

UJI STABILITAS PRC PARAMETER ERITROSIT DALAM LARUTAN ALSEVER BUATAN DENGAN PENAMBAHAN FORMALIN

Azmi, Zahrani Fadila¹; Nurhayati, Betty¹; Hayati, Eem¹; Maulana, Eri Triakumara¹

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung

e-mail: zahrani_fadilazmi@yahoo.com

ABSTRAK

Penggunaan EDTA sebagai antikoagulan dapat diganti menggunakan larutan Alsever untuk masa simpan *whole blood* yang lebih lama dan diperlukan pula zat yang berfungsi memelihara membran sel di antaranya adalah formalin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas PRC parameter eritrosit dalam larutan Alsever buatan dengan penambahan formalin. Desain penelitian ini merupakan quasi eksperimen, dengan membandingkan metode penyimpanan darah dalam larutan Alsever buatan yang ditambahkan formalin terhadap metode penyimpanan darah menggunakan larutan Alsever buatan untuk melihat stabilitas kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah dan indeks eritrosit dalam variasi waktu 0, 7, 14, 21, dan 28 hari, dari sampel PRC sebanyak 1 bahan pemeriksaan dari orang sehat. Pengamatan dilakukan menggunakan alat Hemanalyzer, kemudian hasilnya diuji secara statistik menggunakan uji General Linear Model-Repeated Measures dengan menghasilkan kesimpulan bahwa kadar hemoglobin dan nilai MCV pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28. Nilai hematokrit dan MCHC pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% stabil hingga hari ke-7. Jumlah eritrosit pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% tidak stabil dari hari ke-7. Nilai MCH pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-21, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% tidak stabil dari hari ke-7.

Kata Kunci: PRC, Parameter Eritrosit, Larutan Alsever, Formalin

PENDAHULUAN

Darah mudah membeku apabila berada diluar tubuh, sehingga jika didiamkan bekuan akan mengerut dan serum terperas keluar. Untuk menghindari pembekuan darah dapat diatasi dengan penambahan suatu zat yang disebut dengan antikoagulan. Kebanyakan tes hematologi menggunakan *Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (EDTA) sebagai antikoagulan, tetapi masa hidupnya sangat pendek sehingga dibutuhkan suatu zat yang bisa memperpanjang masa hidup darah, salah satunya adalah Alsever. Alsever bisa menjadi pengganti antikoagulan untuk masa simpan *whole blood* yang lebih lama. Larutan Alsever sendiri jarang digunakan karena harganya cukup mahal, sehingga alternatifnya adalah membuat sendiri Larutan Alsever.¹

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Aulia Hanum Maulida, tahun 2018 yang berjudul "Uji Stabilitas PRC dalam Larutan Alsever Buatan Ditinjau dari Kadar Hemoglobin, Nilai Hematokrit, Jumlah dan Indeks Eritrosit" menunjukkan bahwa nilai MCH dan MCHC dalam larutan Alsever komersial dan buatan stabil hingga penyimpanan hari ke 20 secara statistik maupun klinis. Nilai MCV dalam larutan Alsever komersial stabil hingga penyimpanan hari ke 20 secara statistik maupun klinis dan dalam larutan Alsever buatan stabil hingga hari ke 18 secara statistik tetapi hari ke 20 secara klinis.

Bahan kontrol yang baik seharusnya tidak ada perbedaan dalam pemeriksaan parameter eritrosit pada larutan Alsever Komersial dan Alsever buatan tetapi dari penelitian diatas terdapat perbedaan pada nilai MCV. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, selain larutan pengencer (antikoagulan), diperlukan pula zat yang berfungsi memelihara membran sel diantaranya formalin.

Penelitian lain tentang perubahan morfologi eritrosit akibat lesi

penyimpanan telah dilakukan oleh Isti, Rofinda, dan Husni dengan waktu penyimpanan 0, 7, 14, 21, 28 hari. Penelitian ini membuktikan bahwa penyimpanan eritrosit mengakibatkan adanya perubahan morfologi eritrosit, yaitu perubahan bentuk eritrosit normal dari discoid menjadi sfero-ekinosit.²

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *quasi eksperimen* yaitu membandingkan metode uji, yaitu metode penyimpanan darah menggunakan larutan Alsever buatan yang ditambahkan formalin terhadap metode pembanding, yaitu metode penyimpanan darah menggunakan larutan Alsever buatan untuk melihat stabilitas kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah dan indeks eritrosit darah simpan dalam jangka waktu 0, 7, 14, 21, 28 hari dengan masing-masing pengulangan 4 kali. Sampel yang diperlukan diambil dari satu orang sehat dengan volume darah sebanyak 10 mL. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi Poltekkes Kemenkes Bandung pada bulan April-Mei 2019.

