

PERBANDINGAN KADAR HEMOGLOBIN PADA SAMPEL DARAH 3 ML, 2 ML, & 1 ML DENGAN ANTIKOAGULAN K₂EDTA SETELAH DITUNDA 4 JAM DI RSUD DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR LAMPUNG

**Syuhada^{1*}, Tussy Triwahyuni², Zehan Aura Nabigha³, Bella Tania Putri⁴,
Hemas Priyayi⁵**

¹RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung

²⁻⁵Universitas Malahayati

Email Korespodensi: drsyuhada@malahayati.ac.id

Disubmit: 23 Maret 2022

Diterima: 06 April 2022

Diterbitkan: 07 Mei 2022

DOI: <https://doi.org/10.33024/mahesa.v2i3.6416>

ABSTRACT

Laboratory examinations pass through three stages, namely pre-analytical, analytical and post-analytic. The highest error rate is at the preanalytic stage reaching 70%. The comparison between the volume of blood samples and the unbalanced amount of anticoagulant as well as the length of time delays in the examination can affect the results of laboratory tests, resulting in an inaccurate examination. This study aims to determine whether there are differences in the results of hemoglobin levels in 3 mL, 2 mL, & 1 mL blood samples with K₂EDTA anticoagulant after 4 hours postponed. This research method is analytic observational with a cross sectional approach using primary data through hematological examination using the Mindray BC-3600 Hematology Analyzer at UTD RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. The subjects of this study amounted to 50 respondents who met the inclusion criteria and exclusion criteria. 6 mL of blood was taken and then put into three K₂EDTA vacutainer tubes with a volume of 3 mL, 2 mL, and 1 mL and then postponed for 4 hours. In the One Way Anova test, the results were 0.0977 (p-value 0.05) so that the difference between 3 mL, 2 mL, and 1 mL blood samples was considered to have no significant difference. There was no significant difference between the examination of hemoglobin levels in 3 mL, 2 mL, and 1 mL blood samples with K₂EDTA anticoagulant after 4 hours postponed.

Keywords: Hematological Examination, Blood Volume, K₂EDTA, Postponed

ABSTRAK

Pemeriksaan laboratorium melewati tiga tahap yaitu praanalitik, analitik dan pascaanalitik. Tingkat kesalahan tertinggi yaitu pada tahap praanalitik mencapai 70%. Perbandingan antara volume sampel darah dengan jumlah antikoagulan yang tidak seimbang serta lama penundaan waktu pemeriksaan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium sehingga menghasilkan pemeriksaan yang kurang akurat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL, & 1 mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam. Metode penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* menggunakan data primer melalui pemeriksaan hematologi dengan alat *Hematology Analyzer Mindray BC-3600* di UTD RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. Subjek penelitian ini berjumlah 50 orang responden yang memenuhi

kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Darah diambil sebanyak 6 mL lalu dimasukkan kedalam 3 tabung *vacutainer* K₂EDTA dengan volume 3 mL, 2 mL, dan 1 mL kemudian ditunda 4 jam. Analisis data menggunakan uji statistik parametrik yaitu One Way Anova dengan SPSS 26. Pada uji *One Way Anova* didapatkan hasil 0,0977 (*p-value* 0,05) sehingga perbedaan antara sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dianggap tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam.

Kata Kunci: pemeriksaan hematologi, volume darah, K₂EDTA, penundaan.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium merupakan bagian yang sangat penting dalam pengambilan keputusan klinis. Hasil pemeriksaan laboratorium sangat mempengaruhi diagnosis medis dan terapi pengobatan. Salah satu pemeriksaan laboratorium klinik adalah pemeriksaan hematologi (Antwi-Baffour, 2013). Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang berhubungan dengan cairan darah serta komponen-komponennya. Pemeriksaan panel hematologi (hemogram) terdiri dari eritrosit, hemoglobin, leukosit, hematokrit, indeks eritrosit dan trombosit. Pemeriksaan hitung darah lengkap terdiri dari hemogram ditambah hitung jenis leukosit (Trisnawati, 2020).

Pemeriksaan hemoglobin merupakan hemogram yang paling sering dilakukan. Hemoglobin merupakan molekul protein pada eritrosit yang berfungsi sebagai alat transportasi oksigen (O₂) dan karbon dioksida (CO₂). Hemoglobin mengandung pigmen besi yang membuat darah berwarna merah. Konsentrasi hemoglobin dalam darah merupakan indikator penting untuk mengevaluasi status fisiologis seseorang. Pemeriksaan hemoglobin berguna untuk menilai status anemia, respons terhadap terapi anemia, serta perkembangan penyakit yang berhubungan dengan

anemia dan polisitemia (Norsiah, 2014).

