

## ORIGINAL ARTIKEL

## Open Access

## Pengaruh Penambahan Reagen Anti-Rh terhadap Pemeriksaan Kolesterol CHOD-PAP pada Serum yang Mengandung Eritrosit

Riska Dwi Putri<sup>1\*</sup>, Alya Rahmaditya Arfan<sup>2</sup>, Astrid Siska Pratiwi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Kartini Batam, Batam, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Bank Darah, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Kartini Batam, Batam, Indonesia

\*Corresponding Author. E-mail: [riskadwiputri0@gmail.com](mailto:riskadwiputri0@gmail.com), Mobile number: +62 82179795608

DOI: 10.33096/umj.v10i1.360

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Hemolisis dalam specimen serum menyebabkan pelepasan hemoglobin yang dapat mengganggu akurasi hasil pemeriksaan kimia klinik, termasuk kadar kolesterol. Penambahan reagen anti-Rh diharapkan dapat mengendapkan eritrosit dan menurunkan kadar hemoglobin bebas sehingga hasil pemeriksaan kolesterol tidak terpengaruh. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan reagen anti-Rh terhadap hasil pemeriksaan kolesterol pada serum yang mengandung eritrosit.

**Metode:** Jenis penelitian adalah eksperimental dengan desain *static group comparison*. Serum hemolisis dengan kadar hemoglobin 0,53 g/dL, 0,81 g/dL dan 1,03 g/dL diberi tambahan reagen anti-Rh sebanyak 50 µL, 100 µL dan 200 µL. Kadar kolesterol diperiksa menggunakan metode CHOD-PAP [2]. Data dianalisis dengan uji ANOVA satu arah dan uji lanjut *Post Hoc Duncan*.

**Hasil:** Reagen Anti-Rh dapat mengendapkan dan memisahkan eritrosit dalam serum yang mengandung eritrosit; Reagen anti-Rh mempengaruhi secara signifikan dalam pemeriksaan kolesterol pada sampel yang mengandung eritrosit dengan nilai Sig < 0,05 terhadap sampel yang mengandung eritrosit yang tidak ditambahkan reagen anti-Rh. Kadar Hb 0,53 g/dL dengan penambahan reagen anti-Rh 200 µL di sampel yang mengandung eritrosit, memberikan kadar kolesterol yang sama (tidak berbeda signifikan) terhadap kolesterol yang diukur pada serum normal.

**Kesimpulan:** Penambahan reagen anti-Rh efektif menurunkan kadar hemoglobin bebas dan mengurangi interferensi pada pemeriksaan kolesterol, tetapi kadar kolesterol tidak berbeda signifikan dengan serum normal ( $p > 0,05$ ).

**Kata kunci:** Kolesterol; anti-Rh; eritrosit; hemolisis; CHOD-PAP

Article history:  
Received: 19 Mei 2025  
Accepted: 14 Mei 2025  
Published: 29 Juni 2025

## ABSTRACT

**Background:** Hemolysis in serum specimens leads to the release of hemoglobin, which can interfere with the accuracy of clinical chemistry test results, including cholesterol levels. The addition of anti-Rh reagent is expected to precipitate erythrocytes and reduce free hemoglobin levels, thereby minimizing interference in cholesterol measurement. This study aims to evaluate the effect of anti-Rh reagent addition on cholesterol test results in serum containing erythrocytes.

**Methods:** This was an experimental study with a static group comparison design. Hemolytic serum samples with hemoglobin concentrations of 0.53 g/dL, 0.81 g/dL, and 1.03 g/dL were treated with 50  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, and 200  $\mu$ L of anti-Rh reagent. Cholesterol levels were measured using the CHOD-PAP method. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's Post Hoc test.

**Results:** The anti-Rh reagent was able to precipitate and separate erythrocytes from serum samples containing erythrocytes. The addition of anti-Rh reagent significantly affected cholesterol test results in erythrocyte-containing samples, with a significance value of  $p < 0.05$  compared to samples without anti-Rh reagent. A hemoglobin level of 0.53 g/dL treated with 200  $\mu$ L of anti-Rh reagent resulted in cholesterol levels that were not significantly different from those measured in normal serum.

