shapiro Wilks lebih besar dari ketetapan 0,05. Kelima parameter yang memiliki sebaran nilai residual model normal dapat dilanjutkan

dengan metode *Repeated Measures ANOVA* serta uji *post hoc Least Significance Difference (LSD)*.

Sementara itu, untuk parameter lainnya yaitu MCV, MCH dan MCHC yang diukur dalam ruang dan tidak memiliki sebaran data normal untuk setiap hasil pengamatan akan diuji dengan metode *Friedman Test* serta dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon Sign Rank Test*.

Pada data nilai residual model *Repeated Measures ANOVA* yang menggunakan data pengukuran dalam Refrigerator juga dilakukan uji sebaran normalitas sebagaimana tercantum pada Tabel 5 sebagai berikut:

³NB : Tabel tertera dalam lampiran

Hasil uji normalitas data pemeriksaan EDTA dalam refrigerator dengan *Shapiro Wilks* diketahui bahwa terdapat 5 parameter pemeriksaan yang memiliki sebaran data residual normal pada tiap pengamatannya yaitu WBC, RBC, HGB, HCT dan PLT dimana semua nilai p-value uji *Shapiro Wilks* lebih besar dari ketetapan 0,05. Kelima parameter yang memiliki sebaran nilai residual model normal dapat dilanjutkan dengan metode *Repeated Measures ANOVA* serta uji *post hoc Least Significance Difference (LSD)*.

Sementara itu, untuk parameter lainnya yaitu MCV, MCH dan MCHC yang diukur dalam refrigerator dan tidak memiliki sebaran data normal untuk setiap hasil pengamatan akan diuji dengan metode *Friedman Test* serta dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon Sign Rank Test*.

Repeated Measures ANOVA, LSD, Friedman dan Wilcoxon Sign Rank Test

Uji perbedaan hasil pemeriksaan darah EDTA yang dilakukan segera dan yang ditunda selama 2 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam dengan *Repeated Measures ANOVA* pada data yang memiliki sebaran nilai residual normal dilakukan dengan metode *Greenhouse-Geisser* karena asumsi kesamaan ragam *Mauchly's Test of Sphericity* pada parameter dihasilkan nilai p-value yang lebih kecil dari 0,05. Hasil dari pengujian *Repeated Measures, LSD, Friedman Test* dan *Wilcoxon Sign Rank*

Test pada pemeriksaan data dalam ruang selengkapnya ditampilkan pada Tabel 6 dan 7 sebagai berikut:

Sumber: Data diolah (2021)

Tabel VI. Repeated Measure dan LDS Data Ruang

Parameter	Waktu (Jam)	Mean	p value Greenhouse Geisser	p value LSD
WBC	0	7.433	0.036	
	2	7.420		0.744
	24	7.387		0.235
	48	7.353		0.082
	72	7.100		0.046
RBC	0	4.757	0.647	-
	2	4.727		-
	24	4.719		-
	48	4.731		-
	72	4.737		-
HGB	0	13.567	0.127	-
	2	13.540		-
	24	13.500		-
	48	13.633		-
	72	13.673		-
HCT	0	39.040	0.000	
	2	38.987		0.349
	24	40.100		0.000
	48	42.073		0.000
	72	43.460		0.000
PLT	0	373.333	0.030	
	2	365.867		0.107
	24	377.600		0.233
	48	376.667		0.497
	72	373.000		0.961

Sumber : Data diolah (2021)

Hasil uji parameter pemeriksaan darah EDTA di dalam ruang yang memiliki sebaran normal dengan *Repeated Measure ANOVA* diketahui pada nilai WBC, HCT dan PLT diperoleh p-value *Greenhouse Geisser* sebesar 0,036; 0,000; 0,030; yang lebih kecil dari 0,05. Mengacu pada hasil tersebut, maka hasil pemeriksaan WBC, HCT dan PLT di dalam ruangan memakai

Sysmex XP-300 menunjukkan perbedaan bermakna apabila dilakukan pemeriksaan segera dan ditunda.

Pada uji lanjut LSD untuk nilai WBC diketahui perbedaan bermakna hanya terjadi pada pemeriksaan yang dilakukan segera dengan yang ditunda selama 72 jam, dimana terjadi penurunan nilai WBC setelah dilakukan pengukuran selama 72 jam tersebut. Sementara itu, dengan pemeriksaan yang ditunda selama 2, 24 dan 48 jam disimpulkan tidak menunjukkan perbedaan bermakna.

