

LAPORAN PENELITIAN

**UJI VIABILITAS ERITROSIT 5% DALAM LARUTAN ANTIKOAGULAN GUNA
UJI GOLONGAN DARAH METODE TABUNG**



Usulan Penelitian Tahun 2022
Diajukan Kepada STIKes Mitra Keluarga

Oleh
Ria Amelia, S.Si., M.Imun
Elfira Maya Sari, M.Si

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
JAKARTA
2022

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN INSTITUSI STIKES MITRA KELUARGA

Judul Penelitian : Uji Viabilitas Eritrosit 5% Dalam Larutan Antikoagulan Guna Uji Golongan Darah Metode Tabung

Jenis Penelitian : Analitik Deskriptif

Jumlah Peneliti : 2 orang

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Ria Amelia, S.Si., M.Imun.

b. NIDN/NIK : 0326038901

c. Jabatan Fungsional : Lektor

d. Program Studi : DIII TLM

Anggota Peneliti

a. Nama Lengkap : Elfira Maya Sari, M.Si

b. NIDN/NIK : 0308088801

c. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli

d. Program Studi : DIII TLM

Lama Penelitian : 4-6 bulan

Tempat Penelitian : STIKes Mitra Keluarga

Besar Biaya Penelitian : Rp. 5.101.134,-

Mengetahui

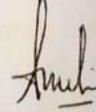
Ketua LPPM



Afrinia Eka Sari, S.TP,M.Si

Bekasi, 14 Maret 2023

Ketua Peneliti



Ria Amelia, S.Si.,M.Imun

Menyetujui

Ketua STIKes Mitra Keluarga



Dr. Susi Hartati, S.Kp, M. Kep, Sp.Kep.An

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN INSTITUSI STIKES MITRA KELUARGA

Judul Penelitian : Uji Viabilitas Eritrosit 5% Dalam Larutan Antikoagulan Guna Uji Golongan Darah Metode Tabung

Jenis Penelitian : Analitik Deskriptif

Jumlah Peneliti : 2 orang

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Ria Amelia, S.Si., M.Imun.

b.NIDN/NIK : 0326038901

c.Jabatan Fungsional : Lektor

d. Program Studi : DIII TLM

Anggota Peneliti

a. Nama Lengkap : Elfira Maya Sari, M.Si

b.NIDN/NIK : 0308088801

c.Jabatan Fungsional : Asisten Ahli

d. Program Studi : DIII TLM

Lama Penelitian : 4-6 bulan

Tempat Penelitian : STIKes Mitra Keluarga

Besar Biaya Penelitian : Rp. **5.101.134,-**

Mengetahui
Ketua LPPM

Bekasi, 14 Maret 2023
Ketua Peneliti

Afrinia Eka Sari, S.TP,M.Si

Ria Amelia, S.Si.,M.Imun

Menyetujui
Ketua STIKes Mitra Keluarga

Dr. Susi Hartati, S.Kp, M. Kep, Sp.Kep.An

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Uji golongan darah metode tabung merupakan salah satu pemeriksaan yang digunakan untuk mengetahui golongan darah pendonor dan resipien pada skrining pra transfusi. Pemeriksaan ini memiliki kelebihan sensitivitas jika dibandingkan dengan metode *slide* test untuk pemeriksaan golongan darah karena metode ini dapat mendeteksi hasil positif lemah. Namun, kekurangan dalam metode ini ialah diperlukannya sel eritrosit 5 % dari setiap golongan darah A, B, dan O untuk mendeteksi antibodi pada serum (Kiswari, Rukman. 2014).

Pada persiapan pembuatan larutan sel eritrosit 5% diperlukan waktu yang lama dengan cara mencuci sel eritrosit yang telah diketahui golongan darahnya pada larutan NaCl 0.9% sebanyak 5 kali kemudian disentrifusi berulang. Sentrifugasi bertujuan untuk mengetahui sel tersebut lisis atau tidak. Jika terjadi lisis maka pembuatan larutan sel eritrosit 5% diulang dari awal (Dalimoenthe, N., Z., *et al.*2010). Uji golongan darah metode tabung juga merupakan salah satu materi yang dipraktikumkan pada mata kuliah imunohematologi. Pada persiapan praktikum materi ini, dibutuhkan waktu persiapan yang lama sehingga mengurangi waktu analitik dan diskusi saat praktikum berlangsung dan jika disiapkan dalam volume yang besar, sel eritrosit tidak dapat bertahan lama dalam larutan NaCl 0.9% sehingga lisis.

Permasalahan yang muncul dalam proses pembelajaran praktikum tersebut, menjadi latar belakang peneliti untuk membuat larutan preservatif sel eritrosit 5% yang dapat bertahan/ tidak lisis dalam waktu yang lama dan tidak merubah bentuk, ukuran serta tidak mengganggu sensitivitas antigen membran sel golongan darah untuk berikatan dengan antibodi pada serum. Rancangan pada penelitian ini, peneliti ingin mencoba beberapa zat antikoagulan yang digunakan sebagai pengawet dalam mencegah lisis pada sel eritrosit 5%. Adapun zat antikoagulan yang digunakan adalah *Citrate-Phosphate-Dextrose* (CPD), *Acid-Citrate-Dextrose Mixture Solution* (ACD), *Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (EDTA), dan *Heparin Sodium Solution* (HSS). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tarigan, 2020, larutan preservatif pada kantong darah eritrosit mengandung CPD sebagai anti koagulan, mempertahankan viabilitas pada sel eritrosit 5% dan memiliki ketahanan dalam waktu 30 hari. Pada penelitian ini, peneliti akan membandingkan dengan variasi antikoagulan dan

membuktikan daya tahan lebih lama. Parameter pengukuran yang di nilai yaitu jumlah hari sel bertahan dalam larutan tersebut, pengamatan bentuk dan ukuran sel eritrosit serta uji sensitivitas eritrosit dengan metode tabung. Keunggulan dari penelitian ini yaitu hasil yang diperoleh memiliki kesempatan untuk mendapatkan HAKI dan Paten.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan bahwa:

1. Berapakah lama rata-rata jumlah hari eritrosit bertahan pada larutan?
2. Apakah terjadi perubahan bentuk dan ukuran dari sel eritrosit dalam larutan?
3. Manakah dari variasi antikoagulan larutan preservasi eritrosit 5% yang optimal dalam mempertahankan kan osmolalitas sel eritrosit?
4. Apakah larutan preservasi eritrosit 5% mempengaruhi sensitivitas membran eritrosit pada uji tabung?

C. Tujuan Penelitian

Mendapatkan antikoagulan terbaik terhadap larutan preservasi eritrosit 5% yang dapat digunakan untuk uji golongan darah metode tabung.

