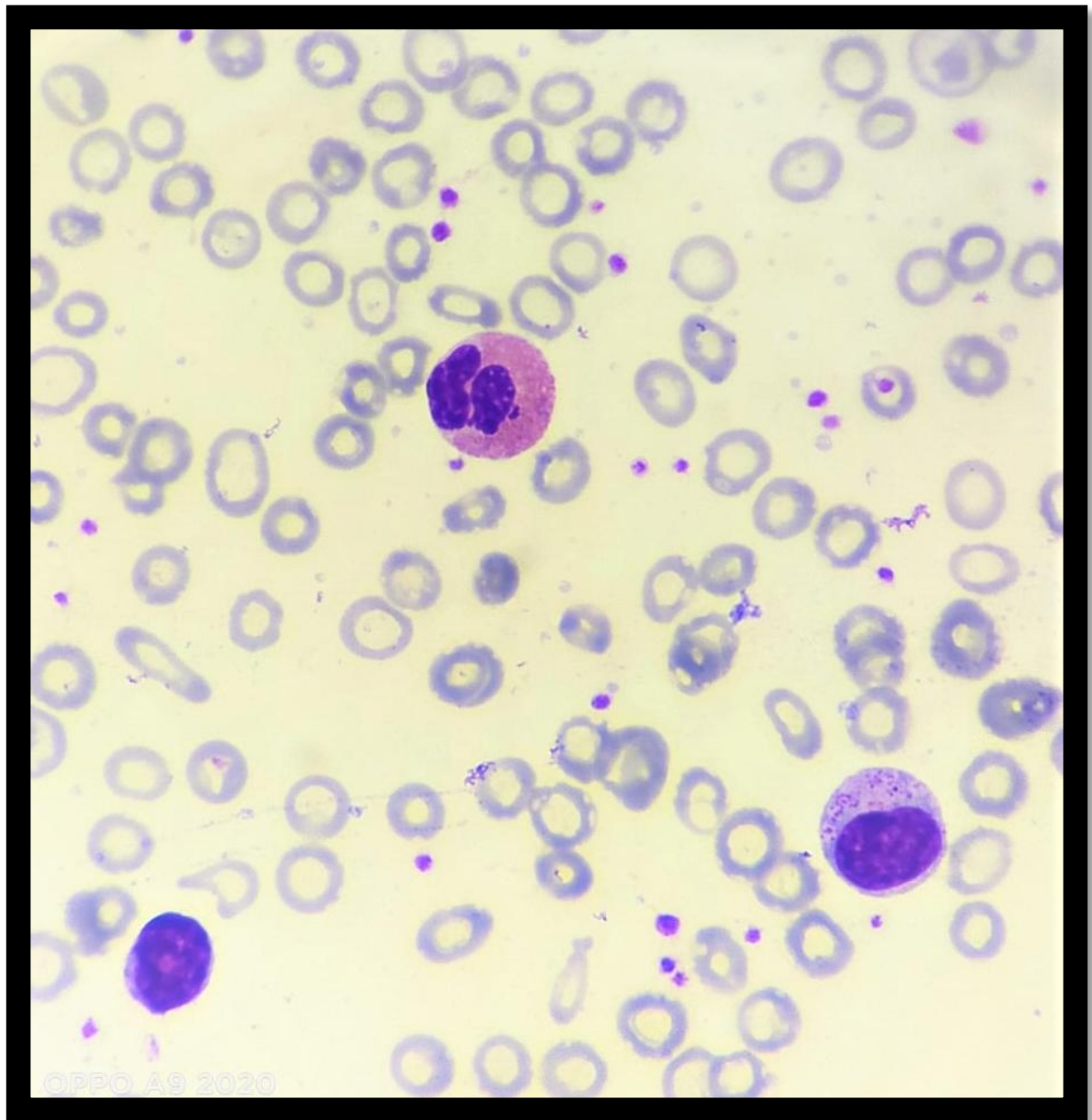


**Penuntun Praktikum
Hematologi Dasar
Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia**



Bagian Patologi Klinik

FK UKI Jakarta

2025

Pengantar

Buku ajar dan penuntun praktikum hematologi bagian Patologi Klinik ini disusun untuk melengkapi perkuliahan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia.

Dengan terbitnya buku ini kami mengharapkan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia dapat memahami dan mengerti mengenai dasar ilmu hematologi dasar.

Akhir kata kami sangat berterimakasih kepada semua pihak yang mendukung terbitnya buku Hematologi Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia.

Danny E. J. Luhulima
Erida Manalu
Eirene J.K. Tomatala
Vanessa M Marcelina

Visi dan Misi Fakultas Kedokteran Universitas Kritis Indonesia

Visi:

Menjadi Fakultas Kedokteran yang bermutu, mandiri dan inovatif dalam Tri Dharma Perguruan Tinggi di bidang kedokteran dengan keunggulan pada stunting dan penyakit tropis, dengan berlandaskan pada nilai-nilai kristiani dan Pancasila di Indonesia pada tahun 2030.

Misi:

1. Menyelenggarakan Tri Dharma perguruan tinggi yang bermutu, mandiri dan inovatif berlandaskan nilai-nilai kristiani dan semangat nasionalisme, dengan keunggulan pada bidang stunting dan penyakit tropis yang mampu bersaing di tingkat Asia, terutama ASEAN;
2. Menyelenggarakan pendidikan kedokteran yang dikelola secara transparan, akuntabel, bertanggung jawab, mandiri, adil dan berkelanjutan (good governance) dengan memanfaatkan teknologi informasi dan komunikasi;
3. Meningkatkan mutu lulusan yang berintegritas dan kompeten di bidang kedokteran, serta mampu bersaing di tingkat nasional dan internasional;
4. Meningkatkan mutu penelitian dan pengabdian kepada masyarakat di bidang kedokteran dengan keunggulan pada bidang stunting dan penyakit tropis, yang terpublikasi di tingkat nasional dan internasional;
5. Menjadikan Sistem Penjaminan Mutu Internal (SPMI) dan eksternal sebagai budaya kerja dalam semangat melayani;
6. Meningkatkan mutu sumber daya manusia yang berkompeten dalam bidang kedokteran secara berkelanjutan;
7. Mengembangkan kerjasama dalam pelaksanaan pendidikan, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat dengan institusi nasional dan internasional di bidang kedokteran, serta lembaga-lembaga gerejawi dalam semangat ekumenis.

PENUNTUN PRAKTIKUM HEMATOLOGI

BAB I

PRA-ANALITIK PEMERIKSAN HEMATOLOGI

I. SAMPEL DARAH

Dalam pemeriksaan hematologi umumnya digunakan darah kapiler dan darah vena. Darah arteri biasanya digunakan untuk tujuan khusus, misalnya pemeriksaan analisis gas darah.

I.1. Darah kapiler

Darah kapiler diambil dari ujung jari atau anak daun telinga untuk orang dewasa dan dari tumit atau ibu jari kaki untuk bayi. Tidak diperbolehkan mengambil sampel darah dari bagian tubuh dengan gangguan sirkulasi, misalnya iskemia, luka bakar.

Berikut ini Cara mengambil sampel darah kapiler adalah:

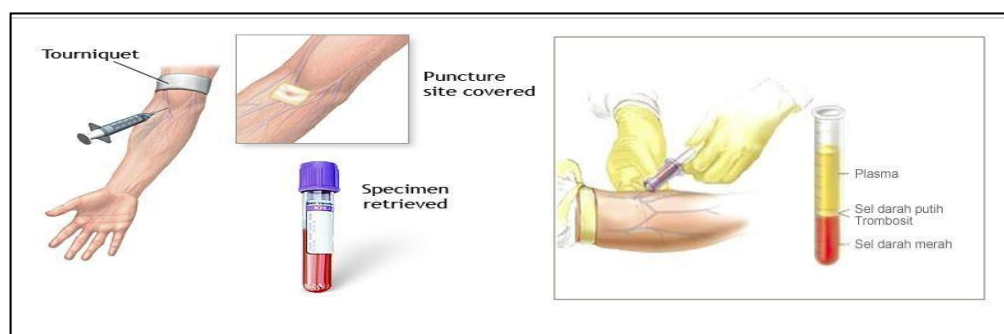
- a. Lakukan desinfeksi dengan alkohol 70% dan biarkan sampai mengering
- b. Pegang bagian yang dipilih supaya tak bergerak
- c. Tekan sedikit untuk mengurangi nyeri
- d. Tusuk dengan cepat dan cukup dalam menggunakan lanset. Jika lokasi yang di tusuk adalah jari maka tusukan harus tegak lurus dengan garis sidik jari, jangan sejajar sedangkan jika pada daun telinga, tusuk pinggirnya, jangan sisinya.
- e. Buanglah tetes darah pertama dengan kertas saring/ tissue steril
- f. Darah yang keluar jangan dipijat, karena darah akan bercampur dengan cairan jaringan sehingga menjadi lebih encer, yang berdampak terhadap akurasi hasil pemeriksaan.

I.2. Darah vena

Pada orang dewasa vena yang sering diambil darahnya adalah vena dalam fossakubiti, sedangkan untuk bayi, darah vena dapat diambil dari vena jugularis atau sinus sagitalis superior.

Cara mengambil darah vena adalah:

- a) Lakukan desinfeksi dengan alkohol 70% dan biarkan mengering
- b) Pasang torniket, sarankan mengepal dan membuka tangan berkali-kali sehingga vena terlihat jelas
- c) Tegangkan kulit di atas vena dengan tangan non dominan supaya vena tak bergerak.
- d) Tusuk kulit dengan jarum dengan sudut 30 – 45° sampai masuk vena (Saat vena tertusuk biasanya terasa seperti menusuk kertas)
- e) Longgarkan torniket secara perlahan, lalu hisap darah sesuai dengan kebutuhan buanglah tetes darah pertama dengan kertas saring steril.



f) Contoh Pengambilan Darah Vena dengan Jarum Semprit



Contoh Pengambilan Darah Vena dengan Tabung Vakum

Darah arteri

Darah arteri biasanya digunakan untuk menilai analisis gas darah dan dalam keadaan tertentu dapat digunakan untuk sampel pemeriksaan darah kultur mikrobiologi. Darah arteri dapat diambil melalui arteri besar kecuali aorta.

1. Alat Pengambilan Sampel Dan Pemeriksaan Darah

Peralatan yang diperlukan untuk pemeriksaan hematologi antara lain:

1. Lanset darah

Lanset darah *disposable* (sekali buang) diperlukan untuk mendapatkan darah kapiler. Lanset yang baik adalah berujung tajam dan melebar.

2. Jarum, semprit, dan botol

Jarum dan semprit *disposable* digunakan untuk memperoleh darah vena dan arteri. Jarum hendaknya cukup besar, berujung runcing, tajam dan lurus. Lebih baik lagi jika digunakan jarum dan tabung hampa udara steril (*venoject*) yang membuat darah terhisap ke dalam tabung dan tidak tercemar. Botol kecil steril digunakan untuk menampung darah setelah diambil ke dalam semprit.



Contoh Jarum untuk Mengambil Darah



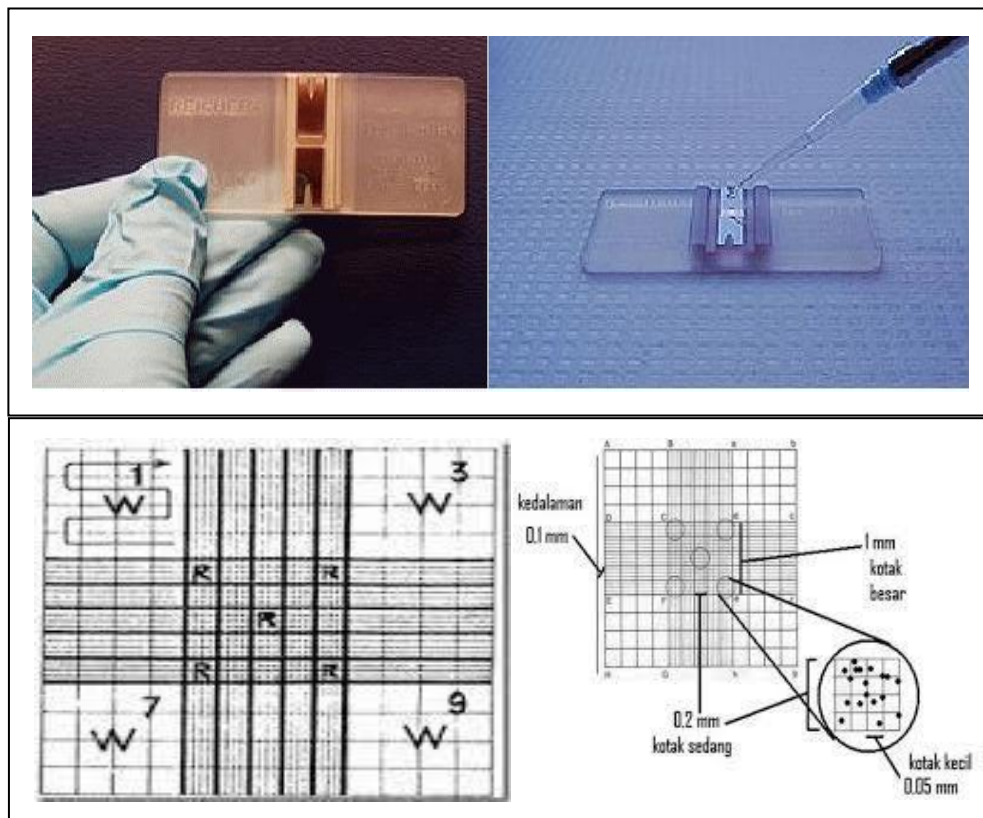
Contoh tabung dan *tube holder* untuk mengambil darah

3. Hemositometer

Hemositometer digunakan untuk menghitung eritrosit, leukosit dan trombosit. Alat ini terdiri dari kamar hitung, kaca penutup dan pipet.

Kamar hitung

Kamar hitung yang banyak digunakan adalah Improved Neubauer. Gambar detail dari kamar hitung dapat dilihat pada **Gambar hemositometer** di bawah.



Hemositometer

Kaca penutup

Kaca penutup dibuat benar-benar datar, agak lebih tebal dari kaca obyektif.

Pipet

Pipet yang digunakan adalah pipet Thoma untuk mengencerkan eritrosit, terdiri atas pipa kapiler yang bergaris bagi dan membesar pada salah satu ujung membentuk bola. Di dalam bola terdapat sebutir kaca merah. Pipet Thoma untuk mengencerkan leukosit sama dengan pipet eritrosit, namun didalamnya terdapat sebutir kaca putih.



II. ANTIKOAGULAN

Ada beberapa jenis antikoagulan antara lain: *Ethylene Diamine Tetraacetic acid* (EDTA), natrium sitrat, kalium oksalat, heparin, natrium fluoride.

EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic acid*)

EDTA terbagi dari:

- Sodium EDTA (Na_2EDTA)
- Potassium EDTA (K_2EDTA dan K_3EDTA)
- Lithium EDTA

Sifat EDTA adalah hiperosmoler yaitu menarik air keluar sel. Potassium EDTA (K_3EDTA) lebih mudah larut daripada NaEDTA . Cara kerjanya adalah '*Chelating agent*' yaitu mengikat Ca^{2+} . Dosis adalah 1 mg EDTA/ 1 ml darah. Dosis lebih dari 2 mg/ml darah dapat menyebabkan eritrosit mengkerut sehingga nilai hematokrit dan LED menurun.

Pengaruh penyimpanan darah + antikoagulan EDTA pada morfologi sel adalah jika <1 jam maka morfologi sel masih sebanding dengan darah segar. Lebih dari 3 jam, netrofil akan mengalami gangguan berupa inti tercat lebih homogen, lobus terpisah dan ada vakuola pada sitoplasma. Jika lebih dari 6 jam eritrosit mengalami krenasi, sferis, nilai MCV meningkat, LED menurun.

SODIUM SITRAT (NA SITRAT)

Konsentrasi yang digunakan adalah 1,09 M (3,2%, 3,8%). Untuk pemeriksaan LED metode westergren menggunakan perbandingan 4 volume darah : 1 volume Na sitrat, sedangkan untuk pemeriksaan hemostasis adalah 9 volume darah : 1 volume Na sitrat

Cara kerja antikoagulan ini adalah mengikat ion Ca^{2+} .

Koreksi sitrat pada penderita dengan hematokrit tinggi menggunakan rumus:

$$\frac{100 - \text{Volume plasma Pasien}}{100 - \text{Volume plasma normal}} \times 0,5$$

Contoh : Ht Pasien 80%, Ht Normal 40%, jumlah darah + antikoagulan = 5 ml

$$\text{Koreksi Citrate} = \frac{100 - 80}{100 - 40} \times 0,5 = 0,17$$

Darah = 5 - 0,17 = 4,83. Jadi jika total volume darah+citrate 5 mL, maka komponen darah 4,83 mL, dan Na sitrat 0,17 mL

Jika Ht tinggi, plasma sedikit, maka antikoagulan yang dibutuhkan juga sedikit.

OKSALAT

Ada beberapa jenis oksalat yaitu: Na, K, NH₃, Li oksalat. Cara kerjanya adalah membentuk kompleks yang tidak larut dengan ion Ca. Dosisnya adalah 1-2 mg/ml darah.

HEPARIN

Jenis heparin yang digunakan adalah Na, Li, K heparin. Cara kerjanya sebagai anti trombin. Dosis : 0,2 mg/ml darah atau 10-20 IU/ml darah. Dipakai untuk : OFT (*osmotic fragility test*), BGA (*blood gas analysis*), dan mikrohematokrit. Kurang baik untuk preparat hapusan darah tepi karena mengakibatkan latar belakang pewarnaan berwarna biru.

NATRIUM FLUORIDA

Biasanya digunakan untuk pemeriksaan gula darah. Efek antikoagulan lemah. Dosis adalah 2 mg/ml darah.

LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

BAB II

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI DASAR

Pemeriksaan hematologi dasar terdiri dari:

1. Hemoglobin (Hb), satuan: g% atau g/dL atau g/L
2. Hematokrit (Ht)/*Packed Cell Volume* (PCV), satuan: % atau L/L
3. Hitung jumlah eritrosit/RBC, satuan: sel/cmm atau sel/ μ L atau sel $\times 10^{12}/L$
4. Index eritrosit (nilai eritrosit rerata=NER):
 - *Mean Cell (Corpuscular) Volume*/MCV, satuan: fL
 - *Mean Cell (Corpuscular) hemoglobin*/MCH, satuan: pg
 - *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*/MCHC, satuan: % atau g/dl
5. Hitung jumlah retikulosit, satuan: %
6. Laju endap darah (LED), satuan: mm
7. Hitung jumlah leukosit (WBC), satuan: sel/cmm atau sel/ μ L atau sel $\times 10^9/L$
8. Hitung jumlah trombosit, satuan: sel/cmm atau sel/ μ L atau sel $\times 10^9/L$
9. Hitung jenis (*differential count*)
10. Evaluasi hapusan/gambaran darah tepi (GDT) dan *Bone Marrow Aspiration* merupakan permintaan khusus.

A.PENETAPAN KADAR HEMOGLOBIN

Hemoglobin terbentuk dari heme dan globin. Heme terbentuk dari besi (Fe) dan protoporphirin di mitokondria. Globin tersusun dari asam amino dalam ribosom. Pada orang normal globin terdiri dari 1 pasang rantai α dan 1 pasang rantai non α , yaitu β , δ , atau γ . Komposisi Hb dewasa adalah Hb A ($\alpha_2\beta_2$), Hb F ($\alpha_2\gamma_2$), dan Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$).

Pigmen hemoglobin yang abnormal:

1. Carboxyhemoglobin
 $Hb + CO \rightarrow$ daya ikat Hb terhadap $CO > O_2$ dan bersifat reversibel, dijumpai pada perokok.
2. Methemoglobin
Hb mengalami oksidasi dari Ferro (Fe^{+2}) menjadi Feri (Fe^{+3}) yang tidak dapat mengikat O_2 . Met-Hb ini reversibel, kadar dalam darah 1-2%.
3. Sulfhemoglobin
Bersifat ireversibel dan terbentuk karena pengaruh obat atau bahan kimia (sulfonamid atau amin aromatik). Dalam keadaan normal tidak ditemukan dalam darah, jika ada maka akan tetap berada dalam eritrosit selama se 1 tersebut masih hidup

Kadar hemoglobin darah dapat ditentukan dengan beberapa cara, tersering ada 4 cara pemeriksaan kadar Hb, yaitu:

1. Gasometri: berdasarkan kemampuan mengikat O_2/CO .
2. Kimia: berdasarkan kandungan Fe (merupakan metode rujukan).
3. Gravimetrik: berdasarkan berat jenis.
4. Kolorimetri: berdasarkan warna. Pada laboratorium klinik, metode yang

tersering adalah kakolorimetri visual.

Pembagian metode kolorimetri:

1. *Direct matching*: dipadankan secara visual dengan warna standar. Darah ditetaskan pada kertas khusus, lalu dibandingkan dengan warna standar.

Kesulitan: tebal tetesan tidak dapat dikontrol.

2. Hematin asam: cara Sahli (satuan g/dl atau %). Kelemahan: HbCO, Hi, S-Hb tidak terukur.

3. Hematin alkali:

Hb + NaOH menjadi alkali hematin, absorbansi diukur pada λ 540 nm. Bisa mengukur HbCO, Hi, S-Hb.

4. *Cyanmethemoglobin*

Metode Cyanmethemoglobin

Prinsip: Hb + K₃Fe (CN)₆ menjadi Met-Hb + KCN menjadi *Cyanmet-Hb*

Hemoglobin darah diubah menjadi *Cyanmet-Hb* dalam larutan yang berisi kaliumfenisianida dan kaliumsianida. Absorbansi larutan diukur pada gelombang 540 nm. Larutan Drabkin yang dipakai pada cara ini mengubah hemoglobin, oksihemoglobin, methemoglobin, dan karboksihemoglobin menjadi sianmethemoglobin, sedangkan Sulf-Hb tidak ikut diukur.

Karakteristik larutan Drabkin adalah jernih (kuning pucat), pH 7,0-7,4, absorbansinya nol pada λ 540 nm pada blanko air.

Keuntungan: semua Hb kecuali S-Hb tidak dapat terukur.

Kerugian: hiperproteinemia, leukositosis, hiperlipemia, eritrosit yang gagal lisis dapat mempengaruhi hasil.

Prosedur kerja metode Cyanmethemoglobin:

1. Ke dalam tabung kolorimeter dimasukkan 5,0 ml larutan Drabkin.
2. Dengan pipet hemoglobin diambil 20 ul darah (kapiler, EDTA atau oxalat); sebelah luar ujung pipet dibersihkan, lalu darah itu dimasukkan ke dalam tabung kolorimeter dan bilas beberapa kali.
3. Campurlah isi tabung dengan membalikkannya beberapa kali. Tindakan ini juga akan menyebabkan perubahan hemoglobin menjadi sianmethemoglobin.
4. Bacalah dalam spektrofotometer pada gelombang 540 nm;
5. Kadar hemoglobin ditentukan dari perbandingan absorbansinya dengan absorbansi standar sianmethemoglobin atau dibaca dari kurva tera.

Catatan:

Cara ini sangat bagus untuk laboratorium rutin dan sangat dianjurkan untuk penetapan kadar hemoglobin dengan teliti karena standar sianmethemoglobin bersifat stabil. Tingkat kesalahan metode ini $\pm 2\%$.

Laporan hasil pemeriksaan kadar hemoglobin dengan memakai cara sianmethemoglobin dan spektrofotometer hanya boleh menyebut satu angka (digit) di belakang tanda desimal; melaporkan dua digit sesudah angka desimal melampaui ketelitian dan ketepatan yang dapat dicapai dengan metode ini. Variasi fisiologis juga menyebabkan digit kedua di belakang tanda desimal menjadi tidak bermakna.

Beberapa alat hematologi menggunakan Metode deteksi hemoglobin *sodium lauryl sulphate* (SLS). Metode ini bebas sianida. Reagen akan melisis sel darah merah dan sel darah putih. Reaksi kimia dimulai dengan mengubah globin dan kemudian mengoksidasi gugus heme. Kini gugus hidrofilik SLS dapat berikatan dengan gugus heme dan membentuk kompleks berwarna stabil (SLS-HGB). Komplek ini akan dianalisis dengan menggunakan metode fotometri.

Metode Sahli

Metode ini adalah metode sederhana yang dilakukan pada praktikum di FK UKI. Prinsip pemeriksaan ini adalah hemoglobin diubah menjadi hematin asam, kemudian warna yang berubah dibandingkan secara visual dengan standar pada alat hb Sahli.

Prosedur kerja metode Sahli:

1. Masukkan HCl 0,1 N kira-kira 5 tetes atau sampai tanda “2” ke dalam tabung pengencer hemometer.
2. Isaplah darah (EDTA atau oxalat) diperlengkapi pipet hemoglobin sampai garis tanda 20 ul.
3. Hapuslah darah yang melekat pada sebelah luar ujung pipet.
4. Segera alirkan darah dari pipet ke dalam dasar tabung pengencer yang berisi HCl. Hati-hati jangan sampai terjadi gelembung udara.
5. Angkatlah pipet itu sedikit. Isap larutan campuran HCl dan darah ke dalam pipet 2 - 3 kali untuk membersihkan darah yang masih tertinggal dalam pipet.
6. Diamkan selama beberapa saat hingga campuran darah dan HCl menjadi coklat tua.
7. Tambahkan air setetes demi setetes, lalu aduk dengan batang pengaduk yang tersedia. Lakukan dalam waktu 3-5 menit hingga warna campuran sesuai dengan warna standar Sahli.
8. Bacalah kadar hemoglobin yang sesuai dengan tinggi tabung yang terisi dengan satuan g/dl.

Catatan:

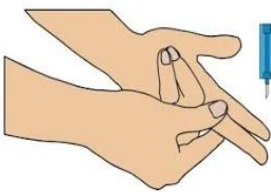
Cara Sahli ini bukanlah metode yang teliti. Tidak semua jenis hemoglobin diubah menjadi hematin asam (misal: karboxyhemoglobin, methemoglobin dan sulftamethgoblin). Tingkat kesalahan metode ini dapat mencapai 10%.

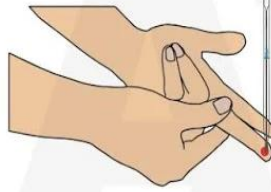
Pemeriksaan Hemoglobin (Hb)

Metode Sahli's

- 

1. Masukkan N/10 HCl atau 0,1 HCl kedalam tabung hemometer/hemoglobinometer sampai angka "2" meniskus atas
- 

2. Masukkan tabung Hb ke dalam komparator hemoglobinometer
- 

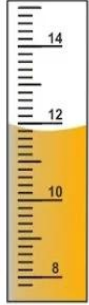
3. Lakukan sampling darah kapiler pada jari tangan.
- 

4. Pipet darah menggunakan pipet hemoglobinometer yang mempunyai ukuran volume 20 ul/ 0,02 ml
- 

5. Masukkan kedalam tabung Hb pastikan & usahakan semua sampel darah dalam pipet masuk kedalam tabung Hb
- 

6. Aduk menggunakan batang pengaduk yang sudah tersedia didalam paket alat hemoglobinometer lalu **biarkan selama 10 menit**.
- 



7. Masukkan kedalam air suling / aquadest kedalam tabung Hb tetes demi tetes, sambil sesekali diaduk sampai warna sampel darah yang ditambahkan 0,1 Hcl sama dengan warna standar pada komparator.
- 

8. Baca hasil kadar Hb pada tabung Hb dengan cahaya yang terang alami atau lampu, pembacaan **meniskus atas** laporkan hasil dengan satuan g/dl atau gm/dl

B. PENETAPAN HEMATOKRIT

PCV (*Packed cell Volume*)/hematokrit adalah penentuan proporsi PRC (*Packed Red cells*) terhadap total volume darah setelah pemusingan.

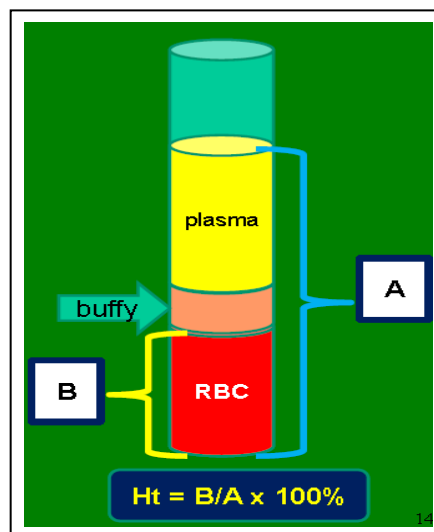
Prinsip: darah-EDTA dimasukkan dalam tabung, kemudian disentrifus sehingga eritrosit dipadatkan, kemudian tinggi kolom eritrosit dibaca, dan dinyatakan dalam persentase volume sel (%). Nilai hematokrit sebanding dengan nilai kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit.

Ada 2 metode penetapan hematokrit yaitu cara makrometode menurut Wintrobe dan mikrometode.

Makrometode menurut

Wintrobe Prosedur kerja:

1. Isilah tabung Wintrobe dengan darah antikoagulan.
2. Masukkanlah tabung tersebut ke dalam sentrifus, sentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit.
3. Bacalah hasil penetapan itu dengan memperhatikan tinggi masing-masing:
 - a. Warna kuning di lapisan atas yaitu plasma
 - b. Tebalnya lapisan putih di atas sel-sel merah yang disebut dengan *buffy coat*, tersusun dari leukosit dan trombosit.
 - c. Warna merah di lapisan bawah yang terdiri dari eritrosit



Penentuan Hematokrit secara Makrometode

Mikrometode

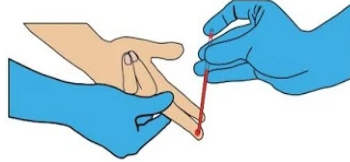
1. Isilah tabung mikrokapiler yang khusus dibuat untuk penetapan mikrohematokrit dengan darah sehingga volume darah mencapai 2/3 tabung mikrohematokrit
2. Tutuplah ujung satu dengan nyala api atau dengan bahan penutup khusus. Masukkanlah tabung kapiler tersebut ke dalam sentrifus mikrohematokrit
3. Putar dengan kecepatan 15.000 – 16.000 rpm selama 3 - 5 menit. Bacalah nilai hematokrit dengan menggunakan grafik atau alat khusus.

Pemeriksaan Hematokrit (Ht) Metode Microhematocrit

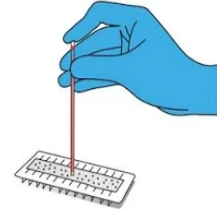
Sampel Darah Kapiler



1. Lakukan sampling darah kapiler pada jari tangan.



2. Masukkan Sampel Darah pada tabung kapiler "tabung kapiler lingkaran merah" sampai 3/4 tabung, bersihkan dengan kapas, pada ujung yang berlawanan tutup ujung tabung dengan jari agar sampel tidak keluar.

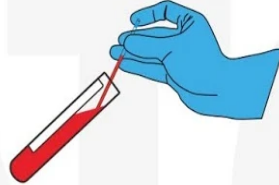


3. Ujung tabung kapiler ditutup dengan sealant, berfungsi menyubut sampel darah tidak keluar saat di sentrifuge

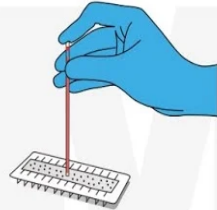
Sampel Darah Vena antikoagulan EDTA



1. Sampel darah EDTA



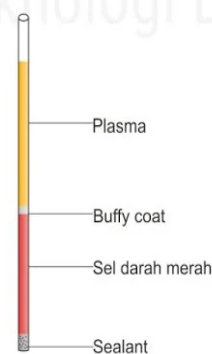
2. Masukkan kedalam tabung kapiler, **lingkar biru tanpa koagulan**



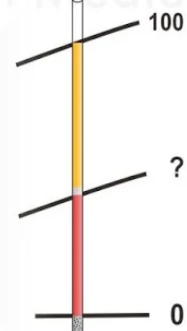
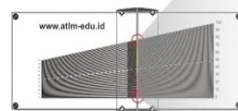
3. Ujung tabung kapiler ditutup dengan sealant, berfungsi menyubut sampel darah tidak keluar saat di sentrifuge



4. Masukkan sentrifuge, posisi sumbatan menghadap keluar, pastikan seimbang dan catat nomor posisi masing-masing sampel, jangan lupa tutup flat dan tutup sentrifuge. **Setel kecepatan 10.000 - 15.000 rpm selama 5 menit.**



Setelah disentrifuge sampel akan terpisah.



5. Baca hasil menggunakan microhematocrit reader (skala hematokrit) / Ht reading device Hasil di laporkan dengan **satuan %** atau di konverikan ke L/L (40% = 0,4 L/L)

Catatan:

Tabung mikropipiler khusus dibuat untuk mikrohematokrit panjangnya 75 mm dan diameter dalamnya 1,2 sampai 1,5 mm. Ada tabung yang telah dilapisi heparin, tabung itu dapat dipakai untuk darah kapiler.

Nilai hematokrit disebut dengan % normal untuk pria 40-48 vol % dan wanita 37-43 vol %. Kesalahan rata-rata $\pm 2\%$.

Faktor penyebab kesalahan:

1. Ekses antikoagulan yang berakibat eritrosit akan mengkerut sehingga Ht menurun.
2. Sampel darah kurang homogen, karena *trapped plasma*, kecepatan atau lama pemusingan tidak tepat. *Trapped plasma* adalah plasma yang terjebak diantara beberapa eritrosit. Dalam keadaan normal *trapped plasma* berkisar 1-3%, namun pada keadaan sferositosis, anemia makrositik, hipokromik, dan thalasemia akan meningkat.

C. INDEKS ERITROSIT (NILAI ERITROSIT RATA-RATA)

Indeks eritrosit digunakan untuk menentukan ukuran dan kadar hemoglobin dalam eritrosit. Indeks eritrosit merupakan hasil perhitungan dari jumlah/kadar Eritrosit, Hb, dan Hematokrit.

Yang termasuk dalam indeks eritrosit adalah:

1. MCV (*Mean Cell Volume / Mean Corpuscular Volume*)
2. MCH (*Mean Cell Hemoglobin / Mean Corpuscular Volume*)
3. MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

Mean Corpuscular Volume (MCV)

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Ht}}{\Sigma \text{ Eritrosit (juta/ul)}} \times 10$$

fL = femtoliter

Nilai normal:

Dewasa : 76 – 96 fl

Neonatus : 120 fl

Bayi (3 bulan – 1 tahun): 95 fl

Anak (3 hingga 6 tahun): 76 – 92 fl

MCV normal diidentikkan dengan normokromik. Bila $MCV < \text{normal}$ maka gambaran eritrosit umumnya mikrositik, dan jika $MCV > \text{normal}$ identik dengan makrositik. Namunharus dikonfirmasi dengan hapusan atau gambaran darah tepi.

Mean Corpuscular Volume (MCH)

Menunjukkan kandungan Hb rata-rata dalam 1 eritrosit

$$MCH \text{ (pg)} = \frac{Hb}{\Sigma \text{ Eritrosit (juta/ul)}} \times 10 \quad \text{Pg: pikogram}$$

Normal:

Dewasa : 27 – 32 pg

Anak (3 bln – 2 tahun): 24 – 30 pg

Penderita dengan defisiensi besi atau Thalassemia menunjukkan penurunan nilai MCH.

Mean Corpuscular Hemoglobin Cencentration (MCHC)

MCHC menunjukkan kadar rerata Hb dalam 1 eritrosit.

$$MCHC(\% \text{ atau g/dl}) = \frac{Hb}{Ht} \times 100\%$$

Normal:

Dewasa dan anak: 30–35

g/dL Bayi: 27 – 32 g/dL

Hipokrom jika $MCHC < \text{normal}$ dan normokrom jika $MCHC \text{ normal}$.

Ada hubungan yang baik antara kadar Hb, jumlah eritrosit, dan PCV. Bila $Hb/\text{jumlah eritrosit}/PCV < \text{Normal}$ dapat dikatakan adanya gejala anemia. Bila Indeks Eritrosit dapat dihitung dapat ditentukan jenis anemianya.

D. LAJU ENDAP DARAH (LED)

Laju endap darah atau *Erythrocyte sedimentation rate* adalah kecepatan mengendapnya eritrosit dalam plasma. Satuannya: millimeter (mm).

Tahap pembentukan LED:

1. Tahap pembentukan rouleaux (15 menit pertama)
2. Tahap pemadatan (30 menit)
3. Tahap pengendapan (15 menit akhir)

LED dipengaruhi oleh 3 faktor:

1. Faktor eritrosit
2. Faktor komposisi plasma
3. Faktor teknis

Faktor eritrosit

- Pembentukan rouleaux □ makin besar massa eritrosit yang terbentuk setelah terjadi rouleaux berakibat makin cepat pengendapan eritrosit.

- Bentuk eritrosit □ sel sferis/ bulan sabit mempersulit pembentukan rouleaux, akibatnya LED akan melambat.
- Aglutinasi eritrosit □ menyebabkan peningkatan LED.
- Ukuran eritrosit □ makrosit lebih cepat mengendap, sehingga LED meningkat
- Kadar eritrosit menurun, misal pada anemia (jumlah eritrosit sedikit) akan mempercepat pengendapan sel sehingga LED meningkat.

Faktor plasma

Pembentukan rouleaux dapat dipercepat oleh peningkatan kadar makromolekul dalam plasma (globulin, fibrinogen). Peningkatan globulin dan fibrinogen dapat mengurangi gaya saling tolak menolak antar eritrosit sehingga lebih mudah membentuk rouleaux, akibatnya LED meningkat. Albumin dapat meningkatkan viskositas plasma dan menetralkan gaya tarik ke bawah sehingga kecepatan LED menurun.

Faktor Teknis

Tabung miring akan berakibat LED meningkat. Tabung yang panjang dan diameter yang lebar juga menyebabkan peningkatan LED. Darah tidak segera diperiksa (> 2 jam), antikoagulan berlebih akan mengakibatkan eritrosit mengalami degenerasi dan mengkerut, sehingga lebih sulit membentuk rouleaux, akibatnya LED melambat. Suhu $< 18^{\circ}\text{C}$ menyebabkan LED melambat, Suhu melebihi 25°C menyebabkan LED meningkat.

Laju Endap Darah meningkat pada:

- a) Infeksi,
- b) Keganasan (misal: multiple mieloma)
- c) Anemia,
- d) Inflamasi,
- e) Keracunan logam.

Ada 2 metode penetapan LED yaitu:

1. Metode Westergren
2. Metode Wintrobe.

Prosedur penetapan LED cara Westergren:

1. Ambil darah 1.6 ml dan masukkan ke dalam tabung yang telah berisi 0,4 ml larutan natrium sitrat 3,8% sehingga mendapatkan 2,0 ml campuran.
2. Metode lain apabila kita menggunakan antikoagulan EDTA adalah sebagai berikut: ambil 4 bagian darah EDTA ditambah 1 bagian NaCl 0,9%, campurlah hingga merata, misal 0.5 ml NaCl 0.9% + 2 ml darah EDTA.
3. Isiplah darah no 1 atau 2 ke dalam tabung Westergren sampai garis bertanda "0" mm, kemudian biarkan tabung itu dalam sikap tegak lurus pada Westergren selama 60 menit.
4. Bacalah tingginya lapisan plasma dengan milimeter dan laporkanlah angka itu sebagai laju endap darah dengan satuan mm/jam

Nilai normal menurut Westergren:

- Pria: < 10 mm/jam; Wanita: < 15 mm/jam

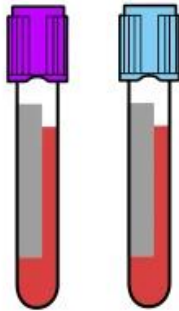
Prosedur penetapan LED cara Wintrobe:

1. Isaplah darah dan masukkan dalam tabung dengan antikoagulan oksalat atau darah EDTA.
2. Dengan memakai pipet Wintrobe, masukkanlah darah itu ke dalam tabung Wintrobe setinggi garis tanda 0 mm. Jagalah jangan sampai terjadi gelembung udara atau busa.
3. Biarkan tabungan Wintrobe itu dalam sikap tegak-lurus pada satu tempat yang takbanyak angin selama 60 menit.
4. Bacalah tingginya lapisan plasma dengan millimeter dan laporkanlah angka itu sebagai laju endap darah.

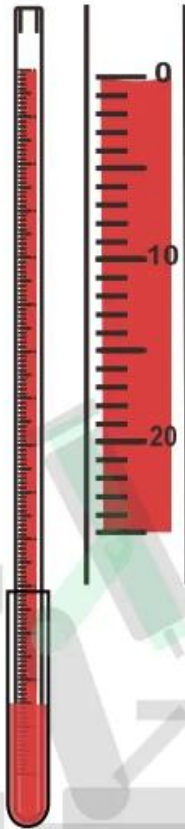
Nilai normal menurut Wintrobe:

- Pria: <10 mm
- Wanita: <20 mm

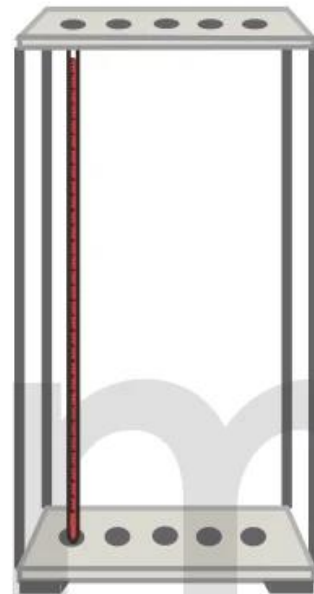
Pemeriksaan Laju Endap Darah (LED) Metode Westergren



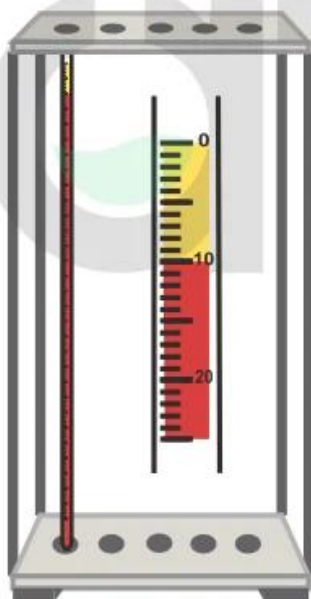
1. Siapkan sampel darah EDTA atau darah Na Citrat 3,8% (1:4) selain itu bisa juga darah EDTA diencerkan dengan Na Citrat 3,8%



2. Masukkan dalam tabung Westergren sampai tanda batas "0" miniskus atas (jangan sampai terjadi gelembung)



3. Letakkan pada rak khusus tabung westergren (dibutuhkan keterampilan saat meletakkan agar tidak mengurangi sampel pada tabung) kemudian diamkan selama 1 jam



4. Setelah 60 menit, catat jumlah milimeter sel darah merah telah jatuh, jangan baca buh fycoat jika terlihat. Hasil yang didapat adalah laju endap darah (LED) dalam milimeter per jam (mm/jam).



Nilai Normal :

Umur	Perempuan	Laki-Laki
0-50	<15 mm/h	<20 mm/h
51-85	<20 mm/h	<30 mm/h
>85	<30 mm/h	<42 mm/h



E. MENGHITUNG JUMLAH ERITROSIT

Alat dan reagen:

- Objek glass
- Lanset steril/semprit 2 ml
- Kapas alkohol 70%
- Pipet eritrosit
- Larutan Hayem/NaCl fisiologis
- Kamar hitung *Improved Neubauer*
- Mikroskop

Cara menghitung:

1. Hisap darah kapiler atau darah-EDTA dengan pipet Thoma sampai tanda 0,5 dan diencerkan dengan larutan Hayem sampai tanda 101 (dengan cara ini maka darah akan diencerkan hingga 200 x). Kocok dengan hati-hati dengan posisi tegak lurus sumbu pipet.
2. Bersihkan kamar hitung dan beri tutup *cover-glass* diatas kotak hitung.
3. Buang 4 tetes larutan darah-Hayem dari pipet, kemudian isikan larutan darah Hayem ke dalam kamar-hitung melalui tepi *cover-glass*.
4. Diamkan 3 menit agar sel darah merah mengendap.
5. Lihat di bawah mikroskop. Pembesaran 10 kali untuk melihat kamar hitung, dan pembesaran 45 kali untuk penghitungan sel pada 5 kotak "R".
6. Perbedaan tiap kotak tidak boleh lebih dari 20 sel

Penghitungan jumlah eritrosit:

1. Faktor pengenceran : 200x
2. Volume eritrosit = luas ke 5 bidang x tinggi kamar hitung
 $= 5 \times \frac{1}{5} \times 0.1$
 $= \frac{1}{50} \mu\text{l}$

N (total jumlah eritrosit) $\times 10.000 / \mu\text{l}$ darah (faktor perkalian untuk eritrosit)

Nilai normal:

Pria: 4,5 - 5,5 juta/ μl darah Wanita: 4,0 - 5,0 juta/ μl darah

F. MENGHITUNG JUMLAH LEUKOSIT

Cara menghitung leukosit dapat dilakukan dengan beberapa cara:

1. Menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*
2. Menggunakan sediaan apusan darah tepi
3. Menggunakan alat otomatis (*hematoanalyzer*)

Menghitung leukosit dengan kamar hitung

Alat dan reagen:

- *Object glass*
- Lanset steril/semprit 2 ml
- Kapas alkohol 70%
- Pipet Lekosit
- Larutan Turk

- Kamar hitung *Improved Neubauer*

Darah dengan antikoagulan diencerkan dalam pipet lekosit, kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung. Jumlah lekosit dihitung dalam volume tertentu. Larutan pengencer ialah larutan Turk yang mempunyai susunan larutan Gentianviolet 1% dalam air 1 ml, asam asetat glasial 1 ml; *aquadest ad* 100 ml. Saringlah larutan ini sebelum dipakai.