Uji lanjut LSD untuk nilai HCT diketahui bahwa perbedaan bermakna terjadi pada pemeriksaan yang dilakukan segera dengan yang ditunda selama 24, 48 dan 72 jam, dimana dengan adanya penundaan terjadi peningkatan nilai HCT dibandingkan dengan hasil pemeriksaan segera.

Sementara itu, untuk uji LSD nilai PLT diketahui perbedaan bermakna hanya terjadi pada pemeriksaan yang dilakukan segera dan tidak menunjukkan perbedaan dengan pemeriksaan yang ditunda dengan rentang waktu yang lebih lama.

Tabel VII. Friedman dan Wilcoxon Sign Rank Test Data Ruang

Parameter	Waktu (Jam)	Median	p value Friedman	p value Wilcoxon
MCV	0	84.0	0.000	
	2	84.6		0.007
	24	87.1		0.001
	48	90.9		0.001
	72	92.8		0.001
MCH	0	29.7	0.022	
	2	29.8		0.035
	24	29.6		0.309
	48	29.9		0.004
	72	29.5		0.333
MCHC	0	35.3	0.000	
	2	35.3		0.752
	24	33.9		0.001
	48	32.7		0.001
	72	31.6		0.001

Sumber: Data diolah (2021)

Tabel 7 di atas menunjukkan bahwa uji beda pemeriksaan darah EDTA dalam ruang pada nilai-nilai MCV, MCH dan MCHC yang tidak memiliki sebaran normal diperoleh nilai p-value uji Kruskal Wallis yang lebih kecil dari 0,05. Berdasarkan atas hasil tersebut dapat dikemukakan bahwa terjadi perbedaan bermakna pada pemeriksaan MCV, MCH dan MCHC yang dilakukan segera dengan yang ditunda.

Hasil lainnya dari uji lanjut dengan metode Wilcoxon Sign Rant Test diketahui bahwa sebagian besar hasil pemeriksaan MCV, MCH dan MCHC yang dilakukan segera masing-masing berbeda bermakna dengan pemeriksaan yang ditunda selama 2 jam, 24 jam, 48 jam serta 72 jam.

Hasil uji lain pada Tabel 6 dan 7 juga menyimpulkan bahwa parameter RBC dan HGB tidak menunjukkan perbedaan bermakna saat dilakukan pemeriksaan segera dengan yang ditunda.

Tabel VIII. Repeated Measure dan LDS Data Refrigerator

Parameter	Waktu (jam)	Mean	p value Greenhouse Geisser	p value LSD
WBC	0	7.340	0.001	
	2	7.287		0.357
	24	7.240		0.016
	48	7.360		0.695
	72	7.107		0.012
	0	4.777	0.012	
	2	4.727		0.001
	24	4.736		0.005
RBC	48	4.751		0.036
	72	4.860		0.092
	0	13.580	0.001	
	2	13.533		0.089
HGB	24	13.547		0.238
	48	13.693		0.000
	72	13.880		0.006
	0	39.220	0.021	
HCT	2	38.707		0.000
	24	38.627		0.000
	48	38.760		0.000
	72	40.213		0.122
PLT	0	362.200	0.053	
	2			

2	364.733	-
24	372.600	-
48	376.933	-
72	377.267	-

Sumber: Data diolah (2021)

Uji beda parameter pemeriksaan darah EDTA di dalam refrigerator yang memiliki sebaran normal dengan Repeated Measure ANOVA diketahui pada nilai WBC, RBC, HGB dan HCT diperoleh p-value Greenhouse Geisser yang lebih kecil dari 0,05 dan selanjutnya disimpulkan terjadi perbedaan bermakna pemeriksaan parameter-parameter tersebut yang dilakukan segera dengan yang ditunda di dalam refrigerator memakai Sysmex XP-300.

Pada uji lanjut LSD untuk nilai RBC dan HCT diketahui perbedaan bermakna sebagian besar terjadi pada pemeriksaan yang dilakukan segera dengan yang ditunda selama 2 jam, 24 jam, 48 jam serta 72 jam. Sementara pada parameter WBC, HGB, serta MDX perbedaan bermakna terjadi pada beberapa rentang pengamatan saja.

Pada uji lanjut LSD nilai WBC diketahui perbedaan bermakna terjadi pada pemeriksaan yang dilakukan segera dengan yang ditunda selama 24 dan 72 jam. Untuk nilai HGB diketahui perbedaan bermakna terjadi pada pemeriksaan segera dengan yang ditunda selama 48 dan 72 jam.

