

NILAI FRAGILITAS OSMOTIK PADA SPESIMEN DARAH VENA DENGAN ANTIKOAGULAN K₂EDTA DAN K₃EDTA

Annisa Kusuma Wardhani^{1*} · Betty Nurhayati² · Eem Hayati³ · Ganjar Noviar⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail : annisakusumaw28@gmail.com

Tlp WA : 088218960131

Abstract

Osmotic fragility test is an examination carried out to determine the resistance of erythrocyte walls to hypotonic solutions and to assist in the differential diagnosis of several types of anemia with altered erythrocyte physical characteristics. The specimen used for the examination of osmotic fragility is the EDTA venous blood specimen. There are several types of EDTA anticoagulants, namely K₂EDTA and Na₂EDTA. Na₂EDTA and K₂EDTA have a more acidic pH than K₃EDTA. This may affect the value of osmotic fragility. The purpose of this study was to determine the average osmotic fragility value in venous blood specimens with K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants and to determine whether there were differences in the osmotic fragility values in venous blood specimens with K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants. This research is a descriptive type of research, by comparing the value of osmotic fragility in venous blood specimens using K₂EDTA and K₃EDTA anticoagulants. Sampling using purposive sampling as many as 30 samples. The Wilcoxon test results show a Sig or P Value of 0.000 or equal to Sig <0.005, it can be concluded that there is a significant difference in the value of osmotic fragility in venous blood specimens with anticoagulants K₂EDTA and K₃EDTA. However, the results of the ALE test it was found that there was no clinically significant difference.

Keywords: *Osmotic Fragility, K₂EDTA Anticoagulant, K₃EDTA Anticoagulant.*

Abstrak

Pemeriksaan fragilitas osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk menentukan ketahanan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis dan membantu diagnosis banding beberapa jenis anemia dengan sifat fisik eritrosit yang berubah. Spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan fragilitas osmotik adalah spesimen darah vena EDTA. Terdapat beberapa jenis antikoagulan EDTA yakni K₂EDTA dan Na₂EDTA. Na₂EDTA dan K₂EDTA memiliki pH yang lebih asam dibandingkan K₃EDTA. Hal ini memungkinkan dapat mempengaruhi nilai fragilitas osmotik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai fragilitas osmotik rata-rata pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA serta untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif, dengan membandingkan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Pengambilan sampel menggunakan *Purposive Sampling* sebanyak 30 sampel. Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan nilai Sig atau P Value sebesar 0,000 atau sama dengan Sig<0,005, yang berarti bahwa terdapat perbedaan pada nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Tetapi pada hasil uji ALE (*Allowable Limit of Error*) didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna secara klinis.

Kata Kunci: Fragilitas Osmotik, Antikoagulan K₂EDTA, Antikoagulan K₃EDTA

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium dapat digunakan untuk menentukan dan mendukung diagnosis penyakit pasien dengan dilakukan prosedur dan tindakan khusus yang melibatkan pengumpulan dan pengambilan sampel dari pasien (Safitri, dkk., 2020). Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang bertujuan untuk menentukan kondisi sel darah dan komponennya. Tes fragilitas osmotik adalah salah satu tes hematologi laboratorium (Bararah *et al.*, 2017).

Pemeriksaan fragilitas osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan dinding sel eritrosit terhadap larutan hipotonis yang memiliki kemampuan untuk melisis eritrosit (hemolisis) (Nugraha, 2015). Pemeriksaan ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi penyakit thalassemia (Rajagukguk, dkk., 2014). Hasil pemeriksaan fragilitas osmotik bermakna pada pasien dengan masalah klinis seperti pada pasien dengan thalassemia mayor dan minor, anemia, dimana terdapat penurunan ketahanan osmotik. Hasil pemeriksaan fragilitas osmotik juga bermakna pada pasien sferositosis herediter, yang mengalami peningkatan ketahanan osmotik (Nugraha, 2015). Jenis antikoagulan, suhu, lama penyimpanan, *Potential of Hydrogen* (pH), obat-obatan dapat menjadi faktor yang mempengaruhi fragilitas osmotik eritrosit (Igbokwe, 2018). Spesimen darah vena EDTA adalah spesimen yang digunakan dalam pemeriksaan fragilitas osmotik . (Nugraha, 2015).

