

# Pengaruh Variasi Konsentrasi Suspensi Darah Talasemia dan Waktu Sentrifugasi terhadap Pemeriksaan *Direct Coombs Test* Metode tabung

Hanna Zhafira Salsabella Yan Putri, Ganjar Novia, Eem Hayati, Nina Marlina  
Program Studi D IV Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Kesehatan Bandung

## Abstrak

Talasemia merupakan penyakit kelainan darah yang membutuhkan transfusi darah sebagai pengobatan. Transfusi darah secara berulang berpotensi membentuk alloantibodi atau antibodi ireguler. Tahapan uji pratreansfusi untuk mendeteksi adanya antibodi yang melekat pada eritrosit dilakukan pemeriksaan *Direct Coombs Test*. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi suspensi darah Talasemia dan waktu sentrifugasi terhadap pemeriksaan *Direct Coombs Test* metode tabung. Desain penelitian ini adalah *quasi experiment*, dalam penelitian ini sebanyak 6 sampel darah inkompatibel Talasemia dilakukan pemeriksaan *Direct Coombs Test* metode tabung dengan variasi konsentrasi suspensi 1%, 3%, 5% dan waktu sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit dengan suspensi 5% dan waktu sentrifugasi 1 menit sebagai kontrol. Hasil penelitian pemeriksaan *Direct Coombs Test* menggunakan konsentrasi suspensi darah Talasemia 1%, 3% dan 5% dengan waktu sentrifugasi selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit menunjukkan hasil positif bervariasi dengan terbentuknya derajat aglutinasi +1 dan +2. Data hasil penelitian ini didapatkan dengan uji statistika *Friedman*, diperoleh nilai sig  $0,000 < 0.05$ . Penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi suspensi darah Talasemia yaitu semakin rendah konsentrasi, semakin menurun derajat aglutinasi. Sedangkan pada waktu sentrifugasi semakin lama waktu sentrifugasi, semakin meningkat derajat aglutinasi terhadap pemeriksaan *Direct Coombs Test* metode tabung.

**Kata Kunci :** konsentrasi, waktu sentrifugasi, *direct coombs test*, talasemia.

## The Effect of Variations Concentration Blood Suspension of Thalassemia and Centrifugation Time on the Direct Coombs Test Tube Method

### Abstract

Thalassemia is a blood disorder that requires blood transfusions as treatment. Repeated blood transfusions have the potential to form alloantibodies or irregular antibodies. The pre-transfusion test stage to detect the presence of antibodies attached to erythrocytes is the Direct Coombs Test. The study aims to determine the effect of variations in the concentration of Thalassemia blood suspension and centrifugation time on the Direct Coombs Test examination of the tube method. The design of this study was a quasi-experiment, in this study as many as 6 samples of Thalassemia incompatible blood were examined using the Direct Coombs Test tube method with variations in suspension concentrations of 1%, 3%, 5%, and reading centrifugation time for 1 minute, 2 minutes and 3 minutes with 5% suspension and 1 minute centrifugation time as a control. The results of the Direct Coombs Test examination using 1%, 3% and 5% concentration of Thalassemia blood suspension with centrifugation time for 1 minute, 2 minutes, and 3 minutes showed varying positive results with the formation of +1 and +2 degrees of agglutination. The data of this study was obtained by the Friedman statistical test and received a sig value of  $0.000 < 0.05$ . The study can be concluded that there is an effect of variations in the concentration of blood suspension of Thalassemia, namely the lower the concentration, the lower the degree of agglutination. While in the centrifugation time the longer the centrifugation time, the more the degree of agglutination increases on the Direct Coombs Test tube method.

**Keywords: :** concentration, centrifugation time, *direct coombs test*, thalassemia.

---

**Korespondensi:** Hanna Zhafira Salsabella Yan Putri, Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Kesehatan Bandung, Jalan Babakan Loa, Kec. Pasir Kaliki, Kota Cimahi, Jawa Barat *mobile* 081219933958, *e-mail* zhafirahanna@gmail.com

## Pendahuluan

Talasemia merupakan penyakit keturunan (herediter) yang ditandai dengan adanya kelainan pada darah yang mempengaruhi kemampuan tubuh dalam memproduksi hemoglobin yang bertanggung jawab dalam transportasi oksigen dalam eritrosit. Penyebab utama penyakit Talasemia adalah adanya mutasi pada gen pengkode rantai globin yang menyebabkan ketidakseimbangan antara alfa-globin dengan beta-globin sehingga terdapat gangguan pada pembentukan eritrosit di sumsum tulang (Rujito, 2019).

Indonesia termasuk ke dalam negara yang beresiko tinggi dengan prevalensi Talasemia *carrier* (pembawa) mencapai 6-10% dari populasi (WHO, 2021). Menurut Yayasan Talasemia Indonesia-Perhimpunan Orangtua Penderita Talasemia (YTI-POPTI), pada tahun 2019 Jawa Barat termasuk ke dalam wilayah yang memiliki jumlah penderita Talasemia tertinggi mencapai 40% atau 3.636 penderita dari jumlah penderita Talasemia di Indonesia (P2PTM Kemenkes RI, 2019)

Penderita Talasemia akan mengalami gejala penyakit salah satunya adalah gejala anemia. Gejala tersebut menjadi alasan bagi penderita Talasemia untuk melakukan transfusi darah sebagai pengobatan atau terapi. Pemberian transfusi darah secara berulang akan berpotensi menyebabkan terjadinya reaksi transfusi yang tidak diinginkan (Asmarinah et al., 2023).

Timbulnya reaksi transfusi pada resipien yang mendapatkan transfusi darah berulang akan menyebabkan terbentuknya antibodi dalam tubuh. Antibodi tersebut terbentuk karena resipien terpapar antigen asing yang membentuk alloantibodi yaitu IgG. Antibodi IgG dalam eritrosit akan menyerang *self* antigen pada membran sel eritrosit sehingga dapat menyebabkan hemolisis atau memendeknya usia sel eritrosit (Tormey & Hendrickson, 2019).

Keterlibatan antibodi yang menimbulkan hemolisis pada penderita Talasemia dapat terdeteksi pada uji silang serasi dengan ditandai hasil yang inkompatibel. Menurut penelitian Geni et al., (2019), kasus inkompatibel sering terjadi pada penderita Talasemia yang sudah melakukan transfusi darah sebanyak  $\geq 10$  dengan data hasil kompatibel 48% dan inkompatibel 52% (Geni, Permana & Widayanti, 2019). Kasus inkompatibel pada uji silang serasi diperlukan pemeriksaan lanjutan

yaitu pemeriksaan *Coombs Test* (Kartika K et al., 2020).

Pemeriksaan *Coombs Test* merupakan tahapan pratransfusi untuk mendeteksi adanya antibodi yang menyerang eritrosit. Terdapat dua jenis *Coombs Test* yang umum dilakukan yaitu *Direct Coombs Test* (DCT) yang mendeteksi antibodi secara langsung pada eritrosit dan *Indirect Coombs Test* (ICT) yang mendeteksi antibodi yang tidak terikat pada eritrosit (Maharani Ayu & Noviar, 2018). Menurut penelitian Kartika et al., pada 70 kasus inkompatibel didapatkan hasil *Direct Coombs Test* (DCT) 100% positif (Kartika K et al., 2020).

Pemeriksaan *Coombs Test* membutuhkan suspensi eritrosit untuk mengoptimalkan reaksi antigen-antibodi agar reaksi yang timbul dapat diamati dengan jelas dengan ditandai munculnya aglutinasi. Menurut *World Health Organization* (WHO), suspensi sel yang umum digunakan pada prosedur serologi yaitu suspensi sel 5% dan terbukti pada penelitian Khodijah et al., (2019) bahwa konsentrasi 5% menghasilkan aglutinasi positif 4 dengan latar belakang jernih (WHO, 2013., Khodijah & Qomariyah, 2019). Sedangkan menurut *National Institute of Biologicals* (2013), *American Association of Blood Bank* (2020) dan Roman (2020) bahwa suspensi sel yang digunakan untuk pemeriksaan serologi adalah suspensi sel 3%. Selain itu, konsentrasi suspensi yang digunakan untuk pemeriksaan *Coombs Test* metode tabung digunakan suspensi eritrosit 2-5% (NTBC, 2023). Pada metode gel digunakan suspensi 1,5-2% (Decie & Lewis, 2011). Semakin tinggi konsentrasi suspensi yang dibuat, maka semakin banyak eritrosit dan semakin tinggi juga kadar antigen dalam suspensi. (Khodijah & Qomariyah, 2019) Oleh karena itu, konsentrasi suspensi sangat diperlukan agar reaksi antigen dan antibodi terjadi dengan optimal (Gunawan & Puspita, 2019).

Selain konsentrasi suspensi eritrosit, sentrifugasi pembacaan juga sangat diperlukan pada pemeriksaan *Coombs Test*. Sentrifugasi untuk pembacaan pada uji DCT metode tabung menurut beberapa literatur dilakukan dengan menggunakan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit (Kharshandi & Mane, 2023) dan juga dapat dilakukan dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik (Maharani Ayu & Noviar, 2018). Sementara itu, Sigdel et al., melakukan sentrifugasi setelah penambahan reagen *anti human* dengan kecepatan 2000 rpm selama 1 menit (Sigdel et al., 2021). Kenyataan di

lapangan waktu sentrifugasi pembacaan masih banyak dilakukan tidak sesuai dengan standar, seperti sentrifugasi yang berlebih karena *human error* atau kinerja sentrifuge yang sudah tidak stabil akibat penggunaan yang terlalu lama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi suspensi darah pasien Talasemia dan variasi waktu sentrifugasi terhadap pemeriksaan *Direct Coombs Test* metode tabung.

**Metode**

Jenis penelitian yang digunakan adalah *Quasi Eskperimen*. Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2024, di Laboratorium Jurusan TLM Poltekkes Bandung. Penelitian ini menggunakan beberapa variasi konsentrasi suspensi dan waktu sentrifugasi. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 1%, 3% dan 5% dengan variasi waktu sentrifugasi selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit pada kecepatan 1000 rpm. Penelitian menggunakan 6 sampel darah inkompatibel *Crossmatch* talasemia.

Deteksi antibodi yang *coated* pada eritrosit dan terjadi secara *invivo* dilakukan dengan menggunakan metode tabung. Tabung reaksi sebanyak 6 buah berlabel I (tes) dan II (kontrol) disiapkan, lalu 2 tabung diisi dengan 1 tetes suspensi eritrosit 1%, 2 tabung diisi dengan 1 tetes suspensi eritrosit 3% dan 2 tabung diisi dengan 1 tetes suspensi eritrosit 5%. Kemudian, setiap tabung dicuci sebanyak 3 kali dengan NaCl 0,9%. Setelah itu, masing-masing tabung I (tes) ditambahkan 2 tetes *Anti Human Globulin*, sedangkan masing-masing tabung II (kontrol) ditambahkan 2 tetes NaCl 0,9%. Semua tabung disentrifugasi dengan

kecepatan 1000 rpm selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit.

Data penelitian yang didapatkan diuji statistik normalitas untuk melihat distribusi data. Selanjutnya, data diuji statistik nonparametric menggunakan uji Friedman dengan software *software Statistical Program for Social Science* (SPSS) 26.

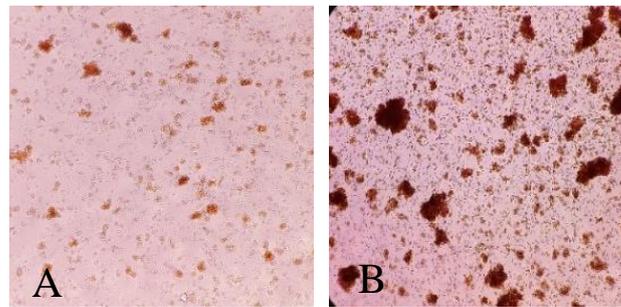
**Hasil**

Hasil pemeriksaan *direct coombs test* metode tabung ditunjukkan dengan terbentuknya aglutinasi dan data aglutinasi yang terbentuk disajikan pada tabel 1. Pemeriksaan *direct coombs test* Talasemia dengan konsentrasi 1% yang dilakukan sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit didapatkan hasil positif 1 (61,1%) dan positif 2 (38,9%); Pada suspensi darah talasemia dengan konsentrasi 3% yang dilakukan sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit didapatkan hasil positif 1 (27,8%) dan positif 2 (72,2%); serta pada suspensi darah Talasemia dengan konsentrasi 5% yang dilakukan sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit didapatkan hasil positif 1 (20%) dan positif 2 (80%). Aglutinasi yang terbentuk pada hasil pemeriksaan *direct coombs test* dapat dilihat secara mikroskopis pada Gambar 1. Hasil uji Friedman menghasilkan nilai *Asymp. Sig.* <0,05 sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi suspensi darah talasemia dan waktu sentrifugasi terhadap pemeriksaan *direct coombs test* metode tabung.

Penelitian ini telah didaftarkan kajian etiknya pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung nomor: 13/KEPK/EC/2024.

Tabel 1. Hasil Derajat Aglutinasi Pemeriksaan *Direct Coombs Test*

No. Sampel	Derajat Aglutinasi								
	Suspensi Eritrosit 1%			Suspensi Eritrosit 3%			Suspensi Eritrosit 3%		
	1 Menit	2 Menit	3 Menit	1 Menit	2 Menit	3 Menit	1 Menit	2 Menit	3 Menit
1	+1	+2	+2	+2	+2	+2	+1	+2	+2
2	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+2	+2
3	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+1	+2	+2
4	+1	+1	+1	+2	+2	+2	+2	+2	+2
5	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2
6	+2	+1	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2
Uji Friedman									
<i>Asymp. Sig.</i>	0,000			0,000			0,000		



Gambar 1 Gambaran Aglutinasi yang Terbentuk secara Mikroskopis. (A) Positif 1 (B) Positif 2

## Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan spesimen darah pasien Talasemia dengan hasil uji silang serasi inkompatibel pada *minor crossmatching*. Hasil inkompatibel tersebut dapat terjadi karena adanya antibodi ireguler dalam serum atau plasma donor atau adanya autoantibodi dan alloantibodi pada darah pasien sehingga terbentuk antibodi IgG dan komplemen yang melekat pada eritrosit pasien secara *in vivo* (Mulyantari & Yasa, 2016). Antibodi ireguler atau “*unexpected antibodies*” merupakan antibodi selain antibodi A dan antibodi B seperti Kell, Duffy, Kidd, Ss, P dan Lewis yang dapat menyebabkan hasil inkompatibel pada uji silang serasi (Amalia *et al.*, 2021).

Spesimen darah talasemia dibuat suspensi dengan berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 1%, 3% dan 5% yang kemudian dilakukan pemeriksaan *direct coombs test* dengan sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit. Keseluruhan, hasil pemeriksaan *Direct Coombs Test* dengan menggunakan suspensi darah Talasemia pada konsentrasi 1%, 3% dan 5% yang dilakukan sentrifugasi pembacaan selama 1 menit, 2 menit dan 3 menit didapatkan hasil positif *Direct Coombs Test* (100%) yang ditunjukkan dengan terbentuknya aglutinasi pada tabung reaksi. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kartika *et al.* (2020), bahwa dari 70 kasus inkompatibel uji silang seras didapatkan hasil positif *Direct Coombs Test* (100%) (Kartika K *et al.*, 2020).