Dalam sistematika laboratorium, proses pemeriksaan laboratorium memiliki tiga tahapan penting yaitu praanalitik, analitik dan pascaanalitik. Pemeriksaan laboratorium yang telah melalui tahap pemeriksaan harus dilakukan sesuai prosedur yang telah ditetapkan sehingga didapatkan hasil yang teliti, tepat, akurat dan dapat dipercaya. Namun dalam pelaksanaannya, masih didapatkan ketidakcocokan antara hasil pemeriksaan dengan keadaan klinis pasien (Oktavia, 2019). Beberapa peneliti melaporkan tingkat kesalahan laboratorium yang bervariasi, namun rata-rata tingkat kesalahan laboratorium yaitu pada tahap praanalitik sebesar 46-77,1%, analitik 7-13%, dan pascaanalitik 18,5-47%. Terdapat hal-hal yang termasuk pada kesalahan tahap praanalitik antara lain hemolisis (53,2%), volume spesimen yang kurang (7,5%), tulisan tangan yang tidak dapat dibaca (7,2%), salah spesimen, spesimen ada bekuan, kesalahan *vacutainer* atau jenis antikoagulan, rasio volume spesimen dan antikoagulan yang tidak sesuai, spesimen darah diambil dari jalur infus (1,3-6%). Data tersebut menunjukkan bahwa kesalahan paling banyak terdapat pada tahap praanalitik yang berhubungan dengan kualitas spesimen (Syauqiah, 2018).

Pengambilan sampel darah yang baik diambil dari vena. Dalam pemeriksaannya, darah vena akan diberi antikoagulan untuk menghindari terjadinya penggumpalan darah. Jenis antikoagulan yang biasa digunakan adalah *Ethylene Diamine Tetra Acetate* (EDTA) (Muslim, 2017). Antikoagulan EDTA terdiri dari berbagai tipe yaitu Na_2EDTA , K_2EDTA dan K_3EDTA . K_2EDTA adalah jenis antikoagulan yang paling baik dan dianjurkan oleh *World Health Organization* (WHO), *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) dan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Sediaan pada antikoagulan Na_2EDTA dan K_2EDTA biasanya dalam bentuk kering sedangkan K_3EDTA dalam bentuk cair. K_2EDTA tidak akan menyebabkan peningkatan volume sel seperti K_3EDTA (1,6% kenaikan setelah 4 jam). K_3EDTA merupakan cairan aditif, karena itu akan mengakibatkan dilusi spesimen atau penurunan jumlah sampel (Danastri, 2020). Konsentrasi K_2EDTA yang dianjurkan oleh *BD Vacutainer Company* yaitu 1,8 mg/mL (Dickinson, 2020).

Pedoman akreditasi laboratorium mengemukakan bahwa volume darah yang dimasukkan ke dalam vacutainer harus sesuai dengan yang tertera pada tabung dan tidak dianjurkan memasukkan volume darah lebih rendah atau lebih tinggi dari volume darah yang tertera. Hal tersebut didukung oleh pedoman CLSI bahwa jumlah antikoagulan dalam vacutainer dipastikan untuk volume darah tertentu, volume darah yang kurang atau berlebih dapat mempengaruhi hasil (Gupta *et al.*, 2014). Dampak yang ditimbulkan apabila volume darah kurang dari jumlah antikoagulan yang terdapat didalam tabung maka akan terjadi hipertonisitas terhadap darah.

Eritrosit akan mengkerut dan terjadi pengenceran darah (hemodilusi) sehingga menyebabkan kadar hemoglobin menjadi rendah. Jika volume darah berlebih dari jumlah antikoagulan yang terdapat pada tabung maka dapat menyebabkan darah membeku (koagulasi) (Mela, 2020).

Pemeriksaan darah yang menggunakan EDTA, sebaiknya segera dilakukan pemeriksaan, jika tidak dilakukan dengan segera sebaiknya diperhatikan batas waktu penyimpanan. Berdasarkan hasil survei di beberapa Rumah Sakit, Laboratorium Klinik dan Puskesmas didapatkan penundaan penanganan sampel darah lebih dari satu jam (Muslim, 2017). Hal ini dikarenakan banyaknya distribusi sampel yang tidak langsung dibawa ke laboratorium, listrik mati, pergantian kerja petugas laboratorium, keterbatasan tenaga kerja yang tidak sebanding dengan jumlah pasien serta sedikitnya instrumen laboratorium, membuat pemeriksaan terkadang berjalan tidak sesuai semestinya dan akhirnya terjadi penundaan (Septiani, 2017). ICSH (2002) menganjurkan untuk melakukan pemeriksaan sampel darah sebaiknya dilakukan maksimal 4 jam setelah pengambilan. Hal ini dikarenakan terjadinya perubahan morfologi sel dalam sampel darah dimulai setelah 30 menit pengambilan (Vives-Corrans *et al.*, 2014). Penundaan waktu pemeriksaan dapat mempengaruhi bentuk morfologi eritrosit, dan menyebabkan perubahan hasil uji karena sifat darah yang mudah rusak apabila dibiarkan pada kondisi yang tidak ideal. Perubahan bentuk eritrosit dapat mempengaruhi kadar hemoglobin. Hal tersebut dikarenakan eritrosit yang bercampur dengan antikoagulan dan dibiarkan pada suhu kamar selama beberapa jam dapat mengalami