Tabel IX. Friedman dan Wilcoxon Sign Rank Test Data Refrigerator

Parameter	Waktu (Jam)	Median	p value Friedman	p value Wilcoxon
MCV	0	84.1	0.000	
	2	83.9		0.009
	24	83.4		0.001
	48	83.9		0.001
	72	84.4		0.900
MCH	0	29.6	0.000	
	2	29.6		0.023
	24	29.7		0.054
	48	29.9		0.001
	72	29.4		0.284

MCHC	0	35.2	0.000
	2	35.4	0.003
	24	35.5	0.015
	48	35.8	0.001
	72	34.4	0.977

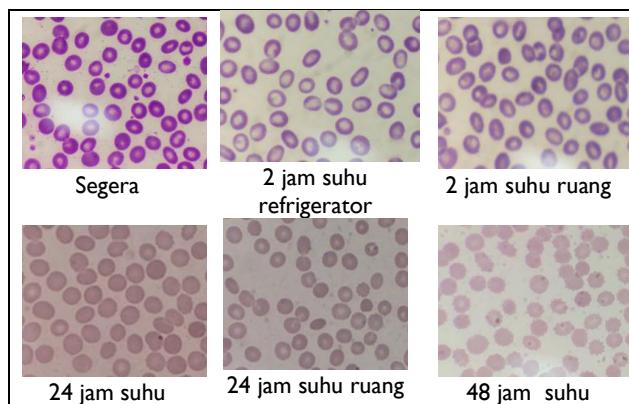
Sumber: Data diolah (2021)

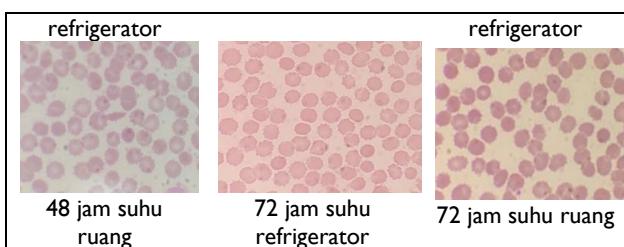
Pada Tabel 9 di atas menunjukkan bahwa uji beda pemeriksaan darah EDTA dalam ruang pada nilai-nilai MCV, MCH dan MCHC yang tidak memiliki sebaran normal semuanya diperoleh nilai p-value uji Kruskal Wallis yang lebih kecil dari 0,05. Berdasarkan atas hasil tersebut dapat dikemukakan bahwa terjadi perbedaan bermakna pada pemeriksaan parameter-parameter tersebut yang dilakukan segera dengan yang ditunda.

Selanjutnya dari hasil lainnya dari uji Wilcoxon Sign Rank Test diketahui bahwa pada parameter MCV, MCH dan MCHC yang dilakukan segera sebagian besar menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan pemeriksaan yang ditunda selama 2 jam, 24 jam, 48 jam serta 72 jam.

Hasil uji lain pada Tabel 8 dan 9 juga disimpulkan bahwa hanya parameter PLT saja yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna saat dilakukan pemeriksaan segera dengan yang ditunda di dalam refrigerator.

Morfologi eritrosit melalui pemeriksaan hapusan darah didapatkan perubahan morfologi pada 24 jam suhu ruang didapatkan krenasi dan sferosit sel dibandingkan pada suhu refrigerator pada gambar dibawah ini





Gambar I. Perubahan Morfologi Eritrosit

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini penyimpanan mempengaruhi parameter pada hematologi baik dari suhu penyimpanan dan waktu pemeriksaan setelah pengambilan darah. Komite Internasional Standarisasi Hematologi merekomendasikan maksimum penyimpanan untuk hematologic darah lengkap dengan menggunakan alat penganalisa otomatis stabil pada suhu 4°C dengan waktu penyimpanan 24 jam sampai 72 jam. Penelitian ini mengungkapkan bahwa WBC, RBC, HGB,HCT, MCV,MCH dan MCHC pada suhu refrigerator konstan, berbeda dengan penyimpanan pada suhu ruang mempengaruhi WBC, HCT, MCV,MCH dan MCHC, sedangkan RBC dan HGB tidak terpengaruh. Parameter PLT tidak menunjukkan perbedaan bermakna saat dilakukan pemeriksaan segera dengan yang ditunda di dalam suhu ruang dan refrigerator. Parameter hematologi PLT stabil pada suhu 4°C selama 72 jam selain parameter HGB stabil diikuti WBC (Tendulkar 2015). Sesuai dengan penelitian Sevda Unalli Ozmen dan Yesim Ozarda 2021, parameter RBC, HGB dan MCH stabil selama 48 jam dalam penyimpanan suhu 4°C, 10°C, dan 23°C . Parameter HCT dan HGB meningkat sedangkan WBC menurun pada 48 jam penyimpanan 23°C.