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran darah simpan dalam kedua larutan Alsever menggunakan *hematology analyzer* diolah menggunakan program SPSS dengan uji *Kolmogorov-smirnov* untuk melihat distribusi data hasil pemeriksaan masing-masing parameter pemeriksaan. Hasil dari setiap pengukuran dibandingkan dengan pengukuran awal (hari 0) pada setiap parameter untuk mendapatkan nilai stabilitas secara statistik dengan menggunakan uji *General Linear Model-Repeated Measures* apabila distribusi data normal atau uji *Wilcoxon* apabila distribusi data tidak normal.

Pembuatan Alsever dengan Penambahan Formalin

Larutan Alsever dengan penambahan formalin dibuat dengan cara melarutkan glukosa 2,05 g;

natrium sitrat 0,8 g; asam sitrat monohidrat 0,055 g; NaCl 0,42 g; formalin 0,5% atau 1%; ditambahkan aquabidest sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL. Larutan dihomogenkan kemudian dipindahkan ke dalam botol.

Preparasi Bahan Pemeriksaan

Bahan pemeriksaan terdiri dari darah yang telah diambil dengan perbandingan larutan Alsever dan spesimen darah sebanyak 1:1 masing-masing untuk Alsever buatan dan Alsever buatan dengan penambahan formalin dihomogenkan, kemudian dipisahkan dan dimasukkan kedalam masing-masing aliquot sebanyak 300 µL.

Pemeriksaan Stabilitas Parameter Eritrosit

Pemeriksaan kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah dan indeks eritrosit dilakukan dengan menggunakan alat *hematology auto analyzer* (Hmacount).

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh merupakan data primer hasil dari pengukuran darah simpan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin maupun Alsever buatan tanpa formalin selama 28 hari penyimpanan menggunakan *hematology analyzer*. Setiap parameter dengan masing-masing 4 kali pengulangan diambil rata-ratanya sehingga data hasil yang didapat seperti pada tabel 1. Sedangkan rekapitulasi hasil uji stabilitas masing-masing parameter secara statistik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Rata-rata Hasil Pemeriksaan

Parameter	Alsever Buatan	Nilai rata-rata pada hari ke-				
		0	7	14	21	28
Jumlah Eritrosit (10 ⁶ /uL)	Tanpa Formalin	3,49	3,51	3,55	3,5	3,56
	Tambah Formalin 0,5%	3,42	3,52	3,49	3,43	3,42
	Tambah Formalin 1%	3,26	2,76	2,08	1,73	1,69
Kadar Hb (g/dL)	Tanpa Formalin	11,3	11,3	11,2	10,9	11,1
	Tambah Formalin 0,5%	11,2	11,4	11,4	11,1	11,4
	Tambah Formalin 1%	10,7	10,6	10,8	10,3	10,8
Nilai Ht (%)	Tanpa Formalin	31,5	32	32,5	31,4	32,1
	Tambah Formalin 0,5%	31	39,7	30,8	30,7	31,9
	Tambah Formalin 1%	31,5	31,7	26	21,7	20,1
MCV (fL)	Tanpa Formalin	90,2	91,4	91,8	89,6	89,5
	Tambah Formalin 0,5%	91	86,6	88,4	90	93,5
	Tambah Formalin 1%	97	115,9	125	125,3	119,7
MCH (pg)	Tanpa Formalin	32,4	31,9	31,3	31,1	31,2
	Tambah Formalin 0,5%	32,6	32,1	32,6	32,6	33,3
	Tambah Formalin 1%	33	38,6	52	59,8	64,1
MCHC (g/dL)	Tanpa Formalin	35,9	35,6	34,8	34,6	34,8
	Tambah Formalin 0,5%	35,9	36,6	36,9	36,2	35,6
	Tambah Formalin 1%	34	33,2	41,6	48	53,1

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Uji Stabilitas secara Statistik

Parameter	Alsever Buatan	Hasil statistik hari ke-					Kesimpulan
		0	7	14	21	28	
Jumlah Eritrosit (10^6 / μ L)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	S	Stabil sampai hari ke-28
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	S	
	Tambah Formalin 1%	S	TS	TS	TS	TS	Tidak Stabil dari hari ke-7
Kadar Hb (g/dL)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	S	Stabil sampai hari ke-28
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	S	
	Tambah Formalin 1%	S	S	S	S	S	
Nilai Ht (%)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	S	Stabil sampai hari ke-28
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	S	
	Tambah Formalin 1%	S	S	TS	TS	TS	Stabil sampai hari ke-7
MCV (fL)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	S	Stabil sampai hari ke-28
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	S	
	Tambah Formalin 1%	S	S	S	S	S	
MCH (pg)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	TS	Stabil sampai hari ke-21
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	TS	
	Tambah Formalin 1%	S	TS	TS	TS	TS	Tidak Stabil dari hari ke-7
MCHC (g/dL)	Tanpa Formalin	S	S	S	S	S	Stabil sampai hari ke-28
	Tambah Formalin 0,5%	S	S	S	S	S	
	Tambah Formalin 1%	S	S	TS	TS	TS	Stabil sampai hari ke-7

