

JURNAL TEKNOLOGI DAN MANAJEMEN PENGELOLAAN LABORATORIUM



Published by
UNIVERSITAS ANDALAS

OBSERVASI WAKTU MAKSIMAL PENYIMPANAN DARAH TERHADAP NILAI HEMATOKRIT IKAN LELE (CLARIAS SP.)

Titin Yuniastutik

Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya, 65145

*) Email: ti2nyunias@gmail.com

Abstrak

Studi hematologis merupakan kriteria penting untuk diagnosis dan penentuan kesehatan ikan. Pemeriksaan darah dapat digunakan sebagai indikator tingkat keparahan penyakit pada ikan. Permasalahan pengambilan sampel darah ikan dari berbagai lokasi diluar kota mengakibatkan sampel darah yang diterima tidak langsung diuji. Tujuan dari penelitian ini yaitu menjelaskan pengaruh, waktu penyimpanan darah terhadap nilai hematokrit ikan lele (*Clarias sp.*) dengan menggunakan suhu dan antikoagulan terbaik dari penelitian pendahuluan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian yaitu penyimpanan sampel darah dengan waktu penyimpanan (0 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam, 24 jam) dengan menggunakan suhu kulkas (4oC) dan suhu es gell (10oC) di dalam cool box, dan penggunaan antikoagulan dalam mengambil sampel darah yaitu EDTA 2,7% dan Natrium Sitrat 3,8%. Hasil uji hematokrit sampel darah ikan lele menunjukkan antikoagulan terbaik yang dapat digunakan yaitu EDTA 2,7% karena hingga penyimpanan selama 24 jam sampel darah masih dapat teramati dengan baik. Sampel darah yang berada diluar kota dan harus melakukan perjalanan untuk dilakukan uji hematokrit perlu dilakukan penataan sampel darah dengan baik pada cool box..

Kata Kunci : Hematokrit, Antikoagulan, Waktu Penyimpanan, Suhu Penyimpanan

Abstract

*Haematological studies are important criteria for diagnosis and determination of fish health. Blood tests can be used as an indicator of the severity of a disease. The problem of taking fish blood samples from various locations outside the city resulted in the blood samples received not being tested immediately. The purpose of this study is to explain the effect of blood storage time on the hematocrit value of catfish (*Clarias sp.*) Using temperature and the best anticoagulants from preliminary studies. The method used in this research is the experimental method using a completely randomized design (CRD). The treatments carried out in the study were storage of blood samples with storage time (0 hours, 4 hours, 8 hours, 12 hours, 24 hours) using refrigerator temperature (4oC) and ice gell temperature (10oC) in a cool box, and the use of anticoagulants. In taking blood samples, EDTA was 2.7% and Sodium Citrate 3.8%. Based on the research, it was found that the hematocrit test of catfish blood samples showed the best anticoagulant that could be used, namely EDTA 2.7% because up to 24 hours of storage the blood sample was still well observed. Blood samples that are outside the city and have to travel for a hematocrit test need to be arranged properly in a cool box.*

Keywords: *Haematocrit, Anticoagulant, Storage Time, Storage Temperature.*

I. Pendahuluan

Ikan lele merupakan ikan air tawar yang banyak dibudidayakan dalam skala rumah tangga maupun industri. Komoditas tersebut sangat disukai masyarakat karena kandungan protein dan nilai gizi yang baik serta rasa daging yang khas (Jatnika, et al., 2014). Ikan lele cocok dibudidayakan pada kolam air tenang tanpa pergantian air, namun hal tersebut membuat air sebagai media pemeliharaan ikan lele tercemar oleh limbah organik dan mineral organik yang

berasal dari dekomposisi sisa pakan dan kotoran ikan. Limbah akan berpengaruh secara langsung terhadap kualitas air dan akan mempengaruhi kehidupan dan pertumbuhan ikan lele. Kondisi kesehatan ikan lele sulit ditentukan secara visual karena sering tidak menunjukkan tanda-tanda yang mengindikasikan ikan terinfeksi penyakit. Dengan demikian perlu dilakukan metode lain untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan lele selain secara morfologi dan gejala klinis. Perlu

dilakukan pemeriksaan hematologi pada darah ikan lele (Alamanda, et al., 2007).

Darah merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat kelainan yang terjadi pada ikan, baik yang terjadi karena penyakit ataupun karena keadaan lingkungan. Ikan yang terserang penyakit akan mengalami perubahan pada nilai hematokrit. Pemeriksaan darah dapat digunakan sebagai indikator tingkat keparahan suatu penyakit. Studi hematologis merupakan kriteria penting untuk diagnosis dan penentuan kesehatan ikan (Hidayat et al., 2014). Hematokrit merupakan persentase volume eritrosit (sel darah merah) dalam darah ikan. Hasil pemeriksaan terhadap hematokrit dapat dijadikan sebagai salah satu patokan untuk menentukan keadaan kesehatan ikan, nilai hematokrit kurang dari 22% menunjukkan terjadinya anemia. Kadar hematokrit ini bervariasi tergantung pada faktor nutrisi, umur ikan, jenis kelamin, ukuran tubuh dan masa pemijahan (Keohane et al., 2015).

Menurut Cora et al. (2012), hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pengujian hematokrit adalah antikoagulan, jeda waktu setelah sampel diperoleh hingga dilakukan pemeriksaan, dan penyimpanan. Untuk mencegah penggumpalan darah saat pengambilan darah ikan dapat menggunakan antikoagulan.

Pengambilan sampel darah ikan dari berbagai lokasi diluar kota mengakibatkan sampel darah yang diterima tidak langsung diuji. Untuk menjaga kondisi supaya tidak rusak, maka sampel darah disimpan di dalam lemari pendingin (refrigerator) bersuhu 4 oC atau cool box selama beberapa jam. Penyimpanan sampel darah dan penggunaan antikoagulan yang berbeda menentukan validitas hasil pengujian hematologis. Penundaan pemeriksaan menyebabkan perubahan hasil uji karena sifat darah yang cepat rusak apabila dibiarkan di kondisi yang tidak sesuai (Queen et al., 2014).

Penelitian mengenai pengaruh waktu penyimpanan yang berbeda dengan suhu dan antikoagulan terbaik untuk menunjang praktikum dan penelitian di laboratorium penyakit dan kesehatan ikan dan diharapkan dapat menjadi wahana untuk menambah ilmu serta pengetahuan juga penentuan metode paling tepat untuk mendapatkan nilai hematokrit yang

baik dan masih dapat teramati dalam lama waktu penyimpanan dengan suhu dan antikoagulan yang digunakan, mengetahui faktor-faktor apa saja yang dapat mempengaruhi keberhasilan uji hematokrit. Selain itu, juga dapat digunakan sebagai bahan evaluasi khususnya di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya sehingga dapat meningkatkan dan mempertahankan kualitas serta mutu dalam pemeriksaan darah ikan.

II. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nampan, jarum spuit 1 ml, tube 1,5 ml, botol film, kulkas, *cool box*, thermometer, sentrifuge, pipet hematokrit, kertas standar hematokrit. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel darah ikan lele (*Clarias sp.*), antikoagulan EDTA 2,7%, antikoagulan Natrium sitrat 3,8%, es gell, plastisin.

2.2 Metode Penelitian

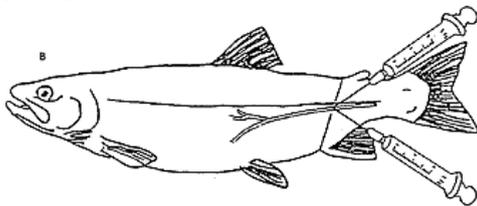
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, dengan menerapkan penyimpanan sampel darah dengan perbedaan suhu kulkas dan suhu es gell di dalam *cool box*, waktu penyimpanan sampel darah, dan penggunaan antikoagulan (sesuai perlakuan) dalam mengambil sampel darah yang berbeda yaitu EDTA 2,7% dan Natrium Sitrat 3,8%. Kemudian dilakukan proses pengamatan hematokrit pada sampel darah ikan lele dan masing-masing hasil pengamatan dibandingkan untuk mengetahui hasil yang terbaik. Pengambilan data dilakukan dengan cara observasi dan dokumentasi dari pekerjaan rutin penulis di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Proses Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah disesuaikan dengan perlakuan yaitu menggunakan spuit 1 ml yang telah diberi antikoagulan (EDTA 2,7%) dan yang lainnya diberikan antikoagulan Natrium Sitrat (3,8%) hal ini dilakukan agar darah tidak menggumpal saat dilakukan uji hematokrit. Darah dimasukkan eppendorf dan siap dilakukan untuk uji hematokrit darah.

Teknik pengambilan darah menggunakan teknik *puncturing the caudal vessel* (pembuluh darah bagian caudal). Teknik ini biasa dipakai untuk pengambilan sampel darah ikan berukuran besar (> 10 cm). Teknik ini mempunyai kelebihan yaitu bisa dipergunakan berulang pada satu ikan, dengan menggunakan teknik ini dari seekor ikan dengan berat 200 gr dapat diperoleh darah sebanyak 0,5 -1 ml dalam setiap minggunya tanpa mengakibatkan kelemahan dan kematian pada ikan. Pengambilan darah dengan cara tusukkan jarum spuit pada garis tengah tubuh ikan di belakang sirip anal, masukkan jarum kedalam *musculus* (otot) sampai mencapai tulang belakang (*columna spinalis*). Pastikan tidak ada gelembung air yang masuk dalam spuit, kemudian tarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Ilustrasinya ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Gambar teknik *puncturing the caudal vessel*

2.3.2 Uji Hematokrit Sampel Darah

Sampel darah ikan lele yang digunakan untuk uji hematokrit akan dilakukan penyimpanan pada kulkas dengan suhu 4°C dan dibandingkan dengan disimpan pada *cool box* pada suhu 10°C. Waktu yang digunakan dalam penyimpanan sesuai dengan penelitian yaitu 0 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam, 24 jam, dan 36 jam.

Pengukuran kadar hematokrit berdasarkan metode Anderson dan Siwicki (1993), dengan cara ujung tabung hematokrit dicelupkan ke dalam tabung yang berisi darah. Darah diambil sebanyak 4/5 bagian tabung. Ujung tabung (yang bertanda merah) yang telah berisi darah ditutup dengan plastisin dengan cara menancapkannya ke dalam plastisin sehingga terbentuk sumbat plastisin. Tabung hematokrit tersebut disentrifuge selama 4 menit dengan kecepatan 12000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran sentrifuse seimbang. Panjang bagian darah yang mengendap dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung diukur dengan menggunakan standar hematokrit. Kadar hematokrit merupakan banyaknya sel darah

(digambarkan dengan padatan atau endapan) dalam cairan darah.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Uji Hematokrit

Hematokrit sampel darah ikan lele menunjukkan antikoagulan terbaik yang dapat digunakan yaitu EDTA 2,7% karena hingga penyimpanan selama 24 jam sampel darah masih dapat teramati dengan baik. Suhu penyimpanan sampel darah yang diletakkan pada kulkas dan *cool box* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Penyimpanan sampel darah dari waktu ke-0 jam sampai dengan 24 jam menunjukkan penurunan pada setiap perlakuan. Untuk sampel darah yang berada diluar kota dan harus melakukan perjalanan, agar sampel darah tetap baik untuk dapat diamati nilai hematokritnya dapat dilakukan penataan sampel darah dengan baik pada *cool box*. Bagian bawah, samping, dan atas sampel darah diberi es gell serta dipastikan suhu didalam *cool box* tetap stabil seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Penataan Sampel Darah di dalam *Cool box*

Menurut Stokol *et al.* (2014), Darah setelah keluar dari pembuluhnya akan segera mengalami koagulasi. Oleh karena itu sampel darah tanpa penambahan antikoagulan tidak dapat disimpan karena telah rusak sehingga tidak dapat dilakukan uji hematologi. Apabila tidak memungkinkan untuk dilakukan uji langsung karena berbagai alasan, maka dapat digunakan antikoagulan yang sesuai. Pada umumnya uji hematologi menggunakan antikoagulan EDTA. Heparin tidak disarankan untuk hitung darah lengkap karena sel-sel akan menggumpal (agregasi) yang mengakibatkan penghitungan tidak valid. EDTA merupakan antikoagulan yang baik untuk pemeriksaan hematologi darah ikan karena mempunyai

stabilitas yang baik dan memiliki pH yang mendekati pH darah ikan. Zat aditif pada EDTA tidak merubah morfologi sel dan dapat menghambat koagulasi darah. Koagulasi atau pembekuan darah dapat dihambat dengan cara mengikat atau mengendapkan ion kalsium sehingga menghambat pembentukan thrombin dan protombin (Rosidah dan Wibowo, 2018).

Dari penelitian diperoleh hasil terbaik adalah dalam proses pengambilan darah ikan anti koagulan EDTA 2,7 % merupakan anti koagulan terbaik dibandingkan Na sitrat 3,8 %. Dan waktu penyimpanan darah yang terbaik adalah suhu 4°C (kulkas), tetapi suhu 10°C menunjukkan hasil hematokrit masih bagus sampai jam ke 24. Jadi pengambilan darah di lapang dan selama proses perjalanan menuju Laboratorium masih bisa dilakukan dengan penyimpanan maksimal 24 jam suhu 10 °C (cool box). Untuk waktu lebih dari 24 jam darah sudah rusak. Hal ini bisa ditunjukkan pada hasil hematokrit pada gambar.



Gambar 4. Hasil hematokrit EDTA 2,7% penyimpanan 24 jam suhu 4°C



Gambar 5. Hasil hematokrit EDTA 2,7% penyimpanan 24 jam suhu 10°C



Gambar 6. Hasil hematokrit EDTA 2,7% penyimpanan 36 jam suhu 4°C dan suhu 10°C

Berdasarkan pengamatan nilai hematokrit pada ikan lele (*Clarias sp.*) yang diambil dari hasil pengamatan terbaik maka dilakukan penelitian lanjutan dengan perlakuan waktu penyimpanan selama 0 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam, 24 jam dapat dilihat seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Hematokrit

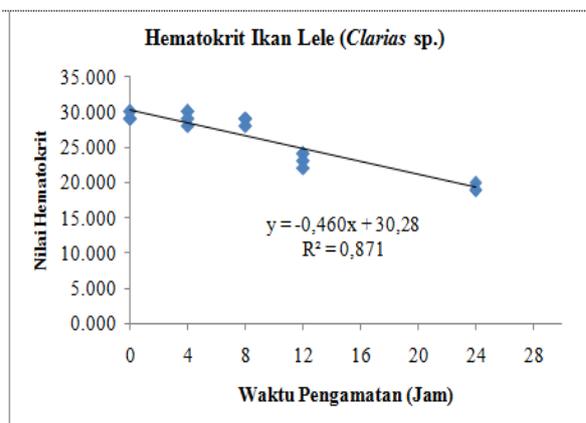
Perlakuan	Rerata ± STDEV
0 Jam	29,33±0,57
4 Jam	29,00±1,00
8 Jam	28,67±0,57
12 Jam	23,00±1,00
24 Jam	19,33±0,57

Tabel menunjukkan kisaran nilai uji hematokrit ikan lele (*Clarias sp.*) didapatkan rata-rata pada penyimpanan 0 jam , 4 jam, 8 jam memiliki kisaran yang hampir sama yaitu 28,67 – 29,33, sedangkan nilai terendah didapatkan pada perlakuan 24 jam dengan nilai hematokrit 19,33. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan penyimpanan darah terhadap nilai hematokrit ikan lele (*Clarias sp.*) dilakukan dengan Uji F. Analisa statistik Uji F dengan *software Microsoft Excel* didapatkan hasil nilai F Hitung sebesar 100,72, Nilai F Tabel 5% sebesar 3,48. Dengan ini dapat dinyatakan bahwa nilai F Hitung lebih tinggi dari nilai F Tabel 5% sehingga perlakuan tersebut dinyatakan berbeda nyata. Kemudian dilanjutkan Uji BNT untuk melihat perlakuan penyimpanan darah terbaik pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisa perhitungan Statistik Uji BNT Hematokrit

Rata-rata Perlakuan	(24 Jam)	(12 Jam)	(8 Jam)	(4 Jam)	(0 Jam)	Notasi
(24 jam) 19	-					a
(12 jam) 23	4					b
(8 Jam) 28	9	5				c
(4 Jam) 29	10	6	1			c
(0 Jam) 29	10	6	1			c

Jika dilihat dari hasil BNT 5 % yaitu sebesar 1,409 maka perlakuan penyimpanan darah yaitu 0 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam, 24 jam dapat dilihat nilai rata-rata terbaik hematokrit pada penyimpanan 0 jam namun untuk perlakuan 4 jam dan 8 jam menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata sehingga pada 8 jam penyimpanan masih dapat digunakan untuk menyimpan darah sebelum dilakukan pengamatan hematokrit. Dan pada perlakuan penyimpanan 12 jam dan 24 jam hasil hematokrit yang diperoleh sudah mengalami penurunan. Hematokrit merupakan persen volume sel darah merah di dalam darah Keterbatasan saat melakukan penelitian adalah pada saat sampel darah diambil, sampel tidak langsung dilakukan pemeriksaan. Batas waktu penyimpanan sampel EDTA untuk pemeriksaan hematokrit yang disimpan dalam suhu kamar adalah 6 jam. Jika sampel darah EDTA melebihi batas penyimpanan maka akan merubah bentuk morfologi dari eritrosit yang menyebabkan nilai hematokrit rendah (Meilaini, 2019). Hasil hubungan antara nilai hematokrit dan waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Hubungan Antara Nilai Hematokrit dan Waktu Pengamatan

Hubungan perlakuan penyimpanan darah yaitu 0 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam, 24 jam terhadap nilai hematokrit ikan menunjukkan persamaan linier negatif $y = -0,460x + 30,28$ dengan $R^2 = 0,871$. Semakin lama waktu penyimpanan maka didapatkan nilai hematokrit yang semakin rendah.

Menurut Ekanem *et al.* (2012), makin lama penyimpanan maka jumlah sel-sel darah yang terhitung makin berkurang karena sel-sel darah telah rusak (hemolisis) atau mati. Selama penyimpanan, sel-sel darah mengalami perubahan biokimiawi, biomekanis, dan reaksi imunologis, menyebabkan terjadinya kerusakan struktural maupun morfologis. Eritrosit adalah sel darah yang paling mudah mengalami kerusakan ini. Konsentrasi antikoagulan yang tidak tepat juga dapat menyebabkan gangguan tonisitas, menyebabkan pembengkakan sel, hemolisis, atau krenasi. Nilai hematokrit dapat dipengaruhi oleh faktor suhu, lama penundaan, pemusangan, anti koagulan, kesalahan pembacaan, jumlah eritrosit, ukuran dan bentuk eritrosit. jumlah lekosit yang cukup tinggi, nilai glukosa dan natrium darah yang tinggi, serta hemolisis.

Kesimpulan

Hasil uji hematokrit sampel darah ikan lele menunjukkan antikoagulan terbaik yang dapat digunakan yaitu EDTA 2,7% karena hingga penyimpanan selama 24 jam sampel darah masih dapat teramati. Sampel darah yang berada diluar kota dan harus melakukan perjalanan untuk dilakukan uji hematokrit perlu dilakukan penataan sampel darah dengan baik pada *cool box*. Bagian bawah, samping, dan atas sampel darah diberi es gell serta dipastikan suhu didalam *cool box* tetap stabil

Saran

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk mendapatkan hasil uji hematokrit yang baik dapat menggunakan antikoagulan EDTA 2,7%. Jika sampel darah tidak dapat secara langsung dilakukan uji hematokrit karena

keberadaan sampel yang jauh dan perlu perjalanan yang memerlukan waktu lama, sampel darah dapat disimpan dan dibawa menggunakan *cool box* dengan penataan sampel yang baik agar sampel darah tidak cepat

Stokol, T., Priest, H., Behling-Kelly, E dan Babcock, G. 2014. *Samples for Hematology*. Animal Health University Ithaca: New York.

Queen, E., Ifeanyi, O.E. dan Chinedum, O.K. 2014. The effect of storage on full blood count in different anticoagulant. *IOSR-JDMS* 13(9):128-131.

Daftar Pustaka

- Alamanda, I. E., N. S. Handajani., A. Budiharjo. 2007. Penggunaan metode hematologi dan pengamatan endoparasit darah untuk penetapan kesehatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. 8 (1) : 34-38
- Anderson, D. P and A. K. Siwicki. 1993. Basic haematology and serology for fish health programs. Paper presented in second symposium on disease in asian acuaculture "aquatic animal health and the environment. 185-202.
- Cora, M.C., King, D., Betz. L.J., Wilson, R. dan Travlos, G.S. 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*. 51(5): 616-621.
- Ekanem AP, Inyang-Etoh AP, dan Inyang E. P. C. 2011. Evaluation of the antibacterial efficacy of seven plant extracts against aeromonas and pseudomonas bacteria of farmed catfish (*Heterobranchus longifilis*). *Veterinary Science Development*. 1(11): 47-51.
- Hidayat, R., E. Harpeni dan Wardiyanto. 2014. Profil hematologi kakap putih (*Lates calcallifter*) yang distimulasi dengan jintan hitam (*Nigela sativa*) dan efektivitasnya terhadap infeksi Vibrio dengan *Alginolyticus*, *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 3 (1): 327-334.
- Jatnika, D., K. Sumantadinata dan N. H. Pandjaitan. 2014. Pengembangan usaha budidaya ikan lele (*Clarias sp.*) di lahan kering di kabupaten gunungkidul, provinsi daerah istimewa Yogyakarta. *Journal Manajemen IKM*. 9 (1) : 1-10
- Keohane, E.M., Smith, dan Walenga, J.M. 2015. *Rodaks's Hematology : Clinical Principles and Applications*
- Rosidah dan C. Wibowo. 2018. Perbedaan antara pemeriksaan antikoagulan edta dan heparin terhadap nilai hematokrit (HCT). *Jurnal Sains*. 8 (16) : 16-21.

ISSN 2621-0878

