

**Pengaruh Suhu dan Lama Simpan *Washed Red Cell* Terhadap Nilai Fragilitas Osmotik
Metode Spektrofotometri**

***The Effect of Temperature and Storage Duration of Washed Red Cell on the Osmotic
Fragility Values Using the Spectrophotometric Method***

Nisa, Betty Nurhayati, Ganjar Noviar, Adang Durachim
Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung

*niissaa10@gmail.com : 0895396920845

ABSTRACT

Washed red cells are transfusion components derived from packed red blood cells in which preservative solutions have been eliminated, making them more prone to red cell destruction. Hemolysed blood is inappropriate for transfusion use, and the occurrence of hemolysis during storage is affected by both thermal conditions and the length of storage. This research was conducted to evaluate how storage temperature and storage duration influence osmotic fragility values measured using a spectrophotometric technique. A quasi-experimental approach was applied, utilizing one unit of washed red cells with blood group O Rh⁺ obtained from the Indonesian Red Cross (PMI) in Bandung. The sample was stored under refrigerated conditions and at ambient temperature for 0, 4, 7, and 10 hours. Descriptive results revealed a consistent rise in osmotic fragility in all treatment groups as both temperature and storage time increased. Statistical analysis using the Friedman test showed that storage temperature and storage period had a statistically significant effect on osmotic fragility values (<0.001 ; $P<0.05$). Further analysis with the Wilcoxon test demonstrated significant differences (<0.001 ; $P<0.05$) between freshly analyzed samples and those stored for 4, 7, and 10 hours. Spearman correlation analysis identified a significant positive relationship (<0.001 ; $P<0.05$) among storage temperature, storage duration, and osmotic fragility. Overall, the results indicate that elevated temperatures and prolonged storage enhance osmotic fragility, reflecting an increased risk of hemolysis in washed red cells during storage.

Keywords : *Washed Red Cell, Storage Temperature, Osmotic Fragility Storage Duration, Haemolysis*

ABSTRAK

Washed Red Cell adalah produk darah yang diperoleh dari proses pencucian *Packed Red Cell*, di mana zat aditifnya dihilangkan, sehingga lebih mudah mengalami hemolisis. Hemolisis saat penyimpanan bisa dipicu oleh faktor suhu dan lama penyimpanan. Penelitian ini ditujukan guna mengkaji pengaruh suhu serta lama penyimpanan terhadap tingkat fragilitas osmotik pada *Washed Red Cell* menggunakan metode spektrofotometri. Penelitian ini menggunakan rancangan kuasi-eksperimen, dengan satu unit kantong *Washed Red Cell* bergolongan darah O Rh⁺ yang ditempatkan pada kondisi suhu lemari pendingin dan suhu lingkungan selama 0, 4, 7, serta 10 jam. Hasil telaah deskriptif menunjukkan adanya kenaikan tingkat fragilitas osmotik pada seluruh kelompok perlakuan. Uji Friedman menunjukkan bahwa suhu penyimpanan refrigerator dengan ruang dan durasi penyimpanan (0, 4, 7, dan 10 jam) berpengaruh signifikan pada nilai fragilitas osmotik, dengan nilai signifikansi kurang dari 0,001 ($P<0,05$). Uji Wilcoxon juga mengonfirmasi adanya pengaruh lama penyimpanan, di mana sampel yang disimpan segera berbeda signifikan dengan yang ditunda selama 4, 7, dan 10 jam, dengan nilai signifikansi tidak melebihi 0,001 ($P<0,05$). Selain itu, uji Spearman menunjukkan hubungan yang kuat antara suhu penyimpanan dan lama penyimpanan dengan nilai fragilitas osmotik, dengan nilai signifikansi kurang dari 0,001 ($P<0,05$). Hubungan ini bersifat positif, ini berarti makin tingginya suhu dan makin lamanya waktu penyimpanan, maka nilai fragilitas osmotik pun akan semakin meningkat.

Kata kunci : *Washed Red Cell, Lama Simpan, Fragilitas Osmotik, Suhu Simpan, Hemolisis*

PENDAHULUAN

Transfusi darah berfungsi sebagai pengobatan untuk pasien yang kekurangan komponen darah (Anggita *et al.*, 2023). *Packed Red Cell* adalah komponen darah yang paling sering dipakai, tetapi dalam kondisi tertentu seperti alergi, *Packed Red Cell* tidak cukup efektif, sehingga *Washed Red Cell* menjadi

pilihan yang lebih sesuai (Suhada *et al.*, 2022). *Washed Red Cell* diperoleh melalui proses pencucian *Packed Red Cell* menggunakan larutan NaCl dengan tujuan menyingkirkan zat kimia residu, plasma, sebagian antibodi, sitokin, protein, trombosit, elektrolit, serta leukosit (Coll *et al.*, 2022). Elemen tersebut direkomendasikan untuk pasien yang mengalami reaksi alergi berat karena transfusi yang tidak responsif terhadap pemberian antihistamin, hipersensitivitas terhadap plasma pada kasus anemia hemolitik didapat, kekurangan IgA, potensi terjadinya hiperkalemia, serta pada bayi baru lahir yang menjalani tindakan bedah jantung (Cardigan *et al.*, 2020; Fajarna *et al.*, 2023). Tetapi, *Washed Red Cell* bermasa simpan yang singkat menjadikannya lebih mudah terpapar risiko pertumbuhan bakteri dan terjadinya hemolisis (Maharani *et al.*, 2018). Batas waktu penyimpanan yang diperbolehkan adalah hingga 24 jam bersuhu 1–6°C ataupun maksimal 4 jam bersuhu 20–24°C (Committee *et al.*, 2020; American Association of Blood Banks, 2021). Sementara itu, berdasarkan (Permenkes, 2015), komponen ini harus ditaruh di rentang suhu 2–6°C dengan lama penyimpanan paling lama 4–6 jam.