Didapatkan perubahan WBC pada penyimpanan lebih dari 8 jam suhu ruang, semakin lama penyimpanan akan mempengaruhi morfologi WBC dan tidak dapat diidentifikasi dikarenakan perubahan lobulasi, sitoplasma ireguler dan vakoulasi (Rahmanitarini, Hernaningsih and Indrasari, 2019).

Parameter MCV stabil pada suhu refrigerator tetapi terjadi peningkatan MCV pada suhu ruang

dikarenakan ada pembengkakan dari RBC (Gunawardena dkk,2017). Peningkatan MCV pada suhu ruang ini akan mempengaruhi morfologi eritrosit berupa sel krenasi (Ramya D, Vijayambika J and Eswari V, 2020).

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan alat otomatis Sysmex XN, Briggs dkk menemukan bahwa parameter WBC, hitung jenis WBC dan PLT-F tidak ada perbedaan bermakna sampel yang disimpan pada suhu ruang atau suhu refrigerator 4°C lebih dari 72 jam, begitupula penelitian Tanaka dkk parameter PLT stabil pada 48 jam baik pada suhu ruang maupun suhu 4°C.

Perubahan parameter WBC, HCT, MCV,MCH ,MCHC, HGB dan RBC terjadi pada penyimpanan suhu ruang 37°C menyebabkan perubahan pada parameter hematologi yang diteliti, merupakan bagian terpenting pada negara dengan lingkungan suhu tinggi sehingga penggunaan pendingin dapat mempertahankan sampel (Daves M dkk,2015)

Suhu dan waktu penyimpanan selain mempengaruhi stabilitas juga mempengaruhi morfologi eritrosit. Hasil penelitian ini didapatkan perubahan morfologi eritrosit pada 24 jam waktu penyimpanan, didapatkan krenasi dan sferosit sel eritrosit pada suhu ruangan dibandingkan dengan suhu refrigerator. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, terjadi perubahan morfologi eritrosit, sferosit terjadi pada penyimpanan 16 jam suhu ruang dan ditemukan 24 jam pada suhu refrigerator, ini berhubungan dengan penuaan sel yang dipengaruhi waktu paruh dan kapasitas fungsi sel serta kematian sel, kekakuan membrane dan hilangnya lipid membrane (Rahmanitarini, Hernaningsih and Indrasari, 2019).

Perubahan morfologi eritrosit dimulai dengan peningkatan ukuran sel yaitu terbentuk krenasi dan sferosit. Terjadi perubahan morfologi eritrosit dipengaruhi oleh EDTA yang menyebabkan kerusakan irreversible struktur, biokimia dan fungsional darah

dan trombosit dan sel -sel lain, EDTA akan menimbulkan perubahan bentuk eritrosit krenasi, spikuladan *echinocytes* atau *burr* sel selain itu dapat juga menimbulkan artefak pada sel darah merah yang dilakukan penyimpanan pada suhu ruang lebih dari 5 jam, begitupula pada hari kedua terjadi pembesaran pada sel darah merah karena perubahan degeneratif dimana air masuk kedalam sel (Rodak et al.2016). Antikoagulan EDTA yang disimpan pada suhu 4-8°C selama 72 jam selain menimbulkan perubahan morfologi eritrosit, terjadi meningkatkan fragilitas osmotik (Bafour S, Quao E and Kyeremeh R, 2013).

Penyimpanan sampel darah pada suhu refrigerator 4°C selama 7 hari didapatkan tahanan hyperosmolar dan dimulai tahanan hipoosmolar pada hari pertama, kondisi ini akan mempengaruhi fragilitas osmotik yang akan mempengaruhi morfologi eritrosit (volume dan integritas membran eritrosit karena metabolisme anaerob yang terus menerus). Oleh karena itu penyimpanan darah pada suhu refrigerator 4°C selama lebih dari 2 hari akan mempengaruhi tes fragilitas osmotik darah terutama eritrosit (Gian Luca Salvagno et al 2020)

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini didapatkan WBC, RBC, HGB,HCT, MCV,MCH dan MCHC terdapat perbedaan hasil pada suhu ruang 2, 24, 48 dan 72 jam dibandingkan suhu refrigerator, hanya parameter PLT saja yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna saat dilakukan pemeriksaan segera dengan yang ditunda di dalam refrigerator. Morfologi eritrosit dipengaruhi oleh suhu dan penyimpanan, sebaiknya hapusan darah tepi dilakukan pemeriksaan sesegera mungkin.

DAFTAR PUSTAKA

A.M Diks,et al.(2019) 'Impact of blood storage and sample handling on quality of high dimensional flowcytometric data in multicenter clinical research'.Journal of Immunological Methods

475; 112616.
<https://doi.org/10.1016/j.jim.2019.06.007>

Antwi-Baffour S, Quao E, Kyeremeh R(2013). Prolong store of blood in EDTA has an the effect on the morphology and osmotic fragility of erythrocyte. International Journal of Biomedical Science and Engineering; 1(2):20-23. <https://doi.org/10.11648/i.ijbse.20130102.11>

Briggs, C., Culp, N., Davis, B., d'Onofrio, G., Zini, G., & Machin, S. J. (2014). ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. International Journal of Laboratory Hematology, 36(6), 613–627. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12201>

Daves, M., Zagler, E. M., Cemin, R., Gnech, F., Joos, A., Platzgummer, S., & Lippi, G. (2015). Sample stability for complete blood cell count using the Sysmex XN hematological analyzer. Blood Transfusion, 13(4), 576–582. <https://doi.org/10.2450/2015.0007-15>

Gian Luca Salvagno, Davide Demonte, Francesco Dima, Chiara Bovo, Giuseppe Lippi (2020)'Stability of refrigerated whole blood samples for osmotic fragility test', Hematol Transfus Cell Ther;42(2); p 134-138. <https://doi.org/10.1016/j.hct.2019.06.001>

Gunawardena et al.(2017) 'Reliability of Parameters of Complete Blood Count With Different Storage Conditions', Journal of Clinical Laboratory Analysis 31:pp.1-6. Doi 10.1002/jcla.22042.

Jain, A. et al. (2018) 'Storage stability of commonly used haematological parameters at 33°C', Biochimia Medica. Biochimia Medica, Editorial Office, 28(2 Special Issue). doi: 10.11613/BM.2018.020901.

Keohane, E. M., Smith, L. J. and Walenga, J. M. (2016) Rodaks's Hematology: Clinical Principles and Application. 5th edn. Missouri: Elsevier.

Rahmania, Y. L., Kuntjoro, T. and Suroto, V. (2019) 'Proving the Accuracy and Legal Liability of Clinical Laboratory Examination Results Using Automatic Tools', Jurnal Hukum Kesehatan, 5(2), pp. 358–376.

Rahmanitarini, A., Hernaningsih, Y. and Indrasari, Y. N. (2019) 'The stability of sample storage for complete blood count (CBC) toward the blood cell morphology', *Bali Medical Journal*, 8(2), p. 482. doi: 10.15562/bmj.v8i2.1369.

Ramya D, Vijayambika J and Eswari V, 2020'Effect of room temperature and refrigerated storage on automated hematological parameters' Indian Journal of Pathology and Oncology; 7(4) p 625-630

Rodak BF, Fritsma GA, and Keohane FA. Hematology, Clinical Principles and Application 4th ed Elsevier Saunder. 2016: 176-180

Sevda Unalli Ozmen, Yesim Ozarda (2021)' Stability of hematological analytes during 48 hours storage at three temperatures using Cell-Dyn Hematology analyser, *J Med Biochem* 40; p 252-260. DOI : 10.5937/jomb0-27945

Tanaka Y, Gondo K, et al.(2014) Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. *J Clin Lab Anal* ; 28: p 341-8.

Tang, O. et al. (2019) 'Short-Term Stability of Hematologic Parameters in Frozen Whole Blood', *The journal of applied laboratory medicine*. NLM (Medline), 4(3), pp. 410–414. doi: 10.1373/jalm.2018.028357.

Tendulkar, A., Jain, P., Gujral, S., Tambe, M., Kenjale, R., & Ganesh, B. (2015). Stability of Selected Hematological Parameters in Stored Blood Samples. *Journal of Cell Science & Therapy*, 6(5). <https://doi.org/10.4172/2157-7013.1000220>

Vives-Corrons, J. L. et al. (2014) 'Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination: A need for standardization', *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 222–226. doi: 10.1111/ijlh.12170.

Zini, G. (2014) 'Stability of complete blood count parameters with storage: Toward defined specifications for different diagnostic applications', *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 111–113. doi: 10.1111/ijlh.12181.

¹NB :Tabel dan grafik tertera dalam lampiran

Table II. Hasil Pemeriksaan Darah EDTA Ruang

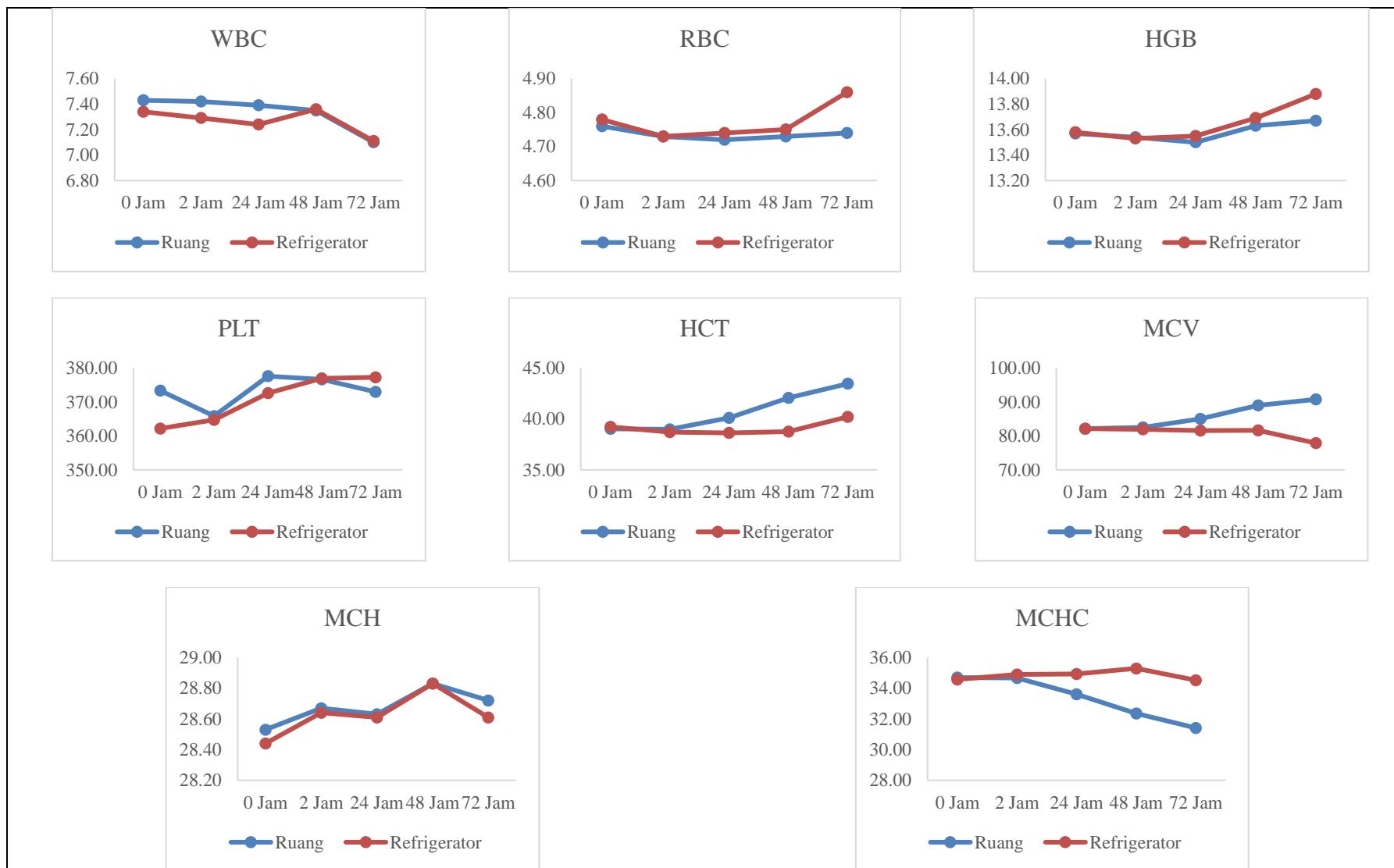
Parameter	Hasil	Waktu (Jam)				
		0	2	24	48	72
WBC	Median – (Range)	7.7 – (4.8 s/d 9.7)	7.7 – (4.5 s/d 9.6)	7.7 – (4.7 s/d 9.7)	7.6 – (4.7 s/d 9.4)	7.4 – (4.6 s/d 9.8)
	Mean ± St. Dev	7.43 ± 1.32	7.42 ± 1.38	7.39 ± 1.30	7.35 ± 1.30	7.10 ± 1.39
RBC	Median – (Range)	4.8 – (4.2 s/d 5.5)	4.7 – (4.2 s/d 5.4)	4.7 – (4.2 s/d 5.4)	4.8 – (4.2 s/d 5.4)	4.6 – (4.1 s/d 5.5)
	Mean ± St. Dev	4.76 ± 0.39	4.73 ± 0.38	4.72 ± 0.37	4.73 ± 0.37	4.74 ± 0.45
HGB	Median – (Range)	13.4 – (9.9 s/d 16.8)	13.5 – (9.8 s/d 16.6)	13.5 – (9.8 s/d 16.5)	13.6 – (9.9 s/d 16.6)	13.6 – (9.9 s/d 16.7)
	Mean ± St. Dev	13.57 ± 1.53	13.54 ± 1.51	13.50 ± 1.51	13.63 ± 1.50	13.67 ± 1.50
HCT	Median – (Range)	38.4 – (30.8 s/d 47.0)	38.2 – (30.9 s/d 46.9)	39.2 – (32.3 s/d 47.7)	41.2 – (33.6 s/d 49.6)	43.5 – (34.3 s/d 50.4)
