

**PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN HEMATOLOGI LEUKOSIT PADA SAMPEL DARAH PASIEN TALASEMIA DENGAN ANTIKOAGULAN K<sub>2</sub>EDTA SEGERA DAN SETELAH DITUNDA 4 JAM POST SAMPLING DI RSUD. DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR LAMPUNG**

**Syuhada<sup>1</sup>, Dita Fitriani<sup>2\*</sup>, Widi Marsanda<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Program Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati

\*)Email Korespondensi : [dita@malahayati.ac.id](mailto:dita@malahayati.ac.id)

**Abstract: Comparison of Results of Hematological Leukocyte Examination in Blood Samples of Thalassemia Patients With Immediate K<sub>2</sub>EDTA Anticoagulan and After 4 Hours Delayed Post Sampling at Dr. H. Abdul Moeloek, Bandar Lampung.** Thalassemia is an inherited blood disorder. Iron accumulation often occurs in thalassemia patients. The results of leukocyte hematology examination can be influenced by several factors such as iron and cytokines. Inspection sometimes there are delays so it is necessary to know how long the delay is required. This study aims to determine whether there is a difference in the number of leukocytes in thalassemia patients with K<sub>2</sub>EDTA anticoagulant immediately and after being delayed 4 hours post sampling. The study used an analytic observational method with a cross-sectional design through a hematology examination using a hematology analyzer with 52 samples using a paired sample t-test. It is known that the average leukocyte count of thalassemia patients who were immediately examined was 6.4154 mm<sup>3</sup> and for those who were delayed 4 hours post sampling was 6.0288 mm<sup>3</sup>. The results of the paired sample t-test obtained  $p > 0.05$ , it can be concluded that there is no significant difference and there was no significant difference in the number of leukocytes between blood samples from thalassemia patients immediately and delayed 4 hours post sampling. **Keywords:** Leukocyte, thalassemia, delay time.

**Abstrak : Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hematologi Leukosit Pada Sampel Darah Pasien Talasemia Dengan Antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA Segera Dan Setelah Ditunda 4 Jam Post Sampling Di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung.** Talasemia adalah penyakit kelainan darah yang diturunkan. Penumpukan zat besi sering terjadi pada pasien talasemia. Hasil pemeriksaan hematologi leukosit dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti zat besi dan sitokin. Pemeriksaan terkadang terdapat penundaan sehingga diperlukan pengetahuan berapa lama waktu penundaan yang diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah leukosit pasien talasemia dengan antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA segera dan setelah ditunda 4 jam *post sampling*. Penelitian menggunakan metode *observasional analitik* dengan rancangan *cross sectional* melalui pemeriksaan hematologi menggunakan alat *hematology analyzer* dengan 52 sampel menggunakan uji *paired sample t-test*. Diketahui rata-rata jumlah leukosit pasien talasemia yang segera diperiksa adalah 6.4154 mm<sup>3</sup> dan pada yang ditunda 4 jam *post sampling* adalah 6.0288 mm<sup>3</sup>. Hasil uji *paired sample t-test* didapatkan  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan bermakna dan tidak terdapat perbedaan jumlah leukosit yang signifikan antara sampel darah pasien talasemia segera dan ditunda 4 jam *post sampling*. **Kata Kunci :** Leukosit, talasemia, waktu tunda.

## PENDAHULUAN

Laboratorium Klinik merupakan suatu tempat untuk pemeriksaan sampel guna memperoleh keterangan Kesehatan perorangan ataupun untuk membantu menunjang diagnosis penyakit, penyembuhan serta pemulihan Kesehatan (Kemenkes RI, 2013). Terdapat tiga tahapan dalam pemeriksaan laboratorium yaitu tahap pra-analitik, analitik dan pasca-analitik (Maripah, 2017).