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh dari pemeriksaan kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah dan indeks eritrosit dalam darah terhadap lama penyimpanan darah, yang diperiksa dengan alat *hematology auto analyzer* menggunakan larutan Alsever buatan dengan larutan Alsever buatan yang ditambahkan formalin baik secara statistik maupun secara klinis. Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji statistik General Linear Model Repeated Measures (GLM) – Repeated Measures.

Formalin merupakan larutan yang mengandung 37% air dari formaldehid, gas yang menyengat, dengan formula kimia HCHO , digunakan sebagai antiseptik, desinfektan, dan terutama hari ini sebagai fiksatif histologi. Formalin dapat membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam bakteri dehidrasi (kekurangan air), sehingga sel bakteri akan kering dan membentuk lapisan baru di permukaan. Artinya, formalin tidak saja membunuh bakteri, tetapi juga membentuk lapisan

baru yang melindungi lapisan di bawahnya, supaya tahan terhadap serangan bakteri lain.³

Formalin yang diberikan mampu dimetabolisme dan diekskresikan sehingga tidak mempengaruhi hematopoiesis dan eritropoiesis. Formalin yang masuk ke dalam tubuh akan cepat dimetabolisme menjadi asam format dalam jaringan tubuh, khususnya pada hati dan eritrosit. Pembentukan asam format pada eritrosit dapat menimbulkan kondisi asam pada darah karena banyaknya alkali. Kondisi ini mempengaruhi hemoglobin yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan asam basa. Oleh karena itu, secara tidak langsung formalin dapat mempengaruhi hematopoiesis melalui efek-efek metabolik dan menghambat proliferasi semua elemen seluler di dalam sumsum tulang.³

Berdasarkan hasil penelitian Fitria, Lily, dan Dewi tahun 2016, didapatkan bahwa nilai profil eritrosit pada sampel darah-EDTA. Walencik dan Witeska (2007) menyatakan bahwa

EDTA dapat menyebabkan eritrosit mengalami hemolisis sehingga jumlahnya berkurang.⁴

Dalam penelitian ini digunakan darah EDTA yang ditambah Alsever buatan dan ditambahkan juga larutan formalin. Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil yang tidak stabil terdapat pada formalin konsentrasi 1%. Hal ini dimungkinkan karena larutan formalin termasuk kedalam larutan hipertonis. Ketika ada larutan hipertonis masuk kedalam darah, maka darah akan bersifat hipotonis atau keadaan dimana plasma darah menjadi lebih encer. Larutan yang hipotonis akan menyebabkan stress osmotik. Larutan atau plasma darah yang hipotonis masuk ke dalam sel darah merah, dan menyebabkan sel eritrosit menjadi menggembung. Apabila membran eritrosit sudah tidak dapat menahan plasma yang masuk ke dalam sel darah merah, maka eritrosit akan pecah atau mengalami hemolisis.⁵

Penyimpanan sampel darah dan penggunaan formalin dengan konsentrasi yang berbeda menentukan reliabilitas dan validitas hasil pengujian hematologis. Jumlah sel-sel yang terhitung makin berkurang karena sel-sel rusak (hemolisis) atau mati sejalan dengan lamanya penyimpanan. Selama penyimpanan, sel-sel darah mengalami perubahan biokimiawi, biomekanis, dan reaksi imunologis yang menyebabkan terjadinya kerusakan struktural atau biasa disebut *storage lesion*.^{6,7}

Penyimpanan darah dalam jangka waktu lama mengakibatkan terjadinya penurunan pH, peningkatan asam laktat, peningkatan konsumsi glukosa, penurunan 2-3 diphosphogliserat (2-3 DPG), peningkatan kadar potasium ekstrasel yang mengakibatkan rusaknya pompa Na-K, dan penurunan ATP yang dapat menurunkan kemampuan eritrosit sehingga eritrosit akan mudah lisis.^{8,9}

Data penelitian menunjukkan bahwa hasil rata-rata pemeriksaan tidak stabil. Hal tersebut karena

terdapat perbedaan waktu proses pemecahan eritrosit. Pada umumnya, eritrosit yang tua membran selnya mudah pecah. Kepekatan cairan di luar sel akan berpengaruh terhadap peristiwa hemolisis atau krenasi, maka dapat dikatakan bahwa kecepatan hemolisis dan kecepatan krenasi dipengaruhi oleh kepekatan cairan di luar sel eritrosit. Semakin encer cairan di luar sel maka semakin cepat sel tersebut mengalami hemolisis, dan semakin pekat cairan di luar sel maka semakin cepat pula terjadinya krenasi.