Terbentuknya aglutinasi pada setiap konsentrasi dapat terbentuk secara optimal apabila jumlah antigen dan antibodi seimbang. Pada konsentrasi suspensi 1% diperoleh aglutinasi lebih rendah dibandingkan konsentrasi suspensi 3% dan 5%. Hal tersebut terjadi karena pada konsentrasi yang lebih rendah terjadi reaksi *prozone* yaitu jumlah antigen sangat rendah dibandingkan dengan jumlah antibodi yang lebih banyak sehingga

terbentuk kompleks antigen antibodi yang kecil yang dapat menyebabkan negatif aglutinasi palsu. Sedangkan pada konsentrasi suspensi 3% dan 5% menghasilkan aglutinasi yang lebih jelas. Hal ini dikarenakan terjadi keseimbangan antigen dan antibodi sehingga membentuk kompleks yang besar yang disebut dengan zona *equivalence*.

Konsentrasi 3% dan 5% dapat digunakan pada pemeriksaan *Direct Coombs Test* metode tabung, sesuai dengan standar menurut *National Institute of Biologicals* dan *American of Blood Bank* bahwa suspensi sel pada pemeriksaan serologi menggunakan konsentrasi suspensi 3%, serta menurut *World Health Organization* (WHO) suspensi yang umum digunakan pada prosedur serologi yaitu suspensi dengan konsentrasi 5%.

Aglutinasi yang terbentuk pada waktu sentrifugasi 1 menit, 2 menit dan 3 menit menunjukkan +1 dan +2 dan terdapat peningkatan derajat aglutinasi pada waktu sentrifugasi yang lebih lama dari waktu sentrifugasi standar yaitu selama 1 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Hal tersebut dapat terjadi karena sentrifugasi yang semakin lama akan menyebabkan pembentukan aglutinasi yang terlalu padat dan hasil pemeriksaan *Direct Coombs Test* menjadi *false positive* (Jaime-Pérez & Almaguer-Gaona, 2016). Waktu sentrifugasi yang lebih lama dapat menyebabkan pembentukan formasi *rouleaux* yang mirip dengan aglutinasi. Gambaran formasi *rouleaux* berbentuk seperti tumpukan koin yang apabila formasi tersebut berat akan terlihat sama dengan gambaran aglutinasi yang berbentuk seperti gumpalan (Parker & Tormey, 2017).

Berdasarkan pernyataan Green & Klostermann (2012) pada buku “*modern blood banking & transfusion practices 6th edition*”, bahwa waktu sentrifugasi lebih lama akan mempengaruhi hasil pemeriksaan menjadi *false positive*. Oleh karena itu, peningkatan derajat aglutinasi pada waktu sentrifugasi lebih dari 1

menit dinyatakan *false positive* dan tidak direkomendasikan untuk melakukan pemeriksaan *Direct Coombs Test* dengan waktu sentrifugasi pembacaan 2 menit dan 3 menit dengan kecepatan 1000 rpm (Green & Klostermann, 2012). Kecepatan dan waktu sentrifugasi memiliki hubungan yang berbanding terbalik yang didasarkan persamaan gerak melingkar beraturan sehingga semakin tinggi kecepatan maka semakin sedikit waktu sentrifugasi yang dibutuhkan.

Simpulan penelitian ini bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi suspensi darah talasemia dengan menunjukkan semakin rendah konsentrasi, semakin menurun derajat aglutinasi. Sedangkan berdasarkan variasi waktu sentrifugasi menunjukkan semakin lama waktu sentrifugasi, semakin meningkat derajat aglutinasi. Konsentrasi suspensi 3% dan 5% dapat digunakan pada pemeriksaan *direct coombs test* metode tabung sesuai dengan standar menurut *National Institute of Biologicals, American of Blood Bank* dan *World Health Organization (WHO)*.