**Conclusion:** The addition of anti-Rh reagent is effective in reducing free hemoglobin levels and minimizing interference in cholesterol testing. However, the measured cholesterol levels did not differ significantly from those in normal serum ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** Cholesterol levels; serum containing erythrocytes; CHOD-PAP

## PENDAHULUAN

Proses pengujian total laboratorium meliputi fase praanalitik, analitis, dan pascaanalitik. Terdapat bukti yang tak terbantahkan bahwa sebagian besar kesalahan laboratorium terjadi pada fase praanalisis (61,9 - 68,2%), yang kemudian diikuti oleh kesalahan pada bagian pascaanalisis (18,5 - 23,1%) dan analisis (13,3 - 15%) dari keseluruhan proses pengujian.<sup>1</sup> Kesalahan terbesar dalam tahap praanalitik adalah yang berhubungan dengan kualitas spesimen yaitu hemolisis, kasus hemolisis ini menyumbangkan kesalahan paling besar diantara kasus kasus yang lain.<sup>1</sup>

Hemolisis adalah proses patologis yang ditandai dengan hilangnya integritas membran sel darah merah secara prematur yang menyebabkan pelepasan kandungan sitosol, yang sebagian besar terdiri dari hemoglobin, ke dalam ruang ekstraseluler.<sup>2</sup> Berbagai proses penyakit dapat menyebabkan hemolisis seperti anemia hemolitik, hemoglobinopati, sepsis, dan infeksi parasit (faktor in vivo).<sup>3</sup> juga Penyebab terjadinya hemolisis salah satunya diakibatkan kesalahan praanalitik.

Faktor yang paling umum dikaitkan dengan teknik flebotomi dan pemrosesan/transportasi sampel (faktor in vitro). Ini termasuk penggunaan jarum suntik sempit, penggunaan spuit yang kuat, pengocokan tabung darah yang terlalu kuat, suhu transportasi spesimen yang tidak tepat, keterlambatan dalam memisahkan serum/plasma dari sel, dan gaya dan/atau waktu sentrifugasi yang tidak optimal.<sup>4,5</sup> Faktor in vitro dipengaruhi oleh pengalaman dan keterampilan orang yang melakukan flebotomi dan

juga oleh kepatuhan terhadap praktik yang baik sehubungan dengan transportasi dan pemrosesan spesimen.<sup>3</sup>

Plasma atau serum biasanya bening (yaitu, tidak keruh atau berawan) dan berwarna kuning kekuning-kuningan. Pada spesimen yang diperoleh dengan venipuncture, hemolisis terlihat jelas dengan warna merah muda atau kemerahan pada plasma atau serum yang telah dipisahkan dari eritrosit.<sup>6,7</sup>

Hemolisis memengaruhi pengujian laboratorium melalui 3 mekanisme utama. Pertama, lisis eritrosit melepaskan konstituen intraseluler seperti aspartat aminotransferase, laktat dehidrogenase, dan kalium, yang mengakibatkan konsentrasi analit ini meningkat secara palsu. Kedua, hemolisis melepaskan protease dari eritrosit yang dapat mendegradasi protein seperti insulin dan troponin jantung, yang mengakibatkan konsentrasi yang lebih rendah secara palsu. Ketiga, adanya kelebihan hemoglobin dan konstituen lain dalam plasma/serum (terlihat dari perubahan warna) dapat mengganggu pengukuran spektrofotometri. Hasil yang tidak akurat dikarenakan warna merah penyebab hemolisis dapat mengganggu penyerapan cahaya pada saat melewati spesimen pada tes spektrofotometri sehingga dapat mempengaruhi hasil pengukuran kimia, seperti halnya pengukuran kolesterol diakibatkan pigmen merah hemoglobin.<sup>3,8</sup>

Sistem penggolongan darah yang biasa dikenal adalah sistem ABO (golongan darah A, B, AB, dan O). Selain itu, ada sistem rhesus yang membagi darah berdasarkan pada ada-tidaknya protein antigen D (faktor rhesus/Rh) di permukaan sel darah merah. Protein Rh adalah protein transmembran (melintasi membran sel) yang terdapat di permukaan sel darah merah. Antigen Rh merupakan bagian dari protein yang diekspresikan pada permukaan membran sel darah merah, fungsi antigen berperan dalam stabilitas membran sel darah merah.<sup>9,10</sup>