Penyimpanan darah secara *in vitro* adalah metode untuk menjaga kualitas sel darah (Maharani *et al.*, 2018). Persyaratan utamanya adalah sel darah tetap hidup dan berfungsi, yang bisa dicapai dengan menjaga suhu dan kondisi penyimpanan stabil agar kualitasnya terpelihara (Kholifatin *et al.*, 2022). Sel darah merah mengalami serangkaian alterasi biofisika dan metabolisme selama masa penyimpanan yang berdampak pada daya hidup serta kemampuan fungsionalnya, suatu kondisi yang dikenal sebagai lesi penyimpanan. Perubahan tersebut dicirikan oleh berkurangnya konsentrasi ATP dan 2,3-DPG, gangguan keseimbangan elektrolit natrium–kalium, meningkatnya kadar LDH dan hemoglobin bebas, serta terjadinya stres oksidatif yang merusak sel (Pandey *et al.*, 2022).

Studi (Pulliam *et al.*, 2020) mengungkapkan adanya pengurangan mutu sel darah merah tercuci pada periode penyimpanan, yang ditunjukkan melalui terjadinya hemolisis, berkurangnya kadar 2,3-DPG, serta kondisi ATP yang relatif stabil atau mengalami sedikit penurunan setelah 4–6 jam. Hasil tersebut selaras dengan temuan (Chung *et al.*, 2019), yang melaporkan adanya kerusakan sel disertai peningkatan hemolisis pada sel darah merah tercuci setelah disimpan selama 4–6 jam menggunakan perangkat tertentu. Studi yang dilakukan (Zhahrina *et al.*, 2019) melaporkan bahwa penyimpanan darah dalam jangka waktu yang lebih lama menyebabkan penurunan konsentrasi ATP, perubahan bentuk eritrosit, terganggunya keutuhan membran sel darah merah, serta meningkatnya fragilitas osmotik, yang pada akhirnya memicu terjadinya ruptur dan lisis sel.

Derajat hemolisis dapat dinilai dengan uji fragilitas osmotik, yaitu metode yang digunakan untuk menilai keutuhan serta sensitivitas membran sel ketika berada dalam larutan garam hipotonik (Irfani, 2022). Akurasi pengujian ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama kondisi suhu serta durasi penyimpanan sampel (Igbokwe, 2018). Pemeriksaan sebaiknya dijalankan pada kurun waktu 2 jam bila darah berada pada suhu ruang, ataupun maksimal 6 jam bila disimpan di suhu sekitar 4°C (Layton *et al.*, 2017). Studi (Virgiati, 2017) menunjukkan bahwa nilai fragilitas osmotik relatif stabil di sampel yang disimpan hingga 6 jam. Namun, setelah melewati 8 jam pascapengambilan darah, terjadi kecenderungan peningkatan fragilitas osmotik (Jury *et al.*, 2017). Ini selaras akan studi (Andina *et al.*, 2024), yang juga mengungkapkan bahwa *Washed Red Cell* yang disimpan dalam waktu 9 jam mengalami pengurangan jumlah eritrosit disertai tanda-tanda hemolisis yang jelas. Selain itu, penyimpanan pada suhu lemari pendingin (4–6°C) terbukti lebih optimal dalam mempertahankan jumlah sel darah merah serta menekan risiko hemolisis dibandingkan penyimpanan pada suhu lingkungan.

Standar kualitas sel darah sesuai dengan parameter hemolisis dari pedoman Dewan Eropa dan Peraturan Menteri Kesehatan adalah maksimal 0,8%, sedangkan *Food and Drug Administration* menetapkan tidak lebih dari 1% (Permenkes, 2015; Gultawatvichai *et al.*, 2018). Karena studi sebelumnya hanya menggambarkan hemolisis secara kualitatif, studi ini diperlukan untuk menganalisis secara kuantitatif dampak suhu dan durasi penyimpanan *Washed Red Cell* terhadap nilai fragilitas osmotik menggunakan spektrofotometri, untuk memberi saran penyimpanan terbaik dan menghasilkan peningkatan mutu serta keselamatan penggunaan klinis.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini menerapkan pendekatan kuantitatif dengan rancangan kuasi-eksperimen berbasis desain runtun waktu. Sel darah merah tercuci disimpan dalam waktu 0, 4, 7, serta 10 jam di kondisi suhu dingin (2–6°C) serta suhu lingkungan (20–25°C), selanjutnya dijalankan pengujian fragilitas osmotik menggunakan metode spektrofotometri. Pelaksanaan studi berlangsung di periode Januari hingga Juni

2025. Sampelnya diperoleh melalui Palang Merah Indonesia (PMI) Kota Bandung, sementara kegiatan analisis dijalankan di Laboratorium Hematologi dan Laboratorium Kimia Dasar Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kementerian Kesehatan Bandung.

Alat dan Bahan

Alat yang dipergunakan meliputi spektrofotometer, tabung alikuot, gelas piala, termometer, pipet volume, cooler box, Styrofoam, rak tabung reaksi, tabung reaksi, ice pack, lemari pendingin, alat sentrifus, pipet dengan bola hisap, mikropipet 50 μL , ujung pipet kuning, kuvet, serta label. Bahan yang dipergunakan pada penelitian ini terdiri atas sampel sel darah merah tercuci, larutan NaCl 0,9%, akuades, dan parafilm.

Langkah-Langkah Penelitian

Pengolahan *Washed Red Cell*

Unit Pengolahan PMI Kota Bandung melaksanakan pembuatan sel darah merah tercuci menggunakan sistem tertutup. Proses ini dilakukan dengan mencuci sel darah merah pekat menggunakan larutan NaCl 0,9% yang ditempatkan dalam kantong pencuci atau wadah khusus pada alat sentrifugasi. Prosedur sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan $1500 \times G$ dalam waktu 30 menit atau $485 \times G$ di suhu 4°C dalam waktu 3 menit, dan tahap pencucian diulang sebanyak tiga kali.

Persiapan Sampel

Tahap penyiapan sampel dilakukan dengan mendistribusikan sel darah merah tercuci ke dalam tabung alikuot, kemudian menyimpannya pada kondisi suhu dingin dan suhu lingkungan selama 4, 7, dan 10 jam. Sampel pada waktu 0 jam langsung dijalankan pemeriksaan fragilitas osmotik menggunakan spektrofotometri. Tiap-tiap kelompok perlakuannya dijalankan repetisi sebanyak lima kali, maka diperoleh total 60 data pada setiap kelompok.

Pembuatan Seri Konsentrasi NaCl

Studi diawali melalui penyusunan deret konsentrasi larutan yang berasal dari larutan induk NaCl 0,9%. Larutan kerja disiapkan dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 0,85%, 0,75%, 0,65%, 0,60%, 0,55%, 0,50%, 0,45%, 0,40%, 0,35%, 0,30%, 0,20%, dan 0,10%, dengan volume akhir masing-masing sejumlah 200 mL.

Pengoperasian Alat Spektrofotometer *UV – VIS Agilent 8453 G1103A*

Spektrofotometer dihidupkan serta dibiarkan selama kurang lebih 15–20 menit hingga kondisi kerja stabil dan sistem optiknya seimbang. Setelah itu, panjang gelombang disesuaikan dengan karakteristik sampel dan mode pembacaan dipilih pada pengukuran absorbansi. Tahap kalibrasi dilakukan menggunakan larutan standar. Kuvet dibilas terlebih dahulu dengan air deionisasi sebelum pemakaian. Pengukuran blanko dilakukan lebih awal untuk meniadakan pengaruh senyawa pengganggu, dengan menggunakan larutan yang sama seperti sampel, kemudian fungsi “blank” diaktifkan pada alat. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam kuvet dengan memastikan tidak terdapat gelembung udara, kuvet ditempatkan secara tepat pada ruang pembacaan, tombol “measure” ditekan, dan hasil pengukuran dicatat sesuai tampilan instrumen.

Pemeriksaan Fragilitas Osmotik

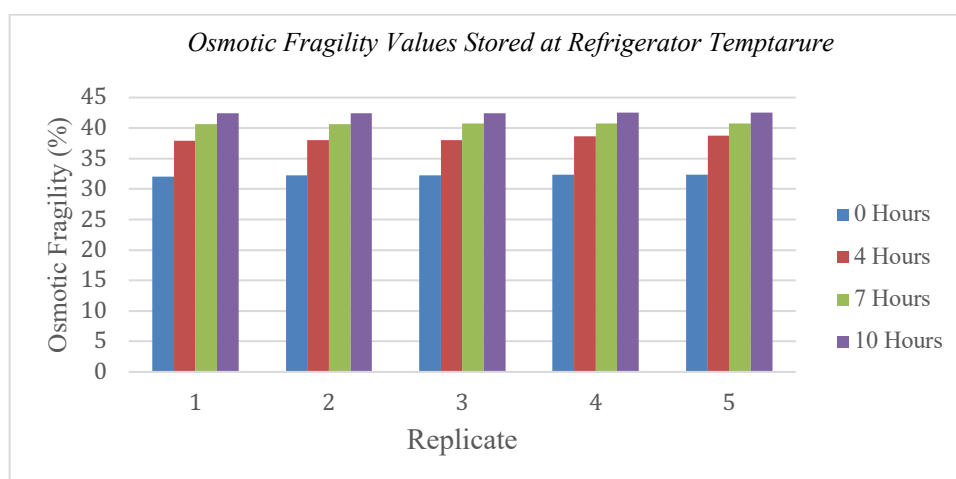
Pengujian fragilitas osmotik dilakukan dengan menyiapkan 12 tabung reaksi yang tiap-tiapnya memuat 5 mL larutan NaCl, kemudian ditambah 50 μL sel darah merah tercuci dan dicampur hingga tercapai homogenitas. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu lingkungan, lalu disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Nilai absorbansi supernatan dari setiap tabung diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Supernatan pada tabung pertama dipergunakan menjadi blanko (NaCl 0,85%). Persentase hemolisis dihitung melalui rumusan: $(\text{absorbansi tabung uji} / \text{absorbansi tabung ke-12} (0,10\%) \times 100\%)$ dan dinyatakan pada satuan persen (%).

Pengolahan dan Analisis data

Data primer yang diperoleh diolah serta disajikan berbentuk tabel maupun grafik dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Data selanjutnya dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan nilai fragilitas osmotik. Tahap analisis lanjutan dilakukan menggunakan uji statistik nonparametrik, yaitu uji *Friedman*, *Wilcoxon*, dan *Spearman*.

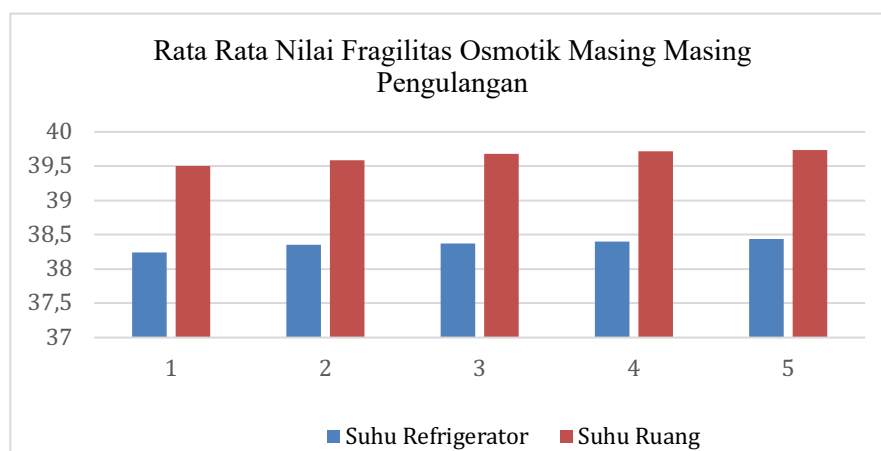
HASIL

Sesuai temuan penelitian, pengukuran fragilitas osmotik pada *Washed Red Cell* yang disimpan selama 0, 4, 7, dan 10 jam pada kondisi suhu lemari pendingin maupun suhu ruang ditampilkan pada grafik ini.



Gambar 1. Nilai Fragilitas Osmotik pada Suhu Refrigerator

Rerata nilai fragilitas osmotik sel darah merah tercuci yang disimpan pada kondisi suhu dingin pada waktu pengamatan 0 jam tercatat sebesar 31,98%, 32,23%, 32,28%, 32,32%, dan 32,36%. Setelah penyimpanan selama 4 jam, nilai tersebut mengalami kenaikan menjadi 37,95%, 38,06%, 37,99%, 38,67%, serta 38,70%. Pada durasi 7 jam, hasil pengukuran menunjukkan peningkatan yang berkelanjutan, yakni 40,40%, 40,67%, 40,70%, 40,72%, serta 40,76%. Selanjutnya, setelah 10 jam penyimpanan, tingkat fragilitas osmotik kembali bertambah hingga mencapai 42,40%, 42,43%, 42,45%, 42,48%, dan 42,53%. Kecenderungan peningkatan ini sejalan dengan bertambahnya lama waktu penyimpanan.

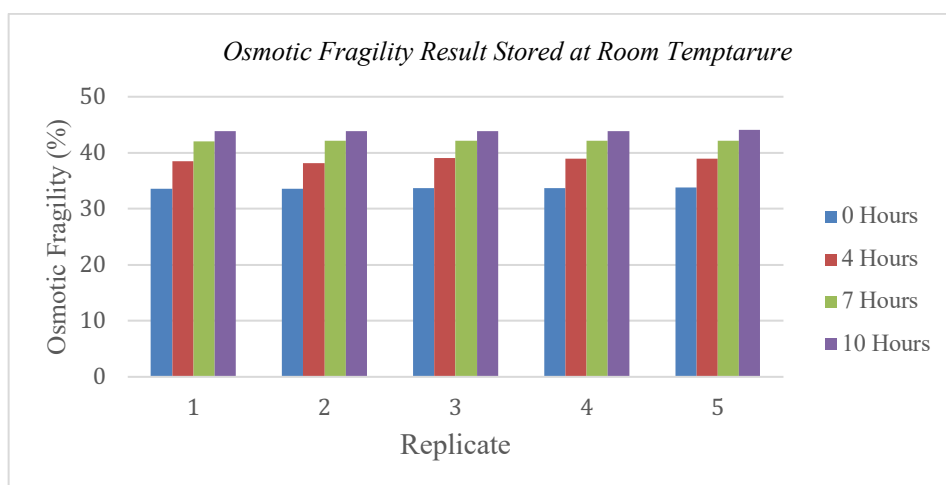


Gambar 2.

Nilai Fragilitas Osmotik Berdasarkan Pengulangan

Dari banyaknya pengulangan yang dilakukan pada penelitian, diperoleh nilai rata rata fragilitas osmotik yang disimpan pada suhu refrigerator di pengulangan ke-1, ke-2, ke-3 dan seterusnya berturut turut yaitu 38,24%, 38,35%, 38,37%, 38,40%, 38,44%. Kemudian nilai rata rata fragilitas osmotik yang

disimpan pada suhu ruang di pengulangan ke-1, ke-2, ke-3 dan seterusnya berturut turut yaitu 39,50%, 39,59%, 39,68%, 39,72%, 39,74%. Nilai cenderung lebih tinggi pada pengulangan sampel yang disimpan di suhu ruang.



Gambar 3. Nilai Fragilitas Osmotik pada Suhu Ruang

Rerata tingkat fragilitas osmotik sel darah merah tercuci yang disimpan pada kondisi suhu ruang pada waktu 0 jam tercatat sebesar 33,58%, 33,62%, 33,71%, 33,72%, dan 33,76%. Setelah melalui penyimpanan selama 4 jam, nilai tersebut mengalami peningkatan menjadi 38,51%, 38,12%, 39,09%, 38,96%, serta 38,94%. Pada pengamatan 7 jam, hasil pengukuran memperlihatkan kecenderungan kenaikan yang berkelanjutan hingga mencapai 42,07%, 42,11%, 42,14%, 42,15%, serta 42,18%. Selanjutnya, setelah 10 jam penyimpanan, nilai kerapuhan osmotik bertambah hingga 43,85%, 43,86%, 43,88%, 43,90%, serta 44,08%. Pola peningkatannya tersebut sejalan atas pertambahan lama waktu penyimpanan.

Data yang didapat lalu diolah menggunakan analisis statistik deskriptif, dengan hasil penyajian ditampilkan melalui Tabel 1.

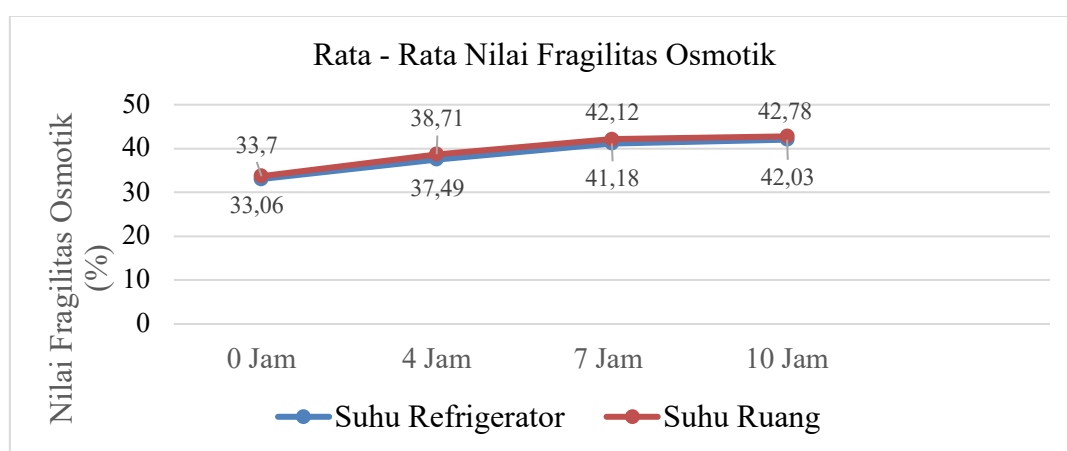
Tabel 1
Hasil uji deskriptif statistik fragilitas osmotik

<i>Descriptive Statistics</i>					
Perlakuan	Lama Simpan (Jam)	Minimum (%)	Maksimum (%)	Rerata (%)	N
Suhu Refrigerator	0	6,31	78,89	33,06	60
	4	8,73	95,92	37,49	60
	7	10,87	97,41	41,18	60
	10	13,38	97,96	42,03	60
				Total	180
Suhu Ruang	0	9,46	81,44	33,70	60
	4	10,10	98,47	38,71	60
	7	11,73	98,88	42,12	60
	10	15,97	99,41	42,78	60
				Total	180

Sesuai temuan analisis deskriptif, di kondisi penyimpanan dalam lemari pendingin, awal terjadinya hemolisis pada durasi 0 dan 4 jam teramati pada konsentrasi NaCl 0,45% dengan persentase masing-masing sebesar 6,31% dan 8,73%. Sementara itu, pada lama penyimpanan 7 dan 10 jam,

hemolisis mulai muncul di konsentrasi NaCl 0,50% dengan nilai berturut-turut 10,87% serta 13,38%. Di penyimpanan suhu lingkungan, permulaan hemolisis pada 0 dan 4 jam juga berlangsung pada konsentrasi NaCl 0,45%, dengan persentase masing-masing 9,46% dan 10,10%. Selanjutnya, pada durasi 7 dan 10 jam, hemolisis mulai terdeteksi pada konsentrasi NaCl 0,50%, dengan tingkat masing-masing 15,97% dan 99,41%.

Hemolisis menyeluruh pada penyimpanan suhu dingin tercapai pada konsentrasi NaCl 0,30% setelah 0, 4, 7, dan 10 jam, dengan persentase berturut-turut 78,89%, 95,92%, 97,41%, dan 97,96%. Pada suhu ruang, hemolisis total pada waktu simpan 0, 4, 7, dan 10 jam masing-masing tercatat sebesar 81,44%, 98,47%, 98,88%, dan 99,41%. Secara keseluruhan, rerata nilai fragilitas osmotik menunjukkan kecenderungan meningkat pada seluruh kelompok perlakuan. Nilai rerata terendah diperoleh pada waktu simpan 0 jam, baik pada kondisi pendinginan maupun suhu ruang, masing-masing sebesar 33,05% dan 33,70%. Sebaliknya, rerata tertinggi dicatat pada durasi penyimpanan 10 jam, yaitu 42,03% untuk suhu lemari pendingin dan 42,78% pada suhu lingkungan. Visualisasi rerata nilai fragilitas osmotik tersaji pada Gambar 3.



Gambar 4. Grafik rata-rata nilai fragilitas osmotik

Tahap berikutnya dijalankan pengujian normalitas guna menilai pola distribusi data. Hasil pemeriksaan normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk ditampilkan melalui Tabel 2.

Tabel 2
Hasil uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Uji Normalitas				
		Nilai Sig	Interpretasi Hasil	Kesimpulan
Suhu Refrigerator	0 Jam	<0,001	P< 0,05	Distribusi tidak normal
	4 Jam			
	7 Jam			
	10 Jam			
Suhu Ruang	0 Jam	<0,001	P< 0,05	Distribusi tidak normal
	4 Jam			
	7 Jam			
	10 Jam			

Semua nilai signifikansi yang diperoleh berada di bawah 0,001 ($p < 0,05$), sehingga bisa ditarik simpulan bahwasanya data tidak mengikuti distribusi normal. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan metode statistik nonparametrik. Uji Friedman digunakan dalam mengevaluasi pengaruh suhu pada nilai fragilitas osmotik, dengan hasil pengujian disajikan melalui Tabel 3.

Tabel 3
Hasil uji *Friedman* suhu simpan *Washed Red Cell*

Kelompok Data	Sig	Hasil	Kesimpulan
Suhu Refrigerator	<0,001	P<0,05	Ada Pengaruh
Suhu Ruang			

Pengujian Friedman yang diterapkan di seluruh kelompok perlakuan, termasuk pada kondisi penyimpanan suhu dingin ataupun suhu lingkungan, menunjukkan nilai signifikansi di bawah 0,001 ($p < 0,05$). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa suhu penyimpanan memberikan pengaruh terhadap tingkat fragilitas osmotik. Tahap analisis berikutnya difokuskan pada evaluasi pengaruh lama penyimpanan terhadap nilai fragilitas osmotik dengan menggunakan uji Wilcoxon, yang hasilnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4
Hasil uji *Wilcoxon* lama simpan *Washed Red Cell*

Kelompok Perlakuan	Sig.	Interpretasi Hasil	Kesimpulan
0 Jam	<0,001	P<0,05	Ada pengaruh
4 Jam			
10 Jam			

Uji Wilcoxon diterapkan untuk mengomparasikan nilai fragilitas osmotik pada waktu penyimpanan 0 jam sebagai kontrol dengan nilai pada durasi 4, 7, dan 10 jam. Hasil pengujian menunjukkan signifikansi di bawah 0,001 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan terdapatnya pengaruh signifikan diantara lama penyimpanan dan tingkat fragilitas osmotik. Setelah pengaruh suhu dan durasi penyimpanan teridentifikasi, dilakukan uji korelasi untuk mengevaluasi hubungan serta besarnya efek yang berlangsung. Perolehan uji korelasi Spearman disajikan melalui Tabel 5.

Tabel 5
Hasil uji *Spearman* suhu dan lama simpan *Washed Red Cell*

Perlakuan		Sig	<i>Spearman's rho</i>		Kesimpulan
Suhu Simpan (°C)	Lama simpan (jam)		Koefisien korelasi	Koefisien determinasi (%)	
Suhu Refrigerator	0 terhadap 4	<0,001	0.993	99.6	Sangat Kuat
	0 terhadap 7		0.992	99.59	
	0 terhadap 10		0.995	99.74	
Suhu Ruang	0 terhadap 4		0.996	99.79	
	0 terhadap 7		0.997	99.84	
	0 terhadap 10		0.998	99.89	

Nilai signifikansi yang diperoleh pada seluruh perlakuan tercatat di bawah 0,001 ($p < 0,05$), memperlihatkan terdapatnya hubungan yang sangat signifikan diantara suhu dan lama penyimpanan. Koefisien korelasi berada dalam rentang 0,992 hingga 0,998, yang mengindikasikan adanya hubungan positif yang sangat kuat antara kedua variabel; dengan kata lain, peningkatan suhu dan lamanya waktu penyimpanan berkaitan dengan kenaikan tingkat fragilitas osmotik. Koefisien determinasi yang lebih besar dari 1, yaitu antara 99,60 hingga 99,89, mengungkapkan bahwa mayoritas variasi nilai kerapuhan osmotik dipengaruhi oleh suhu dan durasi penyimpanan, sedangkan pengaruh faktor lain berasal dari variabel berbeda.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian memperlihatkan peningkatan nilai fragilitas osmotik, di mana hemolisis mulai terjadi pada konsentrasi NaCl 0,50% pada sel darah merah tercuci yang disimpan selama 7 dan 10 jam di lemari pendingin, dengan persentase masing-masing 10,87% serta 13,38%, juga di suhu ruang masing-masing 11,73% serta 15,97%. Untuk sel darah merah tercuci yang disimpan dalam waktu 0 dan 4 jam, hemolisis muncul di konsentrasi 0,45%, dengan persentase 6,31% serta 8,73% pada suhu lemari pendingin, juga 9,46% serta 10,10% pada suhu lingkungan.

Untuk memverifikasi temuan tersebut, sejumlah sampel diuji pada sel darah merah tercuci yang disimpan pada kedua kondisi suhu, menunjukkan jumlah sel yang relatif stabil namun meningkat seiring bertambahnya durasi penyimpanan. Secara rinci, nilai rerata fragilitas osmotik tercatat sebesar 38,24%, 38,35%, 38,37%, 38,40%, dan 38,44% pada suhu dingin, serta 39,50%, 39,59%, 39,68%, 39,72%, dan 39,74% pada suhu ruang.

Hemolisis dimulai pada konsentrasi NaCl sekitar 0,40% hingga 0,45% (Yuniarty *et al.*, 2024). Konsentrasi NaCl berperan penting dalam proses hemolisis karena memengaruhi tekanan osmosis. Dalam kondisi hipotonis, zat terlarut di luar sel lebih sedikit dibanding di dalam, sehingga air masuk ke sel dan membuat sel membengkak (Mahdi, 2022). Dari hasil penelitian, hemolisis terdeteksi pada konsentrasi 0,50%, yang menunjukkan bahwa kerapuhan osmotik meningkat dalam larutan hipotonis sejalan atas pertambahan waktu penyimpanan, terutama pada 7 dan 10 jam, dengan tanda hemolisis pada supernatant. Selama penyimpanan, eritrosit mengalami berbagai perubahan yang dikenal sebagai *storage lesion*, yang dapat mengganggu fungsi biologis sel, seperti berkurangnya ATP dan 2,3-DPG, penurunan kemampuan deformasi, ketidakstabilan elektrolit Na dan K, peningkatan kerapuhan osmotik, stres oksidatif, serta naiknya hemoglobin bebas (Pandey *et al.*, 2022). Stres oksidatif yang meningkat dalam waktu penyimpanan dapat merusak integritas membran eritrosit secara signifikan, mengubah lipid membran sehingga elastisitas sel menurun, sel menjadi kaku, dan akhirnya lisis (Zhahrina *et al.*, 2019).

Lebih lanjut, peningkatan fragilitas osmotik selama penyimpanan dipengaruhi oleh zat osmotik aktif, seperti laktat, yang terkandung di dalam sel, sehingga menciptakan kondisi hiperosmolar dalam ruang intraseluler saat sel berada dalam larutan hipotonik. Perbedaan konsentrasi ini mendorong aliran air masuk ke dalam sel, tekanan pada membran meningkat hingga tidak mampu menahan, sehingga sel mengalami ruptur dan hemoglobin dilepaskan ke medium sekitarnya (Aliviameita *et al.*, 2018; Maggyasari *et al.*, 2022). Eritrosit yang hemolisis juga mengubah morfologi menjadi sferosit karena hilangnya luas permukaan membran relatif terhadap volumenya (Afriansyah *et al.*, 2021).

Dalam penelitian ini, rerata tingkat fragilitas osmotik pada sel darah merah tercuci yang disimpan di suhu ruang lebih tinggi dijalankan perbandingan dengan yang disimpan di suhu lemari pendingin. Temuan tersebut sesuai dengan studi (Andina *et al.*, 2024), yang menunjukkan suhu kulkas lebih baik dalam menjaga jumlah eritrosit dan mencegah hemolisis daripada suhu ruang. Sesuai studi (Firdawansyah, 2023), hemolisis lebih tinggi di suhu 20–24°C dibandingkan dengan 2–6°C. Hal tersebut disebabkan oleh pendinginan dalam lemari es memperlambat aktivitas metabolik, menurunkan konsumsi glukosa, memperpanjang masa hidup sel, serta memperlambat penurunan Difosfoglisarat (DPG) di dalam eritrosit (Tumpuk *et al.*, 2022). Suhu yang lebih tinggi menimbulkan tekanan pada eritrosit, karena percepatan akumulasi asam pada suhu tersebut meningkatkan tingkat hemolisis seiring bertambahnya panas (Rodríguez-varela *et al.*, 2019). Suhu di atas 6°C juga memicu pertumbuhan bakteri dan risiko kontaminasi (Blaine *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Temuan penelitian mengindikasikan bahwasanya suhu serta lama penyimpanan *Washed Red Cell* berpengaruh terhadap tingkat fragilitas osmotik. Ada korelasi signifikan diantara kedua variabel tersebut dengan nilai fragilitas osmotik, di mana peningkatan suhu dan durasi penyimpanan berkorelasi dengan meningkatnya kerapuhan osmotik. Nilai fragilitas osmotik *Washed Red Cell* tetap relatif stabil hingga empat jam penyimpanan.

SARAN

Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan memperpanjang durasi penyimpanan menjadi 5–6

jam. Disarankan juga untuk meneliti perubahan morfologi mikroskopis eritrosit menggunakan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) dalam waktu periode penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih terhadap berbagai pihak, secara khusus Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Bandung atas dukungan fasilitas dan infrastruktur, Palang Merah Indonesia (PMI) Kota Bandung atas penyediaan sampel, serta semua individu yang telah memberikan kontribusi dan mendukung terselenggaranya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, F. *et al.* (2021). Pengaruh Lamanya Penyimpanan dan Suhu Terhadap Jumlah Eritrosit. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 2(2), 108–114. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v2i2.51>.
- Aliviameita, A. *et al.* (2018). Teknologi Pengolahan Darah. in S.B. Sartika *et al.* (eds) *Modul Praktikum Hematologi*. 1st edn. Sidoarjo: UMSIDA Press, 90.
- American Association of Blood Banks. (2021). *Circular information, American Services Blood Program*. Amerika. <http://www.aabb.org/tm/coi/Documents/coi1113.pdf>.
- Andina, C.A. *et al.* (2024). The Effect of Temperature and Storage Duration of Washed Red Cells on The Number of Erythrocytes. *The Journal Of Medical Laboratory*, 12(10), 130–141. <https://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/M>.
- Anggita, E.S. *et al.* (2023). Produksi Komponen Darah Packed-Red Cell (PRC), Liquid Plasma (LP), Thrombocytes Concentrates (TC) dan Fresh-Frozen-Plasma (FFP) di UDD PMI Kabupaten Bojonegoro. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 7(1). 58–63.
- Blaine, K.P. *et al.* (2019). Impact of Different Standard Red Blood Cell Storage Temperature on Human and Canine RBC Hemolysis and Chromium Survival. *Transfusion*, 347–358. <https://doi.org/10.1111/trf.14997>.
- Cardigan, R. *et al.* (2020). Washed red cells : theory and practice. *Vox Sanguinis*, 115(8), 606–616. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/vox.12971>.
- Chung, Y.S. *et al.* (2019). Fragility of Red Blood Cells Collected Under Different Conditions With a Cell Saver Device. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 33(5), 1224–1229. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2018.11.019>.
- Coll, A.C. *et al.* (2022). Effect of washing units of canine red blood cells on storage lesions. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, (December 2021), 66–77. <https://doi.org/10.1111/jvim.16340>.
- Committee, E. *et al.* (2020). *Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS*. 20th edn. Edited by D.S. Keitel. France: EDQM.
- Fajarna, N. *et al.* (2023). Pengelolaan Komponen-Komponen Darah Di Utd Palang Merah Indonesia (Pmi) Kota Banda Aceh. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 1–12. <https://jurnal.ar-raniry.ac.id/index.php/PBiotik/index>.
- Firdawansyah, A. (2023). *Fragilitas Osmotik Eritrosit Pada Komponen Packed Red Cell Dengan Suhu Pengolahan Yang Berbeda Selama Masa Penyimpanan*. Universitas Nasional. <http://repository.unas.ac.id/id/eprint/6452%0A>.
- Gultawatvichai, P. *et al.* (2018). Hemolysis in In-Date RBC Concentrates. *Am J Clin Patho*, 149(1). 35–41. <https://doi.org/10.1093/AJCP/AQX120>.
- Igbokwe, N.A. (2018) ‘A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility’, *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 16(4), p. 1. Available at: <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v16i4.1>.
- Irfani, F.N. (2022). Deteksi Pembawa Thalassemia Di Yogyakarta Berdasarkan Fragilitas Sel Darah Merah. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 3(1), 205–210. <https://doi.org/10.31004/jkt.v3i1.3970>.
- Jury, C. *et al.* (2017). Collection and Handling of Blood. B.J. Bain *et al.* (eds) *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 12th edn. China: Elsevier Limited, 7–8.
- Kholifatin, D.A. *et al.* (2022). Quality Assessment Komponen Darah Whole Blood, Packed Red Cell, Thrombocytes Concentrates and Fresh Frozen Plasma Berdasarkan Standart Minimal Quality Control. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 4(1), 14–18.
- Layton, M. *et al.* (2017). Investigation of the Hereditary Haemolytic Anaemias: Membrane and Enzyme Abnormalities. *Dacie and Lewis Practical Haematology: Twelfth Edition*. 12th edn. Elsevier

- Ltd, 246–247. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00012-6>.
- Maggyasari, W. *et al.* (2022). Konfirmasi Hasil Osmotic Fragility Test (OFT) Berdasarkan Kadar Hemoglobin. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 13(2), 164–170.
- Maharani, E.A. *et al.* (2018) *Imunohematologi dan Bank Darah*. 1st edn. Jakarta.
- Mahdi, Z. (2022). Osmotic Fragility Test. *University of Mastansiriyah*. Iraq.
- Pandey, S. *et al.* (2022). Intermittent Scavenging of Storage Lesion From Stored Red Blood Cells by Electrospun Nanofibrous Sheets Enhances Their Quality and Shelf-life. *Nature Communications*, 13(7394), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35269-3>.
- Permenkes. (2015). *Permenkes Nomor 91. PMK No 91*. http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/PMK_No._91_ttg_Standar_Transfusi_Pelayanan_Darah_.pdf.
- Pulliam, K.E. *et al.* (2020). Washing packed red blood cells decreases red blood cell storage lesion formation. *Surgery*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2020.07.022>.
- Rodríguez-varela, M. *et al.* (2019). Alterations to plasma membrane lipid contents affect the biophysical properties of erythrocytes from individuals with hypertension. *BBA - Biomembranes*, 1861(10), 182996. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.05.018>.
- Suhada, R.I. *et al.* (2022). Gambaran Penggunaan Komponen Darah Packed Red Cell di UDD PMI Kabupaten Sleman Tahun 2021. *Lambda Journal*, 2(3), 187–194. <https://doi.org/https://ejournal.baleliterasi.org/index.php/lambda/index>.
- Tumpuk, S. *et al.* (2022). Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Jumlah Eritrosit Pada Transfusi Darah di Rumah Sakit Bank Darah RSUD Dr . Soedarso Pontianak The Effect of Storage Temperature on The Number of Erythrocytes on Blood Transfusions in Hospital Blood Bank of Dr . Soedarso P. *Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 16(3), 362–367. <https://doi.org/https://doi.org/10.33860/jik.v16i3.1576>.
- Virgiati, V. (2017). *Perbedaan Fragilitas Osmotik Eritrosit Setelah Penyimpanan 2 Jam, 4 Jam, dan 6 Jam*. Universitas Jenderal Achmad Yani.
- Yuniarty, T. *et al.* (2024). Fragilitas Osmotik. *Modul Praktikum Hematologi*. Jakarta: Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia, 216.
- Zahrina, F. *et al.* (2019). Stabilitas PRC dalam Larutan Alsever Buatan Terhadap Morfologi Eritrosit dan Fragilitas Osmotik. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(1), 277–284.