hemolisis sehingga jumlah eritrosit berkurang. Berkurangnya jumlah eritrosit pada sampel darah mengakibatkan kadar hemoglobin dalam darah menurun (Sriwati, 2018).

Bersumber pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Azhari Muslim (2015) pada pengaruh waktu simpan darah K₂EDTA dan Na₂EDTA pada suhu kamar terhadap kadar hemoglobin sebanyak 6 sampel terhadap waktu simpan darah 1 jam, 2 jam, 3 jam dengan uji *Multiple Comparison Tukey HSD* diperoleh nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara waktu penundaan pemeriksaan darah K₂EDTA terhadap kadar hemoglobin. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Utami dkk (2019) pada waktu simpan darah antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA terhadap parameter eritrosit sebanyak 30 sampel terhadap waktu simpan darah selama 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 8 jam dengan uji *General Linear Model Repeated Measures (GLMR)* diperoleh nilai $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara waktu penundaan pemeriksaan darah K₂EDTA terhadap kadar hemoglobin.

Berdasarkan penelitian sebelumnya pada parameter volume berbeda yang dilakukan oleh Syuhada dkk (2021) pada perbandingan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dengan antikoagulan K₂EDTA sebanyak 40 orang dengan uji parametrik *One Way Anova* didapatkan hasil tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL. Maka dari itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tersebut dengan ditambahkan penundaan waktu pemeriksaan yang berjudul perbandingan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL dan 1

mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung.

TINJAUAN PUSTAKA

Darah adalah jaringan tubuh yang berbeda dengan jaringan tubuh lain, berada dalam konsistensi cair, beredar dalam suatu sistem tertutup yang dinamakan sebagai pembuluh darah dan menjalankan fungsi transport berbagai bahan serta fungsi homeostasis (Sadikin, 2014). Warna merah yang memberi ciri yang sangat khas bagi darah, disebabkan oleh adanya senyawa yang berwarna merah dalam sel-sel darah merah (SDM) yang tersuspensi dalam darah (Sadikin, 2014). Warna darah (merah tua hingga merah muda) ditentukan oleh kadar oksigen dan kadar karbondioksida di dalam nya (D'Hiru, 2013). Volume darah secara keseluruhan adalah satu per dua belas berat badan atau kira-kira lima liter. Sekitar 55% adalah plasma darah, sedangkan 45% sisanya terdiri dari sel darah (Fauzi & Bahagia, 2019). Darah terdiri atas 2 komponen yaitu plasma darah dan butir-butir darah. Plasma darah yaitu bagian cair darah yang sebagian besar terdiri dari air, elektrolit, dan protein darah. Butir-butir darah yaitu bagian darah yang terdiri atas eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit (butir pembeku) (Bakta, 2020).

Hemoglobin merupakan protein kompleks yang mengikat zat besi (Fe) dan terdapat di dalam eritrosit. Fungsi utama hemoglobin adalah mengangkut oksigen (O₂) dari paru keseluruhan tubuh dan menukarnya dengan karbondioksida (CO₂) dari jaringan untuk dikeluarkan melalui paru. Tiap eritrosit mengandung 640 juta molekul hemoglobin agar dapat menjalankan fungsinya dengan baik

(Nugraha, 2017). Jika jumlah hemoglobin dalam eritrosit rendah, maka kemampuan eritrosit membawa oksigen ke seluruh jaringan tubuh juga akan menurun dan tubuh menjadi kekurangan O₂. Hal ini akan menyebabkan terjadinya anemia (Gunadi *et al.*, 2016).

Antikoagulan merupakan zat untuk mencegah proses pembekuan darah dengan cara mengendapkan dan mengikat kalsium atau dengan menghambat trombin yang digunakan untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin dalam proses pembekuan (Riswanto, 2013). Beberapa jenis antikoagulan yang banyak digunakan dalam pemeriksaan laboratorium adalah EDTA, Natrium Sitrat dan Heparin (Gandasoebrata, 2013). EDTA memiliki keunggulan dibanding dengan antikoagulan yg lain, yaitu tidak mempengaruhi sel - sel darah, sehingga ideal untuk kebanyakan pengujian hematologi seperti penentuan kadar hemoglobin, penentuan hematokrit, hitung sel darah, penentuan laju endap darah (LED), pembuatan hapusan darah dan penentuan golongan darah (Adzaki, 2018). EDTA *vacutainer* adalah tabung *vacutainer* buatan pabrik yang sudah berisi antikoagulan EDTA untuk 3 ml darah (Kuman, 2019). Tabung *vacutainer* K₂EDTA *spray-coated* digunakan untuk penentuan hematologi seluruh darah dan pengujian imunohematologi. Salah satu keuntungan pengambilan darah menggunakan tabung vakum yaitu tidak perlu dilakukan pembagian sampel ke berbagai tabung seperti pengambilan darah menggunakan spuit. Dengan satu kali penusukan, darah dapat dimasukkan ke berbagai macam tabung sesuai kebutuhan pemeriksaan. Teknik yang memungkinkan untuk menampung darah ke berbagai tabung sekaligus

disebut multisampel (Nugraha, 2017).

Jumlah volume darah yang lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah antikoagulan yang ada didalam tabung akan menyebabkan hipertonisitas terhadap darah, hipertonisitas yang tinggi akan menyebabkan cairan yang terdapat didalam sel darah keluar untuk mempertahankan tekanan osmotik. Akibatnya, eritrosit menjadi krenasi (mengkerut) dan akan terjadi hemodilusi yang mengakibatkan konsentrasi cairan plasma lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sel sehingga akan terjadi penurunan kadar hemoglobin (Novel *et al.*, 2012). Sebaliknya, jika volume darah lebih banyak dibandingkan dengan jumlah antikoagulan akan menyebabkan koagulasi (darah membeku) karena darah tidak seluruhnya dihambat oleh faktor pembekuan (Riswanto, 2013).

Banyaknya distribusi sampel yang tidak langsung dibawa ke laboratorium, listrik padam, pergantian kerja petugas laboratorium, keterbatasan tenaga kerja yang tidak sebanding dengan jumlah pasien yang melakukan pemeriksaan serta sedikitnya alat laboratorium, membuat pemeriksaan terkadang berjalan tidak sesuai semestinya dan akhirnya terjadi penundaan (Septiani, 2017). Pemeriksaan kadar hemoglobin yang menggunakan darah EDTA sebaiknya harus dilakukan dengan segera, apabila terpaksa ditunda sebaiknya harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya. Penyimpanan darah EDTA pada suhu kamar yang terlalu lama dapat menyebabkan terjadinya serangkaian perubahan pada eritrosit seperti pecahnya membran eritrosit (hemolisis) sehingga hemoglobin bebas ke dalam (Gandasoebrata, 2013). Menurut ICSH pada tahun 2002 menganjurkan bahwa melakukan pemeriksaan

sampel darah sebaiknya dilakukan maksimal 4 jam karena akan mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi sel dalam sampel darah antikoagulan dimulai setelah 30 menit pengambilan (Vives-Corrans *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk meneliti tentang apakah terdapat perbedaan antara hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam.

METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian analitik observasional dengan pendekatan *Cross Sectional* menggunakan data primer melalui pemeriksaan hematologi dengan alat *Hematology Analyzer Mindray BC-3600*. Penelitian ini dilakukan di UTD RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2021. Subjek pada penelitian ini adalah orang yang bersedia mendonorkan

darahnya secara sukarela serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *Non Probability Sampling* (tidak secara acak), dengan jenis *Consecutive sampling*. Dengan menggunakan rumus slovin, dari 55 orang total populasi didapatkan besar minimal sebanyak 48 orang, maka sampel yang diambil sebanyak 50 orang. Setiap orang akan diambil darah sebanyak 6 mL lalu dimasukkan kedalam 3 tabung *vacutainer* K₂EDTA dengan volume 3 mL, 2 mL, dan 1 mL kemudian ditunda 4 jam. Pada penelitian ini, antikoagulan yang digunakan adalah tabung *vacutainer* K₂EDTA dengan volume standar 3 mL. analisis data yang digunakan pada penelitian ini meliputi analisis univariat dan analisis bivariat.