Pemeriksaan hematologi adalah Pemeriksaan yang berguna untuk membantu menegakan diagnosis, memberikan terapi dan gambaran prognosis serta untuk mengetahui tindakan selanjutnya seorang penderita (Kuman, 2019) Pemeriksaan hematologi dikelompokkan menjadi dua, yaitu diagnostik dan pemeriksaan penapisan (*Screening*). Pemeriksaan leukosit, eritrosit, trombosit, Hemoglobin (HB), Hematokrit dan Indeks eritrosit di kelompokkan pada Pemeriksaan Panel Hematologi (*Hematogram*), Adapun Pemeriksaan Hemogram yang ditambah dengan leukosit diferensial yang terdiri dari neutrofil (*Segmen dan bands*), eosinofil, Basofil, monosit dan limfosit merupakan bagian dari panel pemeriksaan hitung darah lengkap (Kementrian Kesehatan RI, 2011).

Untuk mencegah terjadinya kesalahan akibat dari bekunya darah pada saat pemeriksaan, maka diperlukan pemberian antikoagulan pada darah (Daviani & Sita, 2017). Antikoagulan yang paling umum digunakan adalah EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*) dengan Jenis EDTA yang sering digunakan pada pemeriksaan hitung jenis leukosit ialah disodium EDTA ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), *Dipotassium Ethylene diamine tetraacetic acid* ( $\text{K}_2\text{EDTA}$ ), dan *Tripotassium Ethylene diamine tetraacetic acid* ( $\text{K}_3\text{EDTA}$ ). *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) merekomendasikan antikoagulan  $\text{K}_2\text{EDTA}$ , karena menurut *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*,  $\text{K}_2\text{EDTA}$  berbentuk

semprot-kering pada dinding tabung maka tidak akan menyairkan sampel (Daniel *et al.*, 2020). Darah yang telah dicampur dengan antikoagulan harus diperhatikan batas waktu penyimpanannya untuk memastikan hasil pemeriksaan dapat terpercaya dan bermakna secara medis (Sari & Darmadi, 2018).

Waktu pemeriksaan maksimum yang diusulkan oleh *International Council for Standardization of Hematology* (ICSH) pada tahun 2002 adalah hingga 4 jam (Vives-Coron *et al.*, 2013). Sampel darah pasien Talasemia rentan terhadap hemolisis, dikarenakan adanya kelainan genetik yang mengakibatkan berkurang atau tidak terbentuknya rantai globin pembentuk hemoglobin, sehingga hemoglobin tidak sepenuhnya terbentuk dan sel darah merah mudah rusak maka menyebabkan terjadinya anemia. Oleh karena itu, untuk mendapatkan diagnosis yang akurat perlu diperhatikan pemberian antikoagulan dan lama penyimpanan sampel darah pasien talasemia. (Sriyati, 2020).

Dilihat dari adanya leukosit yang meningkat pada pasien talasemia dikhawatirkan jika dilakukan penundaan waktu pemeriksaan hematologi akan mempengaruhi nilai akurasi, meskipun pada penelitian orang sehat yang dilakukan oleh Nengsih (2022) meneliti jumlah leukosit yang ditunda 4 jam dengan antikoagulan  $\text{K}_2\text{EDTA}$  dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar jumlah leukosit pada setiap volume sampel darah yang berbeda. Namun jika penundaan waktu tersebut dilakukan pada sampel darah pasien talasemia, apakah akan terdapat perbedaan bermakna atau tidak.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *observasional analitik* dalam bidang pemeriksaan hematologi, yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan adanya hubungan antar variabel dengan cara perlakuan pada variasi independen berlangsung secara alami (Sastroasmoro & Ismael,

2014). Penelitian ini menggunakan desain *Cross sectional* dimana dilakukan pengambilan data variabel dependen terlebih dahulu, kemudian melakukan pencatatan variabel independen yang telah terjadi pada waktu yang lalu dengan menggunakan data primer berupa data pemeriksaan hematologi leukosit yang telah diperiksa. Variable dependen dan independen diukur hanya sekali. (Sastroasmoro & Ismael, 2014). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah pasien thalassemia di Unit Transfusi Darah RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung tahun 2022 dengan total 52 pasien.

### HASIL

Analisis univariat dalam penelitian ini untuk mengetahui rata-rata, nilai terendah, serta nilai tertinggi jumlah leukosit pasien talasemia dengan antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA yang diperiksa

segera dan setelah ditunda 4 jam *post sampling*, didapatkan hasil hitung minimum, maksimum dan mean pada tabel 1

Berdasarkan Tabel 1 bahwa dari 52 sampel yang diperiksa segera dan ditunda 4 jam *post sampling* diperoleh jumlah leukosit terendah adalah 2.00 mm<sup>3</sup> pada sampel darah yang ditunda 4 jam *post sampling*, dan jumlah leukosit tertinggi adalah 13.10 mm<sup>3</sup> pada sampel darah yang diperiksa segera. Nilai rata-rata jumlah leukosit sampel darah pasien talasemia setelah ditunda 4 jam *post sampling* dengan yang segera diperiksa menunjukkan adanya penurunan.

Analisis bivariat dalam penelitian ini untuk menganalisis perbedaan jumlah leukosit pada sampel darah pasien talasemia dengan antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA segera dan setelah ditunda 4 jam *post sampling*.

**Tabel 1. Nilai Terendah, Tertinggi, dan Rata-Rata pada Jumlah Leukosit Pasien Talasemia dengan Antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA yang Segera dan Setelah Ditunda 4 Jam *Post Sampling***

N	Perlakuan	Minimum	Maksimum	Mean
52	Segera	2.10	13.10	6.4154
	Ditunda 4 jam <i>post sampling</i>	2.00	12.40	6.0288

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa hasil Uji *Paired Sample t-Test* adalah  $p = 0.052$  ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat

perbedaan yang signifikan pada jumlah leukosit antara sampel darah pasien talasemia segera dan ditunda 4 jam *post sampling*.

**Tabel 2. Uji *Paired T-Test***

Waktu Pemeriksaan	Nilai P	P-Value
Segera Vs Ditunda 4 Jam	0.052	> 0,05

### PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa pada 52 sampel darah pasien talasemia yang diperiksa segera *post sampling* didapatkan hasil rata-rata jumlah leukosit sebesar 6.4154 mm<sup>3</sup> dengan nilai terendah 2.10 mm<sup>3</sup> dan tertinggi 13.10 mm<sup>3</sup>. Pada nilai tertinggi terlihat bahwa jumlah leukosit pasien talasemia mengalami peningkatan dari nilai normal jumlah leukosit dalam

setiap milimeter kubik darah yaitu 3.2-10.0. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa Transfusi berulang pada pasien talasemia dapat menyebabkan penumpukan zat besi berlebihan dalam tubuh sehingga menyebabkan keadaan inflamasi, hal ini dapat memicu peningkatan sitokin proinflamasi seperti tumor nekrosis factor-alfa (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin-6 (IL-6) pada pasien talasemia.

Peningkatan kadar TNF-a dan IL-6 pada talasemia dapat menekan eritropoiesis yang tidak efektif sehingga terjadi peningkatan produksi leukosit (Aminuddin *et al.*, 2022).

Pada nilai terendah didapatkan jumlah leukosit yang menurun. Beberapa kasus akibat transfusi darah yang berulang pada pasien talasemia menyebabkan hipersplenisme seperti jumlah leukosit yang menurun. Hal ini terjadi akibat kadar besi dalam darah yang sangat tinggi, sehingga ditimbun dalam berbagai jaringan tubuh salah satunya yaitu limpa yang dapat mengakibatkan gangguan hemokromatosis (Yunanda, 2008)

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa hasil rata-rata sampel darah pasien talasemia segera dan setelah ditunda 4 jam *post sampling* masih dalam rentang normal, sedangkan hasil rata-rata jumlah leukosit setelah ditunda 4 jam *post sampling* dengan yang segera diperiksa menunjukkan adanya penurunan.