#### Daftar Pustaka

- Amalia, Hafy, Z., & Liana, P. (2021). Perbandingan Proporsi Antibodi Ireguler pada Pasien Multitransfusi dan Pasien Non Multitransfusi di UTD RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 9–14. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2630>
- Asmarinah, Arozal, W., Sukmawati, D., Syaidah, R., & Prijanti, A. (2023). *Darah: Kelainan dan Transfusi*. UI Publishing. <https://edeposit.perpusnas.go.id/collection/darah-sumber-elektronis-kelainan-dan-transfusi/118089>
- Decie, & Lewis. (2011). *Practical Haematology*. Elsevier Churchill Livingstone.
- Geni, L., Permana, A., & Widayanti, W. (2019). Gambaran Frekuensi Incompatible Auto Control Pada Penderita Talasemia Dengan Transfusi Berulang < 10 dan ≥ 10 Di Rumah Sakit Hermina Jatinegara. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 5(2), 112–120. <https://doi.org/10.37012/anakes.v5i2.338>
- Green, R. A. B., & Klostermann, D. A. (2012). The Antiglobulin Test. Blood Groups and Serologic Testing. In *Modern Blood Banking & Transfusion Practices 6th Edition* (pp. 101–117). Philadelphia: F.A Davis company.
- Gunawan, L. S., & Puspita, R. C. (2019). Perbedaan Derajat Aglutinasi Uji Golongan Darah Berdasarkan Teknik Penanganan Sampel dalam Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah. *Jurnal Biomedika*, 12. <https://doi.org/https://doi.org/10.31001/biomedika.v12i2.546>
- Jaime-Pérez, J. C., & Almaguer-Gaona, C. (2016). Rediscovering the Coombs test. *Medicina Universitaria*, 18(72), 185–186. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>
- Kartika K, I. D., Thamrin, H. Y., Muhidin, R., & Arif, M. (2020). Analisis Antibodi Ireguler pada Reaksi Inkompatibel Darah Transfusi. 5(2), 28–34.
- Kharshandi, C., & Mane, V. P. (2023). A comparative study between gel card method and manual method for Coomb's test. *Indian Journal of Pathology and Oncology*, 10(1), 34–39. <https://doi.org/10.18231/j.ijpo.2023.006>
- Khoojijah, N. M., & Qomariyah, N. (2019). Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Metode Cell Grouping Berdasarkan Tingkat Konsentrasi Suspensi Sel Degree of agglutination of blood group examination Cell Celling Method Based on Cell Suspension Concentration Level
- Nurul Qomariyah. Jurusan Analisis Kesehatan. *Jaringan Laboratorium Medis*, 01(01), 27–33.
- Maharani Ayu, E., & Noviar, G. (2018). *Imunohematologi Dan Bank Darah* (Issue 1). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mulyantari, N. K., & Yasa, I. W. P. S. (2016). *Laboratorium pratransfusi*.

- P2PTM Kemenkes RI. (2019). *Putuskan Mata Rantai Talasemia, untuk Indonesia Lebih Sehat*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.  
<https://p2ptm.kemkes.go.id/tag/putuskan-mata-rantai-talasemia-untuk-indonesia-lebih-sehat>
- Parker, V., & Tormey, C. A. (2017). The direct antiglobulin test: Indications, interpretation, and pitfalls. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, *141*(2), 305–310.  
<https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0444-RS>
- Rujito, L. (2019). Thalassemia : Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini. In *UNSEOD PRESS* (Issue November 2019). UNSEOD PRESS. <https://bit.ly/3Rrnnl9>
- Services, D. G. of H., & Ministry of Health & Family Welfare, G. of I. (2022). *TRANSFUSION MEDICINE TECHNICAL MANUAL Third Edition 2022*. 1005–1467.
- Sigdel, A., Chalise, G., Bolideei, M., & Malla, S. S. (2021). Comparison between the Manual Method of Indirect Coombs via Gel Technology and Solid Phase Red Cell Adherence. *Maedica*, *16*(2), 200–206. <https://doi.org/10.26574/maedica.2021.16.2.200>
- Tormey, C. A., & Hendrickson, J. E. (2019). Transfusion-related red blood cell alloantibodies: Induction and consequences. *Blood*, *133*(17), 1821–1830. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-833962>
- World Health Organization (WHO). (2021). *Data and Statistics Prevalence Thalassemia in World Wide*.