



DIFFERENT AMOUNT OF THROMBOCYTES ON BLOOD STORAGE FOR 24 HOURS IN ROOM AND REFRIGERATOR

PERBEDAAN JUMLAH TROMBOSIT PADA PENYIMPANAN SAMPEL DARAH SUHU RUANG DAN KULKAS SELAMA 24 JAM

Ayu Indah Lestari*

Medical Technology Laboratory, Department of Health, Faculty of Vocational Studies, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background: Storage is a pre-analytic part that plays a role in maintaining cell quality functionally. Examination of platelet count is influenced by pre-analytic factors, namely time and temperature since specimen collection so that the specimen storage guidelines are needed to obtain accurate laboratory results. Delays in examinations often occur and are caused by the lack of medical personnel, heavy volume of work, or non-technical problems that occur during examination.

Purpose: Analyze the effect of storing blood samples at room temperature (18-24°C) and refrigerator (2-8°C) for 24 hours on platelet count. **Methods:** Analytical observations, 30 samples with normal criteria, thrombocytosis, and thrombocytopenia that were examined at Laboratorium Patologi Klinik RSU Haji Surabaya. The method used is analytical observations and the study used a different test of friedman with SPSS 16.0 program to determine whether there is a significant difference in platelet count in blood samples at room temperature and refrigerator temperature for 24 hours with the initial examination. **Result:** The results of the friedman test analysis of the differences in the results of platelet count for 30 samples showed significant differences with sig. (2-tailed) of 0.00 ($p < 0.05$). **Conclusion:** There was a significant difference between the results of the platelet count at the beginning of the examination with a delay in the refrigerator storing temperature (2-8°C) and room storing temperature (18-24°C) for 24 hours.

ABSTRAK

Latar belakang: Pemeriksaan hitung jumlah trombosit dipengaruhi oleh faktor pre analitik yaitu waktu dan suhu sejak pengumpulan spesimen sehingga standar pedoman penyimpanan spesimen diperlukan untuk memperoleh hasil laboratorium yang akurat. Penundaan pemeriksaan sering terjadi dan disebabkan karena jumlah tenaga medis yang kurang, volume pekerjaan yang padat, atau masalah non teknis yang terjadi pada saat pemeriksaan. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh penyimpanan sampel darah di suhu ruang (18-24°C) dan kulkas (2-8°C) selama 24 jam terhadap jumlah trombosit. **Metode:** Observasional analitik, 30 sampel dengan kriteria normal, trombotosis, dan trombotopenia. Analisa hasil penelitian menggunakan uji beda friedman dengan program SPSS 16.0 untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna jumlah trombosit pada sampel darah di suhu simpan ruang dan kulkas selama 24 jam dengan awal pemeriksaan. **Hasil:** Hasil analisis uji friedman mengenai perbedaan hasil jumlah trombosit

Research Report
Penelitian

ARTICLE INFO

Received 16 Juni 2019
Accepted 5 Agustus 2019
Online 31 November 2019

* Korespondensi (Correspondence):
Ayu Indah Lestari

E-mail:
ayuindah2698@gmail.com

Keywords:
platelet count, blood sample storage, 24-hours room temperature, 24-hours refrigerator temperature

terhadap 30 sampel didapatkan perbedaan bermakna dengan sig. (2-tailed) sebesar 0,00 ($p < 0,05$).
Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil hitung jumlah trombosit pada awal pemeriksaan dengan penundaan di suhu simpan kulkas (2-8°C) dan suhu simpan ruang (18-24°C) selama 24 jam.

Kata kunci:
 hitung trombosit, penyimpanan sampel darah, suhu ruang 24 jam, suhu kulkas 24 jam

PENDAHULUAN

Trombosit atau disebut juga keping darah merupakan fragmen sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang. Trombosit berbentuk cakram bikonveks dengan diameter 0,75-2,25 μm , memiliki berat jenis kecil, dan tidak berinti. Namun, trombosit masih dapat melakukan sintesis protein, karena di dalam sitoplasma masih mengandung sejumlah RNA meskipun jumlahnya terbatas (Sadikin, 2001).

Pemeriksaan hitung sel darah terutama trombosit merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan di laboratorium klinik. Hal ini disebabkan peranannya penting dalam membantu menegakkan diagnosis, memberikan terapi, gambaran prognosis, dan *follow up* pasien (Wirawan, 2006). Hasil pemeriksaan hitung trombosit dipengaruhi oleh suhu dan waktu sejak pengumpulan spesimen sehingga standarisasi kondisi penyimpanan sangat penting jika sampel darah tidak segera diperiksa.

Spesimen darah yang disimpan baik pada suhu kamar (18-24°C) atau suhu lemari es (4-8°C) hingga 24 jam dapat memiliki hasil yang dapat dipercaya untuk pemeriksaan darah lengkap (Peng *et al.*, 2001; Tsuruda *et al.*, 1999). Stabilitas yang dapat diterima setelah 24 jam penyimpanan adalah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), trombosit (PLT), dan parameter darah lengkap lainnya dengan antikoagulan *ethyl-enediamine-tetraacetate* (EDTA) pada konsentrasi kurang dari 4 mg/mL darah (Zini, 2014).

Penundaan pemeriksaan sering terjadi, dan disebabkan karena jumlah tenaga medis yang kurang, volume pekerjaan yang padat, atau masalah non teknis yang terjadi pada saat pemeriksaan. Oleh karena itu, peneliti ingin menganalisis pengaruh penyimpanan sampel darah di suhu ruang (18-24°C) dan kulkas (2-8°C) selama 24 jam terhadap jumlah trombosit.

MATERIAL DAN METODE

Rancangan penelitian ini adalah observasional analitik yang menggunakan sampel darah vena dengan antikoagulan EDTA pada pasien yang memeriksakan darahnya di RSUD Haji Surabaya pada bulan Maret hingga April 2019 sebanyak 30 sampel. Kriteria sampel penelitian adalah sampel yang memiliki jumlah trombosit normal, trombositosis, dan trombositopenia dengan umur dan jenis kelamin yang tidak ditentukan. Pemilihan sampel berdasarkan kriteria tersebut dengan mengacu pada

rentang nilai normal yaitu sekitar 150.000-400.000/ mm^3 , kemudian hasil yang sesuai dengan kriteria dipilih sebagai bahan penelitian.

Sampel darah EDTA ($n=30$) yang memenuhi kriteria dilakukan pemeriksaan hitung trombosit dengan metode hapusan darah tepi. Setelah itu sampel disimpan pada suhu ruang (18-24°C) dan kulkas (2-8°C) selama 24 jam. Pada waktu 24 jam setelah penyimpanan, dilakukan pemeriksaan hitung trombosit dengan metode hapusan darah tepi. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji normalitas Shapiro Wilk. Data tidak berdistribusi normal sehingga analisis statistik menggunakan uji beda friedman. Dinyatakan *significant* secara statistik apabila nilai $p < 0,05$.

HASIL

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit yang dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Umum Haji Surabaya didapatkan hasil rata-rata jumlah trombosit yang dihitung segera adalah 247.000/ mm^3 dan median 192.000/ mm^3 . Didapatkan hasil hitung trombosit yang ditunda 24 jam pada suhu simpan kulkas (2-8°C) dengan rata-rata jumlah trombosit 191.000/ mm^3 dan median 157.000/ mm^3 , sedangkan yang ditunda 24 jam pada suhu simpan ruang (18-24°C) dengan jumlah rerata 152.000/ mm^3 dan median 132.000/ mm^3 .

Dari hasil penelitian yang dilakukan, menunjukkan bahwa terjadi penurunan nilai trombosit pada tunda 24 jam suhu kulkas (2-8°C) sebanyak 30 sampel (22%) dan pada tunda 24 jam suhu ruang (18-24°C) sebanyak 30 sampel (38%).

Dari tabel 1 dapat dinyatakan bahwa ketiga variabel data tidak berdistribusi normal karena menunjukkan hasil Sig. $< 0,05$. Berdasarkan hasil uji normalitas selanjutnya dilakukan uji non parametrik yaitu uji friedman untuk membandingkan hasil dari pengamatan yang dilakukan lebih dari dua kali pada sampel yang sama. Pada penelitian ini, uji friedman bertujuan untuk mengetahui

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas

	Shapiro Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Segera	.910	30	.015
Tunda 24 jam suhu kulkas	.921	30	.028
Tunda 24 jam suhu ruang	.921	30	.029

Tabel 2. Hasil uji *friedman*

	Test Statistic
df	2
Asymp. Sig.	.000

ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara jumlah trombosit antara awal pemeriksaan dengan 24 jam pada suhu kulkas (2-8°C) dan suhu ruang (18-24°C). Hasil uji *friedman* dengan menggunakan SPSS 16.0 ditunjukkan pada tabel 2.

Dari tabel 2 diketahui nilai Sig. untuk hitung segera dengan tunda 24 jam suhu kulkas dan ruang adalah sebesar $0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara jumlah trombosit awal dengan penundaan 24 jam pada suhu simpan kulkas (2-8°C) dan suhu simpan ruang (18-24°C).

PEMBAHASAN

Pemeriksaan hitung jumlah trombosit pada penelitian ini menggunakan hapusan darah tepi dengan pewarnaan Giemsa. Metode ini masih digunakan di laboratorium klinik maupun rumah sakit sebagai kontrol atau *cross check* terhadap cara otomatis. Metode ini menghitung jumlah trombosit melalui perbandingan jumlah trombosit terhadap 1000 eritrosit dalam tiap lapang pandang, sehingga perhitungannya adalah jumlah trombosit yang ditemukan dikali dengan 1000 dan dilaporkan dalam satuan mm^3 . Berdasarkan kesepakatan para ahli jumlah trombosit dianggap cukup jika sediaan trombosit menunjukkan 1 trombosit di antara 20 eritrosit atau 2-3 trombosit dalam tiap lapang pandang imersi (Widman, 1992 dalam Harjo, 2011).

Hapusan darah tepi merupakan cara hitung jumlah trombosit yang paling mudah dan sederhana tetapi membutuhkan ketelitian dan keterampilan. Metode ini mempunyai kelebihan karena dapat mengamati ukuran dan morfologi trombosit atau kelainan hematologi lainnya, namun juga memiliki kelemahan yaitu penyebaran trombosit yang tidak merata disebabkan perlekatan trombosit pada kaca sehingga mengakibatkan penilaian jumlah trombosit yang berbeda-beda. Kekurangan metode ini adalah membutuhkan banyak waktu dalam pembuatan hapusan untuk tenaga yang kurang terampil.

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara jumlah trombosit awal dengan penundaan 24 jam pada suhu simpan kulkas (2-8°C) dan suhu simpan ruang (18-24°C). Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya penurunan jumlah trombosit pada sampel yang ditunda pada suhu simpan kulkas dan ruang. Sehingga dapat dikatakan bahwa trombosit tidak stabil pada suhu simpan kulkas dan ruang dalam waktu 24 jam.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian Rahmanitarini yang menunjukkan bahwa jumlah trombosit pada suhu *refrigerator* (2-8°C) bermakna setelah disimpan selama 24 jam, sedangkan pada suhu ruang tidak bermakna setelah disimpan selama 24 jam (Rahmanitarini, 2018). Penelitian lain stabilitas jumlah trombosit dievaluasi pada sampel normal di suhu 4°C bermakna setelah disimpan selama 24 jam, sedangkan pada sampel trombositopenia dan trombositosis tidak bermakna pada suhu 4°C dan suhu ruang setelah disimpan selama 24 jam (Turhan *et al.*, 2011). Apabila sampel tidak segera diperiksa akan menyebabkan perubahan morfologi pada sel darah. Trombosit akan terus aktif melakukan metabolisme jika disimpan pada suhu ruang. Hasil metabolisme tersebut adalah akumulasi laktat dan penurunan pH. Trombosit yang memiliki pH dibawah 6,0 –6,2 akan menyebabkan ketahanan trombosit menurun karena trombosit melepaskan isi granula berupa ADP dan isi sel yang berfungsi menghasilkan energi. Pengaruh lama pendiaman dapat menyebabkan trombosit akan mengumpul dan membengkak kemudian pecah menjadi fragmen-fragmen yang berukuran lebih kecil dari trombosit sehingga tidak terhitung sebagai trombosit. Selain itu akan mengakibatkan sel trombosit mengalami perbesaran dan kerusakan. Pada penyimpanan suhu ruang, trombosit secara progresif akan kehilangan asam sialat di glikoprotein pada permukaan trombosit sehingga dapat mempermudah perlekatan antar trombosit. Trombosit juga mempunyai sifat adhesi yang mempermudah trombosit menempel pada permukaan benda asing pada sampel yang ditunda sehingga hasil menjadi rendah. Pada pendinginan trombosit (< 21 hari) menghambat pelepasan α granula seperti β -tromboglobulin. Trombosit yang didinginkan secara spontan membentuk agregat (Josefsson *et al.*, 2007; Kaufman, 2006).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah adanya tingkat kesalahan sebesar 10% yang diperoleh dari perhitungan CV (*Coefficient of Variation*). Tingkat kesalahan tersebut disebabkan oleh faktor dari peneliti yang dapat mempengaruhi hasil yaitu jika sebelum diperiksa sampel tidak dihomogenkan dengan baik dapat menyebabkan jumlah trombosit menurun serta disebabkan oleh pembuatan hapusan dan pengecatan yang kurang baik. Penelitian ini hanya dilakukan oleh satu orang peneliti sehingga hasil hitung jumlah trombosit pada hapusan darah tepi bersifat subjektif. Selain itu juga dapat disebabkan pada hapusan darah tepi secara mikroskopik terdapat sel-sel trombosit dan partikel lain yang sukar dibedakan dengan ukuran sel trombosit.

Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi perubahan jumlah trombosit dalam penyimpanan adalah antikoagulan. Jika volume terlalu sedikit dapat menyebabkan trombosit membesar dan mengalami disintegrasi, dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun. Jika volume terlalu banyak dapat menyebabkan terbentuknya jendalan yang berakibat menurunnya jumlah trombosit (J. A. Child, 2010).

KESIMPULAN

Ada perbedaan bermakna antara hasil hitung jumlah trombosit pada awal pemeriksaan dengan penundaan di suhu simpan kulkas (2-8°C) dan suhu simpan ruang (18-24°C) selama 24 jam. Berdasarkan keterbatasan dalam penelitian disarankan dalam pemeriksaan hitung trombosit sebaiknya dilakukan penelitian dengan menggunakan metode otomatis dan apabila menggunakan metode hapusan darah tepi, maka dibutuhkan peneliti sebanyak dua orang untuk menghitung jumlah trombosit agar hasil tidak bersifat subjektif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit Umum Haji Surabaya yang telah menjadi fasilitas penelitian, kepada Paulus Budiono Notopuro, dr., Sp.PK yang telah membimbing peneliti dalam menyelesaikan penelitian ini, dan segenap keluarga peneliti yang telah memberikan dukungan selama penelitian ini. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Harjo, Aditya. 2011. *Perbedaan Hasil Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit Cara Manual dan Autometik (Analyzer)*. Available from: <http://digilib.unimus.ac.id>. Diakses 29 Desember 2018.
- J. A. Child. 2010. *Buku Saku Hematologi Klinik*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Josefsson, E. C, Hartwig, J. H., Hoffmeister K. M. 2007. *Platelet Storage Temperature – How Low Can We Go?*. USA: Translational Medicine Division, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School.
- Kaufman, Richard M. 2006. *Platelets: Testing, Dusing and The Storage Lesion*. The Journal of the American Society of Haematology. Available From: <http://aseducationbook.hematologylibrary.org>. Diakses pada hari Senin, 6 Mei 2019.
- Lewis, S.M., Bain, B. J. 2011. *Collection and handling of blood. Dacie and Lewis Practical Hematology* Vol. 11(10). Pp. 1-10.
- Peng, L., Yang, H., Jiang, H., Su, J., Peng, Z. 2001. *Automated reticulocyte counting using the Sysmex RAM-1*. Clinical and Laboratory Haematology Vol. 23. Pp. 97–102.
- Rahmanitarini, A. 2018. *Stabilitas Penyimpanan Sampel Pada Pemeriksaan Darah Lengkap*. Thesis. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Sadikin, Mohamad. 2001. *Biokimia Darah*. Jakarta: Penerbit Widya Medika.
- Tsuruda, K., Tsuji, T., Usui, T. Kitajima S., Kihara, A., Murai, M., Kasada, Y., Li, Q., Yamada, Y., Kamihira, S. 1999. *Evaluation and Clinical Usefulness of the Automated Hematology Analyzer, Sysmex XE 2100, Sysmex*. J. Int Vol. 19. Pp. 129-138.
- Turhan, T., Sevilay, S., Yucel, C., Koca, Y. 2011. *Effects of Storage Conditions on Complete Blood Cell Count Parameters*. Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem Vol. 36 (2). Pp. 165–174.
- Vives-Corróns, J. L., Briggs, C., Simon-Lopez, R., Albareda, S., de la Salle, B., Flegar-Meatrui, Z., Nazor, A., Guyard, A., Lipsic, T., Nagai, Y., Paitu, M., Piqueras, J., Capel, M. J., Van Blerk, M., Wang, J., Marzac, C. 2013. *Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination. A need for standarization*. International Journal of Laboratory Hematology Vol. 36. Pp. 222-226.
- Wirawan, R. 2006. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia.
- Zini, G. 2014. *Stability of complete blood count parameters with storage: Toward defined specifications for different diagnostic applications*. International Journal of Laboratory Hematology Vol. 36(2). Pp. 111-3.