



PENGARUH WAKTU DAN SUHU PENYIMPANAN SAMPEL DARAH TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN UJI SILANG SERASI (*CROSS MATCH*)

Anita Oktari^{1*}, Linda Mulyati²

¹Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail: nio80zahra@gmail.com

Abstract

Cross Match is an examination by reacting donor serum with patient cells (minor) and reacting patient serum with donor cells (major). Research has been carried out on the effect of time and temperature of storage of blood samples on the results of the Cross Match examination. The method used in this research is the gel test method. Blood samples were stored at refrigerator and room temperature with storage times of 0, 2nd, and 4th days. The results showed that there were differences in the quality of the results of the Cross Match examination on blood samples with storage times of 0, 2nd, and 4th days. The results of the Cross Match examinations at the refrigerator temperature for the 2nd and 4th days were the same as the control samples. The results of the Cross Match examinations at room temperature for the 2nd day were still the same as the control samples, while on the 4th day showed different results, namely there was agglutination accompanied by mixed fields on the results of the Major, Minor and Auto Control. Then the conclusions obtained are the time and temperature of storage of blood samples affect the results of the Cross Match examinations.

Keywords: *Auto Control, Cross Match, Mayor, Minor.*

Abstrak

Uji silang serasi adalah pemeriksaan dengan mereaksikan serum donor dengan sel pasien (minor *Cross Match*) dan mereaksikan serum pasien dengan sel donor (mayor *Cross Match*). Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh waktu dan suhu penyimpanan sampel darah terhadap hasil pemeriksaan uji silang serasi. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *gel test*. Sampel darah disimpan pada suhu kulkas dan suhu kamar dengan waktu penyimpanan 0 hari, 2 hari, dan 4 hari. Didapatkan hasil penelitian bahwa terdapat perbedaan kualitas hasil pemeriksaan uji silang serasi pada sampel darah dengan waktu penyimpanan 0 hari, 2 hari, dan 4 hari. Hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor dan *Auto Control* pada suhu kulkas untuk hari ke-2 dan ke-4 sama dengan sampel kontrol. Hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor, dan *Auto Control* pada suhu kamar untuk hari ke-2 masih sama dengan sampel kontrol, sedangkan pada hari ke-4 menunjukkan hasil yang berbeda yaitu terdapat aglutinasi disertai *mixed field* pada hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor dan *Auto Control*. Maka simpulan yang didapat yaitu waktu dan suhu penyimpanan sampel darah mempengaruhi hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor, dan *Auto Control*.

Kata Kunci: *Auto Control, Mayor, Minor, Uji silang serasi.*

PENDAHULUAN

Uji silang serasi adalah reaksi silang *in vitro* antara darah resipien dengan darah donornya yang akan ditransfusikan. Reaksi ini dimaksudkan untuk mencegah reaksi hemolitik transfusi darah bila didonorkan dan supaya darah yang ditransfusikan itu benar-benar ada manfaatnya bagi kesembuhan resipien. Uji silang serasi mayor dilakukan antara plasma penerima dengan eritrosit donor, dan sedangkan uji silang serasi minor dilakukan antara eritrosit penerima dengan plasma donor (Green & Klosterman, 2012).

Pemeriksaan laboratorium sebelum pemberian transfusi darah (*pretransfusion testing*) merupakan bagian yang sangat vital dalam kegiatan transfusi. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan uji pratreansfusi minimal yang harus dikerjakan di laboratorium adalah pemeriksaan golongan darah sistem ABO dan *Rhesus* serta uji silang serasi (Irawaty, et al. 2016).

Pemeriksaan uji silang serasi dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu dari dua jenis metode, yaitu antara metode *gel* atau metode tabung. Namun, saat ini metode pemeriksaan uji silang serasi yang digunakan oleh Unit Transfusi Darah (UTD) dan Bank Darah Rumah Sakit (BDRS) adalah metode *gel test*. Metode *gel test* merupakan metode untuk mendeteksi reaksi sel darah merah dengan antibodi. Metode ini lebih cepat dan mempunyai akurasi tinggi dibandingkan dengan metode tabung (Walker & Harmening, 2012). Merujuk pada hasil penelitian yang dilakukan McCullough (2012) yang menyebutkan bahwa metode *gel test* lebih memberi kemudahan dan akurasi dibanding metode *tube test*. Metode *gel test* memiliki banyak kelebihan dibandingkan metode *tube test*. Selain menghemat waktu pemeriksaan, prosedur tes juga lebih sederhana dan pembacaan hasil lebih mudah dilakukan.

Sampel yang baik untuk pemeriksaan uji silang serasi yaitu sampel darah yang baru saja diambil (Maharani & Noviar, 2018), namun kenyataan di lapangan berbeda. Sampel darah yang tersedia seringkali berada di suhu kamar dan suhu kulkas 1 sampai 3 hari. Berdasarkan hal tersebut, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “**Pengaruh Waktu dan Suhu Penyimpanan**

Sampel Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi (*CROSS MATCH*)”. Waktu dan suhu penyimpanan sampel yang dipakai pada penelitian ini adalah pada suhu kamar dan suhu kulkas 1-6°C selama 0 hari, 2 hari dan 4 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu dan suhu penyimpanan sampel darah terhadap hasil pemeriksaan uji silang serasi (*Cross Match*).

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa sampel darah pada suhu kamar dengan waktu penyimpanan 0, 2, dan 4 hari. Selain itu digunakan pula sampel darah pada suhu kulkas 1-6°C dengan waktu penyimpanan 0, 2, dan 4 hari. Bahan lainnya dalam penelitian ini diantaranya *diluent*, reagen Anti A, reagen Anti B, dan reagen Anti D.

Pemeriksaan Golongan Darah Sampel Metode Slide (dilakukan duplo)

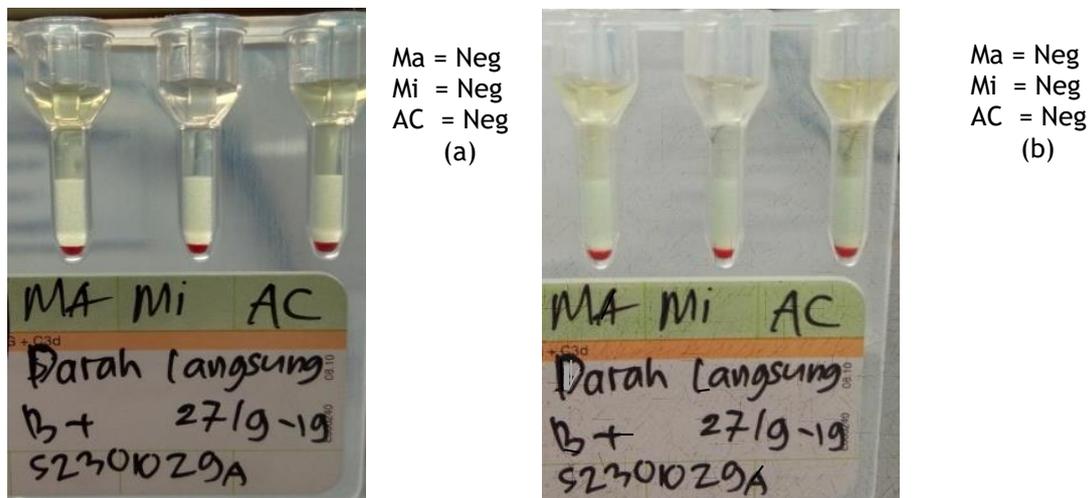
- a. Diteteskan 1 tetes anti-A pada objek gelas yang bersih dan kering
- b. Diteteskan 1 tetes anti-B pada objek gelas yang bersih dan kering
- c. Diteteskan 1 tetes anti-D pada objek gelas ketiga untuk pemeriksaan Rhesus
- d. Ditambahkan pada masing - masing tetesan reagen 1 tetes sel darah merah yang akan diperiksa.
- e. Dilakukan pencampuran reagen dan sel darah merah menggunakan tusuk gigi, disebarkan campuran tersebut pada area sekitar 20 mm x 40 mm.
- f. Digoyangkan slide secara perlahan dari sisi ke sisi selama kurang lebih 2 menit.
- g. Dibaca hasil pemeriksaan dengan melihat ada tidaknya aglutinasi (Oktari, 2012).

Pembuatan Suspensi Eritrosit Sampel Darah Uji dan Darah Donor 1%

- a. Dimasukan 500µL diluent 2 kedalam tabung
- b. Diambil 5µL eritrosit kemudian dimasukan ke dalam tabung yang berisi diluent 2
- c. Dihomogenkan dengan cara disedot sembur dan digoyang-goyangkan tabung (Utami, 2015).

Keterangan : Ma = Mayor
 Mi = Minor
 AC = *Auto Control*
 Mf = *mixed field* (sebagian eritrosit ada di permukaan gel dan sebagian mengendap pada dasar gel)
 - = negatif (tidak terjadi aglutinasi)
 +1mf = derajat aglutinasi 1 disertai *mixed field*
 +2mf = derajat aglutinasi 2 disertai *mixed field*

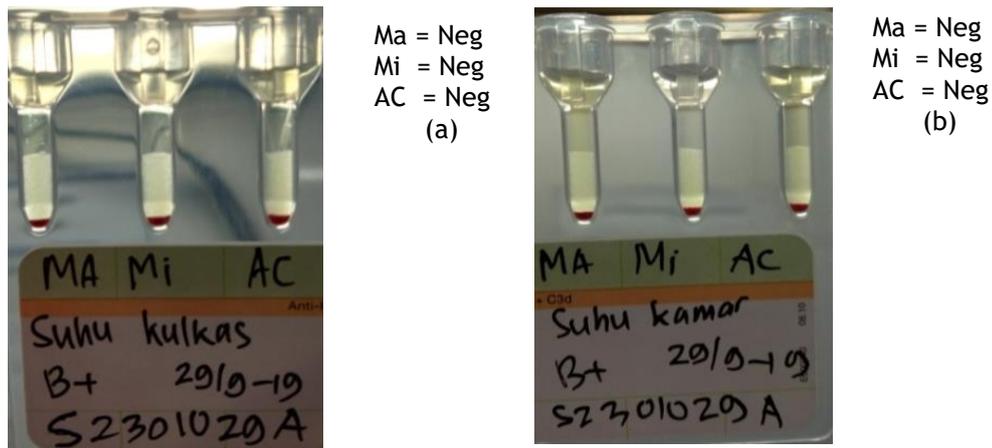
Adapun foto hasil pemeriksaan uji silang serasi untuk hari ke-0 sebagai kontrol dari pengulangan ke-1 dan pengulangan ke-2 dapat dilihat pada Gambar 1. Untuk pengulangan ke-3, 4, dan 5 hasilnya sama dengan pengulangan ke-1 dan 2.



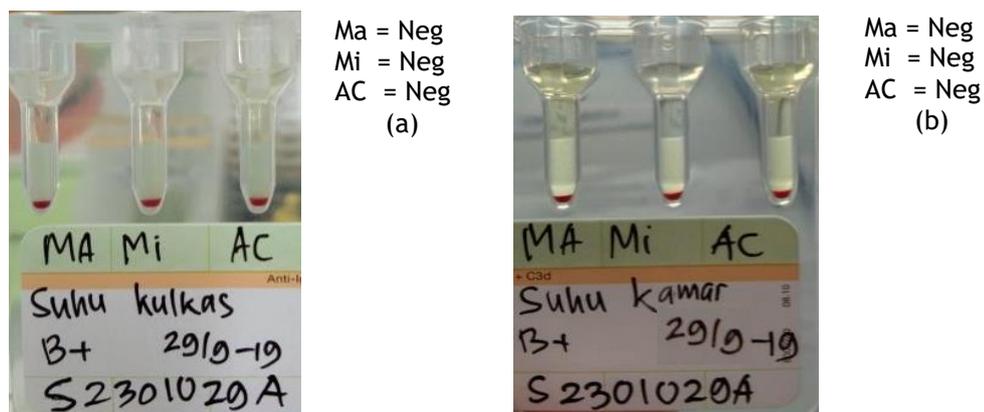
Gambar 1. Pengulangan ke-1 (a) dan pengulangan ke-2 (b) pada hari ke-0

Berdasarkan hasil pemeriksaan uji silang serasi pada sampel langsung, pada bagian mayor, minor, dan *auto control* menunjukkan hasil negatif yaitu tidak terjadi aglutinasi dari pengulangan ke-1 sampai pengulangan ke-5.

Foto hasil pemeriksaan uji silang serasi hari ke-2 pada sampel yang disimpan di suhu kulkas dan suhu kamar dapat dilihat pada Gambar 2 (pengulangan ke-1) diikuti Gambar 3 (pengulangan ke-2). Untuk pengulangan ke-3, 4, dan 5 hasilnya sama dengan pengulangan ke-1 dan 2.



Gambar 2. Pengulangan ke-1 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-2



Gambar 3. Pengulangan ke-2 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-2

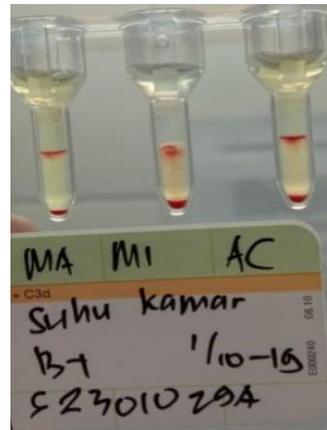
Berdasarkan hasil pemeriksaan uji silang serasi pada hari ke-2 suhu kamar dan suhu kulkas, pada bagian mayor, minor dan *auto control* menunjukkan hasil negatif yaitu tidak terjadi aglutinasi dari pengulangan ke-1 sampai pengulangan ke-5.

Foto hasil pemeriksaan uji silang serasi hari ke-4 pada sampel yang disimpan di suhu kulkas dan suhu kamar dapat dilihat pada Gambar 4 (pengulangan ke-1), Gambar 5 (pengulangan ke-2), dan Gambar 6 (pengulangan ke-5). Untuk pengulangan ke-3 hasilnya sama dengan pengulangan ke-2. Sedangkan untuk pengulangan ke-4 hasilnya sama dengan

pengulangan ke-1.

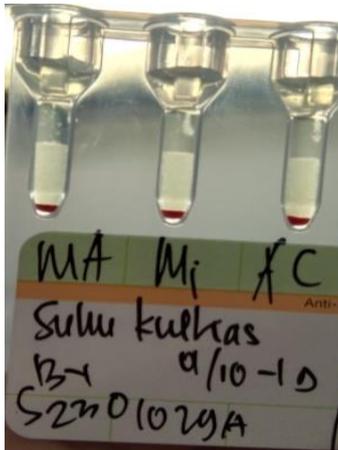


Ma = Neg
Mi = Neg
AC = Neg
(a)



Ma = +1mf
Mi = +2mf
AC = +1mf
(b)

Gambar 4. Pengulangan ke-1 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-4

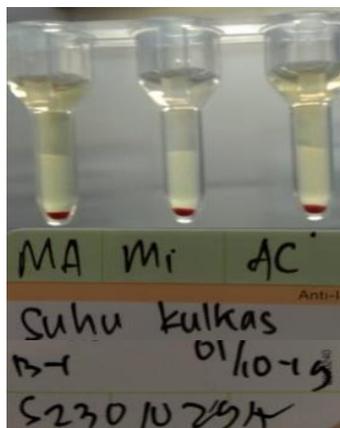


Ma = Neg
Mi = Neg
AC = Neg
(a)



Ma = Neg
Mi = +2mf
AC = Neg
(b)

Gambar 5. Pengulangan ke-2 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-4

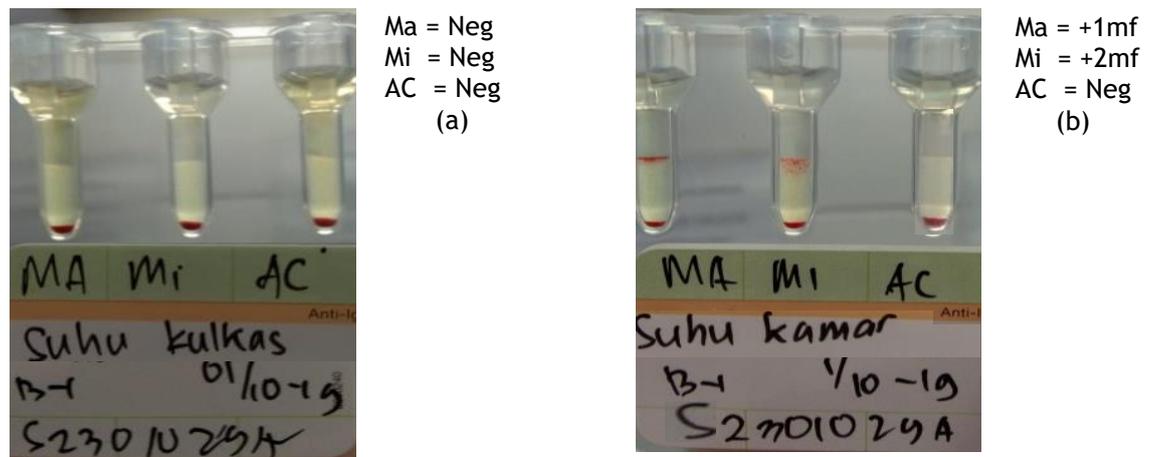


Ma = Neg
Mi = Neg
AC = Neg
(a)



Ma = +1mf
Mi = +2mf
AC = Neg
(b)

Gambar 5. Pengulangan ke-2 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-4



Gambar 6. Pengulangan ke-5 suhu kulkas (a) dan suhu kamar (b) pada hari ke-4

Berdasarkan hasil pemeriksaan uji silang serasi pada bagian mayor, minor dan *auto control*, maka dapat dilihat untuk perlakuan pada suhu kamar di hari ke-4 menunjukkan adanya aglutinasi derajat 1 disertai *mixed field* pada sampel mayor pengulangan ke-1, ke-4, dan 5, serta aglutinasi derajat 2 disertai *mixed field* pada sampel *minor* dan aglutinasi derajat 1 disertai *mixed field* pada sampel *auto control* pada pengulangan ke-1 dan 4. Sedangkan pada perlakuan di suhu kulkas hingga hari ke-4 sampel masih memberikan respon negatif, sama dengan hasil pada kontrol.

Analisis data dilakukan menggunakan uji *kruskal wallis* dikarenakan data hasil pengamatan merupakan data ordinal dengan metode *likert scale* yang termasuk data non parametrik dengan jenis data ordinal. Untuk membandingkan kualitas aglutinasi dari setiap perlakuan eksperimen terhadap kontrol maka dilakukan uji signifikansi *kruskal wallis* yang bertujuan menganalisis bagaimana perbedaan kualitas aglutinasi berbeda signifikan atau tidak. Pada perlakuan pada suhu kulkas (1-6°C) hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh variasi waktu penyimpanan (2 hari dan 4 hari) memberikan hasil negatif atau dengan kata lain tidak terjadi aglutinasi.

Oleh karena itu dalam analisis data hanya dilakukan pada eksperimen dengan penyimpanan pada suhu kamar mulai dari pemeriksaan langsung,

penundaan sampel 2 hari dan 4 hari, baik pada sampel mayor, minor dan *auto control*. Output dari uji signifikansi *kruskal wallis* adalah nilai *mean rank* dan nilai *asympt.sig kruskal wallis*-nya. Nilai *mean rank* memberikan informasi kualitas aglutinasi, semakin tinggi nilai *mean rank* semakin tinggi derajat aglutinasi yang terbentuk. Sedangkan nilai *Asymp. sig* berfungsi sebagai uji signifikansi apakah perbedaan nilai *mean rank* yang ada berbeda signifikan atau tidak.

Dari hasil pengolahan data dapat ditarik kesimpulan bahwa di hari penyimpanan ke-4 pada suhu kamar kualitas aglutinasi pada pemeriksaan uji silang serasi berbeda signifikan pada sampel mayor dan minor sedangkan pada sampel *auto control* tidak berbeda signifikan. Sedangkan untuk suhu kulkas teranalisis dari nilai *mean rank* tidak berbeda signifikan terhadap kontrol baik di dua hari penyimpanan maupun 4 hari masa penyimpanan.

DISKUSI

Uji silang serasi adalah reaksi silang *in vitro* antara darah pasien dengan darah donornya yang akan di transfusikan. Uji silang serasi dilakukan untuk memastikan bahwa tidak ada antibodi pada darah pasien yang akan bereaksi dengan darah donor atau sebaliknya. Bahkan walaupun golongan darah ABO dan Rh pasien dan donor telah diketahui, adalah hal mutlak untuk melakukan uji silang serasi. Dari pemeriksaan ini dapat dipastikan bahwa transfusi darah tidak menimbulkan reaksi apapun pada resipien serta sel-sel darah merah bisa mencapai masa hidup maksimum setelah diberikan (Mulyantari & Yasa, 2016).

Uji silang serasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *gel test*, metode *gel test* merupakan suatu pengembangan dari metode uji reaksi silang metode tabung. Pada prinsipnya *coomb's card* yang digunakan untuk pengujian reaksi silang serasi mengandung *gel (sephadex G 100)* dan sejenis protein pada bagian permukaan *microtubanya*. Protein tersebut berfungsi sebagai media reaksi antara antigen-antibodi pada sel darah dan plasma atau serum, dimana protein ini juga berfungsi sebagai media pengganti *bovine albumin* dan *coomb's serum* pada uji silang serasi metode konvensional,

sehingga hanya dibutuhkan sekali pengujian dengan satu media protein (Jaime-Perez & Almaguer-Gaona, 2016). Selain protein tersebut, pada *microtube* juga terdapat *gel* yang berfungsi sebagai filter atau saringan, apabila terjadi aglutinasi antara suspensi sel darah dengan serum atau plasma maka aglutinat yang terbentuk tidak akan dapat menembus lapisan *gel* hingga bagian dasar karena terbentuk kompleks partikel yang besar (tergantung dari derajat aglutinasi) begitu juga sebaliknya, apabila tidak terjadi aglutinasi maka suspensi sel darah dan serum atau plasma dapat dengan mudah melewati *barrier gel* pada *microtube* sehingga dapat terendapkan di bagian dasar tabung. Sebelum dilakukan pembacaan hasil, terlebih dahulu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dimana inkubasi ini bertujuan untuk mengkondisikan suspensi darah dan serum agar dapat bereaksi optimal sesuai dengan kondisi tubuh. Selain proses inkubasi, dilakukan juga proses sentrifugasi, dimana proses sentrifugasi akan membantu aliran aglutinat menuju ke dasar *microtube* (Blaney & Howard, 2013).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan sampel langsung pakai sebagai kontrol dan sampel yang disimpan di suhu ruang dan suhu kulkas dengan waktu penyimpanan 2 hari dan 4 hari untuk mengetahui kualitas sampel untuk pemeriksaan uji silang serasi.

Pemeriksaan uji silang serasi ini merupakan interaksi antigen-antibodi di luar tubuh (*In Vitro*) terdiri dari pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor, dan *Auto Control* (Blaney & Howard, 2013). Pada uji silang serasi Mayor serum uji direaksikan dengan sel donor. Aglutinasi yang terjadi pada uji silang serasi *major* menunjukkan bahwa pada serum uji terdapat antibodi yang melawan terhadap antigen sel donor, maka dapat merusak sel donor tersebut dan terjadilah aglutinasi. Pada uji silang serasi Minor, serum donor direaksikan dengan sel uji. Aglutinasi yang terjadi pada uji silang serasi Minor menunjukkan bahwa serum donor terdapat antibodi yang melawan terhadap antigen sel uji. Aglutinasi yang terjadi pada *auto control* dapat menandakan bahwa yang bermasalah terdapat pada serum dan sel uji (Parker & Tormey, 2017). Aglutinasi sel darah merah dapat berlangsung melalui dua tahapan. Tahap pertama antibodi berikatan dengan permukaan sel darah merah, tahap kedua antibodi

berinteraksi dengan sel darah merah sehingga sel-sel saling berdekatan dan terjadilah aglutinasi. Tahap pertama aglutinasi dipengaruhi oleh suhu, pH medium, usia serum dan eritrosit sampel, konstanta afinitas antibodi, waktu atau lama inkubasi, kekuatan ion pada medium, dan rasio antigen antibodi. Tahap kedua aglutinasi dipengaruhi oleh jarak antar sel, Muatan molekul dan suspensi, deformasi membran, molekul permukaan membran dan struktur molekul (Blaney & Howard, 2013). Reaksi *mixed field* dapat terjadi oleh beberapa hal, yang paling umum adalah *chimerism palsu* yaitu adanya dua atau lebih populasi sel dalam darah (Rodiana, 2010). Aglutinasi yang terjadi pada hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor, dan *Auto Control* pada sampel hari ke-4 di suhu ruang disebabkan oleh sampel darah yang terkontaminasi sehingga menyebabkan adanya dua populasi antigen yaitu antigen yang terdapat pada darah dan antigen asing yang merangsang reaksi antigen-antibodi pada bagian antibodi yang terdapat dalam sampel terhadap antigen asing yang terdapat dalam sampel darah sehingga terjadilah reaksi campuran (*mixed field*).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh waktu dan suhu penyimpanan sampel darah terhadap hasil pemeriksaan uji silang serasi Mayor, Minor, dan *Auto Control*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada sivitas akademika Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih dan Laboratorium RSUD Sumedang yang telah mendukung penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Kami menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Blaney, K.D. & Howard, P.R, 2013. *Compatibility Testing, Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. Third Edition. United States: Elsevier Mosby. P. 188-201.
- Blaney, K.D. & Howard, P.R. 2013. *Blood Component Preparation and Therapy. Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. Third Edition. United States: Elsevier Mosby p. 304-328.
- Blaney, K.D. & Howard, P.R. 2013. *Antibody Detection and Identification, Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. Third Edition. United States: Elsevier Mosby.p. 158-187.
- Blaney, K.D. & Howard, P.R. 2013. *Blood Banking Reagents: Overview and Application. Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. Third Edition. United States: Elsevier Mosby.p.28-54.
- Green, R. A. B. & Klosterman, D. A. 2012. *The Antiglobulin Test. Blood Groups and Serologic Testing. Modern Blood Banking & Transfusion Practices*. 6th Edition. Philadelphia: F.A Davis company.p. 101-117.
- Irawaty, et al. 2016. *Characteristics of Cross Match Types in Compatibility Testing on Diagnosis and Blood Types using Gel Method. Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory, Vol.23 (1):36-41. Indonesia.*
- Jaime-Perez, J.C. & Almaguer-Gaona, C. 2016. *Rediscovering The Coombs Test. Medicina Universitaria, 18 (72):185-186. Mexico.*
- Kurniawan, F.B. 2016. *Hematologi : Praktikum Analisis Kesehatan*. Jakarta : Penerbit EGC.
- Maharani, E.A. & Noviar, G. 2018. *Imunohematologi dan Bank Darah*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
- McCullough, J. 2012. *Laboratory Detection of Blood Groups and Provision of Red Cell, Transfusion Medicine*. Third Edition. UK: Wiley-Blackwell.p.207-233.
- Mulyantari, N.K. & Yasa, I.W.P.S. 2016. *Laboratorium PraTransfusi Update*. Bali : Udayana University Press.
- Oktari, Anita. 2012. *Penuntun Praktikum Transfusi Darah*. Cetakan Ketiga. Bandung : Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih.
- Parker, V. & Tormey, C.A. 2017. *The Direct Antiglobulin Test Indications, Interpretation, & Pitfalls. Archives Pathology & Laboratory Medicine Vol. 141:305-310. USA.*
- Rodiana, N. 2010. *Gambaran Status Sekretor Sistem Golongan Darah ABO dalam*

Urin yang Diperiksa dengan menggunakan Metode Aglutinasi Inhibisi. Karya Tulis Ilmiah. Bandung : Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, tidak diterbitkan.

Utami, R, F. 2015. *Metode Dan Interpretasi Pemeriksaan Golongan Darah.* [Online]. Tersedia: <https://dokumen.tips/documents/metode-dan-interpretasi-pemeriksaan-golongan-darah.html> [12 Maret 2017].

Walker, P. S. & Harmening, D. M. 2012. *Other Technologies and Automation. Blood Groups and Serologic Testing.* Modern Blood Banking & Transfusion Practices. 6th Edition. Philadelphia: F.A Davis company. P.273-285.