

## **Pengaruh Lama Penundaan Spesimen Darah K2EDTA Terhadap Morfologi Leukosit Pada Apusan Darah Tepi**

### ***The Effect of Delayed K2EDTA Blood Specimen on Leukocyte Morphology in Peripheral Blood Smear***

**Noviyani Aunisajidah<sup>1</sup>, M. Ardi Afriansyah<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup> Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding email: [noviyaniiii113@gmail.com](mailto:noviyaniiii113@gmail.com) , [afriansyah@gmail.com](mailto:afriansyah@gmail.com)

#### **Abstrak**

Tahap pra- analitik berkontribusi besar sekitar 50-70% dari total kesalahan laboratorium, salah satunya karena lama penundaan spesimen. Lamanya penundaan spesimen darah K2EDTA dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan sediaan apusan darah tepi terutama pada morfologi leukosit dimana batas waktu penyimpanan pada suhu ruang hanya 1 jam. Tujuan dari penelitian ini yakni untuk mengetahui pengaruh lama penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi. Jenis penelitian eksperimental. Sampel didapat dengan simple random sampling sebanyak 9 sampel. Analisis data dengan uji chi square. Hasil penelitian didapatkan spesimen darah K2EDTA yang segera dikerjakan pembuatan apusan darah tepi sebanyak 9 preparat (100%) baik yaitu tidak ditemukan kelainan vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus, pada penundaan 2 jam didapatkan 9 preparat (100%) sedang yaitu ditemukannya kelainan vakuolisasi, dan penundaan selama 5 jam didapatkan 9 preparat (100%) sedang yaitu ditemukan vakuolisasi yang semakin membesar. Berdasarkan analisis uji chi square diperoleh nilai p value 0.000 (<0.05) hal ini dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi.

**Kata Kunci :** Penundaan Spesimen, K2EDTA, Morfologi leukosit, SADT.

#### **Abstract**

*The pre analytical phase contributes significantly, around 50-70% of total laboratory errors, one of which is due to sample delays. The duration of the delay in K2EDTA blood samples can affect the results of peripheral blood smear examinations, especially the morphology of leucocytes, where the storage time at room temperature is only 1 hour. This study is to determine the effect of the duration of the delay in K2EDTA blood samples on the morphology of leukocytes in peripheral blood smears. Type of this experimental research. The sample was obtained using the simple random sampling, totalling 9 sample. Data analysis used the chi square test. The research results obtained K2EDTA blood samples that were immediately processed to create peripheral blood smears, with 9 preparations (100%) showing good quality, meaning no abnormalities such as vacuolization, pyknosis, and nuclear lobulation were found. After a 2-hour delay, 9 preparations (100%) showed moderate quality, with vacuolization abnormalities found. After a 5-hour delay, 9 preparations (100%) showed moderate quality, with increasingly larger vacuolization found. Based on the chi-square analysis, a p value of 0.000 (<0.05) was obtained, which indicates that there is an effect of K2EDTA blood sample delay on leukocyte morphology in peripheral blood smear preparations.*

**Keywords :** Sample Delay, K2EDTA, Leukocyte Morphology, Peripheral of Blood Smear.

## PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium memiliki peran penting sebagai tes skrining, diagnosis, pemantauan progresitas suatu penyakit, monitoring pengobatan serta prognosis penyakit. Hasil pemeriksaan diharapkan dapat memberikan hasil tes yang akurat, spesifik, teliti, sensitivitas, juga cepat (Kusmiati, dkk., 2022). Pemeriksaan sediaan apusan darah tepi penting untuk melihat morfologi sel secara mikroskopis dan manual sebagai konfirmasi hasil apabila ketidaksesuaian hasil pada alat *hematology analyzer* (Kurniasih, 2024), menilai berbagai unsur sel-sel darah seperti morfologi sel (leukosit, eritrosit, dan trombosit), menentukan diff count, mengestimasi jumlah trombosit (Yunus, 2022). Hasil pemeriksaan yang valid diperlukan penanganan spesimen darah yang tepat untuk pemeriksaan (Aliviameita, 2022).

Kesalahan tahap pra-analitik mencapai 50-70% dari semua kesalahan laboratorium (Aliviameita, 2022). Kesalahan pada tahap pra-analitik salah satunya karena penundaan spesimen darah dengan durasi yang lama menyebabkan perubahan biokimia yang bisa mempengaruhi kelangsungan hidup sel (Disk, *et al.*, 2019). Konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga mengakibatkan gangguan tonisitas sehingga terjadi pembengkakan sel, krenasi, atau hemolisis (Putri Ayu, *et al.*, 2019). *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) ialah antikoagulan yang dianjurkan untuk pemeriksaan hematologi karena tidak mempengaruhi morfologi sel darah. Antikoagulan yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO), *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) dan *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) ialah K2EDTA karena dinilai paling baik dimana K2EDTA dalam tabung vacutainer berbentuk *dry spray* tidak mengalami pengenceran sehingga tidak akan mempengaruhi bentuk sel darah (Lestari, 2023).

Lamanya waktu penundaan spesimen darah K2EDTA mengakibatkan timbulnya kelainan pada morfologi leukosit, pada penundaan spesimen darah inti sel mengalami lobulasi nukleus, degenerasi, piknosis, vakuolisasi, dan ruptur. Sitoplasma leukosit muncul vakuola, butiran sitoplasma, proyeksi berbulu, blebs dan ruptur (Shaista, 2022). Kelainan granula toksik dan vakuolisasi pada neutrofil dapat mendukung ke arah sepsis, serta menunjukkan adanya inflamasi akut (Hendriyaningtyas, 2018). Pemeriksaan spesimen darah sebaiknya dilakukan segera setelah pengambilan, jika terjadi penundaan perlu diperhatikan durasi waktu penundaan apusan darah tepi spesimen darah EDTA harus segera dikerjakan < 2jam (Chintia, 2018). Penundaan spesimen dapat terjadi ketika menghindari sampling darah yang berulang, dokter meminta pemeriksaan tambahan sediaan apusan darah tepi dari spesimen yang telah disampling beberapa jam yang lalu (Wedhaswara, 2018). Penundaan lainnya juga dapat terjadi karena spesimen darah yang sudah terambil tidak langsung diolah, melainkan dikumpulkan terlebih dahulu.

## METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium hematologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spuit 3cc, tourniquet, alkohol 70%, kapas kering, plester, rak pengecatan, pipet tetes, mikropipet 10µ, white tip,

objek glass, deck glass, mikroskop. Bahan-bahan yang digunakan ialah spesimen darah vena, tabung vacutainer K2EDTA, methanol, aquades, giemsa, imersi oil.

Prosedur penelitiannya yaitu sampling darah vena sebanyak 3ml menggunakan spuit 3cc, spesimen darah vena dicampur dengan antikoagulan K2EDTA lalu homogenkan. Spesimen penelitian dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan antara lain segera dikerjakan (kontrol), tunda 2 jam (P1) dan tunda 5 jam (P2) pada suhu ruang. Dilakukan pengecatan menggunakan giemsa, sediaan yang sudah terwarnai dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x diamati perubahan leukosit berupa vakuolisasi yaitu timbulnya vakuola-vakuola jernih pada sitoplasma, piknosis yaitu inti sel dan DNA menyusut menjadi gumpalan-gumpalan padat, serta lobulasi nukleus pada sel mononuklear (Rahmnetarini, 2019). kriteria penilaian morfologi leukosit sebagai berikut:

Baik : Tidak ditemukan kelainan morfologi leukosit berupa vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus.

Sedang: Ditemukannya 1-2 jenis kelainan morfologi leukosit sebagai berikut; vakuolisasi, piknosis, atau lobulasi nukleus.

Buruk : Ditemukannya 3 jenis kelainan morfologi leukosit sebagai berikut; vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Spesimen darah diambil dari mahasiswa D3 Analis Kesehatan kelas B kelompok 4 angkatan 2021 sebanyak Sembilan orang. Spesimen darah segera dikerjakan, tunda 2 dan 5 jam dibuat apusan darah, dilakukan pewarnaan giemsa, dan dilakukan pengamatan terhadap morfologi leukosit seperti pada tabel 1.

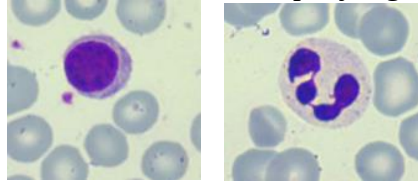
Tabel 1.

Hasil pengamatan mikroskopis morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi segera dikerjakan, ditunda 2, dan ditunda 5 jam.

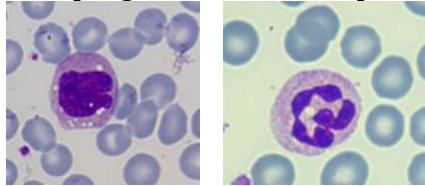
| Waktu Tunda | Morfologi Leukosit |            |          |           |
|-------------|--------------------|------------|----------|-----------|
|             | Baik               | Sedang     | Buruk    | Total     |
| Segera      | 9                  | 0          | 0        | 9         |
| 2 jam       | 0                  | 9          | 0        | 9         |
| 5 jam       | 0                  | 9          | 0        | 9         |
| Total       | 9 (33,3%)          | 18 (66,7%) | 0 (0,0%) | 27 (100%) |

Berdasarkan tabel 1. diatas didapatkan hasil pengamatan mikroskopis morfologi leukosit pada spesimen yang segera dikerjakan 9 preparat masuk dalam kriteria baik artinya tidak ditemukan kelainan morfologi leukosit berupa vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus. Pada 9 preparat dengan lama penundaan spesimen darah K2EDTA selama 2 dan 5 jam masuk dalam kriteria sedang yaitu ditemukannya kelainan berupa vakuolisasi.

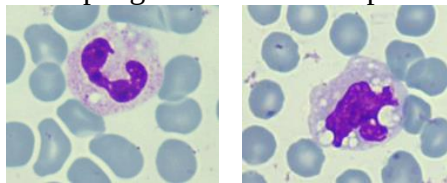
Gambar 1:  
Gambaran hasil pengamatan mikroskopis yang segera dikerjakan



Gambar 2:  
Gambaran hasil pengamatan mikroskopis ditunda 2 jam



Gambar 3:  
Gambaran hasil pengamatan mikroskopis ditunda 5 jam



Lamanya waktu penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi terlihat bahwa yang segera dikerjakan tidak ditemukan kelainan morfologi leukosit berupa vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus. Pada penundaan 2 dan 5 jam sel leukosit tampak terlihat adanya kelainan yaitu munculnya vakuolisasi. Semakin lama penundaan kelainan vakuolisasi semakin membesar dalam sitoplasma.

Tabel 2.  
Hasil uji chi-square pengaruh lama penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi

| Waktu Tunda | Morfologi Leukosit |      |        |      |       |     | Total | p-value |
|-------------|--------------------|------|--------|------|-------|-----|-------|---------|
|             | Baik               | %    | Sedang | %    | Buruk | %   |       |         |
| Segera      | 9                  | 100  | 0      | 0    | 0     | 0,0 | 100   | 0,000   |
| 2 jam       | 0                  | 0,0  | 9      | 100  | 0     | 0,0 | 100   |         |
| 5 jam       | 0                  | 0,0  | 9      | 100  | 0     | 0,0 | 100   |         |
| Total       | 9                  | 33,3 | 18     | 66,7 | 0     | 0,0 | 100   |         |

Hasil pengamatan morfologi leukosit pada spesimen darah K2EDTA yang segera dikerjakan terdapat 9 preparat (100%) masuk dalam kriteria baik yakni tidak ditemukan kelainan morfologi leukosit berupa vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus. Pada penundaan 2 dan 5 jam terdapat 9 preparat (100%) masuk dalam kriteria sedang dimana ditemukannya kelainan morfologi leukosit berupa vakuolisasi.

Hasil uji chi square pada pengamatan morfologi leukosit dengan perbedaan perlakuan penundaan spesimen didapat nilai p value 0,000 (<0,05). hal ini menandakan

bahwa terdapat pengaruh lama penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi.

## PEMBAHASAN

Penundaan spesimen darah EDTA terlalu lama dapat mengakibatkan perubahan morfologi leukosit, pemeriksaan menggunakan darah dengan antikogulan EDTA harus dilakukan dalam waktu < 2jam setelah sampling darah, untuk membuat sediaan apusan darah tepi dapat menggunakan darah EDTA harus segera dikerjakan dalam waktu < 1jam, karena sel-sel masih aktif secara metabolik bahkan diluar organ hingga waktu < 6jam (Cinthia, 2018)(Yunus, dkk., 2022).

Stabilitas spesimen merupakan fase pra- analitik, dan komponen penting yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, penundaan analisis spesimen bisa mengakibatkan berubahnya parameter yang akan diukur/diujikan serta mempersulit menginterpretasi hasil (Aliviameita, 2022). Pengolahan spesimen harus segera dilakukan pemeriksaan, jika terjadi penundaan pemeriksaan, spesimen darah EDTA dapat disimpan di refrigerator dengan suhu 2°C-8°C untuk menjaga stabilitas komponen darah yang akan diujikan (Putri, 2023).

Lamanya waktu penundaan spesimen darah K2EDTA mengakibatkan timbulnya kelainan pada morfologi leukosit, pada penundaan spesimen darah inti sel mengalami lobulasi nukleus, degenerasi, piknnosis, vakuolisasi, dan ruptur. Terlihat juga perubahan pada sitoplasma munculnya vakuolisasi butiran sitoplasma, proyeksi berbulu, blebs dan ruptur (ShaistaChoudhary, 2022). Penelitian yang telah dilakukan sejalan dengan penelitian mahajana, 2016 dimana penundaan pembuatan sediaan apusan darah tepi akan menyebabkan morfologi leukosit mengalami perubahan, sel-sel akan mengalami pembengkakan, serta timbulnya vakuolisasi (Mahajana, 2016). Pembengkakan sel terjadi karena tonisitas, dimana larutan ekstrasel atau plasma darah masuk kedalam sel sehingga menyebabkan pembengkakan sel, tonisitas yang terjadi ialah hipotonis (Feher, 2017).

Antikoagulan K2EDTA berperan sebagai *chelating agent* atau mengikat ion kalsium mencegah terjadinya proses pembekuan darah dan menjaga struktur sel darah, tetapi jika dilakukan penundaan yang terlalu lama menyebabkan penurunan jumlah kalsium pada leukosit dan menurunkan ATP (*Adhenosin Triphosphate*) yang akhirnya menyebabkan penurunan pada fosfolipid. Jika terjadi penundaan membran sel akan rusak, singga cairan ekstrasel akan masuk dan terkumpul kedalam sel menyebabkan ternyadinya vakuolisasi sitoplasma (Agistriany, dkk., 2024). Selain antikoagulan dan lamanya penyimpanan, proses fiksasi sediaan apusan darah tepi yang tidak segera dikerjakan juga dapat menyebabkan perubahan morfologi leukosit, serta suhu pengeringan preparat menyebabkan perubahan pada morfologi leukosit seperti kerusakan pada dinding sel (Santosa & Febriyanni, 2021).

Pemeriksaan spesimen darah K2EDTA sebaiknya segera dikerjakan setelah pengambilan spesimen, pada pembuatan sediaan apusan darah tepi baiknya segera dikerjakan jika mengalami penundaan spesimen pada suhu ruang dilakukan pemeriksaan sebelum 2 jam karena akan mempengaruhi morfologi leukosit. Setelah pengambilan

spesimen darah segera dilakukan pemeriksaan laboratorium, agar terhindar dari kesalahan dalam interpretasi hasil (Yunus, dkk., 2022).

## KESIMPULAN

1. Spesimen darah K2EDTA yang segera dikerjakan pada sediaan apusan darah tepi sebanyak 9 preparat (100%) tidak ditemukan kelainan berupa vakuolisasi, piknosis, dan lobulasi nukleus.
2. Spesimen darah K2EDTA yang ditunda 2 jam pada sediaan apusan darah tepi sebanyak 9 preparat (100%) ditemukannya kelainan berupa vakuolisasi
3. Spesimen darah K2EDTA yang ditunda 5 jam pada sediaan apusan darah tepi sebanyak 9 preparat (100%) ditemukan adanya kelainan berupa vakuolisasi yang semakin membesar.
4. Terdapat pengaruh lama penundaan spesimen darah K2EDTA terhadap morfologi leukosit pada sediaan apusan darah tepi dengan nilai p value 0.000 sig. (<0.05).

## DAFTAR PUSTAKA

- Agistriany, R., Hayati, E., Nurhayati, B., & Durachim, A., 2024. Pengaruh Lama Simpan Darah Dan Jenis Antikoagulan Terhadap Nilai Neutrophil Lymphocyte Ratio Pada Wanita Dengan Kanker Payudara. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(3), 951-959. DOI: <https://doi.org/10.34011/jks.v4i3.2009>
- Aliviameita, A., 2022. Stabilitas Spesimen Darah Terhadap Profil Hematologi Dengan Metode Otomatis. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(1), 1-7. DOI: <https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.12667>
- Cinthia, A., 2018. Perbedaan Morfologi Eritrosit Pada Spesimen Darah K3Edta Yang Segera Diperiksa Dan Ditunda Selama 3 Jam. *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Semarang. <http://repository.unimus.ac.id/3121/>
- Diks, A. M., Bonroy, C., Teodosio, C., Groenland, R. J., De Mooij, B., De Maertelaere, E., ... & Berkowska, M. A., 2019. *Impact of blood storage and sample handling on quality of high dimensional flow cytometric data in multicenter clinical research. Journal of immunological methods*, 475, 112616. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2019.06.007>
- Feher, J.J., 2017. *Quantitative human physiology: an introduction*. Academic press.
- Hendrianingtyas, M., 2018. Hubungan Gambar Darah Tepi dan Kadar Presepsin pada Pasien SIRS. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 6(1), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.14710/jnh.6.1.2018.1-8>
- Kurniasih, E., & Astuti, T. D., 2024. Perbandingan Hasil Hitung Jumlah Sel Darah Spesimen Darah Vena EDTA Menggunakan Metode Manual Dan Otomatis: *Comparison Of Result Counting Blood Cell Number Of EDTA Vena Blood Specimen Using Manual And Automatic Methods. Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 6(2), 495-501. DOI: <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i2.5876>



- Kusmiati, M., Nurpalah, R., & Restaviani, R., 2022. Presisi Dan Akurasi Hasil Quality Control Pada Parameter Pemeriksaan Glukosa Darah Di Laboratorium Klinik Rumah Sakit X Kota Tasikmalaya. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science* (JoIMedLabS), 3(1), 27-37. DOI: <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i1.86>
- Lestari, A. F., Hartini, S., & Prihandono, D. S., 2023. Gambaran Jumlah Trombosit Pada Penggunaan Antikoagulan Na2edta Dan K2edta. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(3), 3101-3108. DOI: <https://doi.org/10.31004/jkt.v4i3.17147>
- Mahajana, D. (2016). Pengaruh Lama Penundaan Preparasi Spesimen Darah Terhadap Perubahan Morfologi Leukosit Darah. *Doctoral dissertation*, Universitas Sebelas Maret. <https://digilib.uns.ac.id/dokumen/detail/55417/>
- Putri Ayu, U., Adang, D., Betty, N., & Ganjar, N., 2019. Waktu Simpan Darah Antikoagulan K2edta dan K3edta Terhadap Parameter Eritrosit. *Jurnal Riset Kesehatan*, 36(8), 715. DOI: <https://doi.org/10.31004/jkt.v4i3.17147>
- Putri, F. A. S., 2023. Perbedaan Kadar Trombosit Pada Spesimen Darah EDTA Yang Segera Dilakukan Pemeriksaan Dan Dilakukan Penundaan Pemeriksaan. *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 2(5).
- Rahmnitarini, A., Hernaningsih, Y., Indrasari, Y.N. 2019. *The stability of sample storage for complete blood count (CBC) toward the blood cell morphology*. *Bali Medical Journal* 8(2): 391-395. DOI:10.15562/bmj.v8i2.1369
- Santosa, B., & Febriyani, R., 2021. Kualitas Makroskopis Dan Mikroskopis Morfologi Sel Lekosit Pada Sadt Berdasarkan Variasi Suhu Pengeringan. *Medika Respati: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(4), 253-258. DOI: <https://doi.org/10.35842/mr.v15i4.281>
- ShaistaChoudhary, R. S., Punneshetty, D. S., Begum, F., & Shilpa, S. J., 2022. *Edta Induced Storage Artefacts-A Study On Peripheral Blood Smears*. *Int J Acad Med Pharm*, 4(5), 183-187. DOI: 10.47009/jamp.2022.4.5.39
- Wedhaswara, A. G., 2018. Pengaruh penundaan pembuatan preparat apusan darah tepi pada Spesimen EDTA terhadap morfologi sel darah merah. *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Semarang. <http://repository.unimus.ac.id/2926/>
- Yunus, R., Astina, F., & Hasan, F. E., 2022. Analisis Kualitatif Morfologi Eritrosit Pada Apusan Darah Edta (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) Untuk Pemeriksaan Segera (0 Jam) Dan Pemeriksaan Ditunda (2 Jam): *Qualitative Analysis of Erythrocyte Morphology in EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) Blood Smears For immediate examination (0 hours) and delayed examination (2 hours)*. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 5(1), 326-334. DOI: <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i1.4430>