Dari hasil penelitian Fitria, Lily, dan Dewi tahun 2016, didapatkan bahwa waktu penyimpanan ternyata menurunkan jumlah eritrosit secara signifikan ($P < 0,05$). Makin lama penyimpanan maka jumlah sel-sel terhitung makin berkurang karena sel-sel rusak (hemolisis) atau mati. Sehingga dimungkinkan hasil penelitian pada parameter MCH dihari ke-28 tidak stabil karena pengaruh waktu penyimpanan.¹⁰

Dari hasil sebelumnya oleh Aulia Hanum Maulida, Politeknik Kesehatan Bandung Jurusan Analis Kesehatan tahun 2018, didapat hasil bahwa parameter MCH dan MCHC stabil selama 20 hari dalam Alsever buatan. Sedangkan parameter MCV stabil hingga hari ke 18.¹¹

Hasil penelitian dapat disimpulkan oleh peneliti bahwa PRC dalam larutan Alsever buatan dengan penambahan formalin dapat digunakan untuk mengukur stabilitas kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah dan indeks eritrosit. Namun dikarenakan eritrosit sel darah yang paling mudah mengalami kerusakan, konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga dapat menyebabkan gangguan tonisitas, menyebabkan pembengkakan sel, hemolisis, atau krenasi.⁶

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kadar hemoglobin

dan nilai MCV pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28. Nilai hematokrit dan nilai MCHC pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% stabil hingga hari ke-7. Jumlah eritrosit pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-28, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% tidak stabil dari hari ke-7. Nilai MCH pada PRC dalam larutan Alsever buatan tanpa formalin dan dengan penambahan formalin 0,5% stabil hingga hari ke-21, sedangkan dalam Alsever buatan dengan penambahan formalin 1% tidak stabil dari hari ke-7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih untuk semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini, terutama Ibu Dr. Betty Nurhayati, M.Si., selaku pembimbing serta Ibu Eem Hayati, S.Pd., M.Kes., dan Bapak dr. Eri Triakumara M., M.HKes, selaku penguji pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wahdaniah, Sri Tumpuk. 2018. *Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K2EDTA dan K3EDTA terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit*. Pontianak
2. Risma, Isti., Zelly Dia Rofinda., Husni. 2018. *Gambaran Morfologi Eritrosit Packed Red Cell Berdasarkan Waktu Penyimpanan Di Bank Darah RSUP Dr. M. Djamil Padang*. Jurnal Kesehatan Andalas
3. Rahmawati, Huda dan Tana, Silvana. *Pengaruh Pemberian Diazepam, Formalin & Minuman Beralkohol terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Mencit Mus Musculus L.* Makassar: s.n.
4. Walencik, J dan Witeska, M. 2007. *The Effects of Anticoagulants on Hematological Indices and Blood Cell Morphology of Common Carp (Cyprinus carpio L.)*. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol: s.n., Vol. 146(3): 331-335
5. Angelina, Jeselin. *Melemahnya Eritrosit Seiring Berjalannya Waktu*. Diakses di: <http://www.kompasiana.com> pada tanggal 23 Mei 2019
6. Ekanem, A.P., Udoh, A.J. dan Inyang-Etoh, A.P. 2012. *Effect of Different Anticoagulants on Hematological Parameters of Oreochromis niloticus*. s.l.: ISSN 2221-8386, Vol. IJSAT 2(6): 17-20
7. Al-Nuaimy, K.M.I. 2008. *Haematological Changes in Stored Blood*. Edu & Chi, Vol. 21(4); 49-56
8. Magbojos, CR, et al. 2011. *Preparation of the blood-enriched agar with the use of red cell suspension*. Asian J. Vol. 259-275
9. Yeh, E, et al. 2009. *Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfills all requirements of blood agar for diagnostic microbiology laboratory tests*. PLoS One, Vol. 4(7): e6141
10. Laksmindra, Fitria, Lia Lavi, Illiy dan Indah Riwantrisna, Dewi. 2016. *Pengaruh Antikoagulan dan Waktu Penyimpanan terhadap Profil Hematologis Tikus (Rattus norvegicus Berkenhout, 1769) Galur Wistar*. Yogyakarta: Biosfera, Vol. 33

11. Hanum Maulida, Aulia. 2018. *Uji Stabilitas PRC dalam Larutan Alsever Buatan ditinjau dari Kadar Hemoglobin, Nilai*

Hematokrit, Jumlah dan Indeks Eritrosit. Bandung: Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung