

Perubahan Bentuk Eritrosit pada Hapusan Darah Anjing Sebelum dan Sesudah Penyimpanan dengan Menggunakan Citrate Phosphate Dextrose

Erythrocyte's Form Changes in Dog's Blood Smear Before and After the Storage Using Citrate Phosphate Dextrose

¹Julien Soepraptini, ² Kristina Widyayanti, ¹A.T.Soelih Estoepangestie

¹Fakultas Kedokteran Hewan Unair

²PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya-60115

Tlp.031-5992785, Fax. 0315993015

Email : eka_1964@yahoo.co.id

Absract

The aim of the study was to determine the effect of Citrate Phosphate Dextrose (CPD) anticoagulant for the preservation of dog's blood. Sample used in this study was blood of 1,5 to 2 years old 9 healthy male dogs with 2,8 ml CPD anticoagulant and mixed well. Blood sample was keep in refrigerator of 4C for 21 days. Blood smear was made before and after storage to detect the abnormality of erythrocyte, such as crenation and rouleaux form. Pre and post test design was used in this study, and the data was analysed by paired t-test. The result of the study showed no significant difference ($p>0.05$) of erythrocyte abnormality before and after storage. This result indicates CPD anticoagulant used in dog's blood preservation doesn't impact to the abnormality of erythrocyte.

Keywords : Citrate Phosphate Dextrose, Blood storage, Blood smear, Crenation.

Pendahuluan

Seiring dengan perkembangan dunia kedokteran hewan, pengetahuan dan pembelajaran tentang transfusi darah bagi hewan-hewan yang membutuhkan penambahan darah perlu pemikiran yang serius. Kekurangan darah sering terjadi pada hewan-hewan yang mengalami perdarahan karena suatu penyakit, atau karena kecelakaan, atau bisa juga terjadi pada saat melakukan tindakan operasi.

Darah merupakan bagian dalam system sirkulasi tubuh, berfungsi sebagai media transportasi dari berbagai macam zat yang dibutuhkan oleh tubuh. Bahan-bahan yang dibutuhkan oleh tubuh yang diangkut oleh darah adalah nutrisi, oksigen, karbondioksida, hormone, serta hasil metabolisme. Disamping itu darah juga berperan memelihara keseimbangan cairan dalam tubuh dan memelihara keseimbangan asam basa (Colville, 2002; Reece, 2005)

Berdasarkan fungsi atau perannya, maka darah dapat digunakan sebagai salah satu bentuk terapi cairan, yaitu dengan cara dilakukan transfuse pada hewan yang membutuhkan. Dalam melakukan transfusi, perlu diperhatikan keamanan kondisi darah pada saat dilakukan transfusi dan kecukupan jumlah darah yang diperlukan dalam transfusi (Battaglia, 2001).

Perubahan sel eritrosit menjadi *crenation* dapat terjadi akibat dehidrasi sel eritrosit. Hilangnya

elektrolit ekstraseluler menyebabkan penurunan cairan ekstraseluler. Perpindahan cairan dari intraseluler ke bagian ekstraseluler dapat terjadi karena efek osmotik. Efek dari terjadinya osmotik dapat menyebabkan eritrosit mengalami dehidrasi. Dehidrasi eritrosit merupakan respon terhadap habisnya persediaan sel (ATP) atau karena kandungan kalsium intraseluler meningkat. Menurunnya ATP akan menghambat kebutuhan ATP pada membran sel. Selain itu, peningkatan kalsium intraseluler dapat menyebabkan hilangnya kalium, air dan ATP (Weiss *et al.*, 2000 Geor *et al.*, 2003). *Crenation* juga dapat terbentuk karena adanya enzim *lecithin-cholesterol acyltransferase* yang berada pada plasma. Enzim tersebut memproduksi lisolesitin yang dapat menyebabkan terbentuknya *crenation*. *Crenation* yang terdapat pada darah dapat dihilangkan dengan diberikannya plasma segar untuk mengembalikan ATP (Stello *et al.*, 2003). Sedangkan, *rouleaux* akan terlihat dalam jumlah yang banyak pada kondisi dimana anjing mengalami peradangan, terdapat penyerapan protein inflamasi pada permukaan sel eritrosit. Protein abnormal yang terdapat pada sirkulasi darah dapat juga mengakibatkan terbentuknya *rouleaux* (De Nicola, 2006).

Citrate Phosphate Dextrose merupakan antikoagulan yang biasa digunakan dalam penyimpanan darah. Berperan mencegah koagulasi,

menjaga viabilitas sel eritrosit, mengoptimalkan pH selama penyimpanan, dan mampu menyimpan darah hingga 28 hari (Battaglia, 2001). Kandungan sitrat, fosfat dan dekstrosa yang terdapat pada antikoagulan CPD mampu menjaga viabilitas sel eritrosit yang disimpan selama penyimpanan, selama sampel disimpan pada suhu penyimpanan yang benar (Helm and Knottenbelt, 2010).

Materi dan Metoda Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sembilan ekor anjing yang berada di daerah Surabaya. Anjing-anjing yang diambil sampel darahnya, adalah dari jenis atau ras Golden Retriever, Rottweiler, Boxer, Siberian, Hasky dan Labrador Retriever yang berjenis kelamin jantan, umur antara 1,5-2 tahun, dengan berat badan antara 15-20 kg.

Sembilan ekor anjing jantan yang dipergunakan sebagai hewan percobaan tersebut, diambil masing-masing sampel darahnya sebanyak 20 ml. Dari kesembilan sampel darah tersebut, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian dicampur dengan antikoagulan CPD sebanyak 2,8 ml. (Battaglia, 2001). Selanjutnya tabung ditutup rapat dengan menggunakan sumbat karet, kemudian darah dan antikoagulan CPD dicampur sampai merata. Setelah darah bercampur merata, diambil beberapa tetes darah untuk dibuat hapusan darah, untuk melihat perubahan bentuk sel-sel eritrosit. (Biyanti dkk, 2010). Sampel darah dalam tabung reaksi setelah diambil untuk pemeriksaan hapusan darah, kemudian disimpan ke dalam presevasi khusus pada suhu 4C selama 21 hari (Battaglia, 2001). Pada hari ke-22, sampel darah diambil untuk pemeriksaan hapusan darahnya kembali dan diperiksa perubahan-perubahan bentuk sel eritrositnya.

Penelitian ini menggunakan rancangan *Pre and Post Test Design*, dengan satu perlakuan dan Sembilan ulangan. Analisis data menggunakan uji t berpasangan (*paired comparison*) (Kusriningrum, 2008). Pengerjaan analisis statistik diolah menggunakan program SPSS 17.0.

Hasil dan Pembahasan

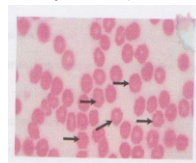
Hasil dari penelitian ini, didapatkan gambaran bentuk eritrosit pada hapusan darah sebelum penyimpanan dan sesudah penyimpanan dapat dilihat pada tabel dibawah.

Tabel 1. Hasil perhitungan perubahan sel eritrosit menjadi bentukan crenation (%) pada hapusan sampel darah

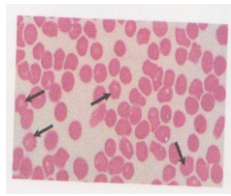
Sampel darah anjing	Sebelum penyimpanan	Setelah penyimpanan
1	1,6	4,4
2	0	1,0
3	0	0,8
4	0	1,2
5	0	2,4
6	0	1,8
7	0	0,8
8	0	1,4
9	0	0,6

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada hapusan darah sampel sebelum penyimpanan terdapat perubahan bentuk sel eritrosit pada sampel no.1. Sel eritrosit pada sampel no.1, yang berbentuk *crenation* sebanyak 1,6%. Sedangkan delapan sampel yang lain sebelum penyimpanan, sel eritrositnya tidak terdapat bentukan *crenation*. Bentukan *rouleaux* tidak didapati pada semua hapusan darah sampel sebelum dilakukan penyimpanan. Pada hapusan darah sampel setelah dilakukan penyimpanan selama 21 hari, dari kesembilan sampel darah tersebut, keseluruhannya terdapat bentukan *crenation*, tetapi tidak terlihat adanya bentukan *rouleaux*.

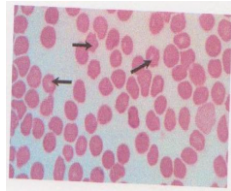
Crenation adalah perubahan morfologi dari sel eritrosit yang terdapat tonjolan tajam atau tumpul dengan ukuran dan jumlah yang sama pada membran selnya (Harley, 2001; Stello *et al.*, 2003). Perbedaan yang terjadi pada sampel no.1, yaitu terlihat adanya *crenation*, dimungkinkan karena adanya kesalahan secara teknis atau pada saat pengambilan sampel dapat juga mempengaruhi terbentuknya *crenation*. Kesalahan teknis yang terjadi berupa lama waktu pengeringan, cara pengambilan darah yang kurang tepat, atau cara memasukkan sampel darah kedalam tabung koleksi yang kurang tepat. Selain itu, eritrosit tua cenderung lebih mudah berubah bentuk jika dibandingkan dengan eritrosit muda pada saat proses penyimpanan. (Harvey, 2001).



Gambar 1. Gambar Hapusan Darah Sampel No.1, Terlihat Bentukan *Crenation* Ditunjukkan oleh Anak Panah (Pembesaran 1000 x)



Gambar 2. Gambar Hapusan Darah Sampel No.5, Terlihat Bentuk *Crenation* Ditunjukkan oleh Anak Panah (Pembesaran 1000 x)



Gambar 3. Gambar Hapusan Darah Sampel No.6, Terlihat Bentuk *Crenation* Ditunjukkan oleh Anak Panah (Pembesaran 1000 x)

Pada keseluruhan hapusan darah sampel setelah penyimpanan terlihat adanya bentuk *crenation*. Pada hapusan darah sampel no.1, peningkatan jumlah *crenation* mencapai 2,8%, dibanding sebelum penyimpanan. Sedangkan pada hapusan darah sampel no.5, setelah penyimpanan terdapat bentuk *crenation* 2,4%. Terjadinya *crenation* dapat disebabkan karena hilangnya ATP dan adanya lisolesitin yang terdapat pada plasma. Lisolesitin dihasilkan dari enzim *lecithin-cholesterol acyltransferase*. Pendinginan darah sampel pada suhu 4C dapat menginaktivkan reaksi enzim *lecithin-cholesterol acyltransferase*, tetapi enzim tersebut tidak didenaturasi selama penyimpanan pada suhu tersebut. Sitrat yang terdapat pada antikoagulan CPD tidak mengaktifkan reaksi enzim *lecithin-cholesterol acyltransferase* pada sampel darah yang telah diambil dan kadar lisolesitin dalam darah akan menurun selama proses penyimpanan (Rumsby *et al.*, 2009).

Rouleaux dapat terbentuk jika terjadi peningkatan konsentrasi protein dalam darah. Adanya protein abnormal yang terdapat pada sirkulasi darah dapat, juga mengakibatkan terbentuknya *rouleaux*. Munculnya bentukan *rouleaux* biasanya dikaitkan dengan kondisi peradangan pada seekor anjing, sehingga kondisi darah tidak baik jika digunakan untuk transfusi. Hal ini disebabkan oleh karena terjadinya penyerapan protein inflamasi pada permukaan sel eritrosit (De Nicola, 2006). Tetapi pada hasil penelitian ini tidak nampak adanya *rouleaux* pada seluruh hapusan darah

sampel, baik sebelum penyimpanan, maupun setelah penyimpanan.

Analisis pada uji t berpasangan (*paired comparison*) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara gambaran hapusan darah sampel sebelum dan sesudah penyimpanan. Meskipun terdapat perubahan bentuk sel eritrosit, yaitu pada seluruh hapusan darah sampel setelah penyimpanan selama 21 hari terlihat adanya *crenation*, sedangkan pada hapusan darah sampel sebelum penyimpanan hanya terlihat pada sampel no.1. Peningkatan jumlah *crenation* pada hapusan darah sampel no.1 sebesar 2,8%, masih dianggap normal karena tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah *crenation* pada hapusan darah sampel sebelum dan sesudah penyimpanan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bentuk sel eritrosit pada hapusan darah anjing sebelum dan setelah penyimpanan selama 21 hari dengan penambahan antikoagulan *citrate phosphate dextrose*.

Daftar Pustaka

- Battaglia, A.M. 2001. *Small Animal Transfusion Medicine*. Chap. 5, In: A.M. Battaglia. *Small Animal Emergency and Critical Care : A Manual For Veterinary Technicians*. W.B. Saunders Company, Amerika Serikat.
- Bijanti, R, R.B.Utomo, R.S.Wahyuni, S.Budhy dan M.G.A.Yuliani. 2010. *Penuntun Praktika Patologi Klinik Veteriner*. Laboratorium Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya.
- Colville, J. 2002., *Blood, Lymph, and Immunity*. Chap. 9, In : T. Colville, and J.M. Bassert. *Clinical Anatomy and Physiology For Veterinary Technicians*. Mosby, Inc. Missouri.
- DeNicola, D.B. 2006. *Hematologic Evaluation of Dog and Cats II : Erythrocyte Morphology : Clues to the Cause of Disease*. IDEXX Laboratories, Inc. Maine.
- Geor, R., E. Lund, and D. Weiss. 2003. *Echinocytosis in Horses : 54 Cases*. J.Am. Veterinary Medicine Association. 202 : 976-979.
- Harvey, J.W. 2001. *Atlas of Veterinary Hematology : Blood and Bone Marrow of Domestic*

- Animals*. W.B. Saunders Company. Amerika Serikat.
- Helm, J. and C. Knottenbelt. 2010. *Blood Transfusions In Dogs and Cats 2 : Practicalities of Blood Collection and Administration*. In Practice. 32:231-234.
- Kusriningrum, R. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Reece, W.O. 2005. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animal 3rd . ed.* Lippincott, Williams, and Wilkins. Philadelphia.
- Rumsby, M.G., Y.M. Barnes, D.G. Hoare, and L.A.D. Tovey. 2009. *Acyltransferase Reaction, Lysolecithin, and Red Cells Aging In Blood Stored Under Normal Transfusion Service Conditions*, Vox Sanguinis. 30 (1) : 23-35.
- Stello, S.L., K.S. Latimer, P.J. Bain, and P.M. Krimer. 2003. *The Significance of Echinocytosis in Blood Smear*. Veterinary Medicine. University of Georgia. Georgia.
- Weiss, D.A. Kristensen, N. Papenfuss, and C. McClay. 2000. *Quantitative Evaluation of Echinocytes In The Dog*. Veterinary Pathology.