D. Manfaat Penelitian

1. **Bagi Peneliti:** Mendapatkan inovasi baru berupa larutan preservasi eritrosit 5% yang efisien digunakan pada saat praktikum uji golongan darah metode tabung.
2. **Bagi Institusi:** Meningkatkan jumlah penelitian sebagai implementasi dari kegiatan Tridarma Perguruan tinggi dan mendapatkan produk inovasi hasil dari penelitian.
3. **Bagi Masyarakat:** Masyarakat dapat memilih laboratorium yang tepat dan cepat dalam melakukan pemeriksaan untuk uji golongan darah metode tabung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah adalah sel yang berbentuk cakram bikonkaf, tidak berinti, tidak bergerak, berwarna merah yang mengandung hemoglobin, eritrosit berdiameter 7,5 um dan tebal 2,0 um. Jumlah di dalam tubuh mencapai 4,5-5 juta/mm³ dan memiliki bentuk yang elastis agar bisa berubah bentuk ketika melalui berbagai macam pembuluh darah yang dilewatinya (Moss & Hoffbrand, 2018). Lapisan luar eritrosit terdapat protein yang menyatu dengan dinding sel yang bersifat antigenik. Variasi protein pada eritrosit mengakibatkan darah dibagi menjadi beberapa golongan yang dikenal dengan golongan darah. Sifat antigenik tersebut dapat diwariskan secara genetik. Golongan darah memiliki peranan penting dalam dunia transfusi (Nugraha, 2015).

B. Pemeriksaan golongan darah ABO dan Rheusus

Golongan darah merupakan pengklasifikasian darah dari suatu individu berdasarkan ada atau tidak adanya zat antigen warisan pada permukaan membran sel darah merah. Secara umum darah memiliki 4 golongan yaitu: golongan darah A yang memiliki antigen A dan antibodi B, golongan darah B yang memiliki antigen B dan antibodi A, golongan darah O yang tidak memiliki antigen tetapi memiliki antibodi A dan B, dan golongan darah AB yang memiliki antigen A dan B tetapi tidak memiliki antibodi (Yuni, 2015). Gold Standar untuk pemeriksaan golongan darah menurut World Health Organization (WHO, 2002) adalah dengan menggunakan metode tabung. Pemeriksaan golongan darah menggunakan metode tabung ada dua cara, yaitu serum grouping dan sel grouping. sel grouping merupakan pemeriksaan golongan darah dengan cara sel darah merah pasien diperiksa dengan serum yang antibodinya telah diketahui untuk menentukan antigen pada sel eritrosit yang sedang diperiksa (WHO, 2013). Interpretasi dari hasil pemeriksaan golongan darah metode tabung berupa derajat aglutinasi.

Reaksi yang terjadi antara antigen dan antibodi akan membentuk suatu ikatan ditandai dengan munculnya aglutinasi. Reaksi aglutinasi terjadi jika antigen bertemu dengan antibodi yang sesuai. Kadar dari antigen dan antibodi berperan dalam pembentukan aglutinasi. Semakin banyak antigen-antibodi yang berikatan, akan membentuk aglutinasi yang semakin besar, jelas, dan semakin kuat reaksi yang terjadi (Kiswari,R., 2014). Maka semakin tinggi derajat aglutinasi

yang terbentuk. Hal ini akan mempermudah dan mengefektifkan waktu petugas laboratorium untuk mengetahui apakah sampel terjadi aglutinasi atau tidak. Pemeriksaan golongan darah metode tabung menggunakan suspensi sel yang dibuat dari eritrosit dan pelarut NaCl 0,9% (Mulyantari, Ni Kade dan I Wayan, P. S. Y., 2016).

C. Faktor yang Mempengaruhi Eritrosit Selama Penyimpanan

1. Suhu

Umur eritrosit dalam tubuh adalah 120 hari. Sehingga tiap hari $\pm 1\%$ eritrosit musnah dan dibentuk yang baru, dalam keadaan yang tidak alamiah seperti dalam botol terjadi penghancuran sel-sel tanpa ada peremajaan. *Blood storage* dapat memperlambat penghancuran darah dengan cara memperlambat metabolisme sel pada suhu rendah. Salah satu cara untuk itu adalah menyimpan darah pada suhu rendah (4°C) dan suhu maksimum untuk menyimpan darah adalah 10°C . Di atas suhu tersebut merusak eritrosit berlangsung cepat. Penyimpanan optimal pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Suhu 0°C merusak karena terjadi pembekuan air yang dapat merusak membran sel. Alat pendingin yang optimal yaitu special blood refrigerator yang dilengkapi dengan termometer pencatat suhu otomatis alarm dan kipas (Kiswari, R., 2014).

2. Lama Penyimpanan

Darah yang disimpan dalam waktu tertentu dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Hal ini terkait dengan jumlah eritrosit yang dapat bertahan. Hemolisis eritrosit ditandai dengan penurunan kadar 2,3 Diphosphoglyserate (2,3-DPG). 2,3 DPG berfungsi untuk menurunkan afinitas hemoglobin terhadap oksigen. Jika terjadi penurunan 2,3-DPG maka makin tinggi afinitas oksigen dan eritrosit (Sesmita, HS., 2017). Selain kadar 2,3 Diphosphoglyserate (2,3-DPG) kadar adenosine triphosphate (ATP) juga mempengaruhi viabilitas eritrosit. ATP diketahui sebagai satuan molekular pertukaran energi intraselular. ATP berfungsi menyimpan dan mentranspor energi kimia untuk proses metabolisme sel. Jika kadar ATP rendah maka makin kecil jumlah eritrosit yang dapat bertahan hidup (Sparrow, R.L., 2012).

3. Antikoagulan

Antikoagulan adalah larutan yang digunakan untuk mencegah pembentukan bekuan darah baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Larutan antikoagulan harus steril dan bebas pirogen (Luhuringtyas, R.D., *et al.*, 2018).

Beberapa jenis antikoagulan yang sering digunakan adalah sebagai berikut:

a) Acid-Citrate-Dextrose Mixture Solution (ACD)

Pada tahun 1943, Loutit dan Mollison dari Inggris memperkenalkan formula campuran asam-sitrat-dextrose (ACD) sebagai larutan pengawet yang digunakan untuk penyimpanan

darah (AABB, 2005). Acid-Citrate-Dextrose (ACD) digunakan sebagai antikoagulan darah simpan secara *in vivo* untuk mencegah terjadinya trombosis (proses koagulasi dalam pembuluh darah yang berlebihan sehingga menghambat aliran darah) pada keadaan tertentu (Sadikin, 2001).

b) Citrate-Phosphate-Dextrose (CPD)

CPD berperan sebagai antikoagulan *in vivo*. CPD dibutuhkan sebanyak 14 mL untuk 100 ml darah. Pada tahun 1957, Gibson memperkenalkan citratephosphate-dextrose (CPD) sebagai larutan pengawet, yang kurang asam dan akhirnya menggantikan ACD sebagai bahan pengawet standar yang digunakan untuk penyimpanan darah sehingga dapat mempertahankan kualitas eritrosit selama tiga minggu (AABB, 2005) (Sparrow, 2012).

c) Citrate-Phosphate-Dextrose-Adenine (CPDA-1)

CPDA berperan sebagai antikoagulan *in vivo*. CPDA dibutuhkan sebanyak 14 mL untuk 100 ml darah. Penambahan berbagai bahan kimia, bersama dengan CPD sebagai antikoagulan-pengawet yang disetujui, digabungkan dalam upaya untuk menstimulasi glikolisis sehingga tingkat ATP lebih baik dapat dipertahankan. Salah satu bahan kimia, adenin, dimasukkan ke dalam larutan CPD. Hal tersebut mengakibatkan peningkatan Level ADP, sehingga mendorong glikolisis menuju sintesis ATP. Larutan tersebut dinamakan CPDA-1 yang mengandung 0,25 mM adenin dengan penambahan glukosa 25% lebih banyak daripada CPD. Darah yang ditambahkan adenin dapat disimpan pada suhu 1°C hingga 6°C selama 35 hari (AABB, 2005) (Sparrow, 2012).

d) Saline-Adenin-Glucose-Manitol (SAG-M)

SAGM berperan sebagai antikoagulan *in vivo*. SAGM dibutuhkan sebanyak 100 mL yang ditambahkan ke dalam kemasan sel setelah pemisahan plasma untuk penyimpanan. (Wei-Wei, T., *et al.*, 2014)

e) Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA)

Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA) adalah asam poliprotik yang mengandung empat gugus asam karboksilat dan dua gugus amina dengan elektron pasangan bebas yang mengkelat kalsium dan beberapa ion logam lainnya. Kalsium diperlukan untuk berbagai reaksi enzim dari kaskade koagulasi dan penghilangannya secara permanen akan mencegah pembekuan darah dalam tabung pengumpulan. Secara historis, EDTA telah direkomendasikan sebagai antikoagulan pilihan untuk pengujian hematologi karena memungkinkan pelestarian terbaik komponen seluler dan morfologi sel darah dan dapat digunakan untuk menstabilkan darah untuk berbagai tes/uji dimana EDTA berperan sebagai antikoagulan *in vitro* (Sadikin, 2001).

f) Heparin Sodium Solution (HSS)

Heparin mencegah darah dari pembekuan karena rantai pentasaccharide yang berikatan kuat dengan antithrombin III. Antitrombin III adalah protein plasma yang menghambat pembekuan darah dengan mengikat dan dengan demikian menghambat aksi enzim dari beberapa faktor pembekuan darah yang diaktifkan, termasuk Faktor XIa, Xa, IXa dan IIa (trombin). Penggunaan heparin sebagai antikoagulan in vitro yang digunakan untuk analisis kimia laboratorium telah digunakan selama lebih dari 50 tahun. Heparin diakui sebagai antikoagulan yang efektif, bahwa dengan heparin sebagai antikoagulan, tidak mempengaruhi kualitas darah. HSS berperan sebagai antikoagulan in vitro (Higgins,2007).

g) Additive Solution-3 (AS-3)

Larutan aditif pertama dikembangkan di Eropa pada akhir tahun 1970-an. Larutan aditif merupakan bagian dari larutan preservatif, dimana larutan aditif biasanya ditambahkan ke dalam larutan antikoagulan untuk memberikan nutrisi kepada eritrosit agar dapat mempertahankan kualitasnya (Sparrow, 2012). Larutan aditif pertama ini adalah Saline-Adenin-Glucose-Manitol (SAGM). Solusi aditif lainnya, yang pada dasarnya merupakan variasi dan perkembangan dari SAGM, telah dikembangkan dan dikomersialkan, yaitu AS-1, AS-3, AS-5, MAP dan PAGGSM. Kelebihan yang dimiliki AS-3 adalah terdapat komposisi natrium sitrat dan asam sitrat jika dibandingkan dengan SAGM, sehingga dapat mempertahankan umur eritrosit lebih lama yaitu selama 6 minggu (Sparrow, 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian deskriptif dengan metode penelitian analitik observasional.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium R 304, Prodi DIII Teknologi Laboratoium Medis, STIKes Mitra Keluarga. Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2022 – Februari 2023.

C. Alat dan Bahan

1. Alat – alat yang digunakan adalah tourniquet, sentrifus, tabung reaksi, gelas ukur, batang pengaduk, neraca analitik, botol reagen, labu ukur, rak tabung, mikroskop, dan stopwatch.
2. Bahan yang digunakan adalah tabung K3EDTA, spuit 3 cc, aquadest, asam sitrat, Na sitrat, sodium phosphate, dextrose, ACD, EDTA, HSS dan AS-3, reagen ABO, parafilm, reagen wright, label, kaca objek dan kaca penutup.

D. Cara Kerja (,)

1. Preparasi sampel

a. Pengambilan darah vena

Alat dan bahan disiapkan, dipasang jarum pada holder, pastikan terpasang erat, pasien diidentifikasi dengan benar serta verifikasi keadaan pasien setelah identitas pasien sesuai dengan informasi, tabung *EDTA* diberi label identitas pasien. Pasien diminta untuk meluruskan lengannya serta mengepalkan tangan, lengan pasien dipasang *torniquet* 3-10 cm di atas lipat siku, lengan pasien dilakukan perabaan (palpasi) untuk memastikan posisi vena *median cubital* kemudian diswab dengan kapas alkohol dan ditunggu hingga kering, vena pasien ditusuk dengan jarum bagian anterior dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas, tabung *EDTA* dimasukkan ke dalam *holder vacutainer* dan didorong sehingga jarum bagian posterior masuk ke dalam tabung *EDTA* sehingga darah mengalir ke dalam tabung *EDTA*. Pasien diminta untuk membuka kepalan tangannya dan *Tourniquet* dilepaskan lalu ditunggu sampai darah berhenti mengalir, setelah darah berhenti

mengalir tabung *EDTA* ditarik keluar dari *holder vacutainer* lalu tabung *EDTA* yang berisi darah dihomogenkan dengan benar, kemudian jarum bagian anterior ditarik segera serta diberi kapas alkohol pada area suntikan (Arianda, 2017).

b. Prosedur pemisahan serum atau plasma

Vacutainer *EDTA* yang berisi darah diputar/sentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit, kemudian pisahkan serum/plasma yang jernih dari eritrosit dengan pipet pasteur ke dalam mikrotube lain yg sudah diberi label sesuai dengan sampel. Hasil pemisahan adalah serum atau plasma dan sel darah merah pekat (Moss, P & Hoffbrand,A.V., 2018).

2. Pembuatan larutan antikoagulan

a. Larutan CPD (Harmening,D.M., *et.al.*,2012)

Zat antikoagulan yang digunakan dibuat sesuai dengan komposisi pada tabel berikut:

Tabel 1. Komposisi larutan Antikoagulan *Citrate Phosphate Dextrose* (CPD)

Sodium Citrate Dihydrate	26.3	g
Citric Acid Monohydrate	3.27	g
or Anhydrous Citric Acid	2.99	g
Dextrose Monohydrate	25.5	g
or Anhydrous Dextrose	23.2	g
Sodium Dihydrogenphosphate Dihydrate	2.51	g
Water for Injection sufficient to produce	1000.0	ml
<hr/>		
Volume of the solution for the collection of 100 ml of blood	14.0	ml

b. Larutan ACD (Harmening,D.M., *et.al.*,2012)

Zat antikoagulan yang digunakan dibuat sesuai dengan komposisi pada tabel berikut:

Tabel 2. Komposisi larutan Antikoagulan Acid Citrate Dextrose (ACD)

	Formula	
	A	B
Sodium Citrate Dihydrate	22.0 g	13.2 g
Citric Acid Monohydrate	8.0 g	4.8 g
or Anhydrous Citric Acid	7.3 g	4.4 g
Dextrose Monohydrate	24.5 g	14.7 g
or Anhydrous Dextrose	22.3 g	13.4 g
Water for Injection sufficient to produce	1000.0 ml	1000.0 ml
Volume of the solution for the collection of 100 ml of blood	15.0 ml	25.0 ml

c. Larutan EDTA (Harmening,D.M., *et.al.*,2012)

Zat antikoagulan yang digunakan dibuat sesuai dengan komposisi pada tabel berikut:

Tabel 3. Komposisi larutan Antikoagulan EDTA

Ingredients	
E.D.T.A. di-sodium salt	5.000 gm
Distilled water	100.000 ml

****Formula adjusted, standardized to suit performance parameters**

Larutan EDTA digunakan sebagai antikoagulan in vitro untuk tujuan diagnostik sebesar 5%.

d. Larutan Heparin

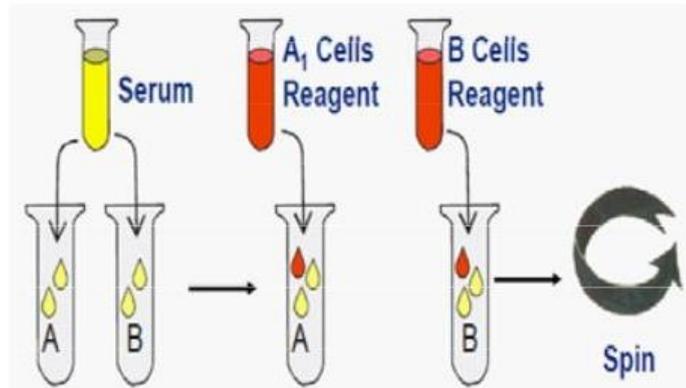
Larutan Sodium Heparin/Lithium Heparin digunakan sebagai antikoagulan in vitro untuk tujuan diagnostik sebesar < 20 IU/ml. Larutan yang digunakan memiliki konsentrasi 5%.

3. Uji golongan darah metode tabung

Prosedur pemeriksaan sel darah merah (cell grouping) sebagai berikut: Menyiapkan 4 tabung bersih, kemudian beri label pada masing-masing tabung A, B, AB dan D. Kemudian teteskan pada masing-masing tabung 1 tetes anti-A, Anti-B, Anti-AB, dan Anti-D. Lalu tambahkan pada masing-masing tabung 1 tetes sel eritrosit sampe. Homogenkan dengan baik kemudian lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 3 menit. Hasil yang baik akan terbentuk endapan pada dasar sel, amati ada atau tidaknya aglutinasi (Mehdi, S.R. 2013).

Prosedur pemeriksaan serum atau plasma (*serum grouping*) adalah sebagai berikut: Menyiapkan 4 tabung bersih, kemudian beri label pada masing-masing tabung A, B, AB dan O. Kemudian pada masing-masing tabung ditetesi 2 tetes serum sampel. pada

tabung A tambahkan 1 tetes suspensi sel eritrosit 5% golongan A, pada tabung B tambahkan 1 tetes suspensi sel eritrosit 5% golongan B, Pada tabung AB tambahkan 1 tetes suspensi sel eritrosit 5% golongan AB, dan pada tabung O tambahkan 1 tetes suspensi sel eritrosit 5% golongan O. Kemudian homogenkan semua tabung, tutup dengan parafilm lalu sentrifuse pada 1000 rpm selama 3 menit. Hasil yang baik terdapat endapan sel eritrosit didasar tabung dan tidak ada lisis serta aglutinasi. Agar lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Prosedur pemeriksaan serum grouping dengan metode tabung (Powell, 2016)

E. Variabel terikat dan Bebas

1. Populasi adalah orang yang memiliki golongan darah A, AB, B dan O.
2. Sampel pada penelitian ini adalah serum A, B, AB, dan O yang tidak lisis, lipemik dan ikterik.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh, dianalisis secara deskripsi dengan menggunakan tabel excel untuk melihat perbandingan waktu lisis eritrosit 5%.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan larutan

Dalam mempersiapkan larutan untuk penelitian, peneliti melakukan perhitungan terlebih dahulu untuk setiap larutan percobaan. Adapun perhitungan larutan yang telah disiapkan terdapat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4.1 Perhitungan Pembuatan Larutan per 100 ml

No.	Larutan	Komponen	Satuan (gr)	pH Larutan
1.	Larutan Citrate Phosphate Dextrose (CPD)			7
	Komponen:		Satuan	
	a.	Sodium Citrate Dihydrate	2.63	
	b.	Citric Acid Monohydrate	0.327	
	c.	Dextrose Monohydrate	2.55	
	d.	Sodium Dihydrogenphosphate Dihydrate	0.251	
	e.	Aquabidest steril	100 ml	
2.	Larutan Acid Citrate Dextrose (ACD)			7
	Komponen:		Satuan	
	a.	Sodium Citrate Dihydrate	2.2	
	b.	Citric Acid Monohydrate	0.8	
	c.	Dextrose Monohydrate	2.45	
	d.	Aquabidest steril	100 ml	
3.	Larutan Heparin 10 IU/ml			7
	Komponen		Satuan	
	a.	Heparin 5.000 IU/ml	300 µl	
	b.	Aquabidest steril	99,7 ml	
4.	Larutan EDTA 5%			8
	Komponen		Satuan	
	a.	EDTA disodium salt	5 gr	
	b.	Aquabidest steril	100 ml	
5.	Larutan NaCl		100 ml	7