	Mean ± St. Dev	39.04 ± 3.77	38.99 ± 3.69	40.10 ± 3.61	42.07 ± 3.73	43.46 ± 4.05
MCV	Median – (Range)	84.0 – (70.5 s/d 86.4)	84.6 – (71.2 s/d 86.6)	87.1 – (73.6 s/d 88.9)	90.9 – (76.7 s/d 94.3)	92.8 – (78.1 s/d 96.8)
	Mean ± St. Dev	82.13 ± 4.94	82.53 ± 4.97	85.02 ± 5.00	89.03 ± 5.50	90.77 ± 6.02
MCH	Median – (Range)	29.7 – (22.7 s/d 30.9)	29.8 – (22.6 s/d 31.0)	29.6 – (22.3 s/d 30.9)	29.9 – (22.6 s/d 31.1)	29.5 – (22.6 s/d 31.4)
	Mean ± St. Dev	28.53 ± 2.42	28.67 ± 2.44	28.63 ± 2.45	28.83 ± 2.49	28.72 ± 2.62
MCHC	Median – (Range)	35.3 – (32.1 s/d 35.8)	35.3 – (31.7 s/d 35.8)	33.9 – (30.3 s/d 34.7)	32.7 – (29.5 s/d 33.5)	31.6 – (28.9 s/d 33.1)
	Mean ± St. Dev	34.69 ± 1.13	34.67 ± 1.13	33.61 ± 1.19	32.36 ± 1.08	31.41 ± 1.21
PLT	Median – (Range)	358 – (273 s/d 498)	346 – (266 s/d 508)	354 – (268 s/d 517)	359 – (264 s/d 525)	361 – (263 s/d 534)
	Mean ± St. Dev	373.33 ± 67.36	365.87 ± 68.94	377.60 ± 69.92	376.67 ± 73.09	373.00 ± 72.35

Sumber: Data diolah (2021)

Table III. Hasil Pemeriksaan Darah EDTA Refrigerator

Parameter	Hasil	Waktu (Jam)				
		0	2	24	48	72
WBC	Median – (Range)	7.6 – (4.8 s/d 9.3)	7.6 – (4.7 s/d 9.5)	7.8 – (4.7 s/d 9.3)	7.8 – (4.7 s/d 9.4)	7.4 – (4.9 s/d 9.0)
	Mean ± St. Dev	7.34 ± 1.20	7.29 ± 1.27	7.24 ± 1.24	7.36 ± 1.26	7.11 ± 1.27
RBC	Median – (Range)	4.8 – (4.3 s/d 5.5)	4.7 – (4.2 s/d 5.4)	4.8 – (4.2 s/d 5.5)	4.8 – (4.3 s/d 5.4)	4.8 – (4.3 s/d 5.6)
	Mean ± St. Dev	4.78 ± 0.37	4.73 ± 0.37	4.74 ± 0.40	4.75 ± 0.37	4.86 ± 0.46
HGB	Median – (Range)	13.5 – (9.8 s/d 16.6)	13.4 – (9.8 s/d 16.6)	13.4 – (9.9 s/d 16.6)	13.5 – (10.0 s/d 16.7)	14.0 – (9.9 s/d 16.6)
	Mean ± St. Dev	13.58 ± 1.52	13.53 ± 1.52	13.55 ± 1.52	13.69 ± 1.51	13.88 ± 1.61
HCT	Median – (Range)	38.2 – (31.4 s/d 46.7)	37.8 – (30.5 s/d 46.1)	37.8 – (30.3 s/d 46.8)	37.7 – (30.5 s/d 46.2)	40.9 – (30.4 s/d 46.6)
	Mean ± St. Dev	39.22 ± 3.55	38.71 ± 3.55	38.63 ± 3.79	38.76 ± 3.64	40.21 ± 4.56
MCV	Median – (Range)	84.1 – (70.6 s/d 86.2)	83.9 – (70.4 s/d 86.3)	83.4 – (70.0 s/d 85.7)	83.9 – (70.0 s/d 85.6)	84.4 – (8.28 s/d 88.3)
	Mean ± St. Dev	82.15 ± 4.86	81.93 ± 4.96	81.60 ± 4.85	81.63 ± 4.86	77.88 ± 19.95
MCH	Median – (Range)	29.6 – (22.0 s/d 30.5)	29.6 – (22.6 s/d 30.9)	29.7 – (22.9 s/d 30.9)	29.9 – (22.9 s/d 30.8)	29.4 – (22.7 s/d 31.1)
	Mean ± St. Dev	28.44 ± 2.53	28.64 ± 2.49	28.61 ± 2.41	28.83 ± 2.41	28.61 ± 2.57
MCHC	Median – (Range)	35.2 – (31.2 s/d 35.7)	35.4 – (32.1 s/d 36.1)	35.5 – (31.3 s/d 36.3)	35.8 – (32.8 s/d 36.5)	34.4 – (32.0 s/d 36.4)
	Mean ± St. Dev	34.57 ± 1.29	34.89 ± 1.19	34.93 ± 1.43	35.29 ± 1.05	34.52 ± 1.39
PLT	Median – (Range)	338 – (245 s/d 521)	347 – (261 s/d 497)	359 – (257 s/d 509)	366 – (269 s/d 515)	362 – (274 s/d 526)
	Mean ± St. Dev	362.20 ± 78.62	364.73 ± 69.82	372.60 ± 67.90	376.93 ± 68.61	377.27 ± 73.32

Sumber: Data diolah (2021)

**Grafik I. Perubahan parameter hematologi ; WBC, RBC, HGB, PLT, HCT, MCV, MCH dan MCHC**

²NB : Tabel tertera dalam lampiran

Table IV. Uji Normalitas Data Ruang

Parameter	<i>p value Shapiro Wilks Standardized Residual</i>						Keterangan
	0 Jam	1 Jam	2 Jam	24 Jam	48 Jam	72 Jam	
WBC	0.346	0.338	0.297	0.310	0.375	0.862	Normalitas terpenuhi
RBC	0.560	0.338	0.255	0.291	0.425	0.123	Normalitas terpenuhi
HGB	0.367	0.292	0.312	0.392	0.285	0.264	Normalitas terpenuhi
HCT	0.824	0.901	0.810	0.858	0.810	0.970	Normalitas terpenuhi
MCV	0.001	0.002	0.001	0.001	0.003	0.019	Normalitas tidak terpenuhi
MCH	0.005	0.003	0.003	0.001	0.002	0.020	Normalitas tidak terpenuhi
MCHC	0.022	0.047	0.004	0.005	0.007	0.229	Normalitas tidak terpenuhi
PLT	0.579	0.503	0.409	0.494	0.688	0.474	Normalitas terpenuhi

Sumber : Data Diperoleh (2021)

³NB : Tabel tertera dalam lampiran

Table V. Uji Normalitas Data Refrigerator

Parameter	<i>p value Shapiro Wilks Standardized Residual</i>						Keterangan
	0 Jam	1 Jam	2 Jam	24 Jam	48 Jam	72 Jam	
WBC	0.422	0.366	0.818	0.376	0.316	0.263	Normalitas terpenuhi
RBC	0.234	0.107	0.299	0.246	0.289	0.212	Normalitas terpenuhi
HGB	0.269	0.323	0.249	0.411	0.291	0.509	Normalitas terpenuhi
HCT	0.685	0.622	0.575	0.770	0.638	0.693	Normalitas terpenuhi
MCV	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000	Normalitas tidak terpenuhi
MCH	0.002	0.004	0.003	0.004	0.001	0.006	Normalitas tidak terpenuhi
MCHC	0.007	0.027	0.036	0.007	0.014	0.469	Normalitas tidak terpenuhi
PLT	0.601	0.469	0.362	0.967	0.738	0.515	Normalitas terpenuhi

Sumber : Data Diperoleh (2021)