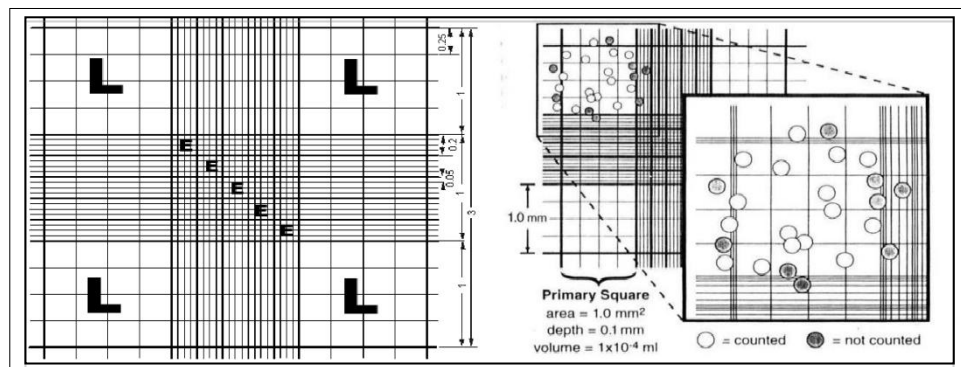
Prosedur kerja:

a. Mengisi pipet leukosit

- Isaplah darah antikoagulan dengan pipet sampai kepada garis tanda 0,5.
- Hapuslah kelebihan darah yang melekat pada ujung pipet.
- Masukkan ujung pipet dalam larutan Turk sambil menahan darah pada garis tanda tadi. Pipet dipegang dengan sudut 45^0 dan larutan Turk diisap perlahan sampai tanda 11. Hati-hatilah jangan sampai terjadi gelembung udara.
- Angkatlah pipet dari cairan; tutup ujung pipet dengan ujung jari lalu lepaskan karet pengisap.
- Kocoklah pipet itu selama 15-30 detik. Jika tidak segera dihitung, letakkanlah dalam posisi horisontal.

b. Mengisi kamar hitung

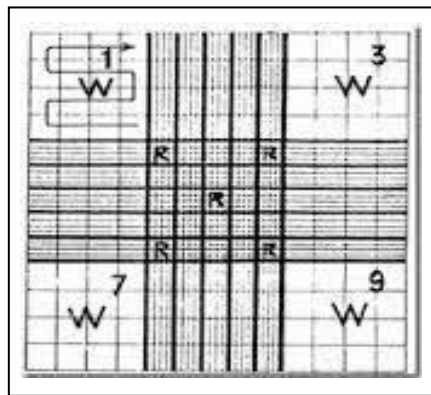
- Letakkanlah kamar hitung yang bersih dengan kaca penutupnya terpasang mendatar di atas meja.
- Kocoklah pipet yang diisi tadi selama 3 menit terus-menerus; jagalah jangan sampai ada cairan terbuang dari dalam pipet itu di waktu mengocok.
- Buanglah semua cairan yang ada di dalam batang kapiler pipet (3 atau 4 tetes) dan segeralah sentuhkan ujung pipet itu dengan sudut 30 derajat pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkan kamar hitung itu terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.
- Biarkan kamar hitung itu selama 2 atau 3 menit supaya lekosit dapat mengendap. Jika tidak dapat dihitung segera, simpanlah kamar hitung itu dalam sebuah cawan petri tertutup yang berisi segumpal kapas basah.



. Lokasi pemeriksaan/penghitungan leukosit pada kamar hitung (L)

c. Menghitung jumlah sel

- Pakailah lensa objektif kecil, yaitu dengan pembesaran 10 x.
- Hitunglah jumlahlekosit, yang terdapat dalam keempat "bidang besar" (W) padaempat sudut kamar hitung.
- Mulailah menghitung dari sudut kiri atas, terus ke kanan kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri; lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan (lihat gambar 11). Cara seperti ini dilakukan pada keempat "bidang besar".
- Kadang ada sel yang letaknya menyinggung garis batas sesuatu bidang. Sel yang menyinggung garisbatas sebelah kiri atau garisatas haruslah dihitung. Sebaliknya sel yang menyinggung garisbatas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung.



Cara hitung leukosit

Perhitungan

Pengenceran yang terjadi dalam pipet adalah 20 kali. Jumlah semua sel yang dihitung dalam keempat bidang dibagi 4 menunjukkan jumlah leukosit dalam 0,1 ul. Kalikan angka itu, dengan 10 (untuk tinggi) dan 20 (untuk pengenceran) untuk mencapai jumlah leukosit dalam 1 ul darah. Jumlah sel yang dihitung kali 50 = jumlah leukosit, per ul darah.

Catatan

Pengenceran darah yang lazim dipakai untuk menghitung leukosit ialah 20 kali; tetapi pada leukositosis atau leukopenia; pengenceran dapat diubah sesuai dengan keadaan; pengenceran dijadikan lebih tinggi pada leukositosis dan lebih rendah pada leukopenia. Dalam darah oxalat yang tidak segera dipakai ada kemungkinan leukosit akan bergumpal; peristiwa itu sangat mengurangi ketelitian kerja.

Koreksi leukosit terhadap eritrosit berinti (normoblast)

Jika darah tepi mengandung banyak eritrosit berinti (normoblast), maka eritrosit berinti akan ikut diperhitungkan sebagai leukosit. Oleh karena itu perlu dilakukan koreksi jumlah leukosit. Caranya: pada waktu melakukan hitung jenis leukosit, dihitung juga jumlah eritrosit berinti.

Jika didapatkan >10 eritrosit berinti dalam 100 leukosit di sediaan hapus, maka jumlah leukosit harus dikoreksi.

Contoh: pada hitung jenis leukosit ditemukan 25 sel eritrosit berinti. Jumlah leukosit

10.000/ul darah.

Jumlah leukosit yang sebenarnya ialah:

$$10.000 - \left(\frac{25}{100 + 25} \times 10.000 \right) = 8000 \text{ peruldarah.}$$

Rumus lain:

$$\frac{100}{(100 + \text{normoblast})} \times \text{Jumlah leukosit} = 100/125 \times 10.000 = 8000/\text{uL}$$

Dengan memakai alat yang baik dan dengan tehnik sempurna, tingkat kesalahan menghitung leukosit dengan kamar hitung berkisar $\pm 10\%$.

Kesalahan-kesalahan pada tindakan menghitung leukosit:

1. Jumlah darah yang diisap ke dalam pipet tidak tepat jika:
 - a. Bekerja terlalu lambat sehingga ada kebekuan darah.
 - b. Tidak mencapai garistanda 0,5.
 - c. Membaca dengan paralaks.
 - d. Memakai pipet basah.
 - e. Mengeluarkan lagi sebagian darah yang telah diisap karena melewati garistanda 0,5.
2. Pengenceran dalam pipet salah jika:
 - a. Kehilangan cairan dari pipet, karena mengalir kembali ke dalam botol berisi larutan Turk.
 - b. Tidak mengisap cairan Turk tepat sampai garis 1 1 .
 - c. Terjadi gelembung udara di dalam pipet pada waktu mengisap larutan Turk.
 - d. Terbuang sedikit cairan pada waktu mengocok pipet atau pada waktu mencabut karet pengisap dari pipet.
3. Tidak mengocok pipet segera setelah mengambil larutan Turk.
4. Tidak mengocok pipet sebentar sebelum mengisi kamar hitung.
5. Tidak membuang beberapa tetes dari isi pipet sebelum mengisi kamar hitung.
6. Yang bertalian dengan kamar hitung dan tehnik menghitung:
 - a. Kamar hitung atau kaca penutup kotor.
 - b. Ada gelombang udara termasuk bersama dengan cairan.
 - c. Letaknya kaca penutup salah.
 - d. Mejamikroskop tidak rata.
 - d. Salah menghitung sel yang menyinggung garis batas.
 - e. Kaca penutup tergeser karena disentuh dengan lensa mikroskop.

Menghitung Leukosit Pada Hapusan Darah Tepi

Metode ini sering dilakukan oleh bagian patologi klinik FK – Unair Surabaya. Pada metode ini dilakukan penghitungan leukosit secara langsung dengan pada hapusan darah tepi.

Prosedur kerja:

- a. Buatlah apusan darah tepi menggunakan pewarnaan Wright/Giemsa
- b. Gunakan mikroskop dengan pembesaran 10x

c. Hitung jumlah leukosit dalam beberapa lapangan pandang (biasanya hingga 10 lapangan pandang). Penghitungan jumlah leukosit dilakukan pada *counting area*, tergantung dari jenis mikroskop yang dipakai. Luas pandang mikroskop bergantung pada *field number* (ukuran FN=*Field Number*). Ukuran FN biasanya ditulis pada bagian mikroskop. Jika FN besar maka luas pandang mikroskop akan besar juga sehingga berpengaruh ke jumlah leukosit yang dihitung.

- FN 18, maka jumlah leukosit normal 15-35/lapangan, atau
$$\frac{\text{Rerata jumlah leukosit}}{\text{Jumlah lapangan pandang}} \times 300$$
- FN 22 : jumlah leukosit normal 22-50/lapangan pandang
$$\frac{\text{Rerata jumlah leukosit}}{\text{Jumlah lapangan pandang}} \times 200$$

MENGHITUNG TROMBOSIT

Cara yang lazim dipakai untuk menghitung jumlah trombosit ialah cara langsung dan cara tidak langsung. Pada cara tidak langsung jumlah trombosit dibandingkan dengan jumlah eritrosit dalam sediaan apusan darah, sedangkan jumlah eritrosit yang langsung dihitung. Trombosit cenderung melekat pada permukaan asing (bukan endotel utuh) dan menggumpal. Untuk mencegah trombosit melekat pada permukaan asing dianjurkan menggunakan alat gelas yang dilapisi silikon atau alat plastik.

Menghitung jumlah trombosit dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu:

1. Cara langsung (Rees dan Ecker)
2. Menggunakan sediaan apusan darah tepi
3. Cara tidak langsung (Fonio)

Cara Langsung (Rees dan Ecker)

Darah diencerkan dengan larutan Rees dan Ecker dan jumlah trombosit dihitung dalam kamar hitung. Larutan Rees dan Ecker terdiri dari natriumsitrat 3.8 g; larutan formaldehida 40% 2 ml; brilliantcresylble 30mg; aquadest ad 100ml. Larutan harus disaring sebelum dipakai.

Prosedur kerja:

1. Isaplah cairan Rees Ecker ke dalam pipet eritrosit sampai garis tanda 1 dan buanglah lagi cairan itu.
2. Isaplah darah sampai garis tanda “0.5” dan cairan Rees Ecker sampai “101”. Segeralah kocok selama 3 menit.
3. Teruskanlah tindakan – tindakan seperti untuk menghitung eritrosit dalam kamar hitung.
4. Biarkan kamar hitung yang telah diisi dengan sikap datar dalam cawan petri yang tertutup selama 10 menit agar trombosit mengendap.
5. Hitunglah semua trombosit dalam seluruh bidang besar di tengah – tengah (1mm^2) memakai lensa – lensa objektif besar (45x).
6. Jumlah itu dikali 2000 menghasilkan jumlah trombosit per μl darah. Contoh: didapatkan jumlah trombosit dalam seluruh bidang = 25 Maka jumlah trombosit sebenarnya adalah: $25 \times 2000 = 50.000/\mu\text{l}$

Menghitung Langsung Menggunakan Sediaan Apusan Darah Tepi

Prosedur kerja:

1. Buatlah sediaan apus darah tepi dengan pewarnaan Wright atau Giemsa.
2. Ambillah mikroskop dan carilah FN (Field Number) mikroskop tersebut. Biasanya mikroskop menggunakan FN 22 atau FN 18.
3. Hitunglah jumlah trombosit pada 11 lapangan pandang jika mikroskop FN 22 (pembesaran 1000x, minyak imersi) dan 18 lapangan pandang jika FN 18 (pembesaran 1000x, minyak imersi).
4. Jumlah trombosit pada FN 22 = jumlah total trombosit 11 lapangan pandang x 1000, jika FN 18 = jumlah total trombosit 18 lapangan pandang x 1000

Contoh: didapatkan jumlah trombosit pada FN 18 sebanyak 25 pada 18 lapangan

pandang maka perkiraan trombosit = $25 \times 1000 = 25.000/\mu\text{L}$

Jika FN 22 ditemukan 25 trombosit pada 11 lapangan pandang, maka perkiraan jumlah trombosit adalah: $25 \times 1000 = 25.000/\mu\text{L}$

Cara Lain: Memperkirakan Jumlah Trombosit Menggunakan Apusan Darah Tepi:

1. Buatlah sediaan apus darah tepi dengan pewarnaan Wright atau Giemsa
2. Pilih daerah baca, dimana eritrosit tidak bertumpuk.
3. Lakukan hitung trombosit menggunakan lensa objektif 100x (pembesaran 1000x, minyak imersi).
4. Hitung jumlah trombosit dalam 10 lapang pandang, kemudian hitung rata – rata perlapang pandang.
5. Jumlah trombosit = jumlah rata – rata per lapang pandang dikali 20,000,
Contoh: misal rerata trombosit pada 10 lapangan pandang = 200 sel, maka jumlah trombosit adalah: $200 \text{ sel}/10 \text{ lp} = 20/\text{lp} \times 20.000 = 400.000 \text{ sel}/\mu\text{L}$

Dalam situasi dimana pasien anemia atau eritrositosis, proporsi relatif trombosit terhadap eritrosit berubah. Dalam kasus ini, formula yang lebih memenuhi untuk perkiraan trombosit adalah:

Rata – rata jumlah trombosit x total jumlah eritrosit

200

(200 adalah jumlah rata – rata eritrosit per lapang pandang imersi pada pasien dengan jumlah eritrosit normal).

Menghitung jumlah trombosit dengan cara ini dapat dipergunakan apabila mikroskop yang dimiliki tidak mempunyai Field Number (FN) 18 atau 22.

Cara Tak Langsung (Fonio)

1. Bersihkan ujung jari dengan alkohol dan biarkan mengering lagi.
2. Taruhlah di atas ujung jari itu setetes besar larutan magnesiumsulfat 14%.
3. Tusuklah ujung jari dengan lanset melalui tetes magnesiumsulfat itu.
4. Setelah jumlah darah keluar menjadi kira-kira $\frac{1}{4}$ dari jumlah magnesiumsulfat campurlah darah dan magnesiumsulfat itu.
5. Buatlah sediaan apus dan pulaslah Wright atau Giemsa.
6. Hitunglah jumlah trombosit yang dilihat bersama dengan 1000 eritrosit (pembesaran 1000x, minyak imersi).
7. Lakukanlah tindakan menghitung jumlah eritrosit per μL darah.
8. Perhitungkanlah jumlah trombosit per μL darah atas dasar kedua angka itu.

