

## Pengaruh Homogenisasi Sekunder Inversi 5 Kali dan 8 Kali terhadap Jumlah Eritrosit

Tri Handoko Satrio Hadi<sup>1</sup>, Wahid Syamsul Hadi<sup>2</sup>, Farida Noor Irfiani<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

e-mail: [thandoko030@gmail.com](mailto:thandoko030@gmail.com)

### Abstrak

Latar belakang penelitian ini adalah pemeriksaan eritrosit sebagai bagian dari skrining rutin untuk mendiagnosis gangguan hematologis. Tahap pra-analitik, khususnya homogenisasi, penting karena bisa terjadi kesalahan. Darah dalam tabung antikoagulan harus segera dicampur (homogenisasi primer) dengan membolak-balik tabung 8-12 kali menurut standar CLSI, BD Vacutainer, dan PerMenKes. Jika pemeriksaan tertunda, darah harus dihomogenisasi kembali (homogenisasi sekunder). Tujuan penelitian adalah melihat perbedaan hasil hitung eritrosit pada homogenisasi sekunder 5 dan 8 kali. Metode yang digunakan adalah pra-eksperimen dengan teknik Purposive Sampling. Hasil homogenisasi 5 kali memberikan nilai rata-rata eritrosit  $4,8163 \times 10^6/\mu\text{L}$ , sedangkan 8 kali sebesar  $4,8250 \times 10^6/\mu\text{L}$ . Analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ( $p = 0,970$ ). Kesimpulannya tidak ada perbedaan jumlah eritrosit antara homogenisasi 5 dan 8 kali.

**Kata Kunci :** *Homogenisasi, Inversi, Eritrosit*

### Abstract

The background of this study was the erythrocyte examination, conducted as part of routine screening to diagnose hematological disorders. The pre-analytical phase, particularly homogenization, was important due to potential errors. Blood in anticoagulant tubes had to be mixed immediately (primary homogenization) by inverting the tube 8-12 times, as recommended by CLSI, BD Vacutainer, and PerMenKes standards. If there was a delay in testing, the blood needed to be re-homogenized (secondary homogenization). The objective of the study was to determine the difference in erythrocyte counts between 5 and 8 secondary homogenization inversions. The study applied a pre-experimental method with Purposive Sampling. The results show that 5 inversions yielded an average erythrocyte count of  $4.8163 \times 10^6/\mu\text{L}$ , while 8 inversions produced  $4.8250 \times 10^6/\mu\text{L}$ . Statistical analysis indicates no significant difference ( $p = 0.970$ ). In conclusion, there is no difference in erythrocyte counts between 5 and 8 secondary homogenization inversions.

**Keyword :** *Homogenization, Inversion, Erythrocytes.*

### PENDAHULUAN

Darah merupakan cairan esensial yang berfungsi untuk mendistribusikan nutrisi, oksigen, dan mengeluarkan limbah dari seluruh tubuh (Jitowiyono, 2018). Salah satu komponen utama darah adalah eritrosit. Hitung sel darah merah atau eritrosit (RBC) merupakan metode hematologi yang umum digunakan untuk menentukan konsentrasi sel darah merah dalam satu mikroliter darah, dengan hasil dinyatakan dalam sel/mm<sup>3</sup> (Nugraha, G, 2017). Rata-rata jumlah eritrosit pada orang dewasa umumnya berada dalam rentang nilai normal, yaitu 4,6-6,2 juta sel/mm<sup>3</sup> untuk pria dewasa dan 4,2-5,4 juta sel/mm<sup>3</sup> untuk wanita dewasa (Esaputri, 2022). Jika jumlah sel darah merah melampaui tingkat normal, hal ini dapat menunjukkan adanya beberapa kondisi medis, salah satunya adalah polisitemia, yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel darah merah. Sebaliknya, jika jumlah sel darah merah berada di bawah batas normal, ini menunjukkan penurunan kemampuan darah dalam mengangkut oksigen, kondisi yang dikenal sebagai anemia (Lieseke & Zeibig, 2018). Saat menganalisis sel darah merah di laboratorium, sampel darah vena sering digunakan. Karena darah cenderung cepat menggumpal di luar tubuh, tindakan

pengecahan dilakukan dengan menambahkan antikoagulan (Wahdaniah, 2018). Antikoagulan adalah zat yang ditambahkan ke dalam darah untuk menghambat dan mencegah terbentuknya bekuan darah. Pada pemeriksaan hematologi yang bertujuan untuk menghitung jumlah sel darah merah, antikoagulan yang paling umum digunakan adalah EDTA atau asam etilendiamintetraasetat (Nugraha, G, 2017). Untuk memperoleh hasil uji laboratorium yang valid, perlu dipastikan bahwa langkah analisis didukung oleh penerapan langkah pra-analisis dan pasca-analisis yang tepat. Setiap tahapan proses ini memiliki potensi terjadinya kesalahan. Kesalahan terbanyak terjadi pada tahap pra-analisis dengan potensi hingga 68%, sedangkan tahap analisis berkontribusi sekitar 13% dan tahap pasca-analisis berkontribusi 19% (Galihsetya Viani et al., 2022).

Pada tahap pra-analitik, risiko kesalahan cukup tinggi, terutama terkait dengan teknik homogenisasi. Salah satu teknik homogenisasi yang umum diterapkan di laboratorium adalah teknik inversi (Nuraeni et al., 2023). Proses awal homogenisasi antara darah dan antikoagulan EDTA dikenal sebagai homogenisasi primer. Langkah ini bertujuan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah, karena kehadiran bekuan dapat mengakibatkan kesalahan serta menghasilkan hasil yang rendah dan tidak akurat. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 43 Tahun 2013, homogenisasi primer seharusnya dilakukan sebanyak 10-12 kali secara bolak-balik. Namun, menurut BD Vacutainer (2018), proses tersebut juga dapat dilakukan dengan 8-10 kali bolak-balik.

Darah yang dihomogenkan primer terkadang tidak langsung diuji tetapi dibiarkan mengendap terlebih dahulu. Keterlambatan ini disebabkan oleh beberapa faktor, seperti transfusi darah dari bangsal tidak segera dilakukan, pengujian tertunda karena pergantian shift, dan pengambilan sampel di bangsal memakan waktu terlalu lama karena banyaknya pasien (Haiti, M 2021). Sampel darah yang dibiarkan selama 30 menit sudah mengalami pengendapan, sehingga harus dilakukan homogenisasi sekunder sebelum pengujian (Nuraeni et al., 2023). Homogenisasi sekunder merupakan langkah penting yang harus dilakukan sebelum pengujian laboratorium pra-analitik, namun belum ada pedoman pelaksanaannya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengukur jumlah sel darah merah dalam darah yang dihomogenisasi sebanyak 5 kali dan 8 kali dengan teknik bolak-balik setelah 30 menit homogenisasi awal.

## METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah pretest with Static Group Comparison, artinya pada desain ini kelompok eksperimen mendapat perlakuan yang kemudian dilakukan pengukuran atau pengamatan kedua. Subjek dan sampel penelitian ini adalah pasien yang menjalani pemeriksaan darah lengkap di Puskesmas Depok 2, sebanyak 30 sampel. Pemeriksaan dilakukan oleh petugas di tempat penelitian dengan cara mengambil darah ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi terlebih dahulu dihomogenisasi sebanyak 10 kali dengan teknik bolak-balik, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Sampel darah yang telah diinkubasi dilakukan homogenisasi balik sekunder sebanyak 5 kali dan 8 kali untuk dilakukan pengujian lebih lanjut. Hasil uji yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas Shapiro Wilk dan uji statistik repeated measure Anova dengan taraf kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

**Tabel 1. Analisis Deskriptif Hasil Pemeriksaan Eritrosit Pada Homogenisasi Primer Inversi, Homogenisasi Sekunder Inversi 5 Kali dan Homogenisasi Sekunder Inversi 8 Kali**

Perlakuan	Minimum ( $10^6/\mu\text{L}$ )	Maximum ( $10^6/\mu\text{L}$ )	Mean
Homogenisasi Primer Inversi	4,21	5,26	4,7763
Homogenisasi Sekunder Inversi 5 kali	4,21	5,62	4,8163
Homogenisasi Sekunder Inversi 8 kali	4,20	5,61	4,8250

Berdasarkan tabel 1 hasil hitung jumlah eritrosit yang dihomogenisasikan primer inversi memiliki nilai rata-rata  $4,7763 \times 10^6/\mu\text{L}$  dengan nilai minimum  $4,21 \times 10^6/\mu\text{L}$  dan maksimal  $5,26 \times 10^6/\mu\text{L}$ .

$10^6/\mu\text{L}$ . Pada homogenisasi sekunder inversi 5 kali memiliki nilai rata-rata  $4,8163 \times 10^6/\mu\text{L}$  dengan nilai minimum  $4,21 \times 10^6/\mu\text{L}$  dan maksimal  $5,62 \times 10^6/\mu\text{L}$ . Pada homogenisasi sekunder inversi 8 kali memiliki nilai rata-rata  $4,8250 \times 10^6/\mu\text{L}$  dengan nilai minimum  $4,20 \times 10^6/\mu\text{L}$  dan maksimal  $5,61 \times 10^6/\mu\text{L}$ .

**Tabel 2 Uji Statistik Repeted Measure Anova Hasil Pemeriksaan Eritrosit**

Perlakuan	sig. <sup>a</sup>	Batas Keterbatasan	Kesimpulan
Homogenisasi Primer Inversi dan Sekunder Inversi 5 kali	0,761	0,05	Tidak ada perbedaan yang signifikan
Homogenisasi Primer Inversi dan Sekunder Inversi 8 kali	0,504	0,05	Tidak ada perbedaan yang signifikan
Homogenisasi Sekunder Inversi 5 kali dan Sekunder Inversi 8 kali	0,970	0,05	Tidak ada perbedaan yang signifikan

Berdasarkan tabel 2 dilakukan uji Repeted Measure Anova didapatkan nilai signifikan (p-value) perlakuan homogenisasi primer inversi dan sekunder inversi 5 kali sebesar 0,761. Homogenisasi primer inversi dan sekunder inversi 8 kali sebesar 0,504 sedangkan homogenisasi sekunder inversi 5 kali dan 8 kali sebesar 0,970. Ketiga nilai tersebut sama-sama  $> 0,05$ , sehingga homogenisasi sekunder inversi 5 kali dan 8 kali terhadap pemeriksaan jumlah eritrosit tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

### Pembahasan

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 43 Tahun 2013, penjaminan mutu internal bertujuan untuk mendeteksi dan mencegah kesalahan acak dan sistematis selama proses peninjauan. Jika ditemukan kesalahan, tujuan PMI adalah segera memperbaikinya sehingga hasilnya dapat diandalkan. Dalam penelitian ini, penjaminan mutu internal dilakukan dengan menguji bahan kontrol pada tiga taraf: rendah (nomor lot: 40270821) dengan hasil  $2,63 \times 10^6/\mu\text{L}$ , normal (nomor lot: 40270822) dengan hasil  $4,46 \times 10^6/\mu\text{L}$ , dan tinggi (nomor lot: 40270823) dengan hasil  $5,31 \times 10^6/\mu\text{L}$ . Hasil ini kemudian diukur dalam satuan simpangan baku (SD) dengan nilai terendah 0,01, nilai normal 0,01, dan nilai tertinggi 0,02, lalu diplot pada diagram Levey-Jennings. Hasil yang diperoleh berada dalam kisaran  $\pm 1$  SD. Berdasarkan aturan ganda Westgard, hasil jaminan mutu internal pengujian sampel dapat direalisasikan.

Jumlah sel darah merah atau red blood cell count (RBC) merupakan salah satu pemeriksaan hematologi yang umum dilakukan untuk mengetahui jumlah sel darah merah dalam  $1 \mu\text{L}$  darah yang diukur dalam satuan sel/ $\text{mm}^3$  (Nugraha, G, 2017). Berdasarkan rata-rata jumlah sel darah merah pada orang dewasa, hasil hitung sel darah merah berada dalam rentang normal, dimana nilai normal jumlah sel darah merah pada pria dewasa adalah 4,5-5,5 juta/ $\text{mm}^3$  dan pada wanita dewasa adalah 4,0 hingga 5,0 juta/ $\text{mm}^3$  (Spiritia, 2023). Berdasarkan acuan nilai normal jumlah sel darah merah, nilai hitung sel darah merah pada Tabel 1 masih berada dalam rentang normal. Hasil uji normalitas jumlah sel darah merah diperoleh hasil homogenitas dengan inversi primer  $p = 0,888$  ( $p > 0,05$ ), homogenitas dengan inversi sekunder 5 kali  $p = 0,760$  ( $p > 0,05$ ) dan homogenitas dengan inversi sekunder 8 kali  $p = 0,555$  ( $p > 0,05$ ) yang berarti data berdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji Repeated Measure Anova.

Berdasarkan hasil pengukuran berulang analisis statistik Anova yang ditunjukkan pada Tabel 2, nilai signifikansi (p-value) untuk homogenisasi inversi sekunder yang dilakukan sebanyak 5 kali dan 8 kali adalah 0,970 ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil uji jumlah sel darah merah antara homogenisasi inversi sekunder sebanyak 5 kali dan 8 kali setelah didiamkan selama 30 menit. Tidak adanya perbedaan yang signifikan ini disebabkan oleh distribusi sel darah yang merata akibat homogenisasi sekunder yang dilakukan sebanyak 5 kali dan 8 kali sebelum dilakukan pengujian. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh (Nuraeni & Septie, 2023). Pada penelitian ini, terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil uji jumlah sel darah merah pada sampel darah yang dihomogenisasi

sekunder dengan inversi sebanyak 4 kali dibandingkan dengan 8 kali, setelah didiamkan selama 30 menit. Perbedaan ini disebabkan karena proses homogenisasi sekunder sebanyak 4 kali tidak cukup untuk mencapai homogenisasi sempurna, sehingga mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah sel darah merah. Oleh karena itu, terdapat perbedaan yang jelas dalam jumlah sel darah merah antara sampel darah yang menjalani proses homogenisasi sekunder sebanyak 4 kali dan 8 kali.

Penelitian ini konsisten dengan studi yang dilakukan oleh Haiti, M. (2021), yang mengevaluasi dua jenis perlakuan: homogenisasi sekunder melalui inversi sebanyak 5 kali dan 8 kali, diikuti dengan pemeriksaan setelah inkubasi selama 60 menit. Hasilnya menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan dalam kadar eritrosit. Temuan ini sejalan dengan pernyataan Nugraha (2015) yang menyebutkan bahwa tujuan dari homogenisasi sekunder adalah untuk memastikan distribusi darah yang merata sebelum pemeriksaan, serta mencegah pengendapan sel-sel darah setelah periode inkubasi. Penelitian yang dilakukan oleh Hartina Garini A. (2018) mengkaji perbedaan antara teknik homogenisasi inversi yang diterapkan sebanyak 8-10 kali dengan teknik angka delapan dalam pemeriksaan sampel darah. Temuan dari studi tersebut menunjukkan bahwa teknik inversi menghasilkan nilai pemeriksaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik angka delapan. Berdasarkan hasil tersebut, penelitian ini memanfaatkan teknik homogenisasi inversi untuk memastikan hasil pemeriksaan tetap optimal.

Darah dicampur dengan antikoagulan dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA, lalu setelah beberapa saat darah akan terpisah menjadi dua bagian. Bagian atas terdiri dari plasma, sedangkan bagian bawah terdiri dari sel-sel darah. Pemisahan ini terjadi karena adanya perbedaan densitas antara sel darah merah dan plasma. Proses sedimentasi darah ini terjadi dalam tiga tahap. Tahap pertama adalah pembentukan reuleaux, yaitu saat sel-sel darah merah menggumpal dan membentuk gumpalan, yang ditandai dengan laju sedimentasi sekitar 10 menit. Fase kedua dari proses ini adalah sedimentasi, yaitu saat sel-sel darah merah yang telah mengalami sedimentasi mengendap dengan cepat dan stabil selama 40 menit. Selain itu, fase ketiga adalah pematatan, yaitu saat sel-sel darah merah yang telah mengalami sedimentasi mengisi rongga atau ruang pada kompartemen sel darah merah di dasar tabung, hingga mencapai densitas maksimum. Pematatan ini berlangsung selama 10 menit (Simundic et al., 2020).

Pemeriksaan darah EDTA harus dilakukan sesegera mungkin. Namun, jika pemeriksaan segera tidak memungkinkan, sampel darah harus disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4-6°C selama tidak lebih dari 24 jam. Penyimpanan darah EDTA dalam jangka panjang pada suhu ruangan dapat menyebabkan perubahan pada sel darah merah, seperti hemolisis akibat kerusakan membran sel darah merah (Permana et al., 2020). Faktor lain yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan sel darah merah adalah metode pemindahan darah dari spuit ke tabung. Jika darah disemprotkan ke dalam tabung, dapat menyebabkan hemolisis. Sebaliknya, jika darah mengalir perlahan ke arah dinding tabung dengan membuka jarum hingga volume yang diinginkan tercapai, hemolisis tidak akan terjadi (Permana et al., 2020).

## SIMPULAN

Hasil pemeriksaan jumlah eritrosit menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara homogenisasi sekunder inversi yang dilakukan sebanyak 5 kali dan 8 kali, dengan nilai p sebesar 0,970 yang lebih besar dari 0,05. Hasil statistik ini menandakan bahwa kedua metode homogenisasi tersebut sama-sama efektif dalam memastikan distribusi sel darah yang akurat sebelum analisis. Oleh karena itu, baik inversi sebanyak 5 kali maupun 8 kali dapat diterapkan dalam homogenisasi sekunder tanpa memengaruhi keakuratan hasil hitung eritrosit.

## DAFTAR PUSTAKA

- BD Vacutainer Blood Collection Tubes. (2018). Biomedical Safety & Standards.
- Esaputri, R. H., & Suhariyadi, A. D. A. (2022). Pengaruh Volume Darah Pada Tabung Vacutainer Kapasitas 3 mL Terhadap Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin Pada Anak-anak Dan Orang Dewasa. *Jurnal Penelitian Kesehatan (JPK)*, 20(1), 1-7.
- Galihsetya Viani, D., Nuraini, M., & Haiti, M. (2022). Jumlah Trombosit Dengan Teknik Homogenisasi Sekunder Inversi (Bolak-Balik) 5 Dan 8 Kali. *Prosiding Aiptlmi*, 1, 189–197.

- Haiti, M. (2021). Jumlah Eritrosit Dengan Teknik Homogenisasi Sekunder Inversi 5 Kali Dan 8 Kali. Jakarta: CV Trans Info Medika.
- Hartina., Garini.A., T. M. (2018) 'Perbandingan Teknik Homogenisasi Darah EDTA Dengan Teknik Inversi dan Teknik Angka Delapan Terhadap Jumlah Trombosit, Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang, 13.
- Jitowiyono, S. (2018). Asuhan Keperawatan Pada Pasien Dengan Gangguan Sistem Hematologi. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Lieseke, CL., & Zeibig, EA. (2018). Buku Ajar Laboratorium Klinis. Jakarta : EGC
- Nugraha, G. ( 2015). Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta: CV Trans Info Media
- Nugraha, G. (2017). Pemeriksaan Hematologi Dasar. Jakarta: CV Trans Info Media.
- Nuraeni, M., Septie, L., & Studi, P. (2023). Perbandingan Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit Dengan Teknik. 6(2), 228–234.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 (2013). Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik Yang Baik.
- Permana, A., Zuraida, Z., & Sindarama, S. H. (2020). Gambaran Pemeriksaan Volume Darah 1 cc dan 3 cc dengan Konsentrasi Antikoagulan EDTA terhadap Kadar Hemoglobin di Klinik Dewi Sartika. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 6(1), 77-81.
- Permana, A., Zuraida, Z., & Sindarama, S. H. (2020). Gambaran Pemeriksaan Volume Darah 1 cc dan 3 cc dengan Konsentrasi Antikoagulan EDTA terhadap Kadar Hemoglobin di Klinik Dewi Sartika. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 6(1), 77-81.
- Simundic, A. M., Baird, G., Cadamuro, J., Costelloe, S. J., & Lippi, G. (2020). Managing Hemolyzed Samples in Clinical Laboratories. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 57(1), 1–21.
- Spiritia. (2023, September 1). *Hasil Tes Lab Normal*. Spiritia. <https://spiritia.or.id/artikel/detail/7>
- Wahdaniah, S., T. (2018). Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K2EDTA dan K3EDTA terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*. Vol.2 Hal. 114-118.