Talasemia merupakan penyakit hemolitik hereditas yang disebabkan oleh gangguan sintesis hemoglobin di dalam eritrosit (Rujito, 2021). Eritrosit terbentuk dari proses eritropoiesis sedangkan leukosit dari proses leukopoiesis (Andika, 2019). Peningkatan atau penurunan jumlah leukosit pada pasien talasemia disebabkan karena menumpuknya zat besi dalam darah akibat dari transfusi yang berulang. Sifat besi tidak bisa dikeluarkan secara alami oleh tubuh, maka dari itu seiring dengan transfusi rutin pasien talasemia diberikan terapi kelasi besi untuk mencegah terjadinya komplikasi, sehingga rata-rata jumlah leukosit pasien talasemia masih dalam rentang normal (Rujito, 2021). Jumlah leukosit antara segera dengan ditunda 4 jam *post sampling* menunjukkan adanya penurunan. Hal ini sejalan dengan teori yang menyebutkan bahwa pemeriksaan yang mengalami penundaan maka akan menyebabkan hasil pemeriksaan jumlah leukosit rendah.

Hasil penelitian ini didapatkan jumlah leukosit yang ditunda selama 4 jam *post sampling* terdapat variasi hasil

yaitu normal, menurun tidak bermakna, meningkat tidak bermakna, ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu dikarenakan pada dasarnya darah dengan antikoagulan apabila tidak segera diperiksa akan menyebabkan perubahan morfologi pada sel darah (Sujud *et al.*, 2022). Menurut Ekanem (2012), waktu penundaan dapat mempengaruhi jumlah leukosit, semakin lama penundaan maka jumlah sel-sel terhitung semakin berkurang karena sel-sel akan mengalami hemolisis (rusak) atau mati. Selama penundaan sel-sel darah mengalami perubahan biokimiawi, biomekanis, dan reaksi imunologis menyebabkan terjadinya kerusakan struktural atau morfologi.

Perhitungan data yang dilakukan dengan uji *Paired Sample t-Test* dan didapatkan hasil ( $p\text{-value} > 0,05$ ) maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah leukosit yang signifikan antara sampel darah pasien talasemia segera dan ditunda 4 jam *post sampling*.

Hasil dari penelitian ini sama dengan penelitian jumlah leukosit pada orang sehat yang dilakukan oleh Nengsih (2022) dengan judul Perbandingan Jumlah Leukosit pada sampel darah 3 mL, 2 mL, & 1 mL dengan Antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA Setelah ditunda 4 Jam dengan melakukan uji *Kruskal-Wallis* hasilnya tidak terdapat perbedaan bermakna.

Waktu tunda pemeriksaan tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah leukosit sehingga waktu penundaan pemeriksaan selama 4 jam masih dapat ditolerir dalam keadaan-keadaan tertentu. Namun dalam pemeriksaan darah tetap disarankan untuk dilakukan dengan sesegera mungkin atau sesuai dengan standar prosedur yang ada, karena penundaan hitung jumlah leukosit lebih dari 2 jam dapat menyebabkan sel leukosit lisis, vakuolisasi, degranulasi, hipersegmentasi dan disintegrasi sehingga jika dilakukan penundaan akan mengakibatkan penurunan palsu (Ilfisyar & Alfiani, 2018).

Peningkatan atau penurunan palsu jumlah leukosit juga bisa

disebabkan karena penggunaan alat *hematologi analyzer*, disamping banyaknya kelebihan dari alat tersebut juga terdapat kekurangannya yaitu tidak bisa mendeteksi sel Abnormal apabila ada leukosit yang bergerombol, leukosit besar (*giant*) serta adanya kotoran, pecahan eritrosit, pecahan leukosit tidak dapat terdeteksi atau tidak dapat dibedakan (Medonic, 2016).

Perbedaan hasil ini juga bisa terletak pada homogenisasi sampel darah. Homogenisasi merupakan suatu proses pencampuran antara sampel darah dengan antikoagulan yang dapat memaksimalkan pencampuran secara merata dengan tujuan agar sampel tidak mengalami hemolisis dan pembekuan pada darah. Apabila sampel tidak tecampur/terhomogenkan dengan baik sebelum diperiksa maka dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (Tama, 2021).

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian rata-rata jumlah leukosit sampel darah pasien talasemia dengan antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA yang diperiksa segera *post sampling* didapatkan hasil 6.4154 mm<sup>3</sup>. Rata-rata jumlah leukosit sampel darah pasien talasemia dengan antikoagulan K<sub>2</sub>EDTA setelah ditunda 4 jam *post sampling* didapatkan hasil 6.0288 mm<sup>3</sup>. Tidak terdapat perbedaan jumlah leukosit yang signifikan antara sampel darah pasien talasemia segera dan ditunda 4 jam *post sampling*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aminuddin, M. F., Darmawan, A. B., & Rujito, L. (2022). Korelasi Feritin dengan Sitokin Proinflamasi pada Pasien Talasemia Beta Di Kota Samarinda Kalimantan Timur. *Journal Of The Indonesian Medical Association*, 72(2), 76–82. <https://doi.org/10.47830/jinma-vol.72.2-2022-608>
- Andika, A. (2019). Buku Ajar Mata Kuliah Hematologi. In *Buku Ajar Mata Kuliah Hematologi*. <https://doi.org/10.21070/2019/978-623-7578-00-0>
- Daniel, Eem, V. R. and, Nina, H. and, Adang, M. and, & Durachim. (2020). Pengaruh Waktu Simpan Darah dengan Antikoagulan Dipotassium dan Tripotassium Ethylenediaminetetraacetic Acid Terhadap Jumlah Leukosit. *Ekp*, 13(3), 1576–1580.
- Daviani, & Sita. (2017). *Perbedaan Variasi Volume Darah dalam Tabung Vacutainer EDTA Terhadap Jumlah Trombosit*. 1–6.
- Ekanem, A. P., Udoh, A. J., and Inyang Etoh, A. P. (2012). Effect of Different Anticoagulants on Hematological Parameters of *Oreochromis niloticus*. *IJSAT* 2(6): 17–20. ISSN 2221-8386
- Ifisyar, & Alfiani, I. (2018). *Pengaruh Waktu dan Suhu Terhadap Jumlah Leukosit*.
- Kemendes RI. (2013). Permenkes RI nomor 43 tahun 2013, Cara Penyelenggaraan Laboratorium yang Baik. *Kemendes RI*, 45.
- Kementrian Kesehatan RI. (2011). Pedoman Interpretasi Data Klinik. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, January*, 1–83.
- Kuman, M. Y. (2019). *Perbedaan Jumlah Eritrosit, Leukosit Dan Trombosit Pada Pemberian Antikoagulan Konvensional Dan EDTA Vacutainer*. 1–42.
- Maripah, siti. (2017). *Pengaruh Penundaan Darah K3EDTA Terhadap Jumlah Trombosit Metode Automatic Hematology Analyzer*. 148–162.
- Medonic. (2016). *Medonic M-series User's Manual*. Boule Diagnostics AB.
- Rujito, L. (2021). Talasemia Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini. In *Nuevos sistemas de comunicación e información*.
- Sari, P. D., & Darmadi. (2018). *Perbedaan Jumlah Leukosit Darah EDTA Diperiksa Segera dan Ditunda 2 Jam*.
- Sastroasmoro, S., & Ismael, S. (2014). *Dasar - Dasar Metodologi Penelitian Klinis* (Edisi ke-5). CV Sagung Seto.
- Sriyati. (2020). *Pengaruh Waktu Simpan Darah K2EDTA dan*

*K3EDTA Pasien Talasemia Mayor Terhadap Pemeriksaan Hematologi Rutin.*

- Sujud, Ratih Hardiasari, Anik Nuryati. (2015). Perbedaan Jumlah Trombosit Pada Darah EDTA Yang Diperiksa Segera dan Penundaan Selama 1 Jam di Laboratorium RSJ Graha Yogyakarta Vol. 1 No. 12.S1
- Vives-Coron, J.-L., Briggs, C., Simon-Lopez, R., Alvarede, 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. (2013). Letter To The Editor: "Letter to the Editor." *International Journal of Phytoremediation*, 20(1), 135–136.  
<https://doi.org/10.1080/13518040701205365>
- Yunanda, Y. (2008). thalasemia. *e-Repository, Medan*, Universitas Sumatera Utara.