Contoh :

Dari sediaan apusan darah tepi didapatkan 25 sel dalam 1000 eritrosit.

Jumlah hitung eritrosit adalah 3 juta/ μL

Maka jumlah trombosit = $\frac{25}{1000} \times 3.000.000 = 75.000/\mu\text{L}$

Catatan

Jumlah trombosit dalam keadaan normal sangat dipengaruhi oleh cara menghitungnya. Nilai normal itu antara 200,000 – 500,000 per ul darah. Karena sukarnya dihitung, penilaian semikuantitatif tentang jumlah trombosit dalam sediaan apus darah sangat besar artinya sebagai pemeriksaan penyaring. Sediaan basah untuk menghitung retikulosit juga dapat dipakai secara tak langsung untuk menghitung trombosit; sediaan basah itu harus sangat tipis dibuat sehingga eritrosit terpisah letaknya.

Larutan menurut Dameshek dapat dipakai sebagai pengganti larutan magnesiumsulfat 14% dalam cara tak langsung: sacharosa 8g; natriumsitrat 0.04g; aqua dest 100 ml; kemudian ditambah brilliantcresylblue 150 mg dan 3 tetes larutan formaldehida 10%. Cara langsung menghitung trombosit dengan menggunakan *electronic particle counter* mempunyai keuntungan tidak melelahkan petugas laboratorium jika harus banyak melakukan pemeriksaan menghitung trombosit.

G. MENGHITUNG RETIKULOSIT

Retikulosit merupakan sel eritrosit muda yang tidak berinti dan mengandung 2 atau lebih partikel dari material berwarna biru yang identik dengan RNA dan sisa ribosom.

Tahap maturasi eritrosit terdiri dari:

1. Pronormoblas
2. Basofilik normoblas: sitoplasma kebiruan karena banyak mengandung ribosom
3. Polikromatofilik normoblas: sitoplasma kemerahan karena mulai terbentuk Hb.
4. Otokromik normoblas: inti piknotik, sudah menepi.
5. Retikulosit: inti sudah keluar tapi masih ada sisa RNA
6. Eritrosit

Retikulosit yang keluar dari sumsum tulang akan mengalami maturasi menjadi eritrosit dalam waktu 24 jam. Jumlah normal retikulosit: 0,8-1,5% (dengan syarat Hb normal). Jika terjadi anemia, *demand* perifer meningkat, produksi sumsum tulang akan dipacu (asal bahan baku terpenuhi) sehingga retikulosit yang imatur juga dilepas ke sirkulasi. Keadaan ini akan membuat produksi retikulosit meningkat dan “memaksa” retikulosit muda keluar dari sumsum tulang menuju ke darah tepi. Usia retikulosit dapat lebih dari 24 jam dan keadaan ini akan membuat rancu penghitungan retikulosit matang, sehingga pada anemia kita harus mengoreksi jumlah retikulosit yang di hitung.

Untuk melihat RNA pada retikulosit, eritrosit harus dicat pada saat masih hidup (belum difiksasi = supravital). Pewarnaan retikulosit sering juga disebut pewarnaan supravital. Pewarnaan yang dipakai adalah NMB (*new methylen blue*) atau BCB (*brilliant cresyl blue*). Sisa ribosom dan RNA akan bereaksi dengan pewarnaan BCB atau NMB membentuk presipitat granul/filament berwarna hijau-biru.

Prosedur kerja:

1. Ambil darah dan pewarna (BCB atau NMB), campur = 1 : 1
2. Inkubasi selama 15 menit.
3. Ambil gelas obyek dan teteskan 1 tetes darah yang telah diinkubasi, dan buat hapusan

Teknik : menghitung retikulosit diantara 1000 eritrosit dan nyatakan dalam %

Misalnya ditemukan 5 retikulosit diantara 1000 eritrosit, berarti persentase retikulosit:
 $5/1000 \times 100 \% = 0,5\%$.

Catatan:

Pada penderita anemia, jumlah retikulosit perlu dikoreksi, karena:

1. Pada anemia, retikulosit prematur dapat dikeluarkan oleh sumsum tulang dan masuk ke dalam sirkulasi darah.
2. Dalam keadaan normal (Hb normal), retikulosit yang keluar dari sumsum tulang dan masuk ke sirkulasi darah hanya berusia 1 hari sebelum menjadi eritrosit, sedangkan pada keadaan tertentu (anemia), retikulosit muda yang masuk ke dalam sirkulasi bisa mencapai beberapa hari (*multiple day*). Retikulosit muda tidak boleh dihitung bersamaan retikulosit matang, namun pada mikroskop sangat sulit menentukan perbedaan retikulosit muda dan matang, sehingga perlu dilakukan koreksi terhadap jumlah retikulosit yang kita hitung.

Atas dasar ini pada penderita anemia harus dikoreksi jumlah retikulosit yang dihitung. Metode penghitungan koreksi retikulosit pada pasien anemia biasanya menggunakan rumus *reticulocyte production index* (RPI).

$$RPI = \frac{\text{Reticulocyte corrected}}{\text{Correction factor (CF)}}$$

$$\text{Reticulocyte corrected} = \frac{\text{Ht penderita}}{\text{Ht normal}} \times \text{jumlah retikulosit terhitung dalam \%}$$

CF:	<u>% Ht penderita</u>	<u>CF</u>
	40-45	1
	35-39	1,5
	25-34	2
	15-24	2,5
	<15	3

Hasil : jika RPI > 2 maka respon sumsum tulang terhadap anemia baik
RPI < 2 maka respon sumsum tulang terhadap anemia inadekuat.

Contoh: Jika penderita dengan Hb 9 g/dL, Ht 29%, Retikulosit hitung 2,5%, Ht normal 40% maka RPI:

$$= \frac{29/40 \times 2,5}{2} = 0,90$$

Kesan: RPI < 2, respon sumsum tulang terhadap anemia inadekuat

LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

BAB III

SEDIAAN HAPUS DARAH TEPI

Sediaan hapus tepi atau hapusan darah tepi atau gambaran darah tepi adalah suatu metode menilai morfologi darah. Pada metode ini darah akan dipulas secara tipis diatas gelas obyek lalu dikeringkan dan diwarnai agar sel yang diamati lebih jelas. Tujuan melakukan pemeriksaan sediaan hapus darah tepi (SHDT):

1. Menilai berbagai unsur darah tepi, meliputi:
 - Eritrosit
 - Leukosit
 - Trombosit
2. Mencari parasit, seperti malaria, tripanosoma, mikrofilaria. Syarat mutlak: sediaan hapus/slide harus baik.

Peralatan:

- Kaca objek berukuran 25x75 mm (bersih dan kering)
- Batang gelas
- Rak kaca objek
- Pipet Pasteur
- Kaca tutup

Reagensia:

- Metanol absolut (kadar air <4%), disimpan dalam wadah tertutup rapat. Metanol berfungsi untuk mem-fiksasi sediaan hapus.
- Zat warna wright:
 - ❖ Zat warna wright eosin methylene blue 1 g
 - ❖ Metanol absolut, bebas aseton 600 ml
- Larutan dapar PH 6.4 :
 - ❖ Na₂HPO₄ 2,56 g
 - ❖ KH₂PO₄ 6.63 g
 - ❖ Air suling sampai 1 L
- Zat warna giemsa:
 - ❖ Zat warna giemsa 1 g
 - ❖ Metanol absolut 100 ml

Bahan pemeriksaan:

- Darah segar yang berasal dari kapiler atau vena.
- Dapat pula menggunakan darah EDTA.

Prosedur pembuatan gambaran darah tepi:

1. Pilih kaca objek yang bertepi rata sebagai “kaca penghapus”.
2. Letakan satu tetes kecil darah, pada 2-3 mm dari ujung kaca objek.
3. Letakan “kaca penghapus” dengan sudut 30-45 derajat terhadap kaca objek di depan tetes darah.
4. Tarik sedikit kaca penghapus ke belakang hingga menyentuh tetes darah, tunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut. Dengan gerak mantap, doronglah kaca penghapus ke depan hingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm atau memenuhi 2/3 area pada kaca objek.

Ketebalan hapusan dapat diatur dengan mengubah sudut antara kedua kaca objek dan kecepatan menggeser. Semakin besar sudut atau semakin cepat menggeser, semakin tipis hapusan yang dihasilkan.

5. Biarkan hapusan darah mengering di udara. Tulis identitas pasien di bagian tebal hapusan dengan pencil.
6. Warnai.

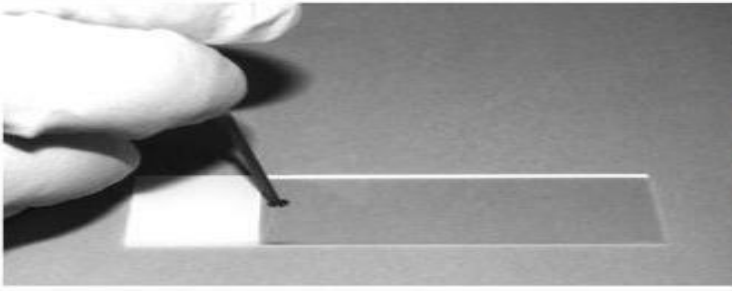
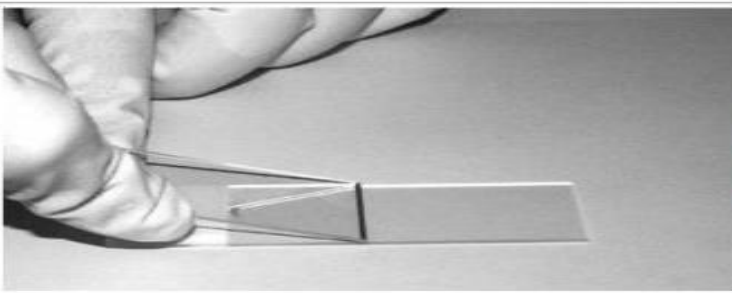
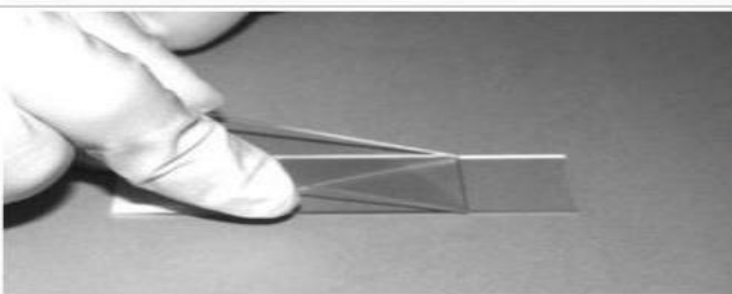
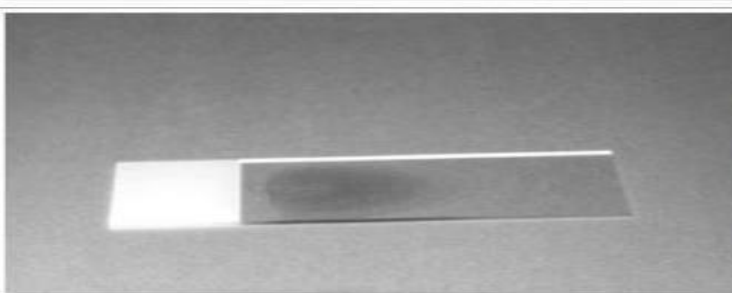
Pewarnaan Hapusan Darah

Pewarnaan Romanowsky merupakan pewarnaan tersering digunakan untuk hapusan darah. Prinsip pewarnaan Romanowsky adalah pewarnaan menggunakan dua zat yang berbeda, yaitu Azur B (trimetiltionin) yang bersifat basa dan Eosin Y (tetrabromfluorescein) yang bersifat asam. Azur B akan mewarnai komponen sel yang bersifat asam, seperti kromatin, DNA, RNA. Eosin Y akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa, seperti granula eosinofil dan hemoglobin. Ikatan eosin Y pada azur B yang beragregasi yang menimbulkan warna ungu, keadaan ini yang disebut sebagai efek Romanowsky Giemsa. Efek ini sangat nyata pada DNA, tetapi tidak pada RNA sehingga inti akan berwarna ungu dengan sitoplasma berwarna biru.

Pewarnaan yang menggunakan prinsip Romanowsky antara lain: Wright, May Grunwald Giemsa, atau Wright Giemsa.

CARA MEWARNAI DENGAN WRIGHT

1. Letakan sediaan hapus pada dua batang gelas diatas bak tempat pewarnaan.
2. Fiksasi sediaan hapus dengan cara meneteskan methanol absolut diatas apusan darah dan biarkan selama 2-3 menit atau tunggu hingga kering.
3. Genangi sediaan hapus dengan zat warna Wright, biarkan selama 5-10 menit (jaga jangan sampai kering, apabila hendak kering tambahkan lagi dengan larutan wright)
4. Tambahkan larutan dapar dengan jumlah yang sama (1:1) dengan zat warna. Biarkan selama 10 -12 menit.
5. Bilas dengan air mengalir mula-mula lambat, hingga menghilangkan sisa zat warna wright.
6. Letakan sediaan hapus dalam rak pada posisi tegak dan biarkan mengering.

	Langkah 1. Letakkan tetes kecil darah vena/kapiler pada kaca objek (sebaiknya menggunakan pipet kapiler)
	Langkah 2. Dengan kaca objek lain yang membentuk sudut 30-45 derajat digeser perlahan sampai pada tetetsan darah
	Langkah 3. Ujung kaca objek tadi telah mengenai darah dan kemudian nakan melebar
	Langkah 4. Kaca objek kemudian di dorong kedepan, yang akan menghasilkan lapisan tipis darah di belakangnya
	Langkah 5. Sediaan hapus hamper selesai
	Langkah 6. Hasil akhir, lapisan tipis pada kaca objek. Setelah dikeringkan selama 10 menit, kemudian dapat di warnai dengan pewarnaan yang sesuai

Pembuatan sediaan hapus darah tepi

Ciri sediaan hapus yang baik:

- Tidak melebar sampai tepi kaca objek, panjang hapusan $\frac{1}{2}$ sampai $\frac{2}{3}$ panjang kaca *slide*.
- Mempunyai bagian yang cukup tipis untuk diperiksa, pada bagian itu eritrosit berdekatan tanpa bertumpuk.
- Rata, tidak berlubang-lubang, dan tidak bergaris.
- Penyebaran leukosit yang baik, tidak berhimpit pada pinggir atau ujung sediaan.

