

**PERBEDAAN SAMPEL HEMOLISIS DAN NONHEMOLISIS TERHADAP
NILAI *PROTHOMBIN TIME* (PT) PADA MAHASISWA
POLTEKKES KEMENKES KALIMANTAN TIMUR**

Najwa Nashirah^{1*}, Afika Ameliawati², Dwi Setiyo Prihandono³, Agus Rudi Hartono⁴
^{1,2,3,4} Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kementerian kesehatan
Kalimantan Timur

Jalan Kurnia Makmur No. 64 RT. 24 Kelurahan Harapan Baru Kecamatan Loa Janan Ilir Samarinda
Kalimantan Timur Indonesia 75131

*Surat elektronik: najwanashirah02@gmail.com

ABSTRAK

Hemolisis adalah pecahnya sel eritrosit yang mengakibatkan eritrosit melepaskan hemoglobin ke dalam serum atau plasma. Sampel yang hemolisis akan berpengaruh terhadap kesalahan pra-analitik di banyak laboratorium. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan *Prothombin Time* (PT) pada sampel hemolisis dengan non hemolisis. Jenis penelitian ini bersifat Eksperimen Semu (Quasi Eksperimental Design). Rancangan desain penelitian yang digunakan adalah *Nonequivalent Control Group Design* yaitu desain yang melakukan pengukuran pada kelompok yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah natrium sitrat hemolisis dan non hemolisis sebanyak 39 spesimen. Analisis normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk*. Uji *T-Test* berpasangan untuk mengetahui perbedaan sampel hemolisis dan non hemolisis. Hasil penelitian ini didapatkan rata-rata nilai *Prothombin Time* sampel non hemolisis sebesar 15 detik, sampel hemolisis ringan sebesar 9 detik dan hemolisis sedang sebesar 8 detik. Pada hasil uji univariat didapatkan hasil memendek pada sampel hemolisis ringan dan hemolisis sedang. Pada Hasil uji bivariat didapatkan hasil terdistribusi normal dan didapatkan ada perbedaan nilai *Prothombin Time* pada sampel hemolisis dan non hemolisis. Kesimpulan penelitian ini adalah adanya perbedaan yang signifikan pada sampel hemolisis dan non hemolisis terhadap nilai *Prothombin Time* dengan p value < 0,05.

Kata kunci: Foto Optik, Hemolisis, *Prothombin Time*.

ABSTRACT

Haemolysis is the rupture of erythrocyte cells which results in the erythrocytes releasing haemoglobin into the serum or plasma. Haemolysed samples will affect pre-analytical errors in many laboratories. The purpose of this study was to determine the difference in the results of Prothombin Time (PT) examination in haemolysis samples with non-hemolysis. This type of research is a quasi-experimental design. The research design used is Nonequivalent Control Group Design, which is a design that takes measurements in treated and untreated groups. The samples used in this study were blood sodium citrate haemolysis and non-hemolysis as many as 39 specimens. Data normality analysis using Shapiro Wilk. Paired T-Test test to determine the difference between haemolysis and non-haemolysis samples. The results of this study showed that the average Prothombin Time value of non-hemolysis samples was 15 seconds, mild hemolysis samples were 9 seconds and moderate hemolysis was 8 seconds. In the univariate test results, the results were shortened in mild haemolysis and moderate haemolysis samples. In the bivariate test results obtained normal distributed results and obtained there is a difference in Prothombin Time values in hemolysis and non-hemolysis samples. The conclusion of this study is that there is a significant difference in hemolysis and non-hemolysis samples on the value of Prothombin Time with p value <0.05.

Keywords: Haemolysis, Photo Optic, Prothombin Time

PENDAHULUAN

Sampel darah yang mengalami hemolisis biasanya terjadi pada saat masa pra-

analitik. Masalah ini merupakan masalah umum yang biasanya terjadi di laboratorium, terutama pada saat situasi *emergency*.

Beberapa hal yang berpotensi dalam terjadinya sampel hemolisis adalah pada saat pengambilan teknik sampling yang salah, sentrifugasi yang berlebihan serta pada saat pengiriman sampel ke laboratorium (Laura *et al* 2017).

Menurut Wan *et al* (2019) sampel yang mengalami hemolisis biasanya terjadi secara *in vivo* dan *in vitro*. *In vivo* hemolisis terjadi karena adanya sejumlah penyakit penyerta yang berada dalam tubuh pasien (terutama pasien dengan gangguan anemia hemolitik). Sedangkan hemolisis *in vitro* disebabkan oleh adanya prosedur yang tidak tepat pada saat pengambilan sampel atau salah penanganan selama pengumpulan spesimen.

Penolakan sampel darah yang mengalami hemolisis sudah menjadi sebuah kebijakan tersendiri di sebuah laboratorium. Terdapat sekitar 40 hingga 70 % spesimen hemolisis terjadi di laboratorium, diikuti dengan adanya faktor lain seperti kurangnya volume sampel yang dibutuhkan sekitar 10-20%

Menurut Rocky *et al* (2022) *Prothrombin Time (PT)* adalah salah satu pemeriksaan darah rutin di laboratorium klinik yang digunakan untuk mengevaluasi status koagulasi pasien atau digunakan sebagai skrining hemostasis darah. seseorang. Pada pemeriksaan PT dikhususkan pada pemeriksaan faktor ekstrinsik dan common pathways pada proses koagulasi, faktor ekstrinsik ini seperti II, V, VII, dan X, dan adanya tingkat fibrinogen yang rendah.

Menurut *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)* sampel yang mengalami hemolisis tidak boleh digunakan karena memungkinkan adanya gangguan faktor pembekuan serta adanya kesalahan yang terjadi pada titik akhir pemeriksaan.

Perlu diperhatikan bahwa pada pemeriksaan klinik laboratorium yang mengalami hemolisis dapat mempengaruhi hasil, memungkinkan hasil yang didapatkan lebih rendah ataupun lebih tinggi dari nilai normal yang ada.

METODE

1. Sampel Penelitian dan Teknik Sampling

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan penelitian bersifat Eksperimen Semu (Quasi Eksperimental Design). Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan yang terjadi antara sampel yang mengalami hemolisis dengan diberikan perlakuan antara sampel hemolisis ringan dan hemolisis sedang, serta sampel non hemolisis yang tidak diberi perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan *Prothrombin Time (PT)* untuk mengetahui sampel hemolisis dapat mempengaruhi pemeriksaan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret tahun 2024 di Laboratorium Hematologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Sampel pada penelitian ini berjumlah 40 orang dengan menggunakan teknik purposive sampling. Dengan kriteria inklusi spesimen darah menggunakan tabung Na sitrat dengan perbandingan 9:1, serta kriteria eksklusi. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji statistic normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji perbedaan *T-Test Berpasangan*. Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kaltim dengan nomor DP.04.03/F.XLII.25/0027/2024.

2. Metode

Sampel Hemolisis di laboratorium biasanya terjadi akibat adanya masalah pra analitik, analitik maupun pasca analitik. Kesalahan-kesalahan ini juga terjadi akibat adanya kesalahan secara in-vitro dan in-vivo. Kesalahan in-vitro ini biasanya terjadi pada saat pengambilan sampel yang salah serta prosedur yang salah. Sedangkan in-vivo hemolisis terjadi akibat adanya sejumlah keadaan atau penyakit pada pasien.

Rekayasa pembuatan sampel hemolisis ringan dengan cara sampel darah natrium sitrat dilakukan aspirasi sampel sebanyak 10 kali atau hingga sesuai dengan hemolisis *chart palette*, centrifuge dengan

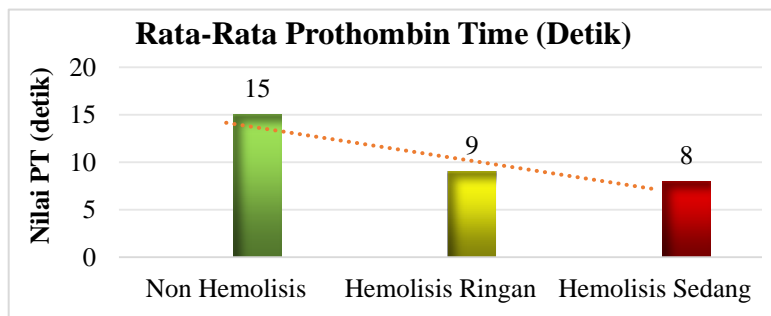
kecepatan 1500 rpm selama 5 menit, Kemudian lakukan pengecekan hemoglobin pada sampel plasma yang mengalami hemolisis, dengan menggunakan sampel plasma sebanyak 20 ul, dan larutan drabkins sebanyak 5000 ul, lalu homogenkan dan periksa menggunakan fotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

Pembuatan sampel hemolisis sedang dengan cara sampel darah natrium sitrat dilakukan aspirasi sampel sebanyak 30 kali atau hingga sesuai dengan hemolisis *chart palette*, centrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit, Kemudian lakukan

pengecekan hemoglobin pada sampel plasma yang mengalami hemolisis, dengan menggunakan sampel plasma sebanyak 20 ul, dan larutan drabkins sebanyak 5000 ul, lalu homogenkan dan periksa menggunakan fotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kalimantan Timur pada tanggal 18 Maret - 28 Maret 2024 didapatkan hasil yaitu sebagai berikut.



Gambar 1. Rata-Rata Hasil Pemeriksaan PT (Detik)

Berdasarkan hasil penelitian grafik diatas didapatkan bahwa rata-rata sampel non hemolisis pada pemeriksaan Prothombin Time didapatkan nilai sebanyak 15 detik, sampel

yang mengalami hemolisis didapatkan nilai sebanyak 9 detik dan hemolisis sedang didapatkan nilai sebanyak 8 detik.

Tabel 1. Hasil uji Normalitas Kadar Hemoglobin Pada Sampel Non

Kelompok Perlakuan	Nilai P	Makna Uji
Non Hemolisis	0,999	Terdistribusi Normal
Hemolisis Ringan	0,622	Terdistribusi Normal
Hemolisis Sedang	0,866	Terdistribusi Normal

Berdasarkan tabel di atas kadar hemoglobin dari tiga perlakuan hasil uji normalitas p value > 0,05 dengan kemaknaan data terdistribusi normal. Didapatkan hasil rata-rata pemeriksaan *Prothombin Time* (PT) pada sampel non hemolisis, hemolisis ringan dan

hemolisis sedang terlihat adanya grafik yang menurun dari sampel non hemolisis, hemolisis ringan lalu kemudian hemolisis sedang. Sampel non hemolisis pada pemeriksaan *Prothombin Time* adalah 15.1 detik, sampel yang mengalami hemolisis

ringan adalah 8.9 detik dan yang mengalami hemolisis sedang adalah 8.5 detik. Hal ini dinyatakan bahwa adanya pemendekan nilai *Prothombin Time* (PT) pada sampel yang mengalami hemolisis, dimana nilai normal pemeriksaan PT sendiri adalah 11 sampai 18 detik.

Pemendekan interpretasi nilai *Prothombin Time* (PT) terjadi karena adanya peningkatan kadar hemoglobin pada plasma, pada peneliti sebelumnya juga mengatakan bahwa hal tersebut terjadi karena adanya pelepasan zat hemoglobin yang dapat mengaktifkan sistem koagulasi darah sehingga dapat menyebabkan pemendekan nilai *Prothombin Time* pada sampel yang mengalami hemolisis (Hernaningsih & Akualing, 2017).

Data yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang lain. Hal ini dijelaskan pada penelitian Arora *et al* pada penelitian ini didapatkan hasil pemendekan pada sampel *Prothombin Time* yang mengalami hemolisis namun pada penelitiannya sampel yang didapatkan merupakan sampel pasien yang memiliki indikasi klinis dan penilaian sampel mengalami hemolisis hanya dilihat berdasarkan *Color Chart* sampel yang terindikasi lisis dengan satuan mg/dl.

Pemendekan ataupun pemanjangan yang terjadi pada pemeriksaan *Prothombin Time* (PT) dengan menggunakan alat foto optik terjadi karena prinsip kerja pada alat foto optik yaitu dengan melakukan penyerapan cahaya, kemudian apabila kuvet yang berisi sampel berwarna dilewati oleh sinar maka sinar tersebut akan ditahan dan sebagian akan diteruskan. Maka dari itu, jika sampel yang mengalami hemolisis dilakukan dengan menggunakan metode foto optik maka spesimen yang berada pada kuvet akan menjadi warna merah dan mengakibatkan penyerapan cahaya pada alat foto optik terganggu.

Sampel yang mengalami hemolisis menyebabkan absorbansi yang tinggi akibat

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah didapatkan, maka penulis dapat menyimpulkan adanya perbedaan nilai yang signifikan pada sampel

adanya pecahnya hemoglobin dan juga pecahnya molekul membran plasma seperti protase, fosfolipid dan adenosin fosfat yang dapat mengaktifkan pembekuan darah dan trombosit secara cepat, maka dari itu sampel hemolisis dapat menyebabkan pemendekan nilai pada pemeriksaan koagulasi darah seperti PT dan APTT (Hernaningsih & Akualing, 2017).

Didapatkan hasil uji nilai normalitas pada sampel non hemolisis, hemolisis ringan dan hemolisis sedang dengan menggunakan metode *Shapiro Wilk* (p value $> 0,05$) didapatkan hasil terdistribusi normal, lalu dilanjutkan pada tabel 4.2 dengan di dapatkan dengan hasil uji *T-Test* Berpasangan didapatkan adanya perbedaan antara sampel non hemolisis dengan hemolisis ringan $P0.00$ serta non hemolisis dengan hemolisis sedang $P0.000$. Hal ini dinyatakan bahwa adanya perbedaan yang signifikan sampel yang non hemolisis dengan sampel yang mengalami hemolisis ringan dan juga sampel yang mengalami hemolisis sedang.

Oleh karena itu, proses tahap pra analitik di laboratorium seharusnya perlu diperhatikan lagi cara pengambilan sampel yang benar, penggunaan jarum yang terlalu kecil, ataupun pada saat pengantaran sampel ke laboratorium terjadinya guncangan yang terlalu kuat. Sampel yang mengalami kerusakan seperti sampel yang lisis tidak baik digunakan terutama pemeriksaan yang mengandalkan enzim didalamnya. Penatalaksanaan sampel hemolisis di laboratorium dapat dilakukan dengan melakukan pengambilan dan penanganan sampel sesuai dengan standar operasional yang ada, penggunaan modul di laboratorium juga dapat membantu menganalisis permasalahan laboratorium. Modul ini dapat berisikan indeks serum hemolisis di laboratorium yang dapat digunakan sebagai acuan sampel yang mengalami hemolisis.

non hemolisis dibandingkan dengan sampel hemolisis ringan terhadap nilai *Prothombin Time*. Adanya perbedaan nilai yang signifikan pada sampel non hemolisis dibandingkan dengan sampel hemolisis ringan terhadap nilai

Prothombin Time. Serta adanya perbedaan nilai yang signifikan pada sampel non hemolisis dibandingkan dengan sampel hemolisis sedang terhadap nilai *Prothombin Time*. Didapatkan hasil yang memendek pada sampel hemolisis ringan dan hemolisis sedang dibandingkan sampel non hemolisis terhadap nilai *Prothombin Time*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dituliskan kepada semua pihak yang membantu serta memberi dukungan dalam kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, S., Kolte, S., & Dhupia, J. (2014). *Hemolyzed Samples Should Be Processed for Coagulations Studies :The Study Of Hemolysis Effects on Coagulation Parameters*. *Pubmed Journal*, 4(2), 1–10.
- Azman, W. N. W., Omar, J., Koon, T. S., & Ismail, T. S. T. (2019). *Hemolyzed specimens: Major challenge for identifying and rejecting specimens in clinical laboratories*. *Oman Medical Journal*, 34(2), 94–98.
- Centers of Vector-Borne Diseases (CVBD). (2023). *A Quick-Reference Tool for Hemolysis Status*. Diakses pada 10 Oktober 2023, dari <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/specimensub/hemolysis-palette>
- Heiran, L., Geel, P. Van, Musger, L., Heylen, E., Uyttenbrock, W., & Mahieu, B. (2017). *Causes, Consequences and Management of Sample Hemolysis in the Clinical Laboratory*. *Pubmed Journal*, 50 (18), 1317-1322.
- Hernaningsih, Y., & Akualing, J. S. (2017). *The effects of hemolysis on plasma prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests using photo-optical method*. *Pubmed journal*, 96(38), 1–5.
- Krasowski, M. D. (2019). *Educational Case: Hemolysis and Lipemia Interference With Laboratory Testing*. *Academic Pathology. Pubmed Journal*, 6, 1-5.
- Lippi, G. (2015). *Systematic Assesment of the Hemolysis Index: Pros and Cons*. *Pubmed Journal*, 71, 157 - 170.
- Lippi, G., Von Meyer, A., Cadamuro, J., & Simundic, A. M. (2019). *Blood Sample Quality. Diagnosis. Pubemd Journal*, 6(1), 25–31.
- Najat D. (2017). *Prevalence of Pre-Analytical Errors in Clinical Chemistry Diagnostic Labs in Sulaimani City of Iraqi Kurdistan*. *Pubmed Jorunal*, 12(1).
- Rocky yang, L. M. (2022). *Prothombin Time*. Statpearls Publishing. Diakses pada 10 Oktober 2023, dari <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31334989/>
- Yang R, Moosavi L. *Prothrombin Time*. In: StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Diakses pada 10 Oktober 2023, dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544269/>
- Wang, X., Cheng, Q., Xu, L., Feuerstein, G. Z., Hsu, M. Y., Smith, P. L., Seiffert, D. A., Schumacher, W. A., Ogletree, M. L., & Gailani, D. (2005). *Effects of factor IX or factor XI deficiency on ferric chloride-induced carotid artery occlusion in mice*. *Pubmed Journal*, 3(4), 695–702.