Penambahan reagen anti-Rh pada serum yang mengalami hemolisis dilakukan dengan tujuan untuk mengikat hemoglobin bebas yang dilepaskan ke dalam serum akibat pecahnya sel darah merah. Proses ini dimaksudkan untuk meminimalkan gangguan atau interferensi hemoglobin terhadap hasil pemeriksaan laboratorium.<sup>11</sup> Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan terdapat peningkatan kadar asam urat pada serum yang mengalami hemolisis, dan ditemukan perbedaan yang signifikan antara kadar asam urat pada serum tanpa hemolisis dan serum hemolisis, termasuk jika dibandingkan dengan serum hemolisis yang telah ditambahkan reagen anti-Rh.<sup>12</sup>

Penelitian ini dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut dengan menambahkan reagen anti-Rh ke dalam serum hemolisis. Reagen ini diharapkan dapat mengikat dan menurunkan kadar hemoglobin bebas pada sampel hemolisis, sehingga hasil pemeriksaan kolesterol menjadi lebih akurat.<sup>11,13</sup>

## METODE

Penelitian ini bersifat eksperimen, yaitu mengumpulkan data, melakukan pengujian, dan melihat hasil pemeriksaan kolesterol darah menggunakan serum dan serum yang mengandung eritrosit dengan penambahan anti – Rh. Dengan desain penelitian yang digunakan adalah *static group comparison* yaitu perbandingan hasil pemeriksaan serum dan serum yang mengandung eritrosit dengan penambahan anti – Rh dengan volume yang bervariasi.

Sampel terdiri dari serum normal dan serum hemolisis dengan kadar Hb: 0,53 g/dL (Serum A), 0,81 g/dL (Serum B), dan 1,03 g/dL (Serum C). Penambahan reagen anti-Rh dilakukan sebanyak 50 µL, 100 µL, dan 200 µL per 100 µL serum.

Pengukuran kadar kolesterol dilakukan menggunakan metode CHOD-PAP<sup>14</sup>, sementara kadar hemoglobin dianalisis dengan metode cyanmethemoglobin.<sup>15</sup> Data dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan uji lanjut Post Hoc Duncan.

## HASIL

**Tabel 1. Rata-rata Kadar Hb Setelah Penambahan Anti-Rh**

| Serum | Hb Awal   | 50 µL | 100 µL | 200 µL |
|-------|-----------|-------|--------|--------|
| A     | 0,53 g/dL | 0,08  | 0,33   | 0,36   |
| B     | 0,81 g/dL | 0,20  | 0,30   | 0,43   |
| C     | 1,03 g/dL | 0,30  | 0,38   | 0,52   |

**Tabel 2. Rata-rata Kadar Kolesterol (mg/dL)**

| Serum | 50 µL | 100 µL | 200 µL | Serum Normal |
|-------|-------|--------|--------|--------------|
| A     | 205,7 | 182,2  | 152,4  | 150,1        |
| B     | 225,9 | 195,4  | 165,5  |              |
| C     | 245,6 | 210,9  | 178,7  |              |