Adapun kegiatan pembuatan larutan tersebut, dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah ini:



Gambar 4.1 Kegiatan pembuatan larutan antikoagulan

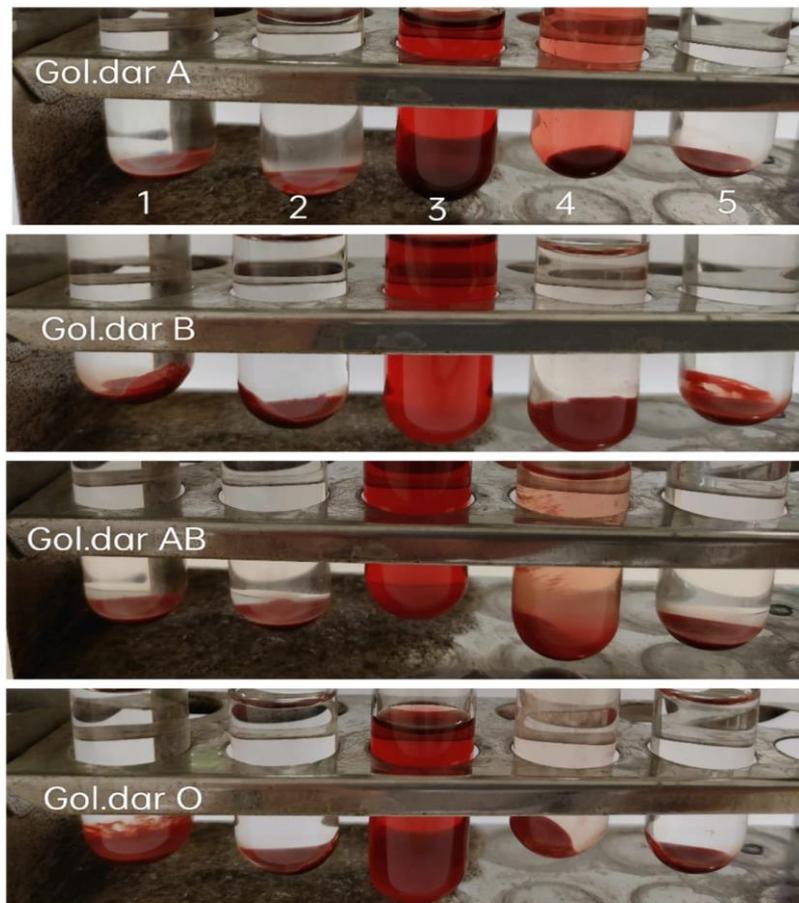
Komposisi larutan 5% pada setiap larutan yaitu 250 µl darah dan 4.750 ul larutan antikoagulan. Adapun pengkodean larutan antikoagulan dapat dilihat pada Tabel 4.2 dibawah ini.

Larutan	Kode Larutan	Golongan Darah			
		A	B	AB	O
CPD	1	1.A	1.B	1.AB	1.O
ACD	2	2.A	2.B	2.AB	2.O
Heparin 15%	3	3.A	3.B	3.AB	3.O
EDTA 5%	4	4.A	4.B	4.AB	4.O
NaCl 0.9%	5	5.A	5.B	5.AB	5.O

Berdasarkan tabel 4.2, setiap komposisi larutan memiliki sifat kimia yang berbeda – beda. Larutan CPD dan ACD steril merupakan larutan preservative dan antikoagulan pada darah. Komposisi CPD dalam larutan Sodium Citrate dihidrate, dextrose monohydrate atau anhidrat dextrose dan sodium dihidrogen posfat dihidrate tidak kurang dari 95% dan tidak melebihi kadar 105% dalam tabel formula. Komposisi ACD dalam larutan Asam sitrat monohydrate atau anhydrous asam sitrat tidak kurang dari 90% dan tidak melebihi dari 110 % dalam tabel formula. Setiap substansi mampu menjadi larutan preservative. Kondisi pH pada larutan CPD dibuat harus memiliki pH 4,7 – 5,3 dan kondisi larutan ACD dibuat harus memiliki pH 5,3 – 5,9 (Bureau of drug and narcotic, 2011).

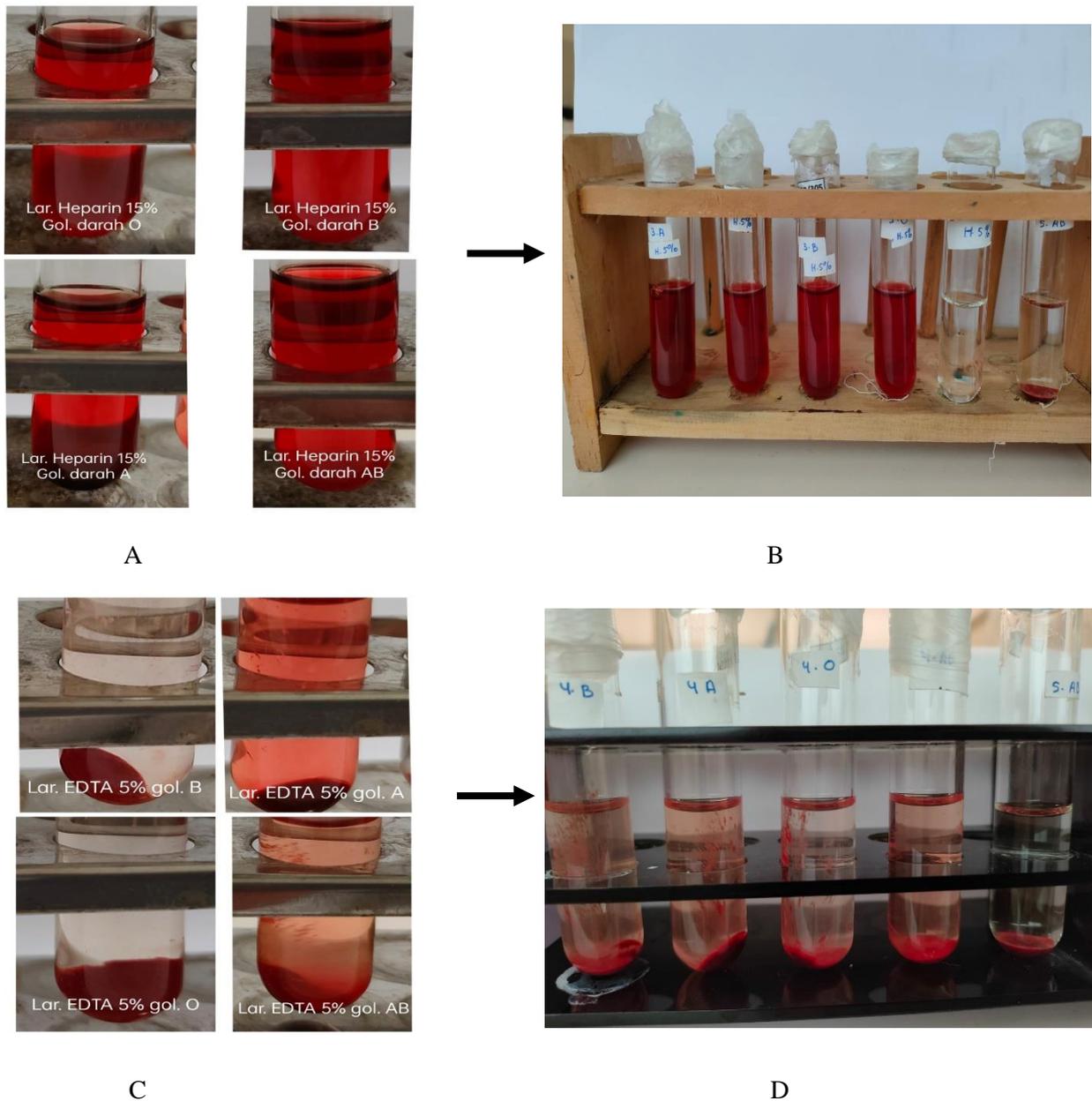
Kondisi larutan Heparin memiliki pH 5,0 – 7,5 dan stabil dalam suhu normal, serta mudah larut dalam air (Fisher Scientific Company, 2021). Larutan garam Na₂EDTA 5% merupakan garam yang digunakan secara in vitro dalam antikoagulan dan untuk kepentingan diagnostic. EDTA merupakan agen pengompleks Calsium. EDTA memiliki sifat kristal yang tidak berwarna, sedikit larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik umum. EDTA dapat digunakan sebagai antikoagulan darah, dimana kalsium dalam darah akan terikat dalam suatu kompleks yang tidak berikatan dan larut dengan EDTA (Banfi , Salvagno, & Lippi, 2015). Larutan NaCl 0,9% memiliki sifat yang sangat stabil dan reaktif, mudah larut dalam air (Pfizer, 2022).

Hasil pencucian pertama sel eritrosit 5% :



Gambar 4.2 Hasil pencucian pertama pembuatan larutan eritrosit 5% setiap golongan darah. 1= Larutan CPD, 2= Larutan ACD, 3= Larutan Heparin 15%, 4= Larutan EDTA 5%, 5= Larutan NaCl 0.9%.

Pada gambar 4.2 terlihat pada pencucian pertama sudah terdapat tanda lisis pada larutan heparin 10% dan larutan EDTA. Pada larutan heparin 10% saat darah dimasukkan langsung darah menjadi lisis disetiap golongan darah sedangkan pada larutan EDTA 5% derajat lisis pada setiap golongan darah. Menurut Ekanem *et al.*, 2012 menyatakan heparin dapat menyebabkan agregasi sel-sel darah sehingga mengganggu pemeriksaan hematologis. Antisipasi terjadinya hemolisis atau agregasi ini, maka konsentrasi antikoagulan harus diperhatikan sehingga sesuai dengan kondisi lingkungan yang dibutuhkan oleh sel-sel darah. Heparin tidak disarankan untuk hitung darah lengkap karena sel-sel akan menggumpal (agregasi) yang mengakibatkan perhitungan tidak valid. Heparin lebih tepat digunakan untuk uji kimia darah (Stokol, *et al.* 2014). Lisis pada larutan heparin dikarenakan konsentrasi yang tidak sesuai, sehingga dicoba dengan larutan heparin 5%. Namun, hasil yang didapatkan sel darah tetap lisis. Begitu pula pada tabung EDTA 5% yang lisis dengan warna merah yg berbeda pada setiap jenis golongan darah, sehingga dilakukan pengulangan pencucian pada kelompok EDTA 5%. Perbandingan hasil pengulangan kelompok larutan EDTA dan larutan heparin 5% dapat dilihat pada Gambar 4.2 dibawah ini.



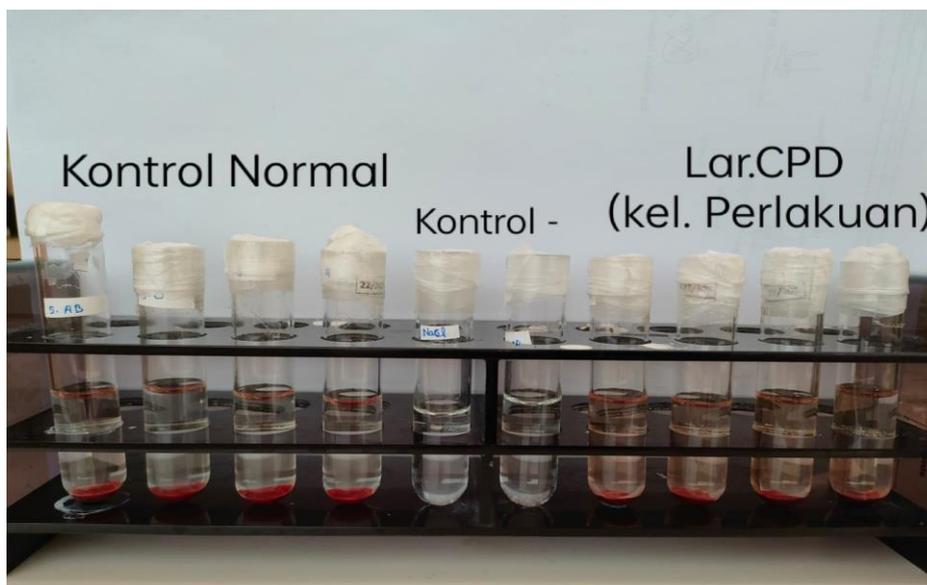
Gambar 4.2 Hasil Optimasi larutan antikoagulan eritrosit 5 % kelompok heparin dan EDTA 5% menunjukkan lisis dengan warna larutan menjadi kemerahan. A. Hasil pencucian pertama larutan heparin 15%. B. Hasil pencucian pertama larutan heparin 5% yang dibandingkan dengan larutan heparin 5% murni dan kelompok kontrol NaCl 0.9%. C. Hasil pencucian pertama larutan EDTA 5%. D. Hasil pencucian pertama larutan EDTA 5% yang tetap menunjukkan lisis.

Pada Gambar 4.2 menunjukkan sel eritrosit lisis pada larutan heparin dan EDTA. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat dapat menyebabkan hemolisis. Lebih lanjut dinyatakan oleh Stokol *et al.*, 2014 bahwa EDTA bersifat hipertonik terhadap sel-sel darah sehingga konsentrasinya harus tepat. Dari pencucian pertama sudah 2 kelompok larutan antikoagulan yang tidak bisa dilanjutkan kembali ke tahap pencucian ketiga, keempat dan kelima sehingga hanya 3 kelompok larutan yang tersisa yaitu kelompok CPD, ACD dan kelompok kontrol NaCl 0.9%. Hasil inkubasi selama 1 hari menunjukkan lisis pada kelompok ACD. Kelompok CPD dan kontrol NaCl 0.9% belum menunjukkan lisis. Gambar 4.3 dibawah ini menunjukkan lisis pada kelompok CPD.



Gambar 4.3 Hasil inkubasi selama 1 hari menunjukkan lisis pada kelompok ACD yang dibandingkan dengan larutan ACD murni (kontrol -) dan larutan kontrol NaCl 0.9%.

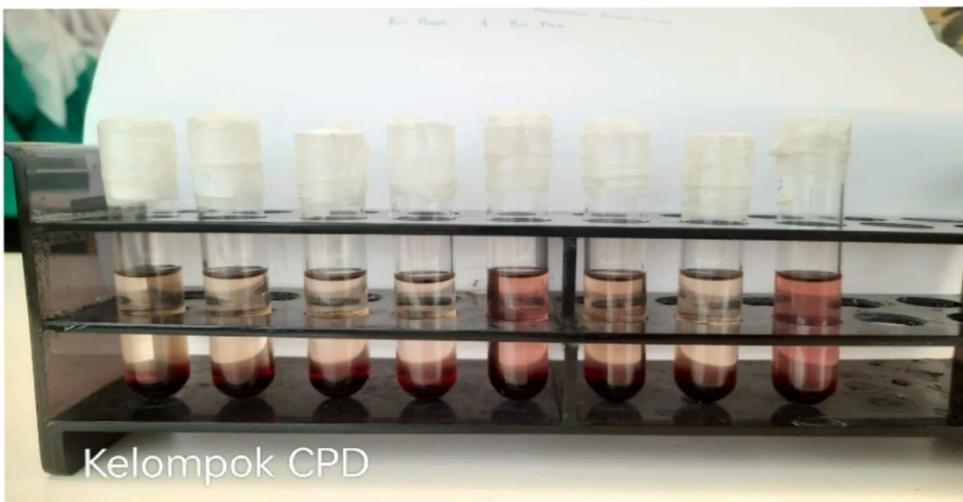
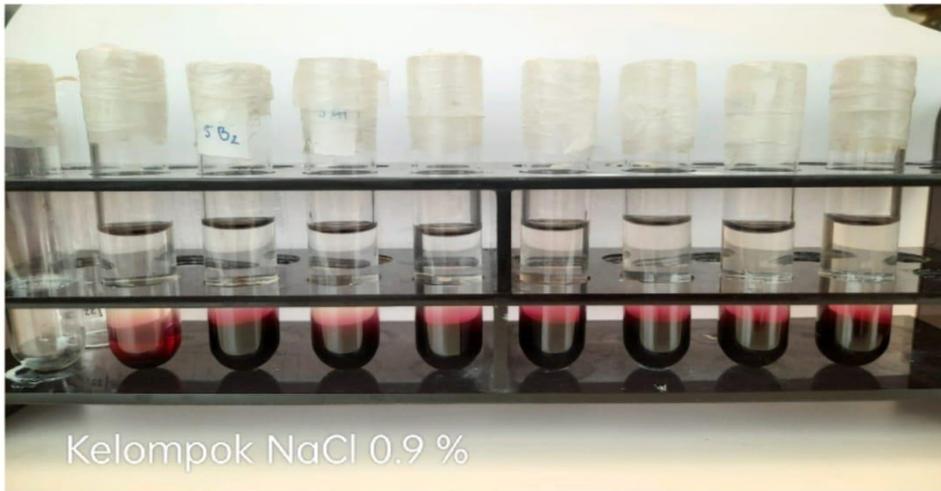
Setelah diketahui lisis, maka tabung reaksi dibersihkan. Pada saat pembersihan tabung reaksi terdapat gumpalan sel eritrosit yang melekat pada dasar tabung. Hal ini menandakan adanya koagulasi pada larutan ACD pada eritrosit. Dari hasil penelitian ini, hanya tersisa satu kelompok larutan antikoagulan CPD dan larutan kelompok kontrol NaCl 0.9%. Kedua larutan ini menunjukkan hasil lisis pada hari ketiga dimana larutan mulai berwarna kemerahan (Gambar 4.4).



Gambar 4.3 Hasil inkubasi selama 3 hari menunjukkan lisis pada kelompok CPD dan NaCl 0.9% yang dibandingkan dengan larutan CPD dan NaCl 0.9% murni (kontrol -).

Hasil yang akurat dari penelitian ini diperlukan sehingga dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali pada kedua kelompok tersebut. Hasil optimasi menunjukkan hal yang sama seperti pada percobaan sebelumnya yaitu kedua kelompok menunjukkan hasil lisis pada hari ketiga. Namun ada perbedaan hasil lisis dari kedua kelompok yaitu pada kelompok CPD tidak ditemukan adanya endapan eritrosit pada dasar tabung dan cairan berwarna kemerahan, sedangkan pada kelompok NaCl 0.9% terdapat gumpalan warna hitam pada dasar

tabung (Gambar 4.).



Gambar 4.4 Perbandingan hasil kelompok kontrol NaCl 0.9% dan Kelompok CPD dengan pengulangan 2x. Hasil menunjukkan lisis pada hari ketiga inkubasi.

Eritrosit memiliki pH 7.4 sedangkan pH larutan NaCl 0.9% dan CPD memiliki pH 7. Hemolisis pada larutan CPD dan NaCl 0.9% diduga karena pengaruh perbedaan pH. Hemolisis eritrosit dipengaruhi oleh perbedaan pH dan suhu lingkungan yang terlalu tinggi. Pada penelitian ini, larutan ditaruh dalam ruangan tanpa AC dan tidak memperhatikan parameter suhu, sehingga hal ini diduga yang mempengaruhi ketahanan sel eritrosit hanya sampai 3 hari.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Larutan antikoagulan CPD yang dapat mempertahankan eritrosit agar tidak lisis < 3 hari tanpa membuat koagulasi pada eritrosit, tidak seperti larutan NaCl 0.9% yang dapat membuat koagulasi eritrosit .

5.2 Saran

Pada penelitian lanjutan perlu dilakukan optimasi seperti

- a. Konsentrasi larutan heparin, EDTA, dan ACD pada larutan eritrosit 5%.
- b. Pada NaCl 0.9% dan kelompok CPD, larutan eritrosit 5% hanya dapat bertahan selama 3 hari sehingga diperlukan perlakuan baru seperti penambahan glukosa pada larutan NaCl 0.9% sebagai sumber karbohidrat bagi sel darah dan Penambahan Adenosin pada larutan CPD sebagai sumber pembentukan ATP pada sel darah dengan konsentrasi yang tepat.
- c. Faktor suhu, cahaya, dan pH perlu diperhatikan pada penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arianda, D., 2017. *Buku Saku Analis Kesehatan*. Bekasi: Analis Muslim Publishing.
- Banfi , Salvagno, & Lippi. (2015). The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. In *Clin Chem Lab Med*. HIMEDIA.
- Bureau of drug and narcotic. (2011). *Anticoagulant and preservative solutions for human blood*. Retrieved from www.bdn.go.th/tp/ebook:https://www.bdn.go.th/tp/ebook/qQWcA3tmpR9gC3q0GT5gMJq0qT5co3uw
- Dalimoenthe NZ, Pranggono E, Dewi NS. D-dimer Sebagai Prediktor Decompensated Disseminated Intravascular Coagulation Sisseminated pada Sepsis Prothrombin Time , Activated Partial Thromboplastin Time , Fibrinogen , and D-dimer as a Predictor ofDecompensated Disseminated Intravascular Coagulat. 2010;43(1):49–54.
- 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.
- Fisher Scientific Company. (2021). SAFETY DATA SHEET; Heparin sodium. In T. scientific. USA: Fisher Scientific Company.
- Higgins, C., 2007. The Use of Heparin in Preparing Samples for Blood Gas Analysis. [Online] Available at: www.acutecaretesting.org [Accessed 20 October 2022].
- Kiswari, Rukman. 2014. *Hematologi & Transfusi*. Jakarta: Erlangga.
- Luhuringtyas, R. D., Ariyadi, T. & Nuroini, F., 2018. Perbedaan Laju Endap Darah Sampel Darah EDTA Segera Dipriksa dengan Disimpan 6 jam dan 18 jam Dalam Lemari Pendingin, Semarang: s.n.
- Mehdi, S.R. 2013. ABO Blood Group System. *Essentials of Blood Banking A Handbook for Students of Blood Banking and Clinical Residents*. Second Edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. p. 7-17
- Mulyantari, Ni Kade dan I Wayan, P. S. Y., 2016. *Laboratorium Pratransfusi Update*. Bali: Udayana University Press
- Moss, P. & Hoffbrand, A. V., 2018. *Kapita Selektta Hematologi*. 7 ed. Jakarta: EGC.
- Nugraha, G., 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Pfizer. (2022). *SAFETY DATA SHEET; Bacteriostatic 0.9% Sodium Chloride Injection, USP*. USA: Pfizer Global Environment, Health, and Safety
- Powell, V. I. 2016. *Blood Group Antigen and Antibodies*. NYU Langone Medical Center. Sadikin, M., 2001. *Biokimia Darah*. Jakarta: Widya Medik.
- Sesmita, H.S. 2017. Korelasi indeks hemolisis eritrosit dengan kadar 2,3 difosfogserat packedred cell selama penyimpanan di Bank Darah. Skripsi. Padang: Universitas Andalas
- Stokol, T., Priest, H., Behling-Kelly, E., and Babcock, G. 2014. *Samples for Hematology*. Animal

Health Diagnostic Center. Clinical Pathology Laboratory. College of Veterinary Medicine, Cornell University. Ithaca, New York.

Sparrow, R. L., 2012. Time to Revisit Red Blood Cell Additive Solutions and Storage Conditions: A Role for "Omics" Analyses. *Blood Transfusion*, Volume 10, pp. 7-11.

Wei-Wei, T., Wang, D., Wen-Jing, L. & Yao-Xiong, H., 2014. How Cell number and Cellular Properties of Blood-Banked Red Blood Cells of Different Cell Ages Decline during Storage. *Plos One*.

WHO. 2002. Model Standard Operating Procedures for Blood Transfusion service. New Delhi: WHO. Retrieved January 4, 2018, from http://apps.searo.who.int/PDS_DOCS/B0235.pdf?ua=1

WHO. 2013. Standard Operating Procedures for Blood Transfusion. Bangladesh: WHO. Retrieved January 4, 2018, from http://www.who.int/bloodsafety/transfusion_services/sop-bts-bangladesh.pdf

Yuni, Natalia Erlina. 2015. *Kelainan Darah*. Yogyakarta: Nuha Medika

	Biaya persediaan bahan			170.000
			Total	1.170.000
1	Kode etik			500.000
	Total Penggantian dana			5.133.034
	Perhitungan			7.214.000
	Retur ke bank + pajak			2.112.000

Bekasi, 10 Maret 2023

Wakil Ketua I



N. Rohayati, S.Kep., M.Kep., Sp.Kep.Kom

Mengetahui

Kepala LPPM



(Afnia Eka Sari, S.TP, M.Ni) (Ria Amelia, S.Ni, M.Inom)

Ketua Peserta



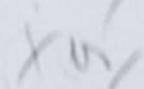
Menyetujui

Ketua STIKes



D. Susi Hartati, S.Kp., M.Kep., Sp. Kep.An

Wakil 2



drg. Elizabeth Setyandewi, MM

JADWAL PELAKSANAAN PENELITIAN

RENCANA WAKTU DAN TAHAPAN KEGIATAN PENELITIAN

Kegiatan	Tahun 2022 - 2023															
	Bulan Oktober				Bulan November				Bulan Desember				Januari - februari			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Pembuatan proposal																
Persiapan																
Pelaksanaan																
Pengolahan data																
Pembuatan laporan																
Presentasi laporan																

PERSONALIA PENELITIAN

Ketua Peneliti

1. Nama Lengkap : Ria Amelia, S.Si., M.Imun
2. NIK : 0326038901
3. Jabatan Fungsional : Lektor
4. Jurusan : Prodi DIII TLM
5. Bidang Keilmuan : Immunologi
6. Waktu yang disediakan : 4 – 6 Bulan

Anggota peneliti:

1. Nama Lengkap : Elfira Maya Sari, M.Si
2. NIK : 0308088801
3. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
4. Jurusan : Prodi DIII TLM
5. Bidang Keilmuan : Kimia
6. Waktu yang disediakan : 4 - 6 Bulan