

PERBEDAAN KADAR HEMOGLOBIN PADA SAMPEL DARAH EDTA YANG HEMOLISIS DAN TIDAK HEMOLISIS

The Differences Of Hemoglobin Levels In Hemolysis And Non-Hemolysis Edta Blood Samples

Fitria Hariati Ramdhani^{1*}

Rinny Ardina²

Windya Nazmatur Rahmah³

Nur Ainah⁴

^{*1,2,3,4}Universitas Muhammadiyah
Palangka Raya, Indonesia.

*email: tia.fitria210393@gmail.com

Abstrak

Pemeriksaan kadar hemoglobin (Hb) merupakan parameter penting dalam mengevaluasi status fisiologis seseorang. Maka dari itu sangatlah penting untuk memperhatikan tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik pada saat pemeriksaan terutama di laboratorium untuk mendapatkan hasil yang akurat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidak adanya perbedaan kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA yang hemolisis dan tidak hemolisis yang diukur menggunakan alat Hematology Analyzer. Metode penelitian ini adalah deskriptif dengan jumlah sampel sebanyak 15 yang terdiri dari sampel yang tidak hemolisis 15 sampel dan sampel hemolisis sebanyak 45 sampel yang dibuat berseri (100 μ L, 300 μ L, 600 μ L). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA yang hemolisis 100 μ L adalah 13,0 g/dL, 300 μ L adalah 12,7 g/dL, 600 μ L adalah 12,4 g/dL sedangkan pada sampel darah EDTA yang tidak hemolisis adalah 13,2 g/dL. Pada uji statistik One Way ANOVA didapatkan nilai signifikansi 0,670 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA yang hemolisis dan sampel darah EDTA yang tidak hemolisis.

Kata Kunci:

Hemoglobin, Darah EDTA, Hemolisis, Tidak Hemolisis, Hematology Analyzer.

Keywords:

Hemoglobin, Blood EDTA, Hemolysis, Not Hemolysis, Hematology Analyzer.

Abstract

Examination of Hemoglobin (Hb) levels is an important parameter to evaluating a person's physiological status. Therefore it is very important to pay attention to the pre-analytical, analytical and post-analytical stages during examination, especially in the laboratory to get accurate results. The purpose of this study was to determine whether or not there was a difference in hemoglobin levels in hemolyzed and non-hemolyzed EDTA blood samples as measured using a Hematology Analyzer. The method of this study was descriptive with a total of 15 samples consisting of 15 samples that were not hemolyzed and 45 samples of hemolyzed samples made serial (100 μ L, 300 μ L, 600 μ L). The results showed that the average value of hemoglobin levels in EDTA blood samples that hemolyzed 100 μ L was 13.0 g/dL, 300 μ L was 12.7 g/dL, 600 μ L was 12.4 g/dL whereas in EDTA blood samples those who are not hemolyzed is 13.2 g/dL. One Way ANOVA statistical test has a significance value of 0.670 ($p > 0.05$) so that it can be concluded that there is no difference in hemoglobin levels in EDTA blood samples that are hemolyzed and EDTA blood samples that are not hemolyzed.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium terutama darah rutin merupakan pemeriksaan darah yang sering diminta oleh dokter yang dapat menunjang diagnosis berbagai penyakit kelainan darah (Verbrugge dan Huisman, 2015). Salah satu pemeriksaan darah rutin yang sering diperiksa adalah kadar hemoglobin, kadar hemoglobin

berfungsi sebagai parameter untuk mendiagnosis anemia (WHO, 2010).

Proses pemeriksaan di laboratorium dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Tahap pra analitik merupakan seluruh kegiatan yang dilakukan sebelum sampel dianalisis yang meliputi permintaan pemeriksaan oleh klinisi, persiapan pasien,

pengambilan spesimen dan transportasi spesimen (Budiyono, *et al.*, 2011). Tahap analitik meliputi persiapan reagen atau media, pipetasi reagen dan sampel, inkubasi, pemeriksaan serta pembacaan hasil. Tahap pasca analitik meliputi pencatatan dan pelaporan hasil (Kemenkes RI, 2013).

Tahap pra analitik adalah tahap persiapan awal sebelum sampel diperiksa. Tahap ini merupakan tahap penentuan kualitas sampel yang akan digunakan pada tahap-tahap selanjutnya. Kesalahan pra-analitik memberikan kontribusi paling besar pada kesalahan di laboratorium (46-77,1%). Kesalahan pra-analitik yang paling banyak yaitu kesalahan yang berhubungan dengan kualitas spesimen antara lain hemolisis, volume spesimen kurang, spesimen ada bekuan, rasio volume spesimen dan antikoagulan yang tidak sesuai. Sebagian besar kesalahan laboratorium terjadi pada tahap pra analitik, terutama saat pengumpulan sampel yang tidak sesuai untuk pengujian (seperti volume/kualitas yang tidak tepat). Hemolisis adalah kesalahan pra analitik yang paling sering ditemukan. Secara keseluruhan, persentase kesalahan pra analitik mencapai 60%-70% dari total seluruh kesalahan dalam pemeriksaan laboratorium. Sehingga kesalahan pada tahap pra analitik mencapai tiga sampai empat kali lipat lebih tinggi daripada kesalahan tahap analitik yaitu 15% dari total kesalahan dan 20% kesalahan pada tahap pasca analitik (Indyanty *et al.* 2015).

Darah lisis atau disebut dengan hemolisis merupakan hancurnya sel darah disebabkan karena preparasi sampel yang salah. Darah lisis sebagian besar disebabkan oleh pemecahan sel darah merah diserum atau plasma. Gangguan akibat darah lisis dalam pengukuran laboratorium disebabkan oleh banyak faktor yaitu pelepasan sel sel (Dasgupta and Sepulveda, 2013).

Hemolisis dapat terjadi secara *in vivo* dan *in vitro*. Hemolisis secara *in vitro* meliputi jarum berukuran kecil, pengambilan darah pada daerah hematoma, pengocokan atau pencampuran terlalu keras. Hemolisis secara *in vivo* disebabkan akibat

kondisi patologis seperti infeksi, anemia hemolitik autoimun, obat-obatan, faktor keturunan. Kasus-kasus tertentu tersebut tidak bisa dihindari, karena kondisi patologis tersebut akan mengakibatkan rusaknya sel eritrosit yang menghasilkan serum hemolisis (Lippi, *et al.*, 2008).

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang perbedaan kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA yang hemolisis dan tidak hemolisis.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen. Eksperimen yang dilakukan pada penelitian ini yaitu memberikan intervensi atau perlakuan pada sampel darah EDTA yang hemolisis dan sampel darah EDTA tidak hemolisis. Hasil atau akibat dari perlakuan tersebut berupa kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA tersebut. Hasil atau akibat dari perlakuan tersebut berupa perbandingan hasil yang diukur dengan metode hematology analyzer.

Alat dan Bahan

Hematology Analyzer, spuit 3 dan 5 cc, tourniquet, bantalan, alkohol 70 %, kapas kering, rak tabung, sampel darah vena, tabung EDTA, sampel darah EDTA yang hemolisis, dan sampel darah EDTA yang tidak hemolisis.

Tahap Pembuatan Hemolisis

1. Darah EDTA dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
2. Dipisahkan plasma dengan endapan eritrosit.
3. Dicuci eritrosit menggunakan larutan NaCl fisiologis dengan cara:
4. Ditambahkan larutan NaCl fisiologis kedalam tabung yang berisi eritrosit dengan perbandingan 1:1.
5. Dihomogenkan.
6. Disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
7. Dibuang larutan NaCl (supernatan)

8. Diulangi Langkah 4-7 sebanyak 3 kali untuk memperoleh eritrosit murni.
9. Eritrosit yang telah dicuci dibekukan pada suhu - 20°C selama 60 menit.
10. Eritrosit yang sudah dibekukan kemudian dicairkan lagi pada suhu 37°C selama 15 menit.
11. Diteteskan hemolizat pada kaca slide kemudian dilihat pada mikroskop bila eritrosit belum lisis maka diulang langkah 9-10 hingga eritrosit lisis sempurna.
12. Ditambahkan plasma dengan perbandingan 1:1 ke dalam hemolizat.
13. Disentrifugasi hemolizat dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
14. Setelah itu dipipet supernatant ke dalam tabung lain
15. Kemudian diukur kadar hemoglobin menggunakan alat hematology analyzer (Robinson, 2002).

Analisa Data

Data dianalisis secara deskriptif dan analisis statistik menggunakan uji statistik *One Way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Analisis Deskriptif

Dari data hasil penelitian yang telah dilakukan maka kemudian dilakukan analisis deskriptif dengan disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan hemoglobin tidak hemolisis dan hemolisis pada masing-masing variasi penambahan hemolizat.

No.	Tidak Hemolisis	Hemolisis		
		100 µL	300 µL	600 µL
1.	13,8 g/dL	13,6 g/dL	13,3 g/dL	13,4 g/dL
2.	13,3 g/dL	13,2 g/dL	12,9 g/dL	12,6 g/dL
3.	12,0 g/dL	11,9 g/dL	11,8 g/dL	11,6 g/dL
4.	10,5 g/dL	10,6 g/dL	10,6 g/dL	10,6 g/dL
5.	13,3 g/dL	13,3 g/dL	13,0 g/dL	12,7 g/dL
6.	9,5 g/dL	9,6 g/dL	9,7 g/dL	9,9 g/dL
7.	15,7 g/dL	15,6 g/dL	15,1 g/dL	14,3 g/dL
8.	13,3 g/dL	13,1 g/dL	12,9 g/dL	12,7 g/dL
9.	17,0 g/dL	16,6 g/dL	15,9 g/dL	15,4 g/dL
10.	15,4 g/dL	14,7 g/dL	14,4 g/dL	13,4 g/dL
11.	13,2 g/dL	12,9 g/dL	12,5 g/dL	12,1 g/dL
12.	13,4 g/dL	13,0 g/dL	13,0 g/dL	12,6 g/dL
13.	12,6 g/dL	12,3 g/dL	12,3 g/dL	12,0 g/dL

14.	12,5 g/dL	12,4 g/dL	12,2 g/dL	11,9 g/dL
15.	12,5 g/dL	12,4 g/dL	12,2 g/dL	12,0 g/dL
Rerata	13,2 g/dL	13,0 g/dL	12,7 g/dL	12,4 g/dL

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa rerata hasil kadar hemoglobin pada sampel yang tidak hemolisis adalah 13,2 g/dL. Rerata hasil kadar hemoglobin pada sampel yang hemolisis (volume 100 µL) adalah 13,0 g/dL. Rerata hasil kadar hemoglobin pada sampel yang hemolisis (volume 300 µL) adalah 12,7 g/dL. Rerata hasil kadar hemoglobin pada sampel yang hemolisis (volume 600 µL) adalah 12,4 g/dL. Grafik rerata hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel hemolisis dan tidak hemolisis dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 1. Grafik rerata hasil pemeriksaan kadar hemoglobin

Berdasarkan Gambar 18, dapat dilihat dari grafik perbandingan rerata kadar hemoglobin pada sampel darah EDTA yang tidak hemolisis dan hemolisis, tampak adanya penurunan rerata hasil kadar hemoglobin pada sampel EDTA yang hemolisis mulai dari penambahan hemolizat sebanyak 100 µL, 300 µL, dan 600 µL. Dalam penelitian Ercan *et al.* (2021) diketahui pada kelompok sampel yang digunakan (kelompok 1 tanpa perlakuan dan kelompok 2 – 4 diberi perlakuan berdasarkan variasi penghancuran fisik), menunjukkan rerata kadar hemoglobin pada kelompok 1 hingga kelompok 3 mengalami peningkatan, lalu terjadi penurunan rerata kadar hemoglobin pada kelompok 4. Menurut Hermawathi *et. al.* (2020), eritrosit (Red Blood Cell) dapat menjadi rendah palsu dikarenakan lisisnya

eritrosit dan atau eritrosit yang berbentuk fragmen tidak dihitung sebagai eritrosit.

Analisis Deskriptif

Tabel 2. Uji statistik *One Way ANOVA*

ANOVA					
Keterangan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40,300	34	1,185	0,854	0,670
Within Groups	34,700	25	1,388	-	-
Total	75,000	59	-	-	-

Berdasarkan tabel hasil statistik *One Way ANOVA* pada tabel 2, didapatkan nilai signifikansi 0,670 ($p > 0,05$) yang berarti menolak H_a dan menerima H_0 yang diartikan bahwa tidak terdapat perbedaan nilai rata-rata hemoglobin pada sampel darah EDTA yang tidak hemolisis dan hemolisis.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ercan *et al.* (2021) yang meneliti tentang pengaruh sampel hemolisis terhadap hasil hitung darah lengkap pada kelompok 1 (tanpa perlakuan/tidak hemolisis), kelompok 2 (diberi perlakuan dengan melewati sampel darah menggunakan spuit berjarum kecil sebanyak 2 kali), kelompok 3 (diberi perlakuan sebanyak 4 kali), dan kelompok 4 (diberi perlakuan sebanyak 6 kali). Hasil analisis statistik dalam penelitian Ercan *et al.* (2021) menunjukkan tidak ada pengaruh sampel hemolisis (yang mengandung hemoglobin sebesar 0,01 hingga 0,75 g/dL) pada parameter hemoglobin, akan tetapi berpengaruh pada parameter lain seperti limfosit, MCH dan MCHC. Sedangkan pada hemolisis berat (dengan kadar hemoglobin >1 g/dL), juga didapatkan hasil tidak ada pengaruh hemolisis terhadap kadar hemoglobin, akan tetapi berpengaruh pada parameter lain berupa penurunan pada nilai hematokrit dan jumlah eritrosit serta peningkatan jumlah leukosit. Dalam analisis kadar hemoglobin, sel darah merah dilisiskan menggunakan reagen dan hemoglobin yang dilepaskan kemudian diukur secara fotometrik. Pengukuran hemoglobin tidak terpengaruh oleh hemolisis karena metode ini tidak

spesifik untuk hemoglobin intraseluler atau bebas (Ercan *et al.*, 2021).

Kesalahan pra-analitik yang paling banyak terjadi yaitu kesalahan yang berhubungan dengan kualitas sampel antara lain hemolisis, volume sampel yang kurang, terdapat bekuan pada sampel, serta rasio volume spesimen dan antikoagulan yang tidak sesuai. Pada saat pengambilan darah, terlalu cepat menarik plunger spuit, dan penghomogenan sampel darah pada tabung EDTA yang tidak sesuai prosedur berpotensi menyebabkan terjadinya hemolisis pada sampel dan dapat mempengaruhi hasil dari kadar hemoglobin (Indyanty dan Eky, 2014). Oleh karena itu, tahap pra analitik harus sangat diperhatikan agar hasil pemeriksaan laboratorium akurat dan representatif sesuai dengan kondisi pasien sesungguhnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa dari hasil uji statistik *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0,670 ($p > 0,05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan nilai rata-rata hemoglobin pada sampel darah EDTA yang tidak hemolisis dan hemolisis.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiyono, I., R. Triwardani dan Indrayani. 2011. *Pengelolaan Tahapan Pemeriksaan di Laboratorium Klinik*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Dasgupta, A., Sepulveda, J.L., 2013, *Accurate Results in the Clinical Laboratory A Guide to Error Detection and Correction*, Elsevier Saunders, San Diego.
- Ercan M. *et al.* 2021. *Effects of specimen haemolysis on complete blood count results by Abbott Alinity hq System*. *Biochem Med*.
- Hermawathi, N. M. R., Hajat, A., Hernaningsih, Y., & Widodo, W. 2020. The difference of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent Pre- and PostUltrafiltration Hemodialysis in Patients with Chronic Kidney Disease. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 26(3), 303–306.
- Indyanty, Eki WL., Rasyid, AL Harun., Thoyib, Armanu. 2015. *Pengaruh Pengetahuan, Sikap, dan, Perilaku*

Perawat tentang Flebotomi terhadap 64 Kualitas Spesimen Laboratorium. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 28, No. 3.

Kemkes RI. 2013. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 *Tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik*. Jakarta : Kemkes RI.

Lippi, Giuseppe, Norbert Blanckaert, Pierangelo Bonini, Sol Green, Steve Kitchen, Vladimir Palicka, Anne J. Vassault, Mario Plebani. 2008. *Hemolysis: An Overview of Leading*.

Nugraha G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Trans Info Media : Jakarta.

Robinson, B. T. C. 2002. *The Effect of in Vitro Hemolysis on The Comprehensive Metabolisme Panel*. Thesis. Maryville Colage Departemen of Biology.

Verbrugge, S.E & Huisman, A. 2015. *Verification and Standardization of Blood Cell Counters for Routine Clinical Laboratory Test*. *Clinics in Laboratory Medicine*, pp. 183-196.

WHO. 2010. *Worldwide Prevalence Of Anemia 1993*. WHO Global Database on Anemia.