Dalam pemeriksaan hematologi, antikoagulan yang paling umum digunakan adalah antikoagulan EDTA. Beberapa jenis Antikoagulan EDTA yakni K_2EDTA dan Na_2EDTA yang berbentuk kering dan K_3EDTA yang berbentuk cairan (Nugraha, 2015). pH Antikoagulan Na_2EDTA dan K_2EDTA lebih asam dibandingkan pH K_3EDTA , pH asam ini dapat menyebabkan sel darah merah membesar (Garini, 2013). Pada penelitian Morabito *et, al.* (2016) diperoleh bahwa H_2O_2 sebagai medium asam memiliki kemampuan untuk menembus membran dan menghasilkan produk Oksidatif selain itu H_2O_2 juga memiliki kemampuan untuk berdifusi dari sitosol ke media ekstraseluler, yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada membran.

Antikoagulan K_3EDTA yang berbentuk cairan dapat meningkatkan reaktivitas EDTA dalam larutan, stabilitas K_3EDTA juga lebih baik daripada garam EDTA lainnya karena menunjukkan pH yang mendekati pH darah (Wahdaniah, 2018). Selain itu K_3EDTA juga dapat menyebabkan peningkatan penyusutan sel eritrosit (11% terjadi

penyusutan pada 7,5 mg.mL darah) (McPherson & Pincus, 2017).

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai rata-rata fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA. Mengetahui nilai rata-rata fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA. Mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya : spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA, spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA, NaCL 0,5%, dan aquades.

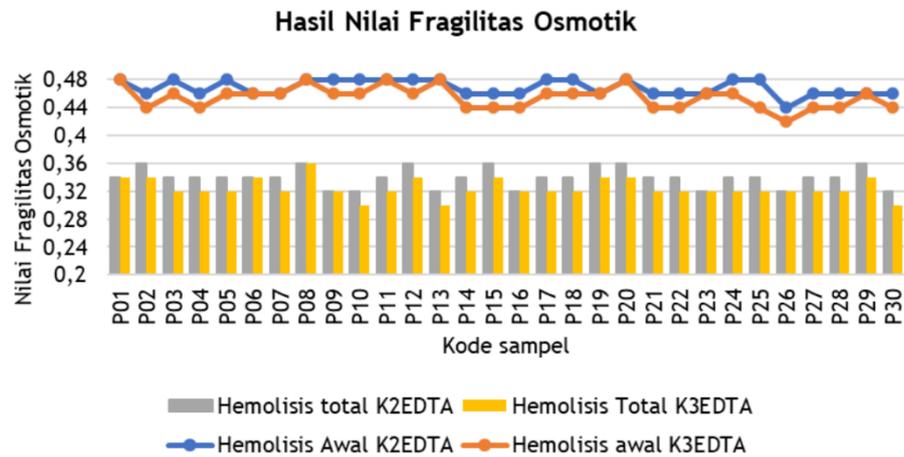
Spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₃EDTA dilakukan pemeriksaan fragilitas osmotik menggunakan Metode Stanford. Data primer dari hasil pemeriksaan fragilitas osmotik 30 orang yang telah memenuhi kriteria persyaratan sampel diuji normalitasnya terlebih dahulu. Kemudian data dilakukan uji beda menggunakan uji *Wilcoxon* untuk melihat ada tidaknya perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA. Setelah itu, dilakukan uji ALE (*Allowable Limit of Error*) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan secara klinis.

Penelitian ini telah menerapkan prinsip-prinsip etik yaitu menghormati harkat martabat manusia (*respect for person*) dengan memberikan kebebasan untuk berkehendak serta bertanggung jawab terhadap keputusannya sendiri, berbuat baik (*beneficence*) dengan mengupayakan manfaat maksimal dengan meminimalisir kerugian, dan keadilan (*justice*) yaitu dengan memperlakukan adil setiap orang berdasarkan moral yang layak dan benar dalam mendapatkan haknya.

HASIL

Analisis Deskriptif

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh data primer hasil pemeriksaan fragilitas osmotik yang terdiri dari nilai hemolisis awal dan nilai hemolisis total yang dapat digambarkan pada gambar 1. Deskripsi nilai fragilitas osmotik dengan menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA dapat dilihat pada tabel 1.



Gambar 1. Nilai fragilitas osmotik

Tabel 1. Deskripsi Nilai Fragilitas Osmotik

Variasi sampel	Hemolisis Awal (%)			Hemolisis Total (%)		
	Nilai terendah	Nilai tertinggi	Rata-rata	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi	Rata-rata
Darah dengan antikoagulan K ₂ EDTA	0,44	0,48	0,47	0,32	0,36	0,34
Darah dengan antikoagulan K ₃ EDTA	0,42	0,48	0,46	0,30	0,36	0,33

Berdasarkan analisis data deskriptif pada tabel 1 nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA memiliki rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai-nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA.

Uji Normalitas

Data yang telah dianalisis secara deskriptif selanjutnya dilakukan uji normalitas. Uji normalitas ini bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 2.

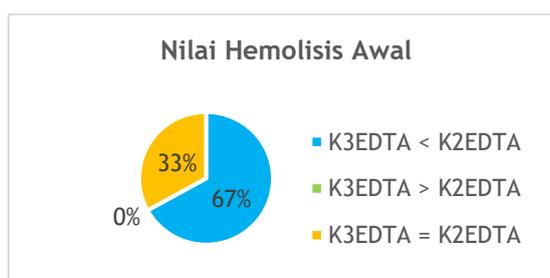
Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

	Antikoagulan	Hasil	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal	K ₂ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
	K ₃ EDTA	0,001	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
Nilai hemolisis total	K ₂ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal
	K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,05	Tidak Terdistribusi Normal

Hasil uji normalitas pada uji Shapiro-wilk menunjukkan bahwa nilai hemolisis awal memiliki Sig atau P value sebesar 0,000 dan 0,001, kedua nilai Sig tersebut <0,005, hasil tersebut menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Begitu juga pada hasil uji normalitas nilai hemolisis awal diperoleh nilai Sig atau P Value sebesar 0,000 dan 0,000 maka data tersebut juga tidak terdistribusi normal. Dikarenakan data tidak terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan uji beda dengan menggunakan uji *Wilcoxon*.

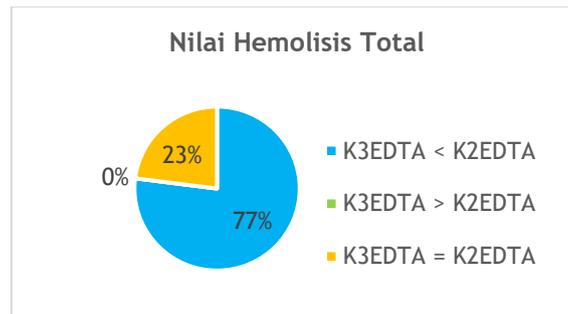
Uji *Wilcoxon*

Data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan dengan Uji *Wilcoxon* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan secara statistik.



Gambar 3. Persentase nilai hemolis awal pada spesimen darah vena K₃EDTA dan K₂EDTA

Berdasarkan presentase nilai hemolisis awal pada gambar 3, terdapat 20 sampel atau sebesar 67% nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA memiliki nilai yang lebih kecil daripada nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA. Data tersebut menunjukkan spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA lebih mudah mengalami hemolisis.



Gambar 4. Persentase nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K₃EDTA dan K₂EDTA

Berdasarkan presentase nilai hemolisis total pada gambar 4, diperoleh hasil terdapat 23 sampel atau 77% nilai hemolisis total menggunakan spesimen darah vena K₃EDTA memiliki nilai yang lebih kecil daripada nilai hemolisis awal menggunakan spesimen darah vena K₂EDTA. Hasil tersebut menunjukkan bahwa spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA lebih mudah mengalami hemolisis.

Untuk melihat ada tidaknya perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena K₂EDTA dan K₃EDTA maka dapat dilihat dari nilai Sig pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Wilcoxon* Nilai Fragilitas Osmotik

Kelompok Data	Sig	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,005	Terdapat perbedaan yang signifikan
Nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	0,000	Sig < 0,005	Terdapat perbedaan yang signifikan

Berdasarkan data pada tabel 3 baik pada hemolisis awal K₂EDTA dan K₃EDTA maupun pada nilai hemolisis total K₂EDTA dan K₃EDTA, diperoleh hasil sig sebesar 0,000 (Sig<0,05), yang berarti bahwa secara statistik terdapat perbedaan antara nilai hemolisis total menggunakan spesimen darah vena hemolisis awal K₂EDTA dan K₃EDTA.

Uji ALE (*Allowable Limit of Error*)

Uji ALE dilakukan untuk mengetahui seberapa besar perbedaan hasil pemeriksaan nilai fragilitas osmotik menggunakan spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA menggunakan perhitungan *Allowable Limit of Error* (ALE) yaitu batas kesalahan tertinggi yang dapat menyebabkan perbedaan secara klinis pada suatu parameter pemeriksaan.

Berdasarkan percobaan hasil uji ALE yang dapat dilihat pada tabel 4 didapatkan nilai ALE hemolisis awal sebesar 3,33% dan nilai ALE hemolisis total sebesar 3,12. Pada hasil d% (persen beda/bias) nilai hemolisis awal diperoleh nilai sebesar 0,02%, nilai tersebut lebih kecil daripada nilai ALE hemolisis awal, yang menunjukkan bahwa nilai perbedaan penelitian tidak melebihi batas nilai ALE. Pada hasil d% (persen beda/bias) nilai hemolisis total juga diperoleh nilai yang lebih kecil daripada nilai ALE hemolisis total yaitu sebesar 0,03%, yang menunjukkan bahwa nilai perbedaan penelitian tidak melebihi batas nilai ALE. Maka secara klinis, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Tabel 4. Hasil Uji ALE (*Allowable Limit of Error*)

Kelompok Data	ALE (%)	d%	Interpretasi Hasil	Keterangan
Nilai hemolisis awal pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	3,33	0,02	d% < ALE	Tidak Bermakna secara klinis
Nilai hemolisis total pada spesimen darah vena K ₂ EDTA dan K ₃ EDTA	3,12	0,03	d% < ALE	Tidak bermakna secara klinis

DISKUSI

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan menggunakan data primer dari hasil pemeriksaan fragilitas osmotik sampel, yang kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan uji beda berpasangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Berdasarkan analisis deskriptif diperoleh bahwa nilai fragilitas osmotik pada

spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₂EDTA memiliki rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan pada spesimen darah vena yang menggunakan antikoagulan K₃EDTA.

Berdasarkan Analisa statistik dengan uji beda berpasangan menggunakan uji *Wilcoxon* baik pada data hemolisis awal maupun total diperoleh nilai Sig atau p sebesar 0,000, nilai Sig ini < 0,005 yang menandakan bahwa terdapat perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA.

Pada uji ALE (*Allowable Limit of Error*) diperoleh d% (persen beda) yang tidak melebihi ALE, yang menandakan bahwa secara klinis tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA. Spesimen darah vena K₂EDTA memiliki nilai fragilitas yang tinggi dapat disebabkan oleh pH K₂EDTA yang lebih asam yang dapat menyebabkan eritrosit mudah mengalami lisis.

Antikoagulan K₂EDTA memiliki pH yang lebih asam yaitu 6.8 dibandingkan dengan antikoagulan K₃EDTA (pH 7,5) (Garini, 2013; Caron, G. N. V., 2018). pH asam ini dapat berpengaruh terhadap sel eritrosit. Dalam penelitian Yao *et. al.* (2003) ditemukan bahwa volume sel eritrosit meningkat pada pH di bawah 7,4, yang mengakibatkan penurunan rasio LP/V (Luas Permukaan/Volume). Penurunan rasio LP/V dapat menyebabkan meningkatnya fragilitas osmotik, dikarenakan terjadi penurunan kemampuan eritrosit untuk menampung cairan hipotonis (Wlaski, T., *et. Al.*, 2014). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa HCL (sebagai zat asam yang menyebabkan hemolisis terkait dengan kerusakan oksidatif membran, terutama disebabkan oleh masuknya ekuivalen asam ke sitosol. Media asam memiliki efek dua fase pada lisis eritrosit yakni hemolisis cepat pada pH 3,6-4,7 dan hemolisis lambat pada pH 5,0-6,0 (Varshney, *et. Al.*, 2020).

Medium asam memiliki kemampuan untuk menembus membran dan menghasilkan produk oksidatif, medium asam juga mampu berdifusi dari sitosol ke media ekstraseluler, yang memicu kerusakan oksidatif pada membran. Dalam penelitian Morabito *et.al.* (2016) H₂O₂ sebagai medium asam yang bekerja di bagian dalam eritrosit akan menghasilkan gugus -SH yang mengakibatkan terjadinya oksidasi hemoglobin (Hb) menjadi methemoglobin. Stres oksidatif juga dapat menyebabkan terbentuknya lipid peroksida. Lipid peroksida tersebut dapat merusak membran sel,

hal ini disebabkan oleh komponen utama membran sel eritrosit terdiri dari asam lemak tak jenuh sangat terpengaruh oleh radikal bebas. Radikal bebas memiliki kemampuan untuk berikatan dengan membran eritrosit dan mengubah strukturnya, akibatnya integritas membran eritrosit menurun dan eritrosit mudah mengalami hemolisis (Muslim Z., dkk., 2019) . Stres oksidatif dapat menurunkan mobilitas protein pada fosfolipid bilayer yang mengakibatkan kekakuan membran, Protein yang dapat terganggu oleh stres oksidatif salah satunya adalah protein *band 3* yang bertanggung jawab atas pengaturan keseimbangan ion yang melewati membran sel, sifat osmotik dan mekanik eritrosit, dan mempertahankan bentuk sel (Morabita *et. Al.*, 2016). Dalam penelitian lain, ditemukan bahwa H₂O₂ sebagai media asam dapat menyebabkan *cross linking* yang diinduksi oksidasi antara hemoglobin dan spektrin yang menunjukkan kekakuan membran yang lebih besar (Hale, *et. al.*, 2011). Hal ini juga dapat menyebabkan gangguan fungsi Na-K ATPase. Gangguan fungsi Na-K ATPase ini menyebabkan terganggunya fungsi Na-K ATPase dalam mengatur konsentrasi ion, mengatur volume dan homeostatis air, dan rasio luas permukaan terhadap volume yang menyebabkan deformabilitas eritrosit berkurang (Radosinska J., Vrbjar N., 2021).

Pada pH asam (pH rendah) dapat terjadi kontraksi kerangka membran eritrosit yang menghasilkan tekanan stomatositik pada membran dan pada pH basa (pH tinggi) dapat terjadi kontraksi kerangka membran eritrosit yang menghasilkan tekanan echinositik (Bardhan, *et.al.* 2024)

Penelitian Ghirmai, *et.al.* (2024) mengenai hubungan antara hemolisis dan oksidasi lipid pada otot ikan yang mengandung sel darah merah; ketergantungan pada pH dan plasma darah diperoleh hasil bahwa pada pH asam (pH 6,4) dalam waktu penyimpanan 7 hari ditemukan bahwa semua sel eritrosit mengalami lisis, dan pada pH 7,6 dalam waktu penyimpanan 7 hari ditemukan bahwa sel eritrosit masih dalam keadaan utuh. Sejalan dengan penelitian Ghirmai, *et.al.* (2022) ditemukan bahwa hemolisis cepat terjadi pada pH 6,4-6,8 yang berkaitan dengan oksidasi lipid membran sel eritrosit, sedangkan hemolisis yang lebih rendah terjadi pada pH 7,2-8,0.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai perbandingan nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan antikoagulan K₂EDTA dan K₃EDTA, diperoleh beberapa kesimpulan yaitu rata-rata nilai fragilitas osmotik spesimen darah vena K₂EDTA adalah 0,47% pada hemolisis awal dan 0,34% pada hemolisis total, rata-rata nilai fragilitas osmotik spesimen darah vena K₃EDTA adalah 0,46% pada hemolisis awal dan 0,33% pada hemolisis total, dan Berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan didapatkan bahwa terdapat perbedaan antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan antikoagulan K₃EDTA. Tetapi pada hasil uji ALE (*Allowable Limit of Error*) didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara klinis antara nilai fragilitas osmotik pada spesimen darah vena dengan menggunakan antikoagulan K₂EDTA dan antikoagulan K₃EDTA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur kepada Tuha Yang Maha Esa, atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan naskah hasil penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Betty Nurhayati, S.Si., M.Si., yang senantiasa mendukung dan membimbing penulis dalam penelitian ini. Terimakasih juga kepada Ibu Eem Hayati, S.Pd., M.Kes., dan Bapak Ganjar Noviar S.ST., M. Biomed., yang turut serta membantu proses penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada kedua orang tua, keluarga, dan semua pihak yang telah mendukung proses penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan yang terikat dengan penelitian ini.