CARA MEMERIKSA

1. Letakan sediaan hapus yang akan dinilai pada mikroskop.
2. Pembesaran objektif 10x10, untuk melihat gambaran menyeluruh
 - Penyebaran sel darah cukup merata
 - Jumlah leukosit
 - Pengelompokan trombosit
 - Benda asing seperti Mikrofilaria

Setelah itu barulah mencari *counting area* yaitu area dimana eritrosit tidak saling menumpuk dan penyebaran merata

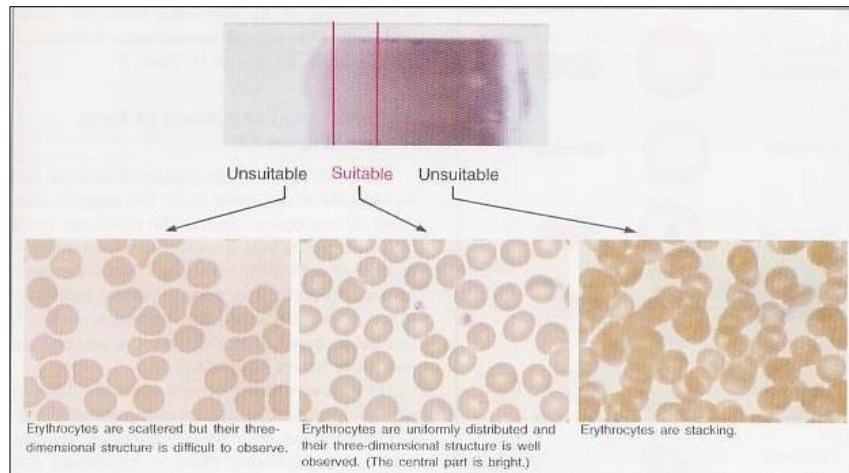
3. Pembesaran objektif 40x10, dapat menilai secara sederhana:
 - Keadaan eritrosit
 - Keadaan leukosit dan hitung jenis leukosit (*diff*)
 - Keadaan trombosit
 - Benda inklusi
4. Pembesaran 100x10 (dengan minyak imersi), dapat menilai: parasit seperti malaria, *diff* leukosit serta kelainan eritrosit, trombosit.

Sumber kesalahan:

1. Kesalahan pra-analitik seperti kesalahan pengambilan, kesalahan antikoagulan.
2. Sediaan terlampau biru/gelap dapat disebabkan oleh pewarnaan terlalu lama, hapusan terlalu tebal, mencuci tidak adekuat, penggunaan pewarna, dan atau buffer yang terlalu basa.
3. Sediaan terlampau pink/terang dapat disebabkan oleh mencuci terlalu lama, buffer yang terlalu asam.
4. Terdapat bercak zat warna pada sediaan dapat disebabkan oleh slide tidak bersih, zat warna mengering saat proses pewarnaan, zat warna *Wright* kotor (tidak disaring).
5. Neutrofil dan monosit banyak terdapat pada pinggir dapat disebabkan oleh penundaan menghapus darah yang sudah ditetaskan di atas kaca objek.
6. Latar belakang berwarna biru kemerahan, leukosit dan trombosit mengumpul pada ujung sediaan dapat disebabkan oleh penggunaan antikoagulan heparin.
7. Sediaan hapus tidak rata dapat disebabkan oleh kaca penghapus tidak bersih, pinggirnya tidak rata, kaca objek berdebu, berlemak, bersidik jari.
8. Perubahan morfologi dan warna sediaan dapat disebabkan oleh proses fiksasi tidak baik akibat tidak menggunakan methanol absolut atau botol penampung methanol tidak tertutup rapat.
9. Perubahan morfologi leukosit dapat disebabkan oleh fiksasi tidak dilakukan segera setelah sediaan kering.

CARA MELAPORKAN ERITROSIT

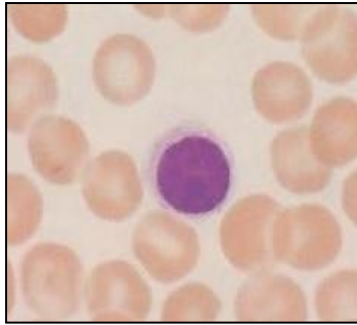
- Penilaian dilakukan pada daerah eritrosit terletak saling berdekatan, tidak saling menumpuk, namun tidak terlalu jarang. Area ini sering disebut *Counting area*.



Lokasi Eritrosit yang Ideal pada SHDT

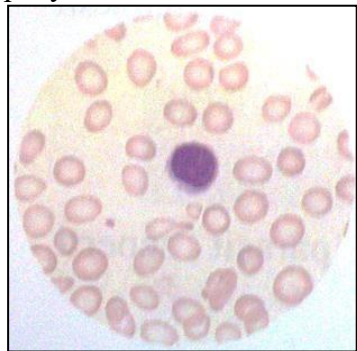
- Laporan morfologi eritrosit penting untuk menggolongkan anemia berdasarkan morfologinya sehingga dapat menyarankan pemeriksaan lanjutan apa nantinya.
- Penilaian dilakukan terhadap: ukuran (*size*), bentuk (*shape*), warna (*staining*), dan badan inklusi.
- Ukuran eritrosit normal 6-8 μm (seukuran inti limfosit kecil).
- Eritrosit berbentuk bulat dengan bagian tengah berwarna lebih pucat.
- Ukuran (*size*): bandingkan ukuran eritrosit dengan inti limfosit kecil.
Laporkan: normositik, mikrositik, makrositik, anisositosis (ukuran eritrosit bervariasi), poikilositosis (bentuk eritrosit bervariasi), atau anisopoikilositosis (gambaran eritrosit dengan berbagai ukuran dan bentuk abnormal).
Normositik: ukuran eritrosit seukuran inti limfosit kecil
Mikrositik: ukuran eritrosit < inti limfosit kecil
Makrositik: ukuran eritrosit > inti limfosit kecil
- Warna (*staining*): bandingkan diameter *central pallor* dengan diameter eritrosit.
Laporkan: normokrom atau hipokrom.
Normokrom: bila diameter *central palor* (CP) kurang dari atau sama dengan 1/3 garis tengah eritrosit
Hipokrom: bila diameter *central palor* (CP) lebih dari 1/3 garis tengah eritrosit.
- Bentuk (*shape*):
Bentuk normal eritrosit: bulat, bikonkaf (bagian tepi lebih tebal daripada bagian tengah) hal ini disebabkan karena pada bagian tengah eritrosit lebih sedikit mengandung Hb dan kurang mampu menyerap warna sehingga nampak lebih pucat.

- Ukuran dan bentuk eritrosit normal (**normositik normokrom**)

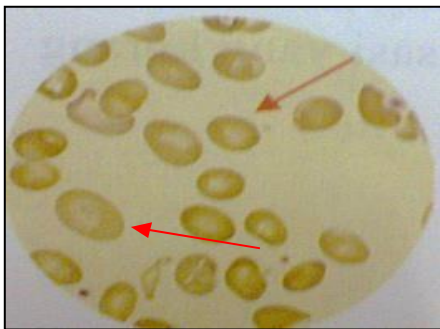


- **Kelainan ukuran eritrosit:**

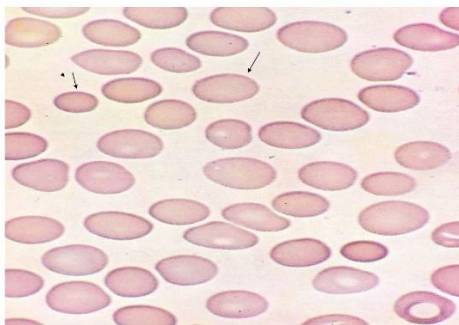
1. **Mikrositik** dapat ditemukan pada: anemia defisiensi besi, Anemia pada penyakit kronik, Thalassemia, sindrom Mielodisplasia.



2. **Makrositik** dapat ditemukan pada: anemia megaloblastic, penyakit hati kronik, anemia hemolitik, anemia pasca perdarahan.



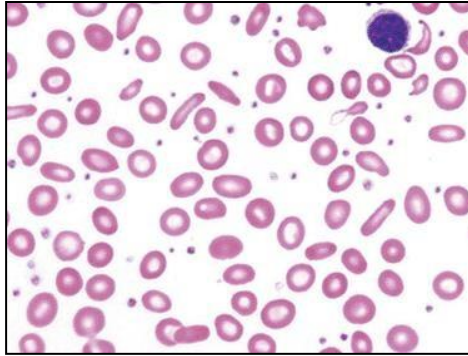
3. **Anisositosis/dimorfik** adalah **ukuran eritrosit bervariasi**, dapat ditemukan pada: anemia mikrositik bersamaan dengan anemia makrositik (anemia gizi), Mielodisplasia, anemia dalam pengobatan, pasca transfusi.



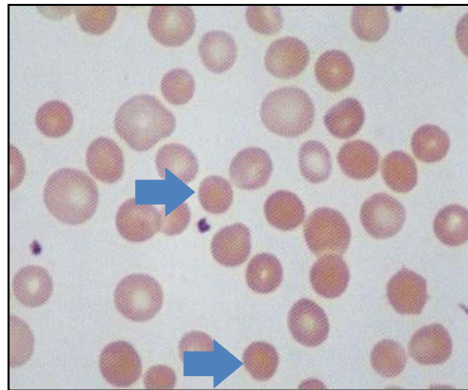
anisositosis

- **Kelainan bentuk eritrosit:**

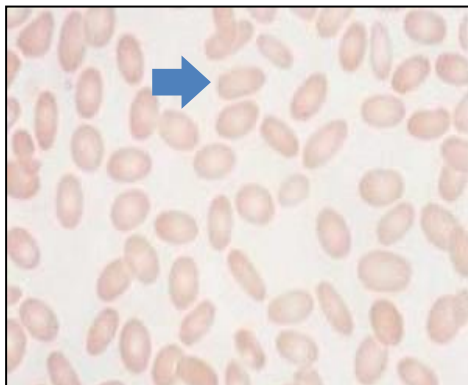
1. **Anisopoikilositosis** adalah **bentuk dan ukuran eritrosit bervariasi**. Dapat ditemukan pada *Thalassemia mayor*, anemia berat.



2. **Sferosit** adalah bentuk eritrosit lebih bulat dan lebih kecil dari eritrosit normal. Dapat ditemukan pada hemolitik, Sferositosis herediter, AIHA (*autoimun haemolytic anemia*), Lupus eritematosus sistemik, septikemia, dan pasca transfusi.



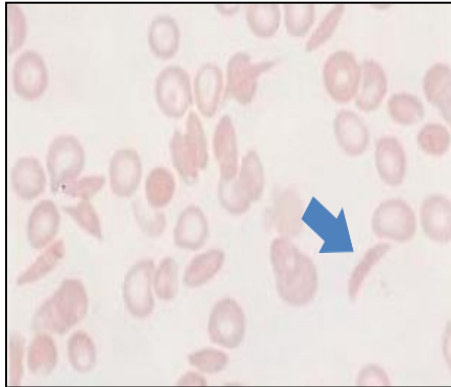
3. **Ovalosit** adalah eritrosit berbentuk lonjong. Dapat ditemukan pada Ovalositosis herediter (90% berbentuk oval), kadang ditemukan pada orang normal.



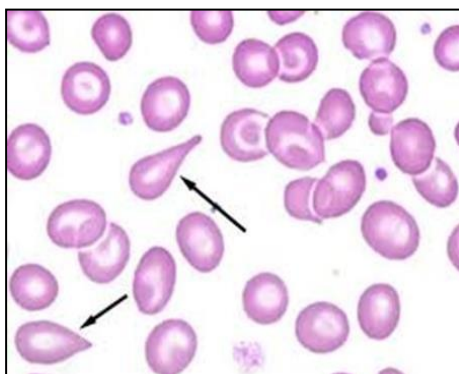
4. **Fragmentosit** adalah pecahan eritrosit. Dapat ditemukan pada hemolitik, Thalassemia, Ovalositosis herediter, Anemia megaloblastik, kelainan katub jantung, luka bakar berat.



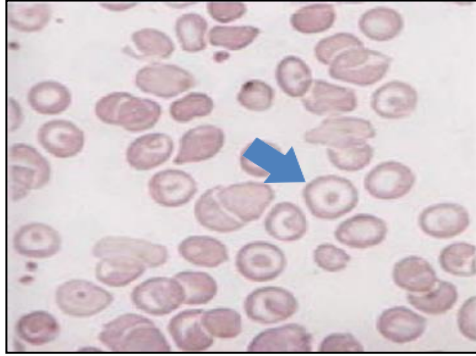
5. **Sel sabit.** Dapat ditemukan pada penyakit sel sabit homozygote (HbSS).



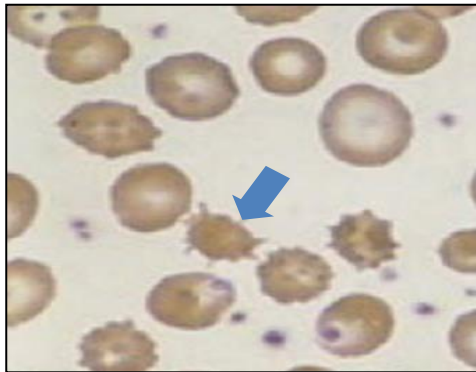
6. **Sel Tear drop** adalah bentuk eritrosit seperti tetesan air mata. Dapat ditemukan pada Mielofibrosis dan Thalassemia mayor.



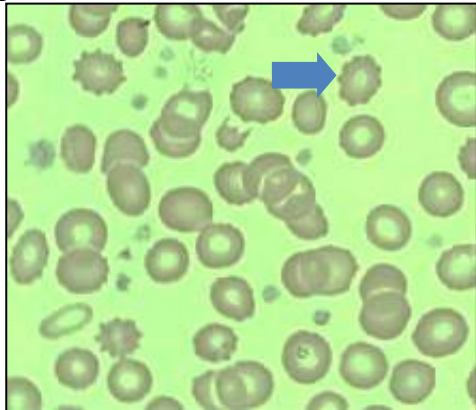
7. **Sel Target/sasaran/leptosit** adalah eritrosit dengan massa kemerahan di tengahnya. Dapat ditemukan pada Thalassemia, Anemia defisiensi besi berat, penyakit hati menahun.



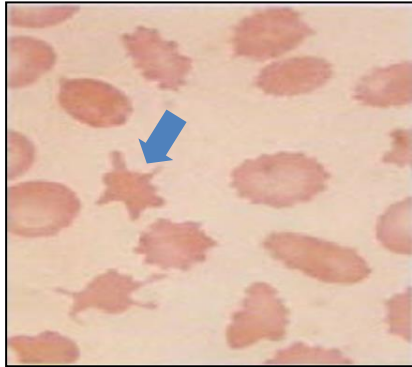
8. **Sel burr** adalah eritrosit kecil dan berduri 1 atau lebih pada permukaan eritrosit. Duri lebih tajam daripada *crenation*. Dapat ditemukan pada uremia, DIC.



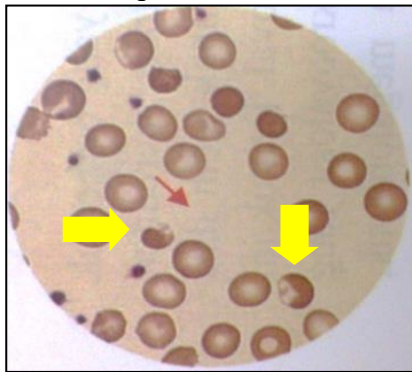
9. **Crenation** merupakan artefak. Dapat dijumpai pada sediaan yang telah disimpan semalam pada suhu kamar atau eritrosit yang berasal dari *washed packed cells*.



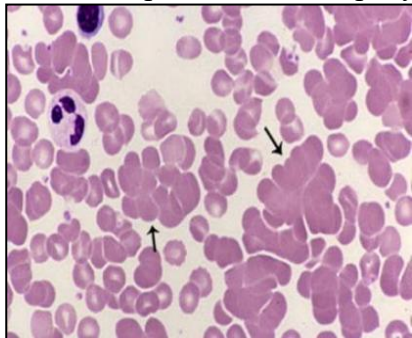
10. **Akantosit** adalah bentuk eritrosit dengan tepi mempunyai tonjolan berupa duri. Hal ini disebabkan oleh kelainan metabolisme fosfolipid membran eritrosit. Dapat ditemukan pada pasca splenektomi alkoholik, sirosis hati, abetalipoproteinemia, def. Piruvat Kinase.



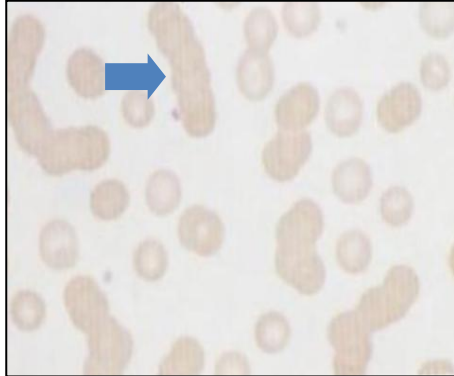
11. **Bite Sel**. Hemoglobin yang mengalami oksidasi membentuk endapan badan Heinz yang melekat pada membran eritrosit. Badan Heinz dibersihkan oleh limpa sehingga membran eritrosit rusak seperti tergigit (bite). Dapat ditemukan pada defisiensi G6PD.



12. **Autoaglutinasi** adalah eritrosit bergumpal seperti penggumpalan eritrosit pasien dengan Ab yang berasal dari luar tubuh (reaksi transfusi). Dapat ditemukan pada AIHA dan penyakit lupus.

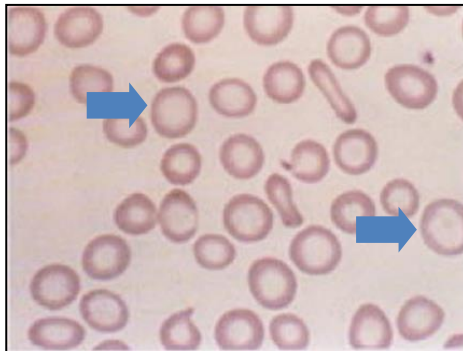


13. **Rouleaux** adalah bentuk eritrosit seperti koin bertumpuk yang tersusun dari 3-5 eritrosit. Dapat ditemukan pada LED yang cepat seperti Mieloma, infeksi, keganasan, anemia berat.

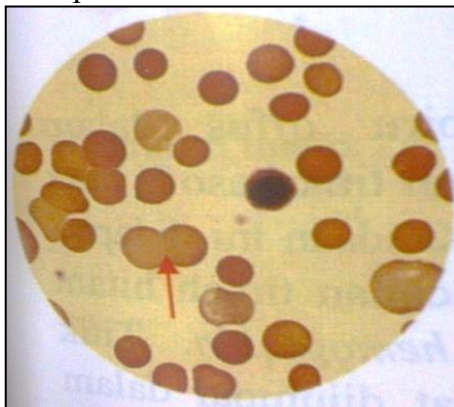


- **Kelainan Warna Eritrosit:**

1. **Hipokrom** adalah warna eritrosit pucat karena kadar Hb berkurang (tampak seperti karet gelang). Eritrosit dengan kadar Hb terlalu sedikit akan kolaps membentuk sel pensil. Dapat ditemukan pada Anemia defisiensi besi, anemia sideroblastik, thalassemia mayor, infeksi menahun,

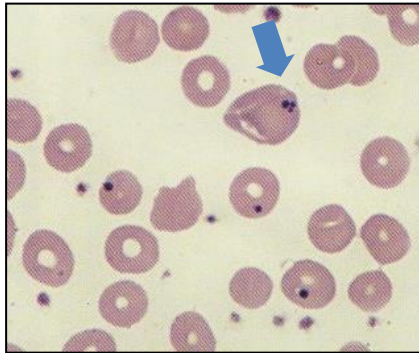


2. **Eritrosit polikrom** adalah ukuran eritrosit lebih besar dan biru dari eritrosit normal. Berkaitan dengan peningkatan retikulositosis. Dapat ditemukan pada sumsum tulang hiperaktif, misal anemia hemolitik, anemia pasca perdarahan, hemopoiesis ekstra medular.

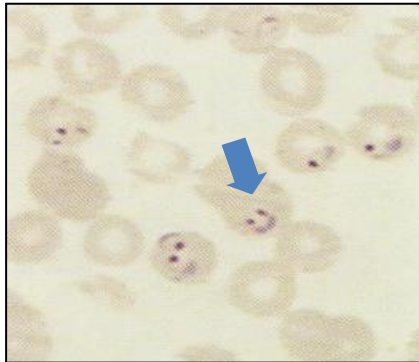


- **Benda asing/benda inklusi:**

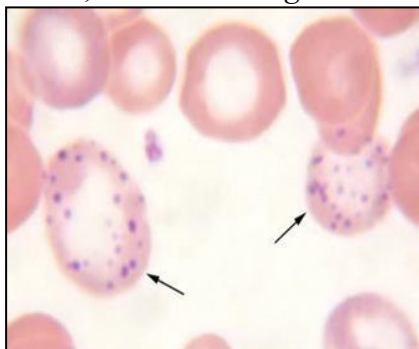
1. **Howell Jolly** adalah sisa dari inti eritrosit. Biasanya tunggal. Dapat ditemukan pada anemia pernisiiosa, anemia defisiensi asam folat, atrofi limpa dan pasca splenektomi.



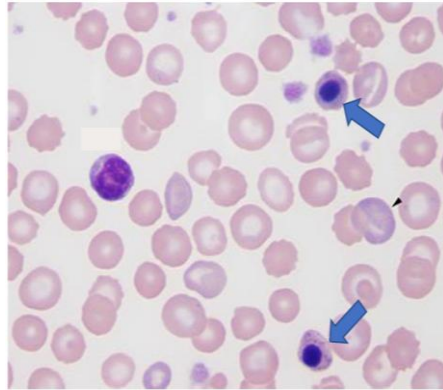
2. **Plasmodium malaria (falcifarum)**



3. **Titik Basofil/Basophilik stippling** adalah titik biru difus dalam eritrosit. Tidak dijumpai pada darah EDTA. Dapat ditemukan pada infeksi, keracuan timbal, *unstable hemoglobin*.



4. **Eritrosit berinti/normoblast** dapat ditemukan pada anemia berat, eritropoiesis hiperaktif, neonates, septicemia, pasca splenektomi, eritropoiesis ekstraintomedular seperti myelofibrosis.



LEUKOSIT

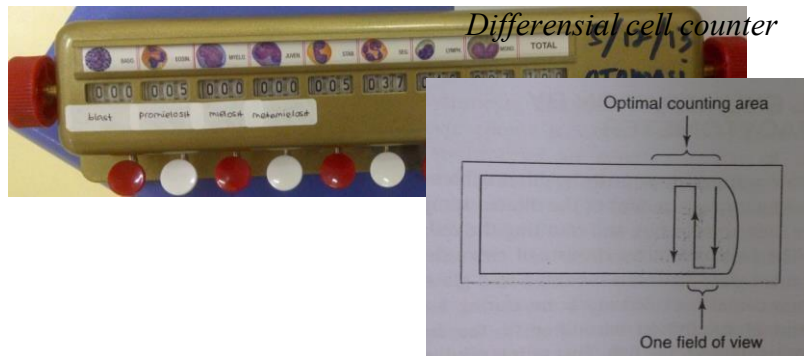
Leukosit terbagi 2 bagian besar yaitu:

- a. Seri granulosit / polimorfomononuklear sel yang memiliki inti lebih dari satu dan pada sitoplasmanya mengandung granula. Seri ini terdiri dari: basofil, eosinofil, dan neutrofil.
 - b. Seri agranulosit/mononuklear yaitu leukosit berinti tunggal dan sering tidak mengandung granula pada sitoplasmanya, seri ini terdiri dari limfosit dan monosit.
- Pada analisis cairan tubuh (untuk menilai cairan transudat dan eksudat), pembagian seri leukosit dibagi atas 2 bagian besar yaitu polimorfonuklear (basofil, eosinofil, dan neutrofil) dan mononuklear (limfosit dan monosit).
 - Cara menilai leukosit adalah:
 1. Perkiraan jumlah (normal/meningkat/menurun).
 2. Hitung jenis (diff) yaitu: basofil (0-1%), eosinofil (1-3%), netrofil batang (2-6%), netrofil segmen (50-70%), limfosit (20-40%), monosit (2-8%).
Jika terdapat sel muda, disusun berdasarkan urutan maturasinya yaitu blas – promielosit – mielosit – metamielosit – batang dan yg matur adalah basofil, eosinofil, limfosit, monosit dan segmen
 3. Kelainan morfologi leukosit.

Hitung Jenis leukosit (diferensiasi)

- Hitung jenis leukosit
 - ❖ Relatif □ menunjukkan jumlah relatif dari masing jenis sel (satuan: %)
 - ❖ Jumlah absolut □ nilai relatif (%) dikalikan leukosit total (satuan: sel/ μ l)
- Hitung jenis leukosit berbeda tergantung umur
- Pada anak, limfosit lebih banyak dari neutrofil segmen, sedang pada orang dewasa, kebalikannya.
- Kegunaan: mengetahui pola spesifik akan memberikan nilai diagnostik tertentu
- Cara hitung:
 - ❖ Manual dengan membaca pada sediaan hapus darah tepi.
 - ❖ Otomatik
- Nilai rujukan: basofil (0-1 %), eosinofil (1-3 %), netrofil batang (2-6 %), netrofil segmen (50-70 %), limfosit (20-40 %), monosit (2-8 %)
- Istilah:

- ❖ □ □ akhiran “filia”
- ❖ □ □ akhiran “penia”
- ❖ *Shift to the right* □ peningkatan leukosit matang
- ❖ *Shift to the left* □ peningkatan leukosit muda
- Untuk menghitung jenis lekosit digunakan *differensial sel counter*
- Biasanya perhitungan dilakukan per-100 lekosit
- Apabila terdapat leukositosis (misal: Susp. leukemia dengan jumlah leukosit 100.000/ul, maka perhitungan bisa sampai 200 sel leukosit)



- Cara melakukan hitung jenis leukosit
 - ❖ Lekosit yang dilihat, dicatat pada kolom 1 hingga berjumlah 10, kemudian pindah ke kolom 2 dan seterusnya.
 - ❖ Bila 10 kolom sudah terisi, dan sudah mendapat 100 sel, masing sel dihitung dandijumlahkan. Jumlah tersebut dihitung dalam %.

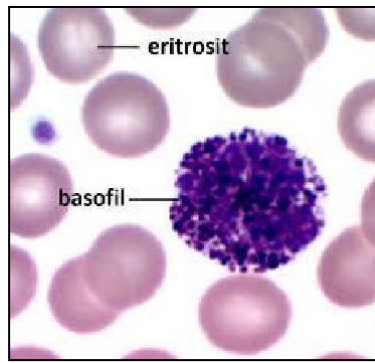
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	%
Basofil											
Eosinofil											
Batang											
Segmen											
Limfosit											
Monosit											
Sel muda											
Blast											
Total	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

Tabel hitung jenis leukosit

SERI GRANULOSIT

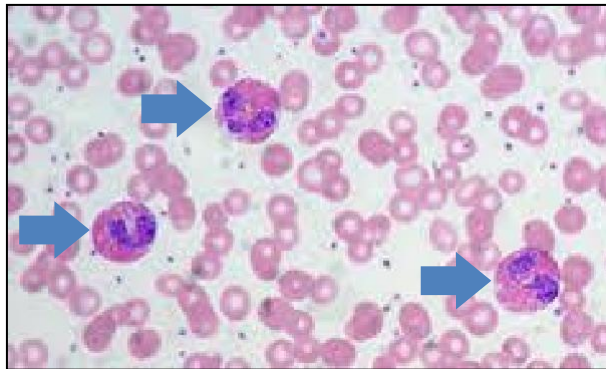
1. Basofil

- Sitoplasma mengandung granula hitam, ukuran granul tidak sama besar, menutupi inti.
- N: 0-1% = <100/uL.
- Merupakan sel fagosit komplek imun, dengan granula mengandung histamin, serotonin, heparin.
- Basofilia adalah jumlah basofil lebih dari 100/ μ l darah.
- Dapat ditemukan pada polisitemia vera, leukemia granulositik kronik, alergi seperti eritroderma, urtikaria pigmentosa dan kolitis ulserativa.
- Pada reaksi alergi basofil akan melepaskan histamin dari granulanya.



2. Eosinofil

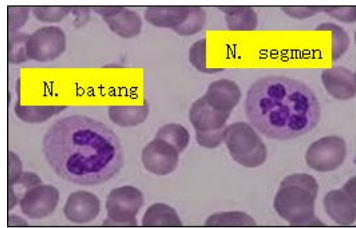
- Sitoplasma mengandung granula kemerahan, ukuran granula sama besar, tidak menutupi inti, inti biasanya 2.
- Normal: 1-3% = 50-300/uL.
- Eosinofilia adalah jumlah eosinofil lebih dari 300/ μ l. Dapat ditemukan pada: alergi, infestasi parasit (cacing), penyakit kulit kronik, sindrom hipereosinofilia, sindrom Loeffler.
- Eosinopenia adalah jumlah eosinofil <50/ μ l darah. Dapat ditemukan pada keadaan inflamasi (syok, luka bakar, perdarahan dan infeksi berat), hiperfungsi korteks adrenal, pengobatan dengan kortikosteroid



Eosinophil (panah biru)

3. Neutrofil

- Sitoplasma mengandung granula halus berwarna ungu.
- N. batang: bila lekukan inti melebihi setengah diameter inti.
- N. segmen: bila inti terbagi menjadi beberapa segmen yang dihubungkan oleh benang kromatin.
- Normal neutrophil batang: 2-6% = 100-600/uL.
- Normal neutrophil segmen: 50-70% = 2.500-7.000/uL.
- Neutrofilia adalah jumlah netrofil >7.000/ μ l dalam darah tepi. Dapat ditemukan pada infeksi bakteri akut, radang, nekrosis jaringan. keracunan bahan kimia dan logam berat, gangguan metabolic, perdarahan, kelainan mieloproliferatif, penggunaan steroid.
- Netropenia adalah jumlah neutrophil kurang dari 50% (< 2.500)

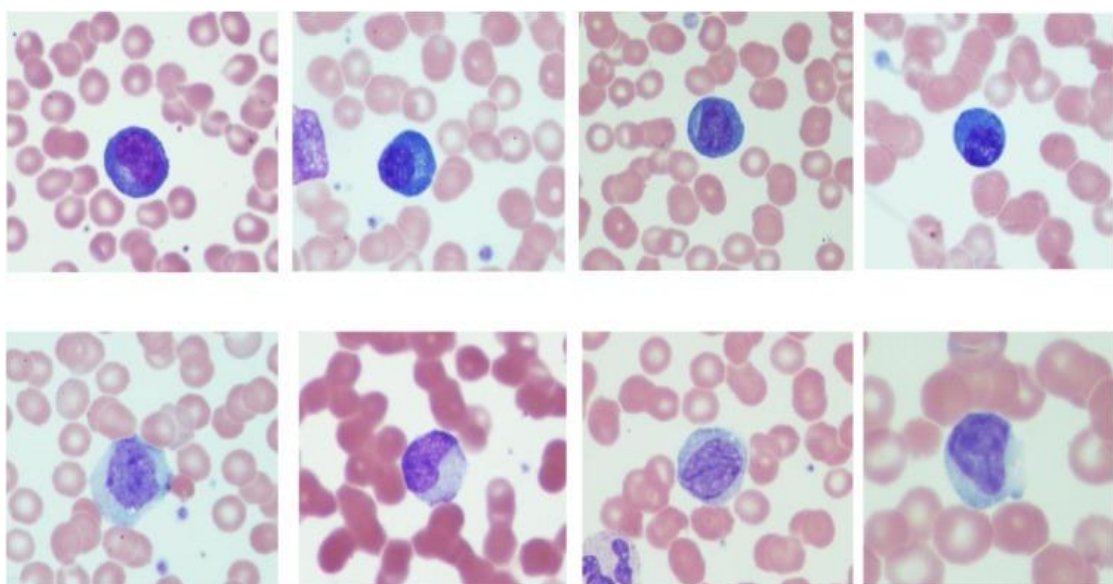


SERI AGRANULOSIT

Seri agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Disebut agranulosit karena pada sitoplasmanya biasanya tidak mengandung granula.

1. Limfosit

- Limfosit kecil: 8-19 μm
Berbentuk bulat, inti seukuran eritrosit normal, sitoplasma tidak bergranul, inti eksentrik mengisi sebagian besar dari ukuran sel.
- Limfosit besar: 12-16 μm
Berbentuk bulat/tidak beraturan, inti bulat/oval, eksentrik, sitoplasma tidak bergranul.
- Normal: 20-40% = 1000-4000/uL.
- Limfositosis adalah jumlah limfosit $>8000/\mu\text{l}$ pada bayi dan anak-anak; jumlah limfosit $>4000/\mu\text{l}$ pada dewasa. Dapat ditemukan pada infeksi virus (morbili, mononukleosis infeksiosa), infeksi kronik (tuberkulosis, sifilis, pertusis), kelainan limfoproliferatif (leukemia limfositik kronik dan makroglobulinemia primer).
- Limfositosis sering disertai neutropenia akibat: obat anti inflamasi, antibiotik, antikonvulsan, anti tiroid, kelainan imunologi, infeksi bacterial berat, kegagalansumsum tulang.
- Limfopenia adalah jumlah limfosit $< 1000/\mu\text{l}$ pada dewasa; $< 3000/\mu\text{l}$ pada anak. Dapat ditemukan pada produksi limfosit menurun (penyakit Hodgkin, sarkoidosis), penghancuran yang meningkat (radiasi, kortikosteroid dan obat-obat sitotoksik), kehilangan yang meningkat (*thoracic duct drainage* dan *proteinlosing enteropathy*).



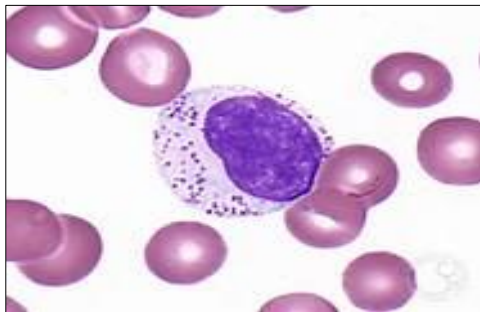
Gambar berbagai bentuk atipikal limfosit

Granul Azurophilic.

Granul azurofilik adalah jenis granul yang dapat ditemukan pada leukosit, termasuk limfosit dan monosit, meskipun limfosit dan monosit dianggap sebagai sel agranular, namun mereka sebenarnya mengandung granula azurofilik. Granula azurophilic pada monosit berisi enzim lisosomal dan memainkan peran penting dalam fungsi fagositosis monosit.

Granulasi azurophilic pada limfosit merujuk pada granula kecil berwarna kemerahan keunguan yang ditemukan pada sitoplasma limfosit, terutama limfosit granular besar (LGL). Granula ini mengandung enzim lisosom, termasuk mieloperoksidase, lisozim, dan hidrolase asam, yang penting untuk fungsi imun dan dapat menghancurkan patogen.

Granula pada limfosit ini berperan dalam mekanisme efektor sitotoksik, yaitu kemampuan limfosit untuk membunuh sel target, seperti sel yang terinfeksi virus atau sel kanker.



Limfosit dengan granula azurophilic

Ada beberapa jenis limfosit:

a. Limfosit B:

Sel B berfungsi memproduksi antibodi. Sel ini berperan pada imunitas humoral, yang melibatkan produksi antibodi untuk melawan patogen.

b. Limfosit T:

Sel T memiliki peran dalam imunitas seluler. Sel T terlibat dalam penghancuran sel yang terinfeksi dan pengaturan respons imun.

c. Limfosit Granular Besar (LGL):

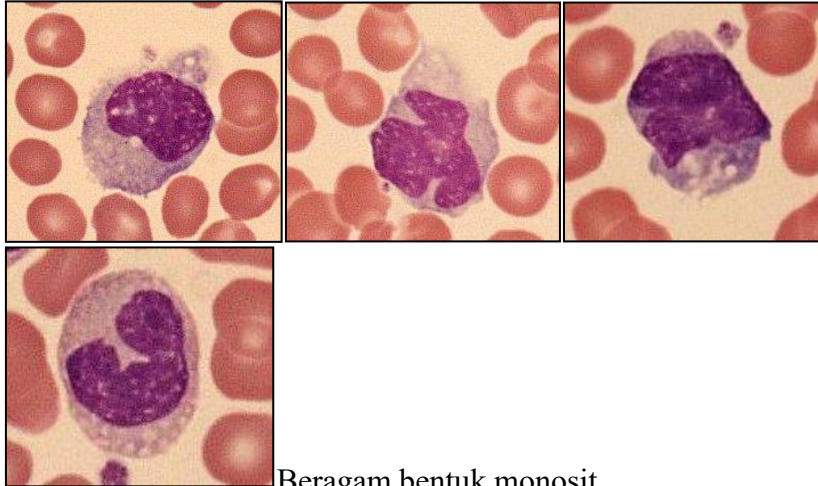
LGL adalah jenis limfosit yang lebih besar dan berfungsi dalam melawan infeksi virus. Limfosit ini teraktivasi akibat respons terhadap infeksi atau peradangan, sehingga bentuk limfosit membesar, biasanya terjadi pada limfosit B, namun tidak semua limfosit besar adalah limfosit B.

2. Monosit

- Sel paling besar (14-20 um)
- Bentuk inti macam-macam (seperti ginjal, gyrus otak), sitoplasma keabuan, mempunyai granula halus kemerahan (kadang beberapa buku mengatakan tidak bergranula), kadang bervakuola.
- Monosit kadang memiliki granula azurophilic.
- Berfungsi sebagai fagosit dan berperan dalam presentasi antigen untuk memicu respons imun yang lebih spesifik.
- Normal: 2-8% = 100-800/uL.
- Monosit memiliki bentuk beragam karena sel ini akan berdiferensiasi menjadi dua jenis, yaitu makrofag dan sel dendritik, yang memiliki peran

berbeda dalam sistem imun. Selain itu, monosit juga dapat mengalami perubahan bentuk saat bergerak di vaskuler ke jaringan tubuh yang berbeda.

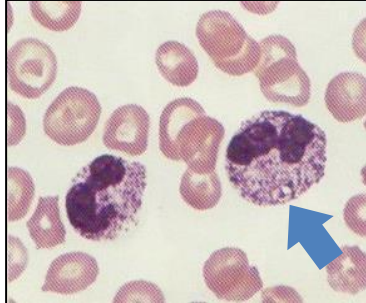
- Monositosis adalah jumlah monosit $>750/\mu\text{l}$ pada anak; $> 800/\mu\text{l}$ pada orang dewasa. Dapat ditemukan pada penyakit mieloproliferatif, penyakit kolagen, penyakit infeksi oleh bakteri, virus, protozoa maupun jamur.
- Perbandingan monosit : limfosit $\square$ arti prognostik pada tuberkulosis
- $M:L \leq 1:3$ $\square$ pada keadaan normal dan tuberkulosis inaktif
- $M:L > 1:3$ $\square$ pada tuberkulosis aktif dan menyebar



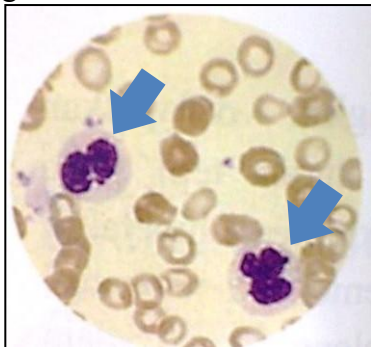
Beragam bentuk monosit

- **Kelainan morfologi leukosit**

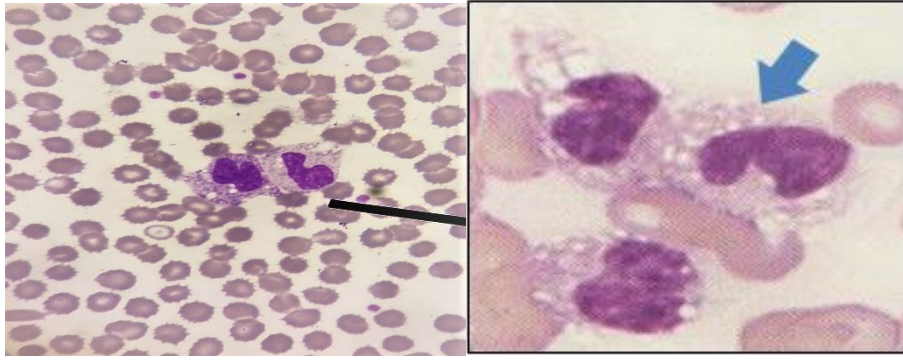
1. **Granulasi toksik** adalah sitoplasma bergranula kasar biru kehitaman. Dapat ditemukan pada Infeksi akut, luka bakar, intoksikasi.



2. **Agranulasi PMN** dapat ditemukan pada mielodisplasia, leukemia granulositik kronik



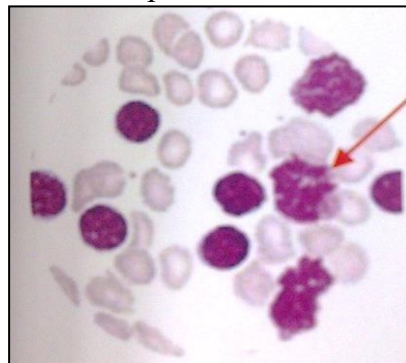
3. **Vakuolisasi neutrophil** dapat ditemukan pada pasien inflamasi terutama infeksi bakteri atau SHDT yang dibuat menggunakan darah tidak segar.



4. **Badan Auer** adalah batang kecil berwarna merah pada sitoplasma monoblas/mieloblas. Tidak terdapat pada limfoblas.

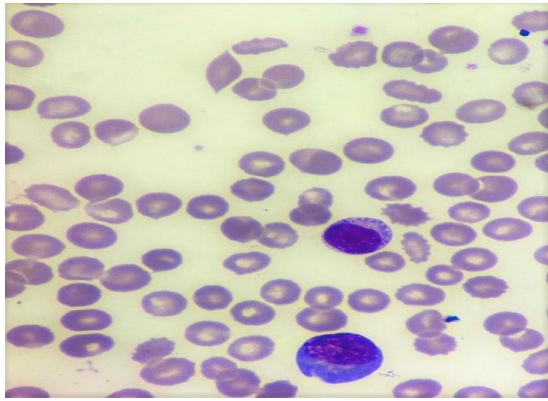


5. **Smudge sel** adalah leukosit rusak akibat pembuatan sediaan. Dapat juga ditemukan pada Leukemia limfositik kronik.



6. **Atipikal limfosit**

Adalah limfosit yang mengalami perubahan morfologi sehingga selnya berbentuk tidak beraturan dan rasio sitoplasma berbanding inti tinggi serta lebih kebiruan. Salah satu contoh atipikal limfosit adalah limfosit plasma biru. Atipikal limfosit dapat ditemukan pada Infeksi virus seperti DBD, HIV, infeksi, TORCH.

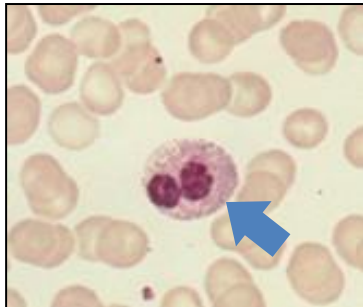


Atipikal limfosit

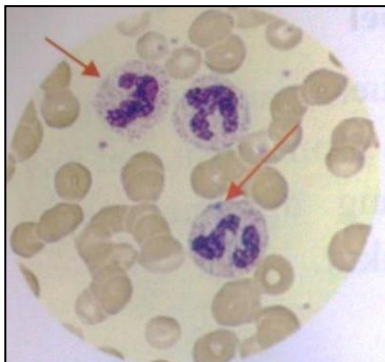
7. **Hipersegmentasi** adalah lobus inti neutrophil segmen inti >5 . Dapat ditemukan pada ada anemia megaloblastic, infeksi, uremia



8. **Anomali pelger- Huet/hiposegmentasi**. Dapat ditemukan pada mielodisplasia atau kelainan herediter.



9. **Badan dohle** adalah sitoplasma netrofil warna kebiruan akibat sisa RNA dari RES



TROMBOSIT

Hal yang perlu diketahui tentang thrombosit:

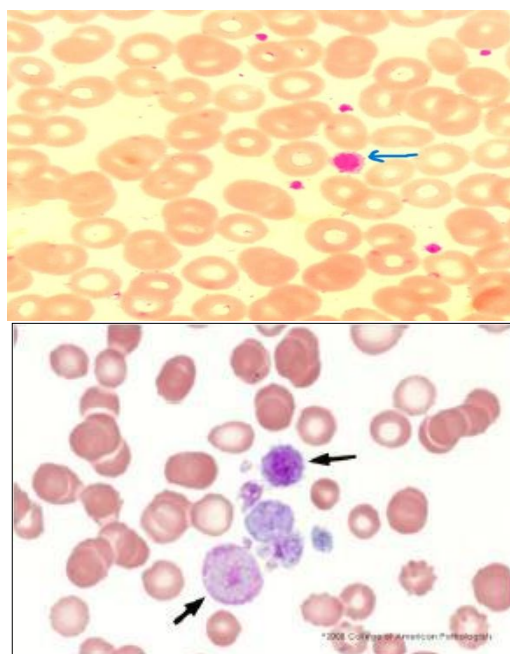
- Perkiraan jumlah trombosit (meningkat/normal/menurun) dan kesan morfologi.
- Usia thrombosit di darah berkisar 8 – 10 hari
- Trombosit yang menurun, perlu konfirmasi adanya satelitem, aglutinasi trombosit.
- Trombositosis kemungkinan adanya mielofibrosis atau trombositemia
- Keadaan normal, tiap lapang pandang dengan pembesaran 45x10 dapat dijumpai 3-8 trombosit per 100 eritrosit.
- Perkiraan jumlah trombosit, dapat diperkirakan dengan melakukan hitung minimal pada 18 lapang pandang x 1000 pada *Field Number* (FN) 18 dan 11 lapangan pandang x 1000 pada FN 22. *Field number* adalah perkiraan luas pandang mikