

**Pengaruh Lama Penyimpanan 5 Jam dan 10 Jam
pada Suhu 2-8 °C Terhadap Kadar *Glycated Hemoglobin* (HbA1c)**

***The Effect of 5 Hour and 10 Hour Retention Period at 2-8 °C Temperature on
Glycated Hemoglobin (HbA1c) Levels***

Dwi Setiyo Prihandono¹, Fike Waluyo²

¹Prodi Imunologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya

²Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya, Surabaya

e-mail: dwi.setiyo.prihandono-2017@pasca.unair.ac.id; cuphix@gmail.com

ABSTRAK

Tes HbA1c digunakan untuk mendiagnosa Diabetes Mellitus. Pada tes laboratorium HbA1c kadar glukosa tidak dipengaruhi oleh fluktuasi glukosa harian. Maka dari itu tes HbA1c digunakan sebagai tes pengendalian Diabetes Mellitus. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan apakah ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c. Jenis penelitian adalah penelitian Observasi Analitik. Menggunakan 20 sampel darah *whole blood* yang dilakukan pemeriksaan kadar HbA1c. Sampel diberi perlakuan yaitu tanpa penyimpanan, penyimpanan pada suhu 2-8 °C selama 5 jam, penyimpanan pada suhu 2-8 °C selama 10 jam. Dari tes *Kolmogorov Smirnov*, menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal dengan *p* value 0,025 ($P < 0,05$). Untuk menguji apakah ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c, dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa nilai signifikan 0,929 dengan demikian $P > 0,05$ dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c. Proses penundaan pemeriksaan dan penyimpanan sampel darah perlu diperhatikan, karena kesalahan pada faktor pra analitik akan mempengaruhi kondisi sampel *whole blood* yang akan dilakukan analisa HbA1c yang akan dapat memberikan hasil tinggi palsu atau rendah palsu.

Kata kunci : Lama Penyimpanan 5 Jam Dan 10 Jam, Suhu 2-8 °C, HbA1c

ABSTRACT

*HbA1c test is used to diagnose Diabetes Mellitus. In HbA1c laboratory tests, glucose levels are not affected by the fluctuation of daily glucose. Thus, HbA1c test is applicable for test of controlling diabetes mellitus. The purpose of this research is to verify the influence of 5 hour and 10 hour retention period at 2-8 °C temperature on HbA1c levels. Type of this research is an analytical-observational research, by using 20 whole blood samples tested for HbA1c levels. Samples are treated without storage, by storage at 2-8 °C for 5 hours, and by storage at 2-8 °C for 10 hours. From Kolmogorov Smirnov test, it is shown that the data are not normally distributed with *p* value of 0.025 ($P < 0.05$). To testify the effect of 5 hour and 10 hour retention period at 2-8 °C temperature on HbA1c levels, Kruskal Wallis test is conducted after. Kruskal Wallis test shows a significant value of 0.929 with $P > 0.05$, thus it can be concluded that there is no effect of 5 hour and 10 hour retention period at 2-8 °C temperature on HbA1c levels. The process of delaying examination and retention of blood samples needs to be considered, as errors in pre-analytic factors shall affect the condition of to-be-analyzed whole blood samples, which will produce a false-high or a false-low result.*

Keywords: 5 hour and 10 hour retention period, 2-8 °C temperature, HbA1c

PENDAHULUAN

Meningkatnya prevalensi Diabetes Mellitus di beberapa negara berkembang, akibat dari peningkatan kemakmuran di negara bersangkutan yang akhir-akhir ini menjadi sorotan. Berdasarkan Atlas Diabetes tercantum perkiraan jumlah angka pasien diabetes diseluruh dunia 382 juta, dengan angka kematian sebesar 8,3%. Setiap tahun 5,1 juta orang meninggal dunia karena *diabetes mellitus* (International Diabetes Federation, 2013). Prevalensi tertinggi diabetes di dunia adalah India, China dan United States, Indonesia diurutan keempat (PERKENI, 2015). Bagian penting dari pengelolaan pasien dengan diabetes adalah upaya yang difokuskan pada pengendalian hiperglikemia (Akram T Kharroubi, 2015). *Hiperglikemia* diukur menggunakan tes laboratorium *glycated haemoglobin A1c* (HbA1c) (Little dan Rohlfing, 2013). Kadar HbA1c memainkan peran kunci dalam pengelolaan diabetes (American Diabetes Association. 2016). HbA1c adalah protein terglykasi di mana glukosa melekat pada terminal-N dari rantai β hemoglobin (Yonehara *et al.*, 2015). Kadar HbA1c mewakili kontrol glikemik rata-rata selama 2-3 bulan terakhir (Ryden *et al.*, 2014). Pada tes laboratorium HbA1c kadar glukosa tidak dipengaruhi oleh fluktuasi glukosa harian (Mega, 2017).

Sampel yang digunakan pada tes HbA1c adalah *Whole blood* dari pembuluh darah kapiler maupun vena dengan antikoagulan (sitrat, EDTA, heparin atau oxalat). Pada sampel darah EDTA, sebaiknya pemeriksaan dilakukan selambatnya 2 jam pada suhu kamar (Jeppsson *et al.*, 2014). Namun pada sampel darah dengan antikoagulan tersebut dapat disimpan selama 7 hari pada suhu 2-8 °C sebelum dilakukan pemeriksaan HbA1c (Ekanem, Udoh dan Inyang-Etoh, 2012). *Whole blood* merupakan komponen darah seutuhnya yang mengandung komponen seluler maupun non seluler yang telah dicampur dengan antikoagulan. *Whole blood* yang disimpan dalam almari pendingin 2-6 °C masih mempunyai fungsi oksigenasi jaringan sampai masa simpan 3-5 minggu tergantung larutan pengawet yang digunakan (Freise *et al.*, 2015).

Sampel darah akan rusak karena penyimpanan atau pengolahan yang tidak tepat, misalnya pada penyimpanan yang terlalu dingin atau *freezing* apabila

penyimpanan mencapai -3°C eritrosit akan membeku dan proses penghangatan kembali akan terjadi hemolisis, maka menurut penelitian yang telah ada penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dapat mempertahankan komponen dari sel-sel darah. Namun pada suhu $4-6^{\circ}\text{C}$ bakteri gram negatif dapat tumbuh dan berkembang biak pada suhu ini, bakteri gram negatif mempergunakan glukosa sebagai sumber karbohidratnya (Cora *et al.*, 2012)

Penyimpanan sangat penting diperhatikan, karena kemungkinan lokasi pengambilan sampel dan tempat analisis sampel bukan berada pada satu daerah, sehingga cara penyimpanan dan transportasinya akan mempengaruhi kondisi sampel. Salah satu cara yang saat ini dipergunakan untuk penyimpanan sampel adalah dengan pendinginan (WHO, 2011). Suhu merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan pada proses penyimpanan sampel yang akan dianalisis. Perubahan suhu juga dapat mempengaruhi kondisi sampel dan dapat mengakibatkan kesalahan dalam interpretasi hasil pemeriksaan (Queen, Ifeanyi dan Chinedum, 2014).

Penyimpanan pada suhu dan waktu yang ditentukan pada setiap pemeriksaan belum dapat menjamin bahwa dapat mengurangi tingkat kesalahan dalam interpretasi hasil laboratorium. Maka untuk mendapatkan hasil laboratorium yang dapat dipertanggung jawabkan perlu diperhatikan persiapan sampel sebelum dilakukan suatu analisa (Keohane, Otto dan Walenga, 2015).

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasi analitik untuk mengetahui adanya pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ terhadap kadar HbA1c dan diukur menggunakan menggunakan alat Cobas 311, dinyatakan dalam %. Sampel penelitian ini adalah 20 sampel *whole blood* diberi perlakuan yaitu tanpa penyimpanan, penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ selama 5 jam, penyimpanan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ selama 10 jam. Pertama, ukur HbA1c segera setelah darah diambil, kemudian darah *whole blood* disimpan pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ dan kadar HbA1c di ukur kembali tepat pada 5 jam dan 10 jam. Lokasi dan waktu penelitian dilaksanakan di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Iskak Tulungagung.

HASIL

Penelitian dilakukan terhadap 20 sampel pada pasien yang melakukan pemeriksaan HbA1c di R.S dr.Iskak Tulungagung. Diukur kadar HbA1c tanpa penyimpanan (segera setelah darah diambil), kemudian darah *whole blood* disimpan pada suhu 2-8 °C dan kadar HbA1c di ukur kembali tepat pada 5 jam dan 10 jam. Kemudian didapatkan data sebagai berikut :

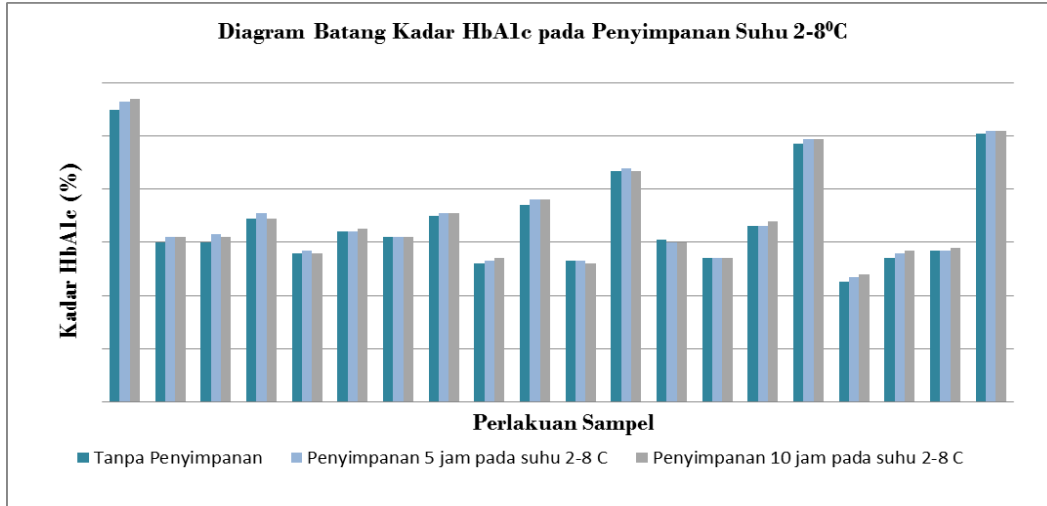
Tabel 1. Data kadar HbA1c

No	Kode	Kadar HbA1c (%)		
		Waktu penyimpanan pada 2-8 °C		
		0 jam	5 jam	10 jam
1	A	11.0	11.3	11.4
2	B	6.0	6.2	6.2
3	C	6.0	6.3	6.2
4	D	6.9	7.1	6.9
5	E	5.6	5.7	5.6
6	F	6.4	6.4	6.5
7	G	6.2	6.2	6.2
8	H	7.0	7.1	7.1
9	I	5.2	5.3	5.4
10	J	7.4	7.6	7.6
11	K	5.3	5.3	5.4
12	L	8.7	8.8	8.7
13	M	6.1	6.0	6.0
14	N	5.4	5.4	5.4
15	O	6.6	6.6	6.8
16	P	9.7	9.9	9.9
17	Q	4.5	4.7	4.8
18	R	5.4	5.6	5.7
19	S	5.7	5.7	5.8
20	T	10.1	10.2	10.2
Jumlah		135.2	137.4	137.6
Rata-rata		6.76	6.87	6.88

Keterangan : Intrepretasi hasil : Kadar normal HbA1c: <6%

Berdasarkan pemaparan dari tabel di atas, maka secara garis besar dapat ditampilkan deskriptif dari tabel 1 dapat disimpulkan bahwa nilai rata-rata (\bar{x}) kadar HbA1c tanpa penyimpanan sebesar 6,76 %, nilai rata-rata (\bar{x}) kadar HbA1c penyimpanan suhu 2-8 °C selama 5 jam sebesar 6,87 %, dan nilai rata-rata (\bar{x}) kadar. HbA1c penyimpanan suhu 2-8 °C selama 10 jam sebesar 6,88 %. Data dari

penelitian ini, dapat dibuat diagram batang untuk menggambarkan keadaan data penelitian seperti pada gambar berikut ini:



Gambar 1 Diagram Batang Kadar HbA1c pada Penyimpanan Suhu 2-8 °C

Berdasarkan diagram batang diatas dari 20 sampel yang dianalisa didapatkan hasil kadar HbA1c tanpa penyimpanan, 20 sampel penyimpanan 5 jam pada suhu 2-8 °C, 20 sampel penyimpanan 10 jam pada suhu 2-8 °C, dimana terdapat perbedaan kadarnya namun untuk membuktikan adanya pengaruh penyimpanan pada suhu 2-8 °C, dilakukan analisis data secara statistik.

Tabel 2 Uji Normalitas Data (NPar Test) Analisis Data Kolmogorov-Smirnov Test

		HbA1c
N		60
Normal Parameters(a,b)	Mean	6.837
	Std. Deviation	1.7721
Most Extreme Differences	Absolute	.191
	Positive	.191
	Negative	-.128
Kolmogorov-Smirnov Z		1.479
Asymp. Sig. (2-tailed)		.025

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Berdasarkan hasil penelitian ini terdapat 60 data antara lain 20 data kadar HbA1c tanpa penyimpanan, 20 data kadar HbA1c penyimpanan 5 jam pada suhu 2-8 °C dan 20 data kadar HbA1c penyimpanan 10 jam pada suhu 2-8 °C, dari ketiga perlakuan tersebut menunjukkan bahwa data dari hasil penelitian ini tidak terdistribusi dengan normal, dapat dilihat pada tabel diatas.

Berdasarkan hasil Uji Normalitas yang dilakukan dengan metode *Kolmogorov Smirnov Test* bahwa hasil signifikansinya sebesar 0,025 itu berarti $P < 0,05$ dimana H_0 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak terdistribusi dengan normal. Maka untuk menguji apakah pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c, dilanjutkan pada uji Kruskal Wallis. Adapun hasil analisis data secara statistik dengan uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 3 Hasil Kruskal Wallis Test Ranks

Lama Penyimpanan		N	Mean Rank
HbA1c	Tanpa penyimpanan	20	29.28
	Penyimpanan 5 jam pada suhu 2-8 °C	20	31.10
	Penyimpanan 10 jam pada suhu 2-8°C	20	31.13
	Total	60	
Test Statistics(a,b)			
HbA1c			
Chi-Square			.148
df			2
Asymp. Sig.			.929

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Penyimpanan

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa hasil dari uji Kruskal Wallis diatas menunjukkan bahwa nilai signifikan 0,929 dengan demikian $P > 0,05$ dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c. Hasil dari penelitian 20 sampel yang di periksa kadar HbA1c tanpa penyimpanan, penyimpanan 5 jam pada suhu 2-8 °C, penyimpanan 10 jam pada suhu 2-8 °C, dimana terdapat perbedaan kadarnya namun untuk membuktikan adanya pengaruh penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C, dilakukan analisis data secara statistik. Dan dari analisis data didapatkan hasil bahwa tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8 °C terhadap kadar HbA1c.

PEMBAHASAN

HbA1c merupakan salah satu pemeriksaan khusus untuk pemantauan penderita Diabetes Mellitus. Namun, tidak semua laboratorium klinik dapat

melakukan analisa HbA1c dikarenakan harganya yang masih relatif mahal dan masih banyak orang yang belum dapat memahami pentingnya pemeriksaan terhadap pemantauan pada penderita Diabetes Mellitus. Maka masih banyak laboratorium yang melakukan pengiriman sampel pada laboratorium rujukan. Proses pengiriman, penundaan pemeriksaan dan penyimpanan inilah yang diperhatikan karena kesalahan pada faktor pra analitik akan mempengaruhi kondisi sampel yang akan dilakukan analisa yang akan dapat memberikan hasil tinggi palsu atau rendah palsu (Scherer *et al.*, 2019).

Penyimpanan sangat penting diperhatikan, karena kemungkinan lokasi pengambilan sampel dan tempat analisis sampel bukan berada pada satu daerah, sehingga cara penyimpanan dan transportasinya akan mempengaruhi kondisi sampel (Eldin Abdelsalam, Dirar dan Abdallah, 2010). Salah satu cara yang saat ini dipergunakan untuk penyimpanan sampel adalah dengan pendinginan. Suhu merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan pada proses penyimpanan sampel yang akan dianalisis. Perubahan suhu juga dapat mempengaruhi kondisi sampel dan dapat mengakibatkan kesalahan dalam interpretasi hasil pemeriksaan. Dari hasil penelitian ini dapat membuktikan bahwa pemeriksaan laboratorium HbA1c dapat dilakukan penyimpanan jika tidak segera dilakukan analisa, namun penyimpanannya sangat perlu diperhatikan yakni pada suhu 2-8 °C atau pada lemari es (Ono *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: Tidak ada pengaruh lama penyimpanan 5 jam dan 10 jam pada suhu 2-8°C terhadap kadar HbA1c.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Klinik Patologi RSUD. Iskak, Tulungagung yang membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akram T Kharroubi, H. M. D. (2015) 'Diabetes mellitus: The epidemic of the century', *World Journal of Diabetes*, 6(6), pp. 850–867.
- Cora, M. C. *et al.* (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* □: JAALAS. American Association for Laboratory Animal Science, 51(5), p. 616.
- Ekanem, A. P., Udoh, A. J. and Inyang-Etoh, A. P. (2012) *Effect of Different Anticoagulants on Hematological Parameters of Oreochromis Niloticus*, *International Journal of Science and Advanced Technology*. Available at: <http://www.ijst.com> (Accessed: 4 September 2019).
- Eldin Abdelsalam, K. A., Dirar, A. M. and Abdallah, D. A. (2010) *Effect of Storage Time and Temperature on some Serum Analytes*, *International Journal of Pathology*.
- Freise, K. J. *et al.* (2015) 'The effect of anticoagulant, storage temperature and dilution on cord blood hematology parameters over time'. doi: 10.1111/j.1751-553X.2008.01066.x.
- International Diabetes Federation (2013) 'Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013', *Diabetes Research and Clinical Practice*. Elsevier Ireland Ltd, 109(3), pp. 461–465. doi: 10.1016/j.diabres.2015.05.037.
- Jeppsson, J.-O. *et al.* (2002) 'Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood.', *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 40(1), pp. 78–89. doi: 10.1515/CCLM.2002.016.
- Keohane, E. M., Otto, C. N. and Walenga, J. M. (2015) *Rodak's hematology* □: *clinical principles and applications*.
- Little, R. R. and Rohlfing, C. (2013) 'The Long and Winding Road to Optimal HbA1c Measurement'. doi: 10.1016/j.cca.2012.12.026.
- Mega, A. C. (2017) 'Korelasi Kadar Rata-Rata Glukosa Darah Puasa dan 2 Jam Post Prondial Tiga Bulan Terakhir dengan Nilai Hba1c Pada Pasien Diabetes Mellitus Prolanis BPJS Kabupaten Kediri Periode Mei-Agustus 2017', 12(August), pp. 1–11.
- Ono, T. *et al.* (2011) 'Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood.', *Clinical Chemistry*, 27(1).
- PERKENI (2015) *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan DM tipe 2 di Indonesia*. Jakarta.
- Queen, E., Ifeanyi, O. E. and Chinedum, O. K. (2014) *The Effect of Storage on Full Blood Count in Different Anticoagulant*, *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* e-ISSN. Available at: www.iosrjournals.org (Accessed: 4 September 2019).
- Ryden, L. *et al.* (2014) 'ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD - Summary The Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in

- collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD)', *Diabetes and Vascular Disease Research*. SAGE Publications Ltd, 11(3), pp. 133–173. doi: 10.1177/1479164114525548.
- Scherer, N. *et al.* (2019) *The Impact and Correction of Analysis Delay and Variability in Storage Temperature on the Assessment of HbA1c from Dried Blood Spots - an IMI DIRECT Study*. Available at: www.scireslit.com (Accessed: 4 September 2019).
- WHO (2011) *Manual on the management, maintenance and use of blood cold chain equipment*. Geneva.
- Yonehara, S. *et al.* (2015) 'Use of fructosyl peptide oxidase for HbA1c assay', in *Journal of Diabetes Science and Technology*. SAGE Publications Inc., pp. 200–205. doi: 10.1177/1932296815569573.