

Perbedaan Jumlah Leukosit yang Dihomogenisasi Sekunder Sebanyak 2 dan 8 Kali setelah Didiamkan Selama 30 Menit

Differences in Secondary Homogenized Leukocyte Counts of 2 and 8 Times after Standing for 30 Minutes

Kartika Englishiana¹, Rosnita Sebayang², Mustika Sari H. Hutabarat*³

DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas Katolik Musi Charitas

Email: mustikasarihutabarat33@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Leukosit adalah salah satu pemeriksaan hematologi. Darah yang ditampung dalam tabung K₂EDTA harus dihomogenisasi primer kemudian diperiksa. Namun terkadang dalam laboratorium, pemeriksaan tidak langsung dilakukan setelah pengambilan darah sehingga apabila didiamkan dalam beberapa waktu harus dihomogenisasi sekunder agar tidak membentuk endapan dan tercampur dengan baik.

Tujuan: Untuk mengetahui adakah perbedaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 dan 8 kali setelah didiamkan selama 30 menit.

Metode: Jenis penelitian ini adalah *cross-sectional study*. Darah diperiksa menggunakan alat Sysmex XP-100 dengan metode *impedance* di laboratorium Kimia Klinik FIKES UKMC. Sampel pada penelitian ini adalah mahasiswa/i dari Prodi DIV Teknologi Laboratorium Medis tingkat I dan IV secara *total sampling*. Data dianalisis menggunakan uji *Paired Samples T Test*.

Hasil: Pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 kali diperoleh rata-rata hasil sebesar $7.41 \times 10^3/\mu\text{l}$, dan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 8 kali diperoleh rata-rata hasil sebesar $7.43 \times 10^3/\mu\text{l}$. Hasil ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara homogenisasi sekunder 2 dan 8 kali dengan p (*sig*) = 0.852 (> 0.005).

Simpulan: Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 2 dan 8 kali tidak terdapat perbedaan hasil.

Saran: Homogenisasi sekunder cukup dilakukan sebanyak 2 kali setelah sampel didiamkan selama 30 menit.

Kata kunci: Pemeriksaan leukosit, homogenisasi

ABSTRACT

Background: Leukocytes are one of the hematological examinations. Blood collected in K₂EDTA tubes must be primary homogenized and then examined. However, sometimes in the laboratory, the examination is not carried out immediately after blood collection so that if it is allowed to stand for some time, it must be secondary homogenized so that it does not form a precipitate and mixes well.

Objective: To determine whether there is a difference in the number of leukocytes that are secondary homogenized 2 and 8 times after standing for 30 minutes.

Methods: This type of research is a cross-sectional study. Blood was examined using the Sysmex XP-100 tool with the impedance method in the UKMC FIKES Clinical Chemistry laboratory. The samples in this study were students from the DIV Medical Laboratory Technology Study Program level I and IV by total sampling. Data were analyzed using the Paired Samples T Test.

Results: Secondary homogenized leukocyte count examination 2 times obtained an average result of $7.41 \times 10^3 /\mu\text{l}$, and secondary homogenized leukocyte count 8 times obtained an average result of $7.43 \times 10^3 /\mu\text{l}$. These results show there is no significant difference between secondary homogenization 2 and 8 times with p (sig) = 0.852 (> 0.005).

Conclusion: Based on this study, it can be concluded that there is no difference in the results of secondary homogenized leukocyte counts 2 and 8 times.

Suggestion: Secondary homogenization is sufficient for 2 times after the sample has been allowed to stand for 30 minutes.

Keywords: Leukocyte examination, homogenization

Pendahuluan

Berdasarkan pernyataan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 411/MENKES/PER/III/2010 pasal 1 tentang definisi Laboratorium Klinik adalah laboratorium kesehatan yang menjalankan pelayanan pemeriksaan spesimen klinis untuk memperoleh informasi mengenai kesehatan pasien khususnya dalam mendiagnosis penyakit, cara pengobatan penyakit, serta pemulihan kesehatan pasien tersebut. Laboratorium klinik terbagi atas beberapa bidang dalam melaksanakan pelayanan pemeriksaan yang terdiri dari bidang Hematologi, Kimia Klinik, Imunologi, Parasitologi, Mikrobiologi, Patologi Anatomi atau bidang lainnya yang berhubungan dengan kesehatan pasien. Setiap laboratorium klinik perlu melaksanakan pemeriksaan yang baik dengan mengikuti prosedur standar dan protokol yang telah ditetapkan serta memiliki sistem mutu yang terarah demi tercapainya hasil yang akurat dan dapat dipercaya (PerMenKes RI NO 43, 2013).

Pemeriksaan laboratorium klinik yang sering dilakukan adalah pemeriksaan hematologi. Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang melakukan analisis terhadap sel darah manusia. Secara umum pemeriksaan hematologi terbagi menjadi dua yaitu pemeriksaan darah rutin dan darah lengkap. Pemeriksaan darah rutin terdiri atas hitung jumlah sel darah merah (eritrosit),

hitung jumlah sel darah putih (leukosit) hemoglobin (Hb), hematokrit (HCT), hitung jumlah trombosit (*platelet*). Pemeriksaan darah lengkap (*complete blood count*) terdiri atas pemeriksaan pada darah rutin, ditambah hitung jenis leukosit dan indeks eritrosit (Wahdaniah dan Tumpuk, 2018 p.115).

Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang memiliki satu inti dimana ukuran sitoplasma dan bentuknya bermacam-macam sehingga setiap jenis leukosit tidak memiliki bentuk sama dan bersifat amuboid (sel dapat bergerak secara aktif). Leukosit mudah dijumpai pada lapangan pandang mikroskop karena ukurannya yang lebih besar dari eritrosit. Leukosit berperan penting dalam sistem imun tubuh yang bertugas melawan benda-benda asing dan berbahaya bagi tubuh, contohnya bakteri atau virus. Leukosit akan membentuk sistem imunoglobulin, protein respon imun, dan komplemen, lalu bergerak sebagai sistem pertahanan tubuh apabila terjadi infeksi. Jumlah leukosit dalam tubuh yang melebihi batas normal disebut sebagai leukositosis, sedangkan jumlah leukosit dalam tubuh yang kurang dari batas normal disebut sebagai leukopenia. Pada keadaan normal, jumlah leukosit bagi orang dewasa berkisar antara 6.000-10.000 sel/mm³ darah. Leukosit terdiri dari beberapa macam, antara lain limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil (Hupitoyo dan Sri, 2019 p.258).

Dalam laboratorium, pemeriksaan leukosit adalah parameter yang sering diperiksa oleh dokter. Pemeriksaan leukosit dapat membantu dokter menegakkan diagnosis serta menentukan prognosis atau proses perkembangan penyakit yang benar. Tujuan dari pemeriksaan jumlah leukosit yaitu untuk menilai keadaan sistem imun dan tingkat peradangan (inflamasi) dalam tubuh. Jumlah leukosit yang meningkat biasanya disebabkan oleh adanya infeksi, inflamasi, ataupun nekrosis jaringan (Darmadi dan Sari, 2018 ; Salman *et al.*, 2021). Agar hasil pemeriksaan yang diperoleh benar dan tepat, maka perlu diperhatikan setiap tahapan pemeriksaan. Tahapan tersebut yaitu pra analitik, analitik, dan pasca analitik. Namun kenyataannya kesalahan dalam tahapan tersebut masih sering terjadi terutama pada tahap pra analitik yang dapat mencapai 60-70% sehingga berdampak pada hasil pemeriksaan (Siregar, 2018 p.17).

Kesalahan pra analitik dalam laboratorium pemeriksaan hematologi dapat disebabkan oleh beragam faktor misalnya, identifikasi pasien yang tidak sesuai, kesalahan pelabelan, volume sampel yang tidak akurat, serta teknik penghomogenisasian yang salah (Mehmood *et al.*, 2018 p.1). Berdasarkan pengalaman di lahan praktik pada beberapa laboratorium, proses homogenisasi yang dilakukan tidak sama atau bervariasi terutama homogenisasi sekunder karena belum ada aturan standarnya .

Menurut Riswanto (2013), homogenisasi merupakan suatu proses dalam pencampuran darah dengan antikoagulan sebelum melakukan pemeriksaan agar darah dan komponennya sama dengan saat beredar dalam aliran darah. Homogenisasi dilakukan dengan cara membolak-balik tabung darah beberapa kali sebelum diperiksa. Proses homogenisasi yang salah dapat menyebabkan sel darah salah satunya leukosit menjadi lisis atau mengalami pembekuan sehingga hasil pemeriksaan menjadi rendah palsu. Apabila homogenisasi sampel tidak dilakukan segera kemungkinan akan menyebabkan agregasi sel darah bahkan dapat terjadi bekuan karena

darah tidak bercampur dengan antikoagulan sehingga sel tidak dapat terhitung atau terbaca dengan benar (Haiti, 2023 p.93).

Berdasarkan jenisnya, homogenisasi dibagi menjadi 2, yaitu homogenisasi primer dan homogenisasi sekunder. Homogenisasi primer dilakukan segera setelah darah ditampung dalam tabung antikoagulan dengan tujuan agar sampel dan antikoagulan tercampur merata sehingga tidak akan terjadi pembekuan darah. Sedangkan homogenisasi sekunder dilakukan sebelum darah diperiksa yang telah mengalami penundaan beberapa saat tetapi telah dilakukan homogenisasi primer dengan tujuan untuk menghindari adanya pengendapan sel-sel darah setelah didiamkan beberapa waktu (Riswanto, 2013 p.54).

Pengendapan sel-sel darah terjadi karena adanya penundaan setelah pengambilan sampel. Penundaan pemeriksaan dapat terjadi karena beberapa kondisi seperti beberapa pengalaman yang terjadi di lapangan berikut antara lain sampel yang telah diperoleh dari bangsal yang tidak segera dikirim karena pasien terlalu banyak sehingga petugas laboratorium tidak langsung memeriksa sampel, sampel yang akan diperiksa terlalu banyak atau karena adanya pergantian shift kerja (Sujud, *et al.*, 2015 p.92).

Proses pengendapan darah terjadi dalam tiga tahapan. Tahap pertama disebut pembentukan rouleaux, dimana sel-sel darah mengalami agregasi (membentuk tumpukan) yang berlangsung selama 10 menit. Tahap kedua disebut sedimentasi, sel darah akan mengendap lebih cepat secara konstan selama 40 menit, tetapi kecepatannya bergantung pada agregasi yang jika semakin besar maka semakin cepat proses sedimentasi. Tahap ketiga disebut tahap pemadatan, terjadi pengisian rongga-rongga di tumpukan sel-sel darah di bawah tabung hingga benar-benar terpadatkan yang terbentuk selama 10 menit dengan kecepatan lambat (Nugraha, 2015 p.90). Pada penelitian ini darah yang akan diperiksa akan didiamkan selama 30 menit karena dalam waktu tersebut telah terjadi tahapan

pengendapan sel-sel darah. Menurut Lutpiatina (2015) yang dikutip dari Richmond *et al.*, (2002), leukosit akan berada di lapisan antara plasma dan eritrosit yang dikenal sebagai buffy coat. Lapisan ini yang memiliki warna putih keabu-abuan yang dapat dilihat dari hasil pengendapan. Adanya proses pengendapan ini, sehingga diperlukan proses homogenisasi terhadap sampel darah yang diambil.

Proses homogenisasi ini diperlukan untuk memastikan bahwa darah dan antikoagulan dalam tabung tercampur. Apabila homogenisasi tidak dilakukan dengan tepat maka memungkinkan terjadinya perubahan terhadap sel darah yang dapat berpengaruh pada hasil pemeriksaan. Menurut PerMenKes No.43 tahun 2013, disarankan agar darah dan antikoagulan tercampur dengan baik maka dilakukan homogenisasi primer dengan cara membolak-balik tabung sebanyak 10-12 kali. Kemudian menurut CLSI (2017) dan BD *Vacutainer*. (2019), homogenisasi primer yang standar yaitu dengan membolak-balik tabung sebanyak 8-10 kali. Namun berdasarkan beberapa literatur tersebut, tidak tertulis mengenai aturan standar homogenisasi sekunder.

Pada penelitian oleh Haiti dan Lidwina, tahun 2023 tentang pemeriksaan leukosit dengan homogenisasi primer, homogenisasi sekunder sebanyak 4 dan 8 kali secara inversi (bolak balik), dan yang tidak homogenisasi. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil uji statistik pada sampel yang telah dihomogenisasi primer dengan sekunder 4 dan 8 kali dan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil sampel yang telah dihomogenisasi primer dengan yang tidak dihomogenisasi.

Selain itu, penelitian oleh Sebayang, *et al.*, tahun 2021 tentang pemeriksaan kadar hemoglobin dengan homogenisasi sekunder 3, 5, 7, dan 8 kali, yang telah didiamkan 60 menit pasca homogenisasi primer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar

hemoglobin pada proses homogenisasi sekunder 3, 5, 7 dan 8 kali.

Selanjutnya pada penelitian oleh Haiti, *et al.*, tahun 2021 mengenai homogenisasi sekunder teknik inversi 5 kali dan 8 kali setelah didiamkan 60 menit terhadap jumlah eritrosit, berdasarkan uji statistik telah disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah eritrosit dengan teknik homogenisasi sekunder 5 kali dan 8 kali.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah disebutkan sebelumnya, homogenisasi sekunder terhadap sampel darah EDTA yang telah didiamkan beberapa waktu perlu dilakukan supaya darah dan antikoagulan tercampur kembali. Pada penelitian yang akan dilakukan kali ini, Penulis ingin mengambil jumlah homogenisasi sekunder sebanyak 2 dan 8 kali dikarenakan pada penelitian sebelumnya belum terdapat mengenai homogenisasi sekunder sebanyak 2 dan 8 kali pada parameter leukosit. Dan untuk waktu didiamkannya sampel, penulis akan mengambil waktu selama 30 menit, sel-sel darah telah mengalami tahapan pengendapan pada waktu tersebut sehingga perlu dilakukan homogenisasi sekunder. Selain itu pada penelitian sebelumnya juga sampel didiamkan selama 60 menit sehingga penulis ingin mengambil waktu yang berbeda yaitu 30 menit.

Walaupun sudah terdapat beberapa penelitian mengenai homogenisasi seperti yang telah dijelaskan diatas, masih belum terdapat aturan standar untuk homogenisasi sekunder. Oleh karena itu, penulis ingin melakukan penelitian apakah ada perbedaan terhadap hasil jumlah leukosit pada sampel darah K₂EDTA yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 dan 8 kali setelah didiamkan selama 30 menit.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Cross-Sectional Study* atau penelitian potong silang. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Misi Charitas pada bulan Mei

sampai Juni 2023. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mahasiswa/i Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Misi Charitas Prodi DIV Teknologi Laboratorium Medis tingkat I dan IV. Penelitian ini bertujuan untuk melihat adakah perbedaan hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sebanyak 2 dan 8 kali setelah didiamkan selama 30 menit.

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *Total Sampling*. Setiap subjek dilakukan pengambilan darah vena yang ditampung dalam 2 tabung K₂EDTA dengan masing-masing volume darah \pm 2 mL. Sampel pada tabung pertama diberi kode A untuk dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 kali setelah didiamkan 30 menit dan sampel tabung kedua diberi kode B untuk dihomogenisasi sekunder sebanyak 8 kali setelah didiamkan 30 menit.

Pemeriksaan jumlah leukosit pada penelitian ini menggunakan *Sysmex XP-100* dengan metode *impedance*. Analisis data pada penelitian ini menggunakan metode *Shapiro Wilk* dengan uji T berpasangan (*Paired Sample T-Test*).

Hasil

1. Verifikasi Metode Pemeriksaan Leukosit

Tabel 1. Hasil Uji Verifikasi Metode

	Hasil Perhitungan (%)			Batas Target (%)	Ket
	Low	Normal	High		
CV	1,27	1,15	0,47	$\leq 3,5$	Diterima
Bias	2,41	1,74	2,44	≤ 3	Diterima
TEa	4,95	4,04	3,38	≤ 15	Diterima

Berdasarkan tabel hasil uji verifikasi metode *Sysmex XP-100* terhadap pemeriksaan leukosit, diperoleh hasil tidak melebihi batas target baik pada kontrol level low, normal, dan high yang artinya uji verifikasi metode dapat diterima.

2. Pemantapan Mutu Internal

Pemantapan Mutu Internal (PMI) terdiri dari periode pendahuluan dan periode kontrol. Pada periode pendahuluan dilakukan

25 kali pengulangan pada hari yang sama. Pada periode pendahuluan level *low* diperoleh nilai *mean* (rata-rata) sebesar 3.33 dan nilai SD sebesar 0.07. Pada pemeriksaan bahan kontrol level *normal* diperoleh nilai *mean* (rata-rata) sebesar 6.94 dan nilai SD sebesar 0.11. Pada pemeriksaan bahan kontrol level *high* diperoleh nilai *mean* (rata-rata) sebesar 17.66 dan nilai SD sebesar 0.18. Nilai yang didapatkan digunakan sebagai nilai acuan periode kontrol. Pemeriksaan bahan kontrol untuk ketiga level diukur satu kali. Hasil kontrol untuk level low $3.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan nilai satuan SDi -0.42, untuk level normal diperoleh $7.1 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan nilai satuan SDi 1.45, dan untuk level high diperoleh $17.4 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan nilai satuan SDi -1.1. Hasil yang diperoleh tersebut setelah dilakukan perhitungan dalam satuan standar deviasi (SDi) dan diplotkan pada grafik levey jennings tidak ada yang melewati batas ± 3 SD sesuai aturan Westgard Multirules.

3. Hasil Penelitian

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Leukosit

	Mean	SD
Homogenisasi sekunder 2 kali	7,41	1,81
Homogenisasi sekunder 8 kali	7,43	1,86

Dari tabel tersebut diketahui hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 kali setelah didiamkan 30 menit diperoleh rata-rata (*mean*) $7.41 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan Standar Deviasi (SD) $1,81 \times 10^3/\mu\text{L}$. Hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 8 kali setelah didiamkan 30 menit diperoleh rata-rata (*mean*) $7.43 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan Standar Deviasi (SD) $1,86 \times 10^3/\mu\text{L}$.sebesar $1,858 \times 10^3/\mu\text{L}$.

4. Analisis Data

Tabel 3. Uji Normalitas Data

	N	<i>p</i> (sig)	Taraf Sig.	Ket
Homogenisasi sekunder 2 kali	32	0,991	> 0,05	Normal

pengukuran bahan kontrol 3 level sebanyak

Homogenisasi sekunder 8 kali	32	0,765	> 0,05	Normal
------------------------------	----	-------	--------	--------

Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa hasil dari uji normalitas pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 2 kali adalah $p = 0,991$ ($p > 0.05$) yang berarti data terdistribusi normal. Sedangkan hasil dari uji normalitas pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 8 kali adalah $p = 0,765$ ($p > 0.05$) yang berarti data terdistribusi normal. Data yang distribusinya normal selanjutnya dilakukan uji parametrik yaitu uji T berpasangan (*Paired Sample T- Test*) sebagai analisis bivariat/uji hipotesis.

Tabel 4. Hasil Uji *Paired Sample T-Test*

	<i>p</i> (Sig)	Ket.
Homogenisasi sekunder 2 kali-	0.852	Tidak terdapat perbedaan
Homogenisasi sekunder 8 kali		

Berdasarkan tabel Hasil uji *Paired Sample T-Test* diperoleh *P* (Sig) sebesar 0,852 dengan taraf signifikansi 0,05. Karena p (sig) $> 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan dari hasil penelitian dan hipotesis diterima.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan atau tidak pada hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 2 dan 8 kali setelah didiamkan selama 30 menit. Subjek yang digunakan pada penelitian berjumlah 32 orang. Pada proses pengambilan sampel dari subjek penelitian, sampel darah ditampung dalam 2 tabung K_2EDTA kemudian dilakukan homogenisasi primer secara inversi (bolak-balik) sebanyak 8 kali dengan tujuan agar darah dan antikoagulan tercampur merata. Sampel yang telah dihomogenisasi primer didiamkan selama 30 menit yang kemudian dihomogenisasi sekunder dengan tujuan agar darah yang akan diperiksa tidak membentuk endapan dan darah tercampur dengan baik. Sampel darah yang telah dihomogenisasi

sekunder tersebut selanjutnya diperiksa jumlah leukositnya menggunakan alat *Sysmex XP-100* dengan metode impedance.

Pada penelitian ini, sebelum melakukan pemeriksaan sampel subjek penelitian, telah dilakukan terlebih dahulu kegiatan verifikasi metode dan Pemantapan Mutu Internal (PMI) dengan tujuan untuk memastikan bahwa metode pemeriksaan dan prosedur yang digunakan sudah benar serta hasil yang akan dikeluarkan dapat dipercaya.

Pada penelitian kali ini, metode yang digunakan yaitu metode impedance dengan alat *Sysmex XP-100*. Verifikasi metode dilakukan dengan mengukur tiga level bahan kontrol yaitu low, normal, dan high yang masing-masing diperiksa sebanyak 10 kali. Hasil dari kegiatan verifikasi metode menunjukkan bahwa pemeriksaan jumlah leukosit dapat diterima karena nilai presisi (CV) dan akurasi (bias), dan TEa yang diperoleh tidak melebihi batas target. Nilai presisi yang diperoleh digunakan untuk mengukur seberapa dekat suatu hasil pemeriksaan dengan metode impedance ini bila dilakukan berulang dengan bahan kontrol yang sama. Dikarenakan nilai presisi (CV) yang diperoleh tidak melebihi batas target maka dapat dikatakan bahwa metode impedance pemeriksaan ini memiliki ketelitian yang tinggi. Pada akurasi (bias), nilai yang diperoleh digunakan untuk mengukur ketepatan hasil pemeriksaan bahan kontrol dan sesuai dengan nilai benar setelah dilakukan secara berulang-ulang. Dikarenakan nilai akurasi (bias) yang diperoleh tidak melebihi batas target maka dapat dikatakan bahwa metode impedance pemeriksaan ini memiliki ketepatan yang tinggi. Pada TEa, nilai yang diperoleh digunakan untuk menetapkan batas ketidaktepatan atau kesalahan acak dan keakuratan yang dapat ditoleransi dalam pengukuran. Dikarenakan nilai TEa yang diperoleh tidak melebihi batas target maka dapat dikatakan bahwa metode impedance pemeriksaan ini masih dapat ditoleransi dalam pengukuran. Dari hasil verifikasi metode tersebut, dapat dikatakan bahwa metode impedance yang digunakan sudah

terverifikasi layak dilakukan untuk pemeriksaan.

Pada Pemantapan Mutu Internal (PMI) penelitian ini, dilakukan dua tahapan yaitu periode pendahuluan dan periode kontrol. Pada periode pendahuluan, 3 level bahan kontrol yaitu *low*, *normal*, dan *high* yang diukur sebanyak 25 kali pengulangan dalam hari yang sama (*within day*) sedangkan pada periode kontrol, bahan kontrol dengan 3 level diukur sebanyak satu kali sebelum melakukan pemeriksaan sampel. Dari periode pendahuluan ini, diperoleh nilai mean dan SD yang dimasukkan dalam rumus perhitungan batas peringatan dan batas kontrol ± 1 SD sampai ± 3 SD untuk dipetakan pada grafik *levey jennings*. Hasil dari batas peringatan dan batas kontrol tersebut digunakan sebagai acuan untuk hasil pada periode kontrol yang dihitung dalam satuan SDi apakah berada di luar ± 3 SD atau tidak sesuai aturan westgard multirules. Apabila hasil pemeriksaan bahan kontrol berada di luar ± 3 SD, maka hasil tersebut dinyatakan tidak diterima dan harus diulang setelah semua prosedur diperiksa terhadap adanya kesalahan. Pada penelitian ini, baik pada periode pendahuluan maupun periode kontrol, tidak ada hasil kontrol yang melewati batas ± 3 SD.

Pada penelitian ini, subjek yang berjumlah 32 orang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Subjek penelitian bersedia diambil darah dan tidak sedang mengkonsumsi obat-obatan atau antibiotik seperti aspirin, heparin, penicillin, atau kloramfenikol, serta tidak dalam keadaan sakit leukimia ataupun anemia aplastik. Hasil dari kriteria subjek tersebut telah diverifikasi melalui pengisian *informed consent*.

Hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 2 kali setelah didiamkan 30 menit diperoleh rata-rata (*mean*) $7.41 \times 10^3/\mu\text{l}$ dan nilai SD sebesar 1,811. Lalu hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder sebanyak 8 kali setelah didiamkan 30 menit diperoleh rata-rata (*mean*) $7.43 \times 10^3/\mu\text{l}$ dan nilai SD sebesar 1,858. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat

perbedaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 2 kali dan dihomogenisasi sekunder 8 kali. Tidak adanya perbedaan hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sekunder 2 kali dan 8 kali setelah didiamkan 30 menit ini karena darah yang dihomogenisasi sekunder sudah tercampur dengan baik sebelum dilakukan pemeriksaan pada alat.

Darah yang ditampung dalam K₂EDTA setelah dilakukan homogenisasi primer, apabila tidak segera diperiksa dan didiamkan maka akan mengalami pengendapan. Hal tersebut telah disebutkan dalam teori Nugraha tahun 2017 bahwa darah yang didiamkan dalam waktu 10 menit sudah mengalami penumpukan/ membentuk agregasi.

Menurut Lutpiatina (2015) yang dikutip dari Richmond *et al.*, (2002), leukosit akan berada di lapisan antara plasma dan eritrosit yang dikenal sebagai buffy coat. Adanya proses pengendapan ini, sehingga diperlukan proses homogenisasi sekunder terhadap sampel darah yang diambil agar sampel tercampur dengan baik.

Homogenisasi sekunder merupakan aturan standar yang dianjurkan sebelum melakukan pemeriksaan sampel ke alat apabila sampel telah mengalami pengendapan. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa homogenisasi sekunder adalah teknik homogenisasi yang menjamin homogenitas sel darah dan membuat sampel tercampur sempurna, sehingga hasil penelitian ini menunjukkan antara homogenisasi sekunder 2 kali dan 8 kali tidak memiliki perbedaan. Hal ini menunjukkan bahwa homogenisasi sekunder 2 kali maupun 8 kali akan memberikan hasil yang sama dan sudah cukup memadai untuk menghomogenisasikan sampel dengan jumlah tersebut setelah didiamkan 30 menit.

Pada penelitian oleh Haiti dan Lidwina (2023) tentang pemeriksaan leukosit dengan homogenisasi primer, homogenisasi sekunder sebanyak 4 dan 8 kali secara inversi (bolak balik), dan yang tidak homogenisasi. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

terhadap hasil pada sampel yang telah dihomogenisasi primer dengan sekunder 4 dan 8 kali. Berdasarkan kesimpulan hasil dari penelitian tersebut, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan kali ini yaitu pemeriksaan jumlah leukosit pada sampel darah yang dihomogenisasi sekunder 2 dan 8 kali setelah didiamkan 30 menit. Tidak adanya perbedaan ini karena darah yang dihomogenisasi sekunder 2 kali sudah tercampur dengan baik sebelum dilakukan pemeriksaan pada alat sehingga hasil yang diperoleh tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Selain itu, penelitian oleh Sebayang, *et al.*, (2021) tentang pemeriksaan kadar hemoglobin dengan teknik homogenisasi sekunder 3, 5, 7, dan 8 kali, yang telah didiamkan 60 menit pasca homogenisasi primer menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar hemoglobin. Berdasarkan kesimpulan hasil dari penelitian tersebut, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan kali ini yaitu pemeriksaan jumlah leukosit pada sampel darah yang dihomogenisasi sekunder 2 dan 8 kali setelah didiamkan 30 menit. Tidak adanya perbedaan ini karena darah yang dihomogenisasi sekunder 2 kali sudah tercampur dengan baik sebelum dilakukan pemeriksaan pada alat sehingga hasil yang diperoleh tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Pada pemeriksaan jumlah leukosit, teknik homogenisasi sekunder harus dilakukan karena sampel darah dalam tabung K₂EDTA akan mengalami proses pengendapan apabila tidak diperiksa segera. Oleh karena itu, berdasarkan hasil penelitian ini jumlah homogenisasi sekunder terhadap sampel darah dalam K₂EDTA dapat dilakukan cukup sebanyak 2 kali karena jumlah homogenisasi tersebut sudah bisa membuat sampel darah tercampur dengan baik.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dengan judul “Perbedaan Jumlah Leukosit yang Dihomogenisasi Sekunder Sebanyak 2 dan 8 Kali Setelah Didiamkan Selama 30 Menit” terhadap sampel darah dari 32 subjek dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Rata-rata hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sebanyak 2 kali setelah didiamkan 30 menit sebesar $7.41 \times 10^3/\mu\text{l}$.
- 2) Rata-rata hasil pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi sebanyak 8 kali setelah didiamkan 30 menit sebesar $7.43 \times 10^3/\mu\text{l}$.
- 3) Tidak terdapat perbedaan hasil terhadap pemeriksaan jumlah leukosit yang dihomogenisasi 2 dan 8 kali setelah didiamkan 30 menit dengan nilai P (Sig) sebesar 0,852 (sig > 0,05)

Saran

Untuk pemeriksaan jumlah leukosit dalam sampel darah yang ditampung dalam tabung K₂EDTA bisa dilakukan homogenisasi sekunder cukup sebanyak 2 kali setelah didiamkan 30 menit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ingin menyampaikan terima kasih setulus-tulusnya kepada:

1. Dr. Antonius Singgih Setiawan, S.E., M.Si selaku rektor Universitas Katolik Musi Charitas Palembang.
2. Maria Nur Aeni, SKM., M.Kes (Sr. Yuventia FCh) selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas.
3. Bapak Pra Dian Mariadi, S.Si.,M.T selaku ketua prodi DIV Teknologi Laboratorium Medik Universitas Katolik Musi Charitas Palembang.
4. Ibu Rosnita Sebayang, SKM., M.Kes, selaku pembimbing I dalam penyusunan skripsi.
5. Ibu Mustika Sari H Hutabarat, S.Si.T., M.Biomed selaku pembimbing II dalam penyusunan skripsi.

6. Ibu Margareta Haiti, S.Pd., S.Kep., M.Kes selaku penguji I dalam penyusunan skripsi.
7. Bapak Pra Dian Mariadi S.Si.,M.T selaku penguji II dalam penyusunan skripsi.
8. Teman-teman DIV Teknologi Laboratorium Medis tingkat I dan IV yang telah bersedia menjadi subjek penelitian dalam skripsi.

Referensi

- BD Vacutainer. (2019). *Order of Draw for Multiple Tube Collections*. https://www.bd.com/resource.aspx?id_x=1157 – Diakses Maret 2023
- CLSI GP41-A6 (2017). *Collection Of Diagnostic Venous Blood Specimens- Seventh Edition* from Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Darmadi & Sari, D. P. (2018). *Perbedaan Jumlah Leukosit Darah Edta Diperiksa Segera Dan Ditunda 2 Jam*. *Klinikal Sains : Jurnal Analisis Kesehatan*, Vol. 6 (2), 31.
- Haiti, M., & Christyawardani, L. S. (2023). *Teknik Inversi pada Pemeriksaan Leukosit*. *Jurnal Kesehatan dan Pembangunan*, Vol 13 (25). e-ISSN : 2656-5129 p-ISSN : 2088-5628.
- Haiti, M.; Sinaga, H.; Ramadani, U. R. (2021). *Jumlah Eritrosit dengan Teknik Homogenisasi Sekunder Inversi 5 Kali Dan 8 Kali*. *Jurnal Masker Medika*, Vol 9 (2). e-ISSN 2654-8658 p-ISSN : 2301-8631.
- Hupitoyo & Sri, M. (2019). *Biokimia Darah*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1792/MENKES/SK /XII/2010 tentang Pedoman Pemeriksaan Kimia Klinik.
- Lutpiatina, L. (2015). *Pewarnaan Gram Buffy Coat untuk Deteksi Awal Pasien Bakteremia*. *Medical Technology Journal* Vol 1(1), p. 38.
- Nugraha, G. (2015). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta : Trans Info Media.
- PerMenKes NO 43. (2013). *Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik*. Jakarta : MENKES.
- PerMenKes NO 411. (2010). *Laboratorium Klinik*. Jakarta : MENKES.
- Riswanto (2013). *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta : Alfabedia dan Kanal Media.
- Sebayang, R.; Sinaga, H.; Hutabarat, M.S. (2021). *Homogenisasi Sekunder Terhadap Kadar Hemoglobin*. *Jurnal Keperawatan Silampari*, Vol. 5 (1).
- Siregar, M.T.; Wulan, W.S.; Setiawan, D.; Nuryati, A. (2018). *Kendali Mutu*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Sujud, S.; Hardiasari, R.; Nuryati, A. (2015). *Perbedaan Jumlah Trombosit pada Darah EDTA yang Segera Diperiksa dan Penundaan Selama 1 Jam di Laboratorium RSJ Grhasia*. *Yogyakarta : Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2), p. 91. doi:10.31964/mltj.v1i2.21.
- Wahdaniah, W., & Tumpuk, S. (2018). *Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit*. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa* Vol. 1 (2).