

## Pengaruh Antikoagulan dan Waktu Penyimpanan terhadap Profil Hematologis Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar

Laksmindra Fitria<sup>1\*)</sup>, Lia Lavi Illiy<sup>2)</sup>, dan Indah Riwantrisna Dewi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

<sup>2)</sup>Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Jalan Teknika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281 – Telp/Faks: (0274) 580839

\*e-mail: laksmindraf@ugm.ac.id

### Abstract

Blood is important component since it reflects individual physiological condition. Therefore, blood becomes one of fundamental parameters in preclinical/biomedical test. Hematology is the study of peripheral blood cells condition in normal and disease. Erythrocytes and leukocytes profiles are main parameters in routine hematological evaluation. Blood samples sometimes cannot be examined immediately for various reasons. To keep the condition, anticoagulant is added and then stored in refrigerator for several hours to several days. This research was carried out to study the profiles of erythrocytes and leukocytes in healthy/normal Wistar rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) blood samples with EDTA or Heparin and different storage duration (0, 6, 18, 24, and 48 hours). For further discussion, data were statistically analyzed using two-factor ANOVA ( $P < 0.05$ ). Results showed that anticoagulants significantly affected erythrocytes and leukocytes profiles ( $P < 0.05$ ). Erythrocytes profile in EDTA-blood sample was lower than which with Heparin. In contrast to the leukocytes profile, EDTA-blood sample was higher than which with Heparin. With increasing storage duration, erythrocytes, total leukocytes, neutrophils, and lymphocytes counts decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Storage duration did not significantly affect hematocrit value, hemoglobin concentration, as well as monocytes, eosinophils, and basophils counts ( $P > 0.05$ ). In conclusion, the best hematological examination is using plain blood (without anticoagulant), however it must be accomplished immediately after the sample is obtained. If it is impossible, EDTA- or Heparin-blood samples can be used, in which the anticoagulant type must be stated in the report. Likewise, hematological examination using anticoagulant also should be performed soon after the sample is received.

Keywords: hematology, anticoagulant, storage, Wistar rats

### Pendahuluan

Darah merupakan jaringan ikat khusus yang beredar di seluruh tubuh, berperan dalam pengangkutan gas-gas pernafasan, hasil pencernaan, komponen-komponen fungsional seperti enzim, hormon, dan berbagai molekul lainnya, serta pembuangan limbah metabolisme. Darah tersusun dari komponen sel dan cairan yang disebut plasma. Sel-sel darah terdiri atas eritrosit, leukosit, dan trombosit. Masing-masing sel memiliki tugas yang penting untuk

menunjang aktivitas tubuh (Keohane *et al.*, 2015). Oleh karena itu, pemeriksaan darah dapat menunjukkan kondisi fisiologis suatu individu sebagai bentuk tanggapan terhadap perubahan status fisiko-kimia di lingkungannya. Karena alasan ini, maka darah menjadi salah satu parameter pokok dalam penelitian praklinik/biomedik (Fitria dan Sarto, 2014).

Menurut Keohane *et al.* (2015), hematologi adalah ilmu yang mempelajari pemeriksaan kondisi sel-sel darah perifer dalam kondisi normal maupun patologis.

Pencatatan profil hematologis pada hewan-hewan sehat atau normal secara berkala dapat digunakan sebagai acuan nilai awal (*baseline*) atau kontrol dalam suatu penelitian (Fitria dan Sarto, 2014). Di wilayah Biologi, kajian hematologis menyediakan deskripsi profil darah organisme, baik hewan ataupun manusia. Di kajian praklinik, data hematologis menjadi acuan sebelum penelitian dilanjutkan ke tahap berikutnya. Di bidang medis/klinis, uji hematologis digunakan untuk kepentingan diagnosis, prognosis, dan pemantauan selama proses terapi dan pengobatan (Keohane *et al.*, 2015).

Salah satu parameter pemeriksaan hematologis yang rutin dilakukan adalah hitung darah lengkap atau *complete blood count* (CBC). Variabel pengamatan berdasarkan rekomendasi *International Committee for Clinical Pathology Harmonization* meliputi: **Profil eritrosit:** jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, perhitungan *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH), dan *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC); **Profil leukosit:** jumlah leukosit total dan diferensial yang tersusun dari neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil; serta **Profil trombosit:** jumlah trombosit dan perhitungan *mean platelet volume* (MPV) (Reagan *et al.*, 2010).

Penanganan sampel darah menentukan hasil pemeriksaan hematologis, antara lain medium, pH, suhu, tonisitas, perlakuan mekanik, dan lain-lain. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pengujian hematologis terutama adalah antikoagulan, jeda waktu setelah sampel diperoleh hingga dilakukan

## Materi dan Metode

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Wistar jantan yang telah dewasa atau berumur 8 minggu. Hewan uji diperoleh dari LPPT-UGM Unit IV dengan rerata berat badan 200 g sebanyak 5 ekor. Tiga buah tabung koleksi darah kapiler *Greiner Bio-One VACUETTE® MiniCollect®* disiapkan, terdiri atas tabung yang telah mengandung K3-EDTA (tutup warna

pemeriksaan, dan penyimpanan (Cora *et al.*, 2012; Lindstrom *et al.*, 2015). Luka pada pembuluh darah mengakibatkan keluarnya darah (perdarahan). Darah yang keluar dari pembuluh akan segera mengalami koagulasi (*clotting*). Oleh karena itu diperlukan penambahan zat untuk mencegah koagulasi darah yang dikenal sebagai antikoagulan. Jenis antikoagulan yang sering digunakan adalah *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA) dan Heparin. EDTA bekerja dengan cara mengikat kalsium yang dibutuhkan untuk proses koagulasi, sedangkan Heparin bekerja dengan cara mengikat antitrombin dan menghambat aktivasi trombin (Keohane *et al.*, 2015).

Sampel darah yang diterima kadangkala tidak langsung diperiksa karena berbagai alasan. Untuk menjaga kondisi supaya tidak rusak, maka sampel darah biasanya disimpan di dalam lemari pendingin (*refrigerator*) bersuhu 4 °C selama beberapa jam hingga beberapa hari. Penyimpanan sampel darah dan penggunaan antikoagulan yang berbeda menentukan reliabilitas dan validitas hasil pengujian hematologis. Penundaan pemeriksaan menyebabkan perubahan hasil uji karena sifat darah yang cepat rusak apabila dibiarkan di kondisi yang tidak ideal (Queen *et al.*, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil eritrosit dan leukosit pada sampel darah tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar yang sehat/normal dengan antikoagulan EDTA atau Heparin dan variasi waktu penyimpanan, yaitu 6, 18, 24, dan 48 jam di dalam lemari pendingin.

lavender), tabung yang telah mengandung Li-Heparin (tutup warna hijau), dan sebagai kontrol adalah tabung tanpa antikoagulan (tutup warna putih). Sampel darah dikoleksi dari *sinus retro-orbitalis* setelah hewan uji dianestesi menggunakan Ketalar® dosis 50 mg/kg berat badan.

Profil hematologis yang diamati meliputi: **Profil eritrosit:** jumlah eritrosit ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ), nilai hematokrit (%), dan kadar hemoglobin (g/dL); **Profil leukosit:** jumlah leukosit total dan diferensial

( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ). Cara penghitungan dilakukan secara manual berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Rodak (Keohane *et al.*, 2015), yaitu menggunakan hemositometer *double improved* Neubauer untuk penghitungan jumlah eritrosit dan leukosit, sentrifus mikrohematokrit untuk penentuan nilai hematokrit, hemoglobinometer Sahli untuk pengukuran kadar hemoglobin, dan preparat apus darah tipis (hemogram) dengan pewarna Giemsa 1:20 untuk pengamatan leukosit diferensial yang terdiri atas neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil. Pemeriksaan hematologis dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi

Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pengamatan dilakukan pada sampel darah kondisi segar atau jam ke-0 dan setelah disimpan di dalam lemari pendingin (*refrigerator*) bersuhu  $4\text{ }^\circ\text{C}$ , yaitu pada jam ke-6; 18; 24; dan 48.

Hasil pemeriksaan profil eritrosit dan leukosit ditabulasi untuk dihitung rerata dan penyimpangannya, kemudian disajikan dalam bentuk histogram. Untuk mempelajari lebih lanjut hasil pemeriksaan hematologis, maka dilakukan analisis secara statistik berdasarkan ANOVA *two-factor* ( $P < 0,05$ ) menggunakan piranti lunak Microsoft<sup>®</sup> Excel<sup>®</sup> 2010.

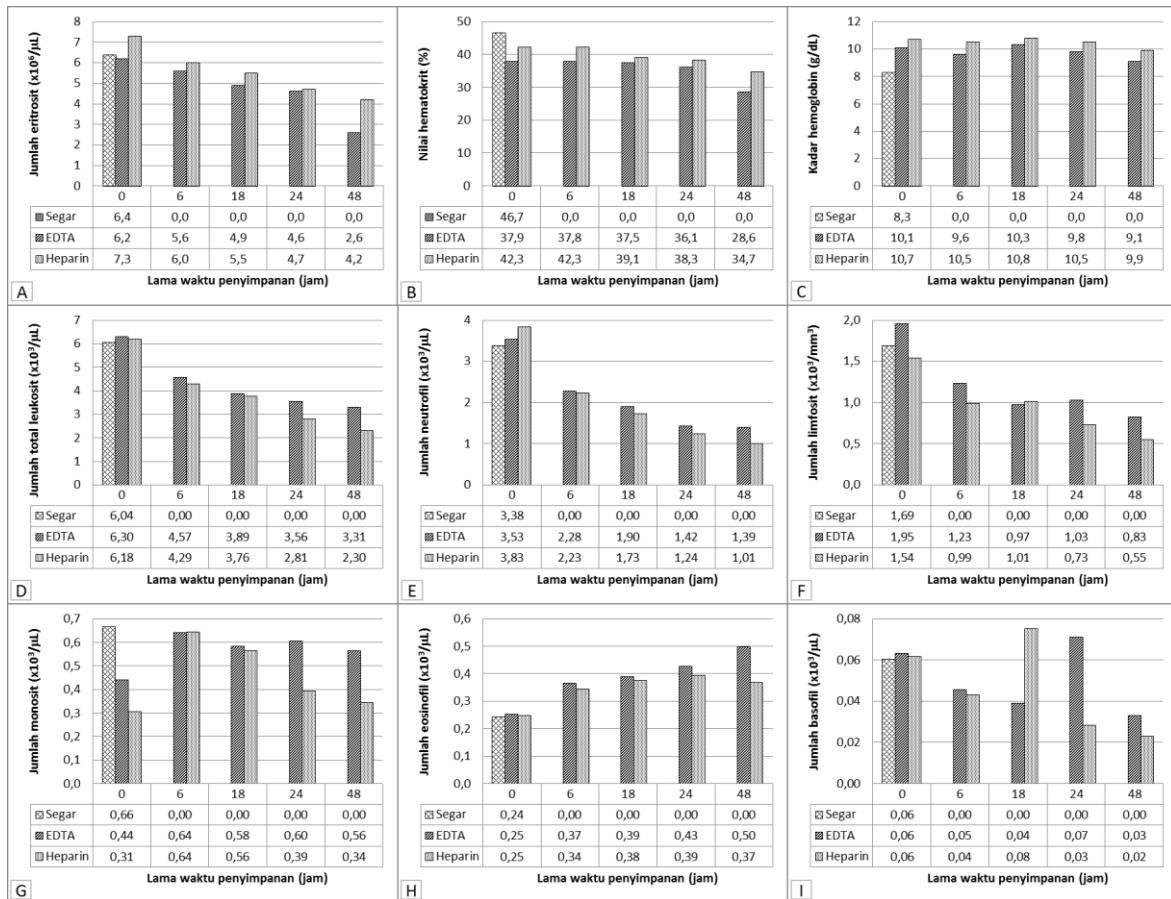
## Hasil dan Pembahasan

Penentuan profil hematologis yang terbaik adalah yang menggunakan darah tanpa antikoagulan dan dilakukan segera setelah sampel diperoleh. Berdasarkan Schermer (1967) dalam Ringler and Dabich (1979), waktu koagulasi pada tikus laboratorium berkisar antara 2-5 menit. Dengan demikian, sampel darah tanpa antikoagulan hanya dapat diuji pada kondisi segar (jam ke-0), yaitu segera setelah sampel diperoleh atau kurang dari 2 menit. Darah setelah keluar dari pembuluhnya akan segera mengalami koagulasi. Oleh karena itu sampel darah tanpa penambahan antikoagulan tidak dapat disimpan karena telah rusak sehingga tidak dapat dilakukan pemeriksaan hematologis. Menurut Butenas and Mann (2002), koagulasi darah dimulai sesaat setelah endotelium mengalami kerusakan secara fisik (luka) atau akibat efek zat kimia seperti sitokin dalam proses inflamasi sehingga terjadi perdarahan (*bleeding*). Kondisi ini mengaktifasi faktor jaringan (kofaktor) untuk membentuk kompleks dengan protease serin (faktor VIIa) dalam darah yang menginisiasi reaksi *cascade* koagulasi dari jalur ekstrinsik. EDTA mengikat kalsium yang diperlukan untuk

aktivasi faktor X bersama-sama dengan faktor VIIa, sementara Heparin menghambat aktivasi faktor XII yang merupakan awal reaksi *cascade* koagulasi dari jalur intrinsik.

Dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan profil trombosit dan faktor-faktor yang mempengaruhi hemostasis seperti waktu perdarahan, waktu koagulasi, kadar kalsium darah, dan lain-lain. Menurut Vagdatli *et al.* (2010), profil trombosit lengkap meliputi jumlah trombosit, *mean platelet volume* (MPV), *mean platelet component* (MPC) dan *platelet distribution width* (PDW). Untuk mendapatkan profil hematologis yang baik, maka disarankan adanya penelitian lanjutan dengan parameter profil trombosit lengkap, sehingga diperoleh data pendukung untuk menjelaskan kondisi sampel darah dengan antikoagulan yang berbeda. Apabila semua indeks trombosit tersebut ditentukan, maka dapat digunakan untuk mempelajari aktivasi proses koagulasi.

Profil hematologis yang terdiri dari profil eritrosit dan leukosit dari sampel darah tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar dengan variasi antikoagulan dan waktu penyimpanan disajikan pada Gambar 1 berikut ini :



Gambar 1. Profil hematologis sampel darah tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar dengan variasi antikoagulan dan waktu penyimpanan.

Keterangan: A= Jumlah eritrosit; B= Nilai hematokrit; C= Kadar hemoglobin; D= Jumlah total leukosit; E= Jumlah neutrofil; F= Jumlah limfosit; G= Jumlah monosit; H= Jumlah eosinofil; I= Jumlah basofil.

Berdasarkan jenis antikoagulan, nilai profil eritrosit pada sampel darah-EDTA lebih rendah daripada sampel darah-Heparin. Sebaliknya pada pemeriksaan profil leukosit, sampel darah-EDTA memiliki kecenderungan nilai lebih tinggi daripada sampel darah-Heparin. Walencik and Witeska (2007) menyatakan bahwa EDTA dapat menyebabkan eritrosit mengalami hemolisis sehingga jumlahnya berkurang. Oleh karena itu tidak disarankan menggunakan EDTA untuk pemeriksaan profil eritrosit. EDTA dapat digunakan untuk pemeriksaan profil leukosit, namun Heparin adalah yang terbaik. Namun demikian, menurut Stokol *et al.* (2014), Heparin juga dapat menyebabkan agregasi sel-sel darah sehingga mengganggu pemeriksaan hematologis.

Untuk mengantisipasi terjadinya hemolisis atau agregasi ini, maka konsentrasi antikoagulan harus diperhatikan, sehingga sesuai dengan kondisi lingkungan yang dibutuhkan oleh sel-sel darah (Ekanem *et al.*, 2012).

Seiring bertambahnya waktu penyimpanan, jumlah eritrosit, nilai hematokrit, jumlah total leukosit, neutrofil, limfosit, dan monosit mengalami penurunan (Gambar 1.A-B, F-G). Sementara itu, kadar hemoglobin relatif stabil (Gambar 1.C), jumlah eosinofil mengalami peningkatan (Gambar 1.H), dan jumlah basofil fluktuatif (Gambar 1.I). Penelitian oleh Al-Nuaimy (2008) pada sampel darah manusia juga memberikan hasil yang serupa. Adanya perubahan pada profil eritrosit dan leukosit selama penyimpanan berkaitan dengan

perubahan fisiko-kimiawi yang dikenal sebagai *storage lesion*.

Untuk mempelajari lebih lanjut hasil pemeriksaan hematologis, maka di-

lakukan analisis secara statistik berdasarkan ANOVA *two-factor* ( $P < 0,05$ ). Rangkuman hasil analisisnya disajikan pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Rangkuman hasil analisis statistik profil hematologis sampel darah tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar dengan variasi antikoagulan dan waktu penyimpanan.

VARIABEL	ANTIKOAGULAN		WAKTU PENYIMPANAN	
	$P < 0,05$	$P > 0,05$	$P < 0,05$	$P > 0,05$
<b>A. PROFIL ERITROSIT</b>				
1. Jumlah eritrosit ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	v		v	
2. Nilai hematokrit (%)	v			v
3. Kadar hemoglobin (g/dL)	v			v
<b>B. PROFIL LEUKOSIT</b>				
1. Jumlah total leukosit ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v		v	
2. Jumlah neutrofil ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v		v	
3. Jumlah limfosit ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v		v	
4. Jumlah monosit ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v			v
5. Jumlah eosinofil ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v			v
6. Jumlah basofil ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	v			v

Berdasarkan Tabel 1, antikoagulan ternyata berpengaruh secara signifikan terhadap semua paramater profil eritrosit dan leukosit yang diuji ( $P < 0,05$ ). Oleh karena itu, pemeriksaan profil hematologis sebaiknya menggunakan darah tanpa antikoagulan dan dilakukan segera setelah sampel diperoleh. Mengingat bahwa waktu koagulai darah pada tikus laboratorium berkisar antara 2-5 menit (Schermer, 1967 dalam Ringler and Dabich, 1979), maka pemeriksaan profil hematologis menggunakan darah segar sebaiknya dilakukan kurang dari 2 menit untuk mengantisipasi terjadinya koagulasi.

Menurut Baker *et al.* (1993), Apabila pemeriksaan tidak memungkinkan untuk langsung dilakukan karena berbagai alasan, maka dapat digunakan anti-koagulan yang sesuai dan jenis antikoagulan harus dijelaskan dalam pelaporan. Menurut Stokol *et al.* (2014), pada umumnya pemeriksaan hematologis menggunakan antikoagulan EDTA. Heparin tidak disarankan untuk hitung darah lengkap karena sel-sel akan menggumpal (agregasi) yang me-

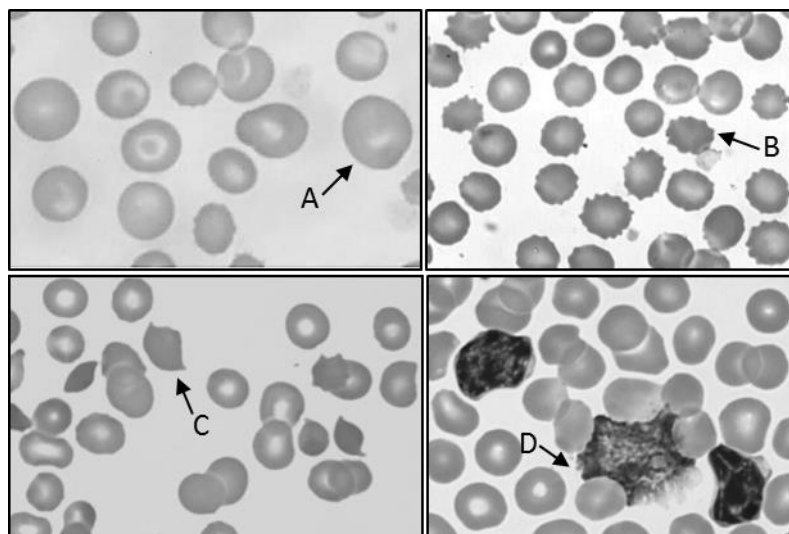
ngakibatkan penghitungan tidak valid. Untuk pemeriksaan hematologis pada Mammal lebih baik menggunakan EDTA, sedangkan Heparin lebih tepat digunakan untuk uji kimia darah (Perelman, 1999 dalam Mafuvadze and Erlwanger, 2007). Penggunaan EDTA untuk pemeriksaan hematologis dan morfologis sel-sel darah bahkan telah direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Haematology* sejak tahun 1993 (Freise *et al.*, 2009). Apabila dibutuhkan nilai pembandingan sebagai rujukan (misalnya untuk kepentingan dignostik), maka hendaknya juga mengacu pada profil hematologis normal dari sampel darah yang diketahui menggunakan anti-koagulan yang sama dengan sampel darah yang diuji.

Menurut Cora *et al.* (2012) dan Lindstrom *et al.* (2015), sampel darah tikus dan mencit dengan EDTA lebih stabil dan dapat disimpan pada suhu ruangan maupun di dalam lemari pendingin hingga 48 jam. Namun demikian, Stokol *et al.* (2014) menyarankan bahwa apabila tidak bisa langsung diperiksa, darah-EDTA

sebaiknya disimpan di dalam lemari pendingin segera setelah pengambilan darah (koleksi) dari hewan yang akan diuji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil hematologis sampel darah tikus mengalami perubahan yang signifikan setelah penyimpanan selama 24 jam.

Berdasarkan Tabel 1, waktu penyimpanan ternyata menurunkan jumlah eritrosit, total leukosit, neutrofil, dan limfosit secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Makin lama penyimpanan maka jumlah sel-sel terhitung makin berkurang karena sel-sel rusak (hemolisis) atau mati. Selama penyimpanan, sel-sel darah mengalami perubahan biokimiawi, biomekanis, dan reaksi imunologis, menyebabkan terjadinya kerusakan struktural/morfologis yang dikenal sebagai *storage lesion*. Eritrosit adalah sel darah yang paling mudah mengalami kerusakan ini. Konsentrasi antikoagulan yang tidak

tepat juga dapat menyebabkan gangguan tonisitas, menyebabkan pembengkakan sel, hemolisis, atau krenasi (Ekanem *et al.*, 2012). Sampel darah tikus Sprague-Dawley dengan EDTA yang telah mengalami proses penyimpanan menunjukkan adanya pembengkakan eritrosit maupun krenasi (*echinocyte*), sementara leukosit rusak, degenerasi, dan terjadi autolisis menjadi *smudge cell*. Hal ini terjadi karena kekurangan ATP, gangguan homeostasis kalsium, pH tinggi, dan pengaruh tonisitas (Cora *et al.*, 2012). Lebih lanjut dinyatakan oleh Stokol *et al.* (2014) bahwa EDTA bersifat hipertonik terhadap sel-sel darah, sehingga konsentrasinya harus tepat. Beberapa gambaran morfologis kerusakan eritrosit dan leukosit akibat penyimpanan yang dijumpai dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 2 :



Gambar 2. Perubahan morfologis eritrosit dan leukosit akibat penyimpanan yang dijumpai dalam penelitian ini (berdasarkan Cora *et al.*, 2012).

Keterangan: A= pembengkakan eritrosit; B= krenasi (*echinocyte*); C= hemolisis; D= *smudge cell*.

Perubahan ukuran eritrosit dapat dipelajari secara kuantitatif dengan menghitung MCV. Pada penelitian ini tidak dilakukan perhitungan MCV. Disarankan untuk menghitung indeks eritrosit yang meliputi MCV, MCH, dan MCHC dalam penelitian serupa. Hemolisis dapat diamati dari warna plasma yang menjadi kemerahan karena

hemoglobin. Makin banyak hemoglobin yang dilepaskan dari eritrosit yang lisis, maka kadar hemoglobin terhitung meningkat. Perubahan warna plasma sudah tampak pada pengamatan jam ke-6, baik pada sampel darah dengan EDTA maupun Heparin.

Penyimpanan menyebabkan lobulasi, disintegrasi, dan vakuolisasi pada

leukosit yang mempengaruhi penyerapan zat warna pada saat pembuatan sediaan hemogram sehingga dapat mengakibatkan salah interpretasi dalam mengenali jenis leukosit. Oleh karena itu direkomendasikan untuk melakukan hitung darah lengkap tidak lebih dari 6 jam sejak sampel darah diperoleh. Apabila pemeriksaan tidak dapat langsung dilakukan, maka sampel hendaknya disimpan di dalam lemari pendingin (Cora *et al.*, 2012; Stokol *et al.*, 2014; Lindstrom *et al.*, 2015). Sementara itu, pembuatan hemogram untuk penghitungan jumlah leukosit diferensial dan pengamatan morfologis sel-sel darah harus dilakukan segera setelah darah dikoleksi dari hewan uji Stokol *et al.* (2014).

Berdasarkan Tabel 1, waktu penyimpanan ternyata tidak berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah monosit, eosinofil, dan basofil ( $P > 0,05$ ). Hal ini karena ketiga jenis leukosit ini secara normal memiliki proporsi yang sangat sedikit di dalam darah perifer. Nilainya akan meningkat secara signifikan dalam kondisi patologis (Reagan *et al.*, 2010; Keohane *et al.*, 2015). Selain jumlahnya yang sangat sedikit, ketiga jenis leukosit ini tidak dapat ditemukan lagi seiring bertambahnya waktu penyimpanan. Neutrofil dan limfosit pada tikus lebih tahan lama dalam penyimpanan daripada monosit, eosinofil, dan basofil (Cora *et al.*, 2012).

Pemeriksaan profil hematologis tidak hanya dilakukan pada sampel darah

manusia dan hewan model praklinik saja, namun juga pada hewan-hewan lainnya untuk berbagai kepentingan, mulai dari penyediaan *database*, diagnostik kesehatan, konservasi, hingga kajian genetika dan evolusi. Oleh karena itu perlu metode yang tepat dan sesuai untuk menangani sampel darah yang akan diuji. Hal-hal yang harus diperhatikan antara lain: jenis antikoagulan, waktu penyimpanan, jeda waktu setelah sampel diperoleh hingga dilakukan pemeriksaan, cara pengambilan dan penanganan sampel, serta parameter yang hendak diamati. Metode pemeriksaan hematologis dalam penelitian ini belum tentu tepat untuk diterapkan pada sampel darah manusia, mammal lainnya, demikian juga unggas, ikan, dan sebagainya. Hal ini ditegaskan oleh Windberger and Baskurt (2007) dan Reagan *et al.* (2010), bahwa sel-sel darah pada hewan-hewan anggota kelas Vertebrata memiliki perbedaan morfologis dan fisiologis. Sel-sel darah bervariasi dalam hal bentuk, ukuran, dan ada tidaknya nukleus pada eritrosit. Di samping itu biokimiawi sel-sel darah juga berbeda, ditandai dengan afinitasnya dalam menyerap warna saat diproses untuk pembuatan preparat hemogram. Sifat biokimiawi menunjukkan mekanisme fisiologis yang spesifik pada sel-sel darah tersebut. Oleh karena itu profil hematologis setiap species bersifat spesifik.

## Simpulan

Penentuan profil hematologis yang terbaik adalah menggunakan darah tanpa antikoagulan dan dilakukan segera setelah sampel diperoleh (kurang dari 2 menit). Apabila tidak memungkinkan, maka dapat digunakan EDTA atau Heparin sebagai antikoagulan, dan jenis antikoagulan harus dijelaskan dalam pelaporan. Seiring waktu, sampel darah yang disimpan di dalam lemari pendingin mengalami perubahan fisik maupun profil hematologisnya. Oleh karena itu, pemeriksaan hitung darah lengkap

hendaknya tetap dilakukan segera setelah sampel diterima, yaitu tidak lebih dari 6 jam. Untuk pembuatan preparat hemogram dikerjakan langsung setelah sample darah diterima.

Pemeriksaan profil eritrosit dan leukosit saja tidak cukup untuk penyediaan data profil hematologis. Untuk mendapatkan profil hematologis (hitung darah lengkap) yang baik dan lengkap, maka disarankan untuk melakukan perhitungan indeks eritrosit yang meliputi MCV, MCH, dan MCHC, juga jumlah trombosit dan indeks trombosit (MPV, MPC, dan PDW). Di samping itu

dilakukan juga pengamatan secara lebih terperinci mengenai morfologi sel-sel darah dan artifak menggunakan sediaan

hemogram untuk mengamati adanya *storage lesion*.

## Daftar Pustaka

- Al-Nuaimy, K.M.I. 2008. Haematological Changes in Stored Blood. *J. Edu & Sci* 21(4): 49-56.
- Butenas, S. and Mann, K.G. 2002. Blood Coagulation. Review. *Biochemistry (Moscow)* 67(1): 3-12.
- Cora, M.C., King, D., Betz, L.J., Wilson, R., and Travlos, G.S. 2012. Artifactual Changes in Sprague-Dawley Rat Hematologic Parameters after Storage of Samples at 3 °C and 21 °C. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51(5): 616-621.
- 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. <http://www.ijsat.com>
- Fitria, L. dan Sarto, M., 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biogenesis* 2(2): 94-100. ISSN 2302-1616.
- Freise, K.J., Schmidt, R.L., Gingerich, E.L., Veng-Pedersen, P., and Widness, J.A. 2009. The Effect of Anticoagulant, Storage Temperature and Dilution on Cord Blood Hematology Parameters Over Time. *Int J Lab Hematol* 31(5): 496-504.
- Keohane, E.M., Smith, L.J., and Walenga, J.M. 2015. *Rodaks's Hematology: Clinical Principles and Applications*. 5<sup>th</sup> Ed. Elsevier/Saunders. St. Louis. Missouri. ISBN 978-0-323-23906-6.
- Lindstrom, N.M., Moore, D.M., Zimmerman, K., and Smith, S.A. 2015. Hematologic Assessment in Pet Rats, Mice, Hamsters, and Gerbils: Blood Sample Collection and Blood Cell Identification. In: Campbell T.W. and Rupley, A.E. (Eds.). 2015. *Hematology. Clinics Review Articles: Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 18(1): 21-32. Elsevier Inc. Philadelphia, Pennsylvania. ISSN 1094-9194. ISBN-13 978-0-323-35598-8.
- Mafuvadze, B. And Erlwanger, K.H. 2007. The Effect of EDTA, Heparin, and Storage on the Erythrocyte Osmotic Fragility, Plasma Osmolality, and Hematocrit of Adult Ostriches (*Struthio camelus*). *Veterinarski Arhiv* 77(5): 427-434.
- Queen, E., Ifeanyi, O.E. and Chinedum, O.K. 2014. The Effect of Storage on Full Blood Count in Different Anticoagulant. *IOSR-JDMS* 13(9): 128-131. e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861. [www.iosrjournals.org](http://www.iosrjournals.org)
- Reagan, W.J., Poitout-Belissent, F.M., and Rovira, A.R.I. 2010. Design and Methods Used for Preclinical Hematotoxicity Studies. In: Weiss, D.J. and Wardop, K.J. (Eds.) 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6<sup>th</sup> Ed. Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Ltd. Pub. Ames. Iowa. ISBN 978-0-8138-1798-9.
- Ringler, D.H. and Dabich, L. 1979. Hematology and Clinical Biochemistry. In: Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S.H. (Eds.). The Laboratory Rat. Vol.1: Biology and Diseases. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Academic Press. New York.
- 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. [https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/sample/test/hem\\_a.cfm](https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/sample/test/hem_a.cfm) Diakses 14 Oktober 2015.
- Walencik, J. And Witeska, M. 2007. The Effects of Anticoagulants on Hematological Indices and Blood Cell Morphology of Common Carp



- (*Cyprinus carpio* L.). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 146(3): 331-335.
- Windberger, U. and Baskurt, O.K. 2007. Comparative Hemorheology. *In:* O.K. baskurt et al. (Eds.) *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* IOS Press. Amsterdam. Pp. 267-285.
- Vagdatli, E., Gounari, E., Lazaridou, E., Katsibourlia, E., Tsikopoulou, F., and Labrianou, I. 2010. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. *Hippokratia* 14(1): 28-32.