REFRENSI

Safitri, Y., dkk. (2020). Sistem Pakar Pemeriksaan Laboratorium Metode Case Base Reasoning. *Jurnal Sains dan Teknologi* (Vol. 12 No. 1). SAINTEKBU. <https://doi.org/10.32764/sainstekbu.v12i1.809>

- Bararah, A. S., Ernawati, Andreswari D. (2017). Implementasi Cased Based Reasoning untuk diagnosa Penyakit Berdasarkan Gejala Klinis dan Hasil Pemeriksaan Hematologi dengan Probabilitas Bayes. Jurnal Rekrusif. <http://ejournal.unib.ac.id/index.php/rekursif/>
- Nugraha, G. (2015). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Edisi ke-2. Jakarta: Trans Info Media.
- Igbokwe, NA. (2018). *A Review of The Factor That Influence Erythrocyte Osmotic Fragility*. Sokoto Journal of veterinary Sciences, 16 (4): 1. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v16i4.1>
- Avishek Bardhan, Thangapalam J. Abraham, Ratnapriya Das, Prasanna K. Patil. (2024) *Visualization of poikilocytosis as an emerging erythrocytic biomarker for fish health assessment*. *Animal Research an One Health* (Vo. 2, Issue 2/ p. 136-157). <https://doi.org/10.1002/aro2.47>
- Yao C. *et.al.* (2003). *Effect of pH on Structure and Function of Single Living Erythrocyte*. Chinese Science Bulletin: Vol. 48, No. 13, 1342-1346. <https://doi.org/10.1007/BF03184176>
- Wahdaniah, Sri Tumpuk. (2018). Perbedaan Penggunaan Antikoagulan K2EDTA dan K3EDTA Terhadap Hasil Pemeriksaan Indeks Eritrosit. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa, pp. 144-118, No.2, April 2018. <https://doi.org/10.30602/jlk.v1i2.147>
- McPherson, R.A., Pincus, M.R. (2017). *Clinical Diagnosis and Management Laboratory Methods*. China: Elseiver Saunders. Vol. 23rd Edition.
- Kurniawan, FB. (2016). Hematologi: Praktikum Analisis Kesehatan. Jakarta: EGC.
- Radosinska J., Vrbjar N. (2021). *Erythrocyte Deformability and Na,K-ATPase Activity in Various Pathophysiological Situations and Their Protection by Selected Nutritional Antioxidants in Humans*. *International Journal of Molecular Sciences* 22, no. 21: 11924. <https://doi.org/10.3390/ijms222111924>
- Muslim Z., Prasetya A., Surya Wahyudi S. (2019). Pengaruh Vitamin C terhadap Fragilitas Osmotik Eritrosit pada Mahasiswa Kedokteran Universitas Jember yang Mengalami Stres Psikologis. E-Journal Pustaka Kesehatan (Vol. 7, No. 1).
- Morabito R, Romano O, La Spada G, Marino A. (2016). *H₂O₂-Induced Oxidative Stress Affechiucts SO₄⁼ Transport in Human Erythrocytes*. PLoS ONE. 11(1):e0146485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146485>
- Rajagukguk, R., Kosim, M.S., Tamam, M. (2014). Pemberian vitamin C sebagai Antioksidan terhadap Fragilitas Osmotik Eritrosit pada β Thalassemia Mayor. *Medica Hospitalia*. Vol. 2 (2) : 98-104. <https://doi.org/10.36408/mhjcm.v2i2.100>
- Garini, A. (2013). Perbandingan Hitung jumlah Trombosit secara Otomatik pada Darah yang Ditambahkan Antikoagulan Na₂EDTA 10% dengan K₂EDTA

Vacutainer. Jurnal Kesehatan. Vol 1, No. 11.
<https://jurnal.poltekkespalembang.ac.id/index.php/JPP/article/view/119>

Hale, J. P., Winlove, C. P., dan Petrov, P. G. (2011). *Effect of Hydroperoxides on Red Blood Cell Membrane Mechanical Properties*. Biophysical Journal. Vol. 101 1921-1929. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.08.053>

Varshney, R., et.al. (2020). *Development of Novel Iron-regulated Pasteurella multocida B: 2 Bacterin and Refinement of Vaccine quality in Terms of Minimum Variation in Particle Size an Distribution Vis-à-vis Critical Level of Iron in Media*. Elsevier Microbial Pathogenesis 147 104375. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104375>

Ghirmai, S., Krona, A., Wu, H. et al.(2024). Relationship between hemolysis and lipid oxidation in red blood cell-spiked fish muscle; dependance on pH and blood plasma. *Sci Rep* 14, 1943. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52090-8>

Ghirmai, S., Wu, H., Axelsson, M. et al. (2022). Exploring how plasma- and muscle-related parameters affect trout hemolysis as a route to prevent hemoglobin-mediated lipid oxidation of fish muscle. *Sci Rep* 12, 13446. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16363-4>