Data dianalisis menggunakan program IBM SPSS *Statistic 26*. Dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan diperoleh data yang ada terdistribusi normal, kemudian dianalisis menggunakan Uji *One Way Anova*.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Karakteristik Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi	Persentase (%)
Laki-laki	25	50,0 %
Perempuan	25	50,0 %
Total	50	100,0%

Berdasarkan tabel 1 distribusi frekuensi responden berdasarkan jenis kelamin didapatkan hasil laki-

laki sebanyak 25 orang (50,0%) dan perempuan 25 orang (50,0%).

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Karakteristik Responden Berdasarkan Usia

Usia (tahun)*	n	%
17-25	28	56%
26-35	6	12%
36-45	16	32%
Total	50	100%

Berdasarkan tabel 2 di atas dapat dilihat distribusi frekuensi karakteristik responden penelitian berdasarkan usia. Pada usia 17-25

tahun didapatkan sebanyak 28 orang (56%), usia 26-35 tahun sebanyak 6 orang (12%) dan usia 36-45 tahun sebanyak 16 orang (32%).

Tabel 3. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin pada Sampel Darah Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	Sampel Darah	n	Rata-rata Kadar Hb (g/dL)	Nilai Terendah Hb (g/dL)	Nilai Tertinggi Hb (g/dL)
Laki-laki	3 mL	25	15,34	13,9	17,8
	2 mL		15,36	13,8	17,7
	1 mL		15,37	13,9	17,8
Perempuan	3 mL	25	13,10	11,3	15,5
	2 mL		13,16	11,2	15,5
	1 mL		13,20	11,2	15,5

Dari tabel 3 terlihat hasil pemeriksaan kadar hemoglobin berdasarkan jenis kelamin, responden laki-laki didapatkan nilai rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL yaitu 15,34 g/dL, sampel darah 2 mL yaitu 15,36 g/dL,

dan sampel darah 1 mL yaitu 15,37 g/dL. Pada responden perempuan didapatkan nilai rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL yaitu 13,10 g/dL, sampel darah 2 mL yaitu 13,16 g/dL, dan sampel darah 1 mL yaitu 13,20 g/dL.

Tabel 4. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin pada Sampel Darah Berdasarkan Usia

Rentang Usia (tahun)	Sampel Darah	n	Rata-rata Kadar Hb (g/dL)	Nilai Terendah Hb (g/dL)	Nilai Tertinggi Hb (g/dL)
17 - 25	3 mL	28	14,43	11,3	17,8
	2 mL		14,44	11,2	17,7
	1 mL		14,43	11,2	17,8
26 - 35	3 mL	6	14,63	12,5	16,5
	2 mL		14,70	12,6	16,6
	1 mL		14,80	12,7	16,5
36 - 45	3 mL	16	13,69	11,4	15,6
	2 mL		13,77	11,4	15,5
	1 mL		13,83	11,4	15,7

Dari tabel 4 terlihat hasil pemeriksaan kadar hemoglobin berdasarkan usia, responden rentang usia 17-25 tahun didapatkan nilai rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL yaitu 14,43 g/dL, sampel darah 2 mL yaitu 14,44 g/dL dan sampel darah 1 mL 14,43 g/dL.

Responden pada rentang usia 26-35 tahun didapatkan nilai rata-

rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL yaitu 14,63 g/dL, sampel darah 2 mL yaitu 14,70 g/dL dan sampel darah 1 mL 14,80 g/dL.

Responden pada rentang usia 36-45 tahun didapatkan nilai rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL yaitu 13,69 g/dL, sampel darah 2 mL yaitu 13,77 g/dL dan sampel darah 1 mL yaitu 13,83 g/dL.

Tabel 5. Hasil Uji One Way Anova untuk Melihat Perbandingan Rata-rata Sampel Darah 3 mL, 2 mL dan 1 mL dengan Antikoagulan K₂EDTA setelah Ditunda 4 Jam

Sampel Darah	Rata-rata (g/dL)	(Min-max)± SD	p-value
3 mL	14,22	(13,76-14,67)±1,60	0,977
2 mL	14,26	(13,81-14,71)±1,58	
1 mL	14,29	(13,84-14,73)±1,56	

Berdasarkan tabel 5 diketahui rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL adalah 14,22 g/dL. Rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 2 mL adalah 14,26 g/dL. Serta, rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 1 mL adalah 14,29 g/dL. Hasil

uji One Way Anova, didapatkan nilai p-value = 0,977 (p-value>0,05) maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang signifikan antara sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL setelah ditunda 4 jam.

PEMBAHASAN

Berdasarkan pada tabel 4.1 distribusi frekuensi responden berdasarkan jenis kelamin didapatkan hasil laki-laki sebanyak 25 orang (50,0%) dan perempuan 25 orang (50,0%). Hal ini dikarenakan pada penelitian ini peneliti ingin mendapatkan sampel yang dapat mewakili populasinya dan memiliki karakteristik yang sama sehingga mendapatkan sampel yang tepat dan akurat. Karena data yang diperoleh dari sampel harus dapat digunakan untuk menaksir populasi. Sampel yang dapat mewakili populasinya disebut sampel representatif. Sampel representatif memiliki ciri karakteristik yang sama atau relatif sama dengan ciri karakteristik populasinya (Supriyanto & Iswandari, 2017).

Berdasarkan tabel 2 distribusi frekuensi responden berdasarkan usia, menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) dibagi menjadi 3 kelompok yaitu usia 17-25 tahun, 26-35 tahun dan 36-45 tahun. Pada penelitian ini jumlah responden dominan didapatkan pada rentang

usia 17-25 tahun yaitu sebanyak 28 orang (56%).

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata kadar hemoglobin responden laki-laki dengan sampel yang berbeda didapatkan hasil rata-rata lebih besar dibandingkan dengan responden perempuan. Hasil penelitian ini sejalan dengan teori yang mengatakan bahwa laki-laki memiliki kadar hemoglobin lebih tinggi daripada perempuan. Hal ini dipengaruhi oleh fungsi fisiologis dan metabolisme pada laki-laki yang lebih aktif daripada perempuan. Kadar hemoglobin perempuan lebih mudah turun, dikarenakan mengalami siklus menstruasi yang rutin setiap bulannya. Ketika perempuan mengalami menstruasi banyak terjadi kehilangan zat besi, oleh karena itu kebutuhan zat besi pada perempuan lebih banyak daripada laki-laki (Estridge & Reynolds, 2012). Sama seperti hasil penelitian yang dilakukan oleh Esa dkk (2018) pada hasil pemeriksaan hematologi parameter hemoglobin menggunakan alat hematologi otomatis Sysmex Xt-1800i

berdasarkan jenis kelamin didapatkan hasil kadar hemoglobin laki-laki lebih tinggi dibandingkan perempuan (Esa *et al.*, 2018).

Berdasarkan tabel 4 diketahui bahwa rata-rata kadar hemoglobin dengan sampel yang berbeda berdasarkan usia didapatkan hasil terjadi peningkatan pada usia 17-25 tahun menuju usia 26-35 tahun dan mengalami penurunan pada usia 26-45 tahun. Dari tabel tersebut menunjukkan bahwa bertambahnya usia akan menyebabkan menurunnya kadar hemoglobin pada darah. Hal ini sejalan dengan teori yang mengatakan bahwa semakin bertambah usia seseorang maka akan terjadi penurunan fungsi fisiologis pada semua organ khususnya sumsum tulang yang berfungsi memproduksi sel darah merah yang pada akhirnya menurunkan kadar hemoglobin pada darah (Sulistyoningsih, 2011).

Berdasarkan tabel 5 terlihat bahwa rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 ml, 2 ml, dan 3 mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam didapatkan hasil rata-rata kadar hemoglobin terendah pada sampel darah 3 mL yaitu 14,22 g/dL dan tertinggi pada sampel darah 1 mL yaitu 14,29 g/dL. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar hemoglobin pada sampel darah 3 ml menuju sampel darah 2 ml dan 1 ml mengalami peningkatan. Hasil ini bertolak belakang dengan teori yang mengatakan bahwa jika jumlah volume darah kurang dari jumlah antikoagulan yang terdapat pada tabung *vacutainer* ditambah penundaan pemeriksaan maka akan menyebabkan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin menurun. Hal yang memungkinkan terjadinya hal tersebut yaitu saat penghitungan pada alat *Hematology Analyzer*. Darah yang telah masuk ke dalam alat, terlebih dahulu diencerkan dan

disuspensikan dalam cairan elektrolit (*diluent*). Saat sel melewati celah sempit (*aperture*) dimana pada kedua sisinya terdapat elektroda beraliran konstan, akan terjadi perubahan listrik diantara kedua elektroda. Frekuensi atau tahanan listrik yang terukur per satuan waktu adalah jumlah sel yang melalui celah, sedangkan besarnya tahanan listrik yang terjadi merupakan ukuran volume dari masing-masing sel yang melalui celah tersebut. Besarnya tahanan yang dihasilkan diolah sehingga didapat suatu ukuran untuk dapat memisahkan apakah tahanan tersebut dari suatu sel atau dari suatu debris (pecahan sel) yang kemudian dianalisis oleh komputer. Hemoglobin diukur secara optik di dalam kamar leukosit, dengan melisiskan eritrosit Sys LYSE (bahan pelisis yang mengandung kalium sianida yang bereaksi dengan Hb membentuk *cyanmethemoglobin*) (Winarzat, 2021). Alat *hematology analyzer* dengan metode otomatis merupakan *gold standard* dalam pemeriksaan hematologi karena menggunakan analisis hematologi otomatis yang handal dan akurat. Namun juga memiliki beberapa kelemahan, antara lain apabila ada sel yang saling menempel melewati *aperture* secara bersamaan akan dihitung sebagai satu sel dan gelembung udara mikro atau partikel lain juga dapat dihitung sebagai sel (Nadzifah, 2020).

Pada tabel 5 hasil Uji *One Way Anova*, didapatkan hasil *p-value* = 0,979 (*p-value* > 0,05) maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar hemoglobin antar sampel darah 3 mL, 2 mL, & 1 mL dengan antikoagulan K₂EDTA setelah ditunda 4 jam. Pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Utami dkk (2019) pada waktu simpan darah antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA

terhadap parameter eritrosit sebanyak 30 sampel terhadap waktu simpan darah selama 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 8 jam dengan uji *GLMR* diperoleh nilai $p > 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara waktu penundaan pemeriksaan darah K_2EDTA terhadap kadar hemoglobin. Menurut ICSH pada tahun 2002 menganjurkan bahwa melakukan pemeriksaan sampel darah sebaiknya dilakukan maksimal 4 jam karena akan mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi sel dalam sampel darah antikoagulan dimulai setelah 30 menit pengambilan (Vives-Corrans et al., 2014).

Rata-rata hitung kadar hemoglobin secara keseluruhan terdapat perbedaan pada sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dengan tabung *vacutainer* K_2EDTA setelah ditunda 4 jam. Namun ketidaksesuaian hasil kadar hemoglobin ini dinilai tidak signifikan (tidak berpengaruh) dengan uji statistik yang telah dilakukan. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Syuhada dkk (2021) pada parameter volume sampel darah dengan pemeriksaan segera didapatkan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar volume sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dalam tabung *vacutainer* K_2EDTA terhadap hasil pemeriksaan kadar hemoglobin. Bahkan, Menurut Dayalan (2020) volume darah yang kurang terisi 67% dari volume yang direkomendasikan hingga 1 mL menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan volume darah yang direkomendasikan yaitu 3 mL (Dayalan et al., 2020).

Pada penelitian ini menggunakan tabung *vacutainer* K_2EDTA . Tabung *vacutainer* yang berisi antikoagulan K_2EDTA adalah antikoagulan pilihan dalam

pengumpulan spesimen dan penghitungan sel darah menurut *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) dan ICSH. Tabung *vacutainer* K_2EDTA *spray-coated* digunakan untuk penentuan hematologi seluruh darah dan pengujian imunohematologi (Pratama, 2017). K_2EDTA tidak akan menyebabkan peningkatan volume sel seperti K_3EDTA (1,6% kenaikan setelah 4 jam). K_3EDTA merupakan cairan aditif, karena itu akan mengakibatkan dilusi spesimen atau penurunan jumlah sampel (Danastri, 2020).

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas, perbandingan volume sampel darah dengan jumlah antikoagulan K_2EDTA serta penundaan pemeriksaan sampel darah selama 4 jam setelah pengambilan tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan kadar hemoglobin.

Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini didapatkan beberapa keterbatasan peneliti, yaitu jumlah sampel yang diambil hanya sebanyak 50 responden. Dan sampel yang digunakan pada penelitian ini subjeknya adalah orang yang sehat sehingga penelitian ini hanya berlaku pada orang yang sehat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji statistik maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara pemeriksaan kadar hemoglobin pada sampel darah 3 mL, 2 mL, dan 1 mL dengan antikoagulan K_2EDTA setelah ditunda 4 jam.

Saran

Bagi petugas Unit Transfusi Darah (UTD) disarankan tetap mengikuti pedoman akreditasi laboratorium yaitu pengisian volume

darah sesuai dengan yang tertera pada tabung vacutainer EDTA atau perbandingan antara volume darah dan jumlah antikoagulan sebanding. Dan bila dalam pemeriksaan terjadi penundaan maka dianjurkan untuk ditunda maksimal 4 jam. Selain itu juga, lebih memperhatikan kesalahan-kesalahan tahap praanalitik lainnya yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi.

Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat meneliti pengaruh volume darah yang tidak mencukupi dalam tabung *vacutainer* K₂EDTA dengan pemeriksaan segera dan ditunda dengan sampel yang lebih banyak untuk mendapatkan hasil data pemeriksaan yang lebih valid. Selain itu, subjek yang diambil tidak hanya orang sehat tetapi juga mengikutsertakan orang sakit agar dapat memberikan gambaran penelitian yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Antwi-Baffour, S. (2013). Prolong Storage of Blood in EDTA Has an Effect on the Morphology and Osmotic Fragility of Erythrocytes. *International Journal of Biomedical Science and Engineering*, 1(2), 20. <https://doi.org/10.11648/j.ijbse.20130102.11>
- Bakta, I. M. (2020). *Hematologi Klinik Ringkas*. Jakarta: EGC.
- D'Hiru. (2013). *Live Blood Analysis*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Dameuli, S. (2018). *Perbedaan Kadar Hemoglobin Menggunakan Hb Meter, Spektrofotometer Dan Hematology Analyzer Pada Sampel Segera Diperiksa Dan Ditunda 20 Jam*. <http://repository.unimus.ac.id/2938/>
- Danastri, L. N. E. (2020). *Pengaruh Perbedaan Volume Darah pada Tabung Vakum K₂EDTA terhadap Hitung Jumlah Leukosit*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
- Dayalan, S., Subbarayan, D., Radha, R. N., Raghavan, V., & Mohandas, S. (2020). Underfilled K₂EDTA Vacutainer on Automated Haematological Blood Cell Indices To Reject or Reconsider? *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 14(3), 18-20. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2020/43292.13578>
- Dickinson, B. (2020). *BD Vacutainer Plastic K₂EDTA Tubes*. <https://www.krackeler.com/catalog/product/2752/BD-Vacutainer-174-Plastic-K2EDTA-Tubes>
- Esa, T., Aprianti, S., Arif, M., & . H. (2018). Nilai Rujukan Hematologi Pada Orang Dewasa Sehat Berdasarkan Sysmex XT-1800i. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12(3), 137. <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v12i3.875>
- Estridge, B. H., & Reynolds, A. P. (2012). *Basic Clinical Laboratory Techniques* (6th ed.). Delmar.
- Gupta, V., Mittal, S., Negi, G., Shrivastav, V., Biswas, D., & Chandra, H. (2014). Under filled di potassium-ethylene di amine tetra acetic acid vacutainers and its effect on automated blood cell indices in healthy blood donors: Is there a need to re-investigate it as a rejection criterion? *Journal of Applied Hematology*, 5(3), 101. <https://doi.org/10.4103/1658-5127.141997>
- Mela, P. S. (2020). *Pengaruh Variasi Volume Darah Pada Tabung Vacutainer K₂EDTA terhadap Nilai MCV*.
- Muslim, A. (2017). *Pengaruh Waktu Simpan Darah K₂EDTA dan*

- Na₂EDTA pada Suhu Kamar terhadap Kadar Hemoglobin. *Jurnal Analis Kesehatan*, 4(2), 392-396.
<https://ejournal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JANALISKE/S/article/view/259>
- Norsiah, W. (2014). Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin dengan dan Tanpa Sentrifugasi pada Sampel Leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2), 72.
<https://doi.org/10.31964/mltj.v1i2.19>
- Oktavia, N. (2019). *Pengaruh Waktu Penyimpanan Darah K₂EDTA dan Na₂EDTA terhadap Jumlah Sel Trombosit*.
- Pratama, D. M. A. (2017). *Perbedaan Jumlah Eritrosit menggunakan Antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Septiani, I. P. (2017). *Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode POCT dan Hematologi Analyzer pada Darah EDTA yang Langsung Diperiksa dan Ditunda 2 Jam*.
- Sriwati, C. (2018). *Perbedaan Kadar Hemoglobin pada Sampel yang Segera Diperiksa dan Ditunda 3 Jam*.
<http://repository.unimus.ac.id/1922/>
- Syauqiah, N. R. (2018). *Studi Kualitas Pemantapan Mutu Internal Pra Analitik Pemeriksaan Hematologi pada Laboratorium Rumah Sakit Roemani Muhammadiyah Semarang*.
- Trisnawati, N. A. (2020). *Pengaruh Lama Penyimpanan Darah EDTA yang disimpan Dalam Lemari Es (SUHU 4° C) terhadap Jumlah Eritrosit*.
- Vives-Corrans, J.-L., Briggs, C., Simon-Lopez, R., Albareda, S., Salle, B. de la, Flegar-Meatrui, Z., Nazor, A., Guyard, A., Lipsic, T., Nagai, Y., Patiu, M., Piqueras, J., Capel, M. J., Blerk, M. Van, Wang, J., & Marzac, C. (2014). Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination. A need for standardization. *International Journal of Laboratory Hematology*, 36(2), 222-226.