| Kolesterol                                          |   |         |                         |         |          |          |          |         |          |          |          |          |
|-----------------------------------------------------|---|---------|-------------------------|---------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|
|                                                     |   |         | Subset for alpha = 0.05 |         |          |          |          |         |          |          |          |          |
| Perlakuan                                           | N | 1       | 2                       | 3       | 4        | 5        | 6        | 7       | 8        | 9        | 10       | 11       |
| Duncan <sup>a</sup>                                 |   |         |                         |         |          |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,53g/dL + Anti Rh 50 mL   | 5 | 40,6940 |                         |         |          |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,81 g/dL + Anti Rh 50 mL  | 5 |         | 43,4980                 |         |          |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 1,03 g/dL + Anti Rh 50 mL  | 5 |         |                         | 57,9060 |          |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,81 g/dL + Anti Rh 200 mL | 5 |         |                         |         | 147,4620 |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,81 g/dL + Anti Rh 100 mL | 5 |         |                         |         | 148,2320 |          |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,53g/dL + Anti Rh 100 mL  | 5 |         |                         |         |          | 151,4080 |          |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,53g/dL + Anti Rh 200 mL  | 5 |         |                         |         |          | 152,6760 | 152,6760 |         |          |          |          |          |
| Serum normal                                        | 5 |         |                         |         |          |          | 152,9880 |         |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 1,03 g/dL + Anti Rh 200 mL | 5 |         |                         |         |          |          |          | 54,3980 |          |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 1,03 g/dL + Anti Rh 100 mL | 5 |         |                         |         |          |          |          |         | 156,9920 |          |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,5g/dL                    | 5 |         |                         |         |          |          |          |         |          | 181,3600 |          |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 0,7g/dL                    | 5 |         |                         |         |          |          |          |         |          |          | 201,8520 |          |
| Serum hemolisis kadar Hb 1 g/dL                     | 5 |         |                         |         |          |          |          |         |          |          |          | 251,3840 |
| Sig.                                                |   | 1,000   | 1,000                   | 1,000   | ,233     | ,052     | ,627     | 1,000   | 1,000    | 1,000    | 1,000    | 1,000    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

**Gambar 1. Uji Post Hoc Duncan**

## PEMBAHASAN

Uji post hoc Duncan dilakukan karena hasil dari uji ANOVA dengan nilai Sig. (0,001) < 0,05 sehingga ada perbedaan yang signifikan, karena adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan terhadap kadar kolesterol dilakukan uji post hoc duncan. Uji post hoc duncan dilakukan untuk mengetahui perlakuan terhadap kadar kolesterol yang sama ataupun berbeda terhadap serum hemolisis dan serum normal. Uji post hoc duncan yang dilakukan mendapatkan hasil bahwa kadar kolesterol pada serum yang mengandung eritrosit (Hb = 0,53 g/dL) dengan penambahan anti – Rh 200µl memberikan kadar kolesterol yang tidak berbeda signifikan terhadap serum normal karena berada di subset yang sama yaitu subset 6. Jika data yang didapat pada uji post hoc duncan berada pada subset yang sama maka tidak ada perbedaan yang signifikan antara serum hemolisis (Hb = 0,53 g/dL) dengan penambahan anti – Rh 200µl dengan serum normal. Sedangkan jika berada di subset yang berbeda menandakan rata – rata hasil kadar kolesterol berbeda signifikan yang artinya belum mampu memberikan kadar kolesterol yang sama dengan serum normal. Uji post hoc duncan yang dilakukan semakin kekanan subsetnya kadar kolesterolnya semakin meningkat dan semakin ke kiri subsetnya kadar kolesterolnya semakin menurun.

Berdasarkan hasil analisis data dan uji *post hoc* maka dapat disimpulkan bahwa : (1) reagen Anti-Rh dapat mengendapkan dan memisahkan eritrosit dalam serum yang mengandung eritrosit; (2) Reagen anti-Rh mempengaruhi secara signifikan dalam pemeriksaan kolesterol pada sampel yang mengandung

eritrosit dengan nilai Sig < 0,05 terhadap sampel yang mengandung eritrosit yang tidak ditambahkan reagen anti-Rh; (3) Pada penelitian ini kadar Hb 0,53 g/dL dengan penambahan reagen anti-Rh 200 µL di sampel yang mengandung eritrosit, memberikan kadar kolesterol yang sama (tidak berbeda signifikan) terhadap kolesterol yang diukur pada serum normal.

### KESIMPULAN

Penambahan reagen anti-Rh efektif menurunkan kadar hemoglobin bebas dan mengurangi interferensi pada pemeriksaan kolesterol. Volume 200 µL anti-Rh pada serum dengan kadar Hb 0,53 g/dL memberikan hasil yang setara dengan serum normal.

### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Seluruh proses penelitian, analisis data, penulisan artikel, dan publikasi dilakukan secara independen tanpa adanya pengaruh dari pihak ketiga, baik dari lembaga, institusi, maupun produsen reagen yang digunakan dalam penelitian ini.

### Sumber Dana

-

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Institut Kesehatan dan Teknologi Kartini Batam, khususnya Fakultas Kesehatan, Departemen Analis Kesehatan dan Departemen Teknologi Bank Darah, atas dukungan fasilitas dan sarana yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang telah membantu, baik secara langsung maupun tidak langsung, dalam proses penelitian dan penyusunan artikel ini.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Mrazek C, Lippi G, Keppel MH, et al. Errors within the total laboratory testing process, from test selection to medical decision-making – A review of causes, consequences, surveillance and solutions. *Biochem Medica*. 2020;30(2):1-19. doi:10.11613/BM.2020.020502
2. Dimitrov JD, Roumenina LT, Perrella G, Rayes J. Basic Mechanisms of Hemolysis-Associated Thrombo-Inflammation and Immune Dysregulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023;43(8):1349-1361. doi:10.1161/ATVBAHA.123.318780
3. Krasowski MD. Educational Case: Hemolysis and Lipemia Interference With Laboratory Testing. *Acad Pathol*. 2019;6. doi:10.1177/2374289519888754

4. Köhne I. Haemolysis induced by mechanical circulatory support devices: unsolved problems. *Perfus (United Kingdom)*. 2020;35(6):474-483. doi:10.1177/0267659120931307
5. Lima-Oliveira G, Volanski W, Lippi G, Picheth G, Guidi GC. Pre-analytical phase management: a review of the procedures from patient preparation to laboratory analysis. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(3):153-163. doi:10.1080/00365513.2017.1295317
6. Lippi G, Plebani M, Di Somma S, Cervellin G. Hemolyzed specimens: A major challenge for emergency departments and clinical laboratories. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2011;48(3):143-153. doi:10.3109/10408363.2011.600228
7. Febryani N, Kunci K. Studi Kadar Hemoglobin pada Sampel Hemolisis. Published online 2019:74-79.
8. Koseoglu Mehmet, Hur Aysel, Atay Aysenur, Çuhadar Serap. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochem Medica*. 2011;21(1):79-85.
9. Gooch JW. Rh Antigen. *Encycl Dict Polym*. 2011;(Md):921-921. doi:10.1007/978-1-4419-6247-8\_14704
10. Booth C, Allard S, Robinson S. Blood transfusion. *Med (United Kingdom)*. 2021;49(4):238-242. doi:10.1016/j.mpmed.2021.01.012
11. Atika I, Rahmawati I, Anggraeni N. Pengolahan Serum Hemolisis Menggunakan Reagen Anti-Rh Pada Pemeriksaan Glukosa Darah Metode GOD-PAP. *J Anal Med Biosains*. 2020;7(2):93. doi:10.32807/jambs.v7i2.185
12. Hartati D. PERBANDINGAN KADAR ASAM URAT PADA SERUM NON HEMOLISIS, HEMOLISIS DAN SERUM HEMOLISIS DENGAN PENAMBAHAN REAGEN ANTI-Rh. *Masker Med*. 2024;12(1):88-93. doi:10.52523/maskermedika.v12i1.606
13. Permenkes RI No 14 Tahun 2021. Tentang Standar Kegiatan Usaha dan Produk Pada Penyelenggaraan Perizinan Berusaha Berbasis Risiko Sektor Kesehatan. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 14 Tahun 2021 Tentang Standar Kegiatan Usaha dan Produk Pada Penyelenggaraan Perizinan Berusaha Berbasis Risiko Sektor Kesehatan. *Menteri Kesehat Republik Indones Peratur Menteri Kesehat Republik Indones*. 2021;69(1496):1-13.
14. Anisa Fitri B, Aldi Setiawan W, Loga S, Rahmatul Aini S. Pemeriksaan Kolesterol Total. *Innov J Soc Sci Res*. 2024;Vol.4 No.4:13069-13080.
15. Anggraeni ID, Wulan WS, Nugraha G. The difference of hemoglobin examination results in normal and hemolysis samples using cyanmethemoglobin methods. *Surabaya Int Heal Conf*. 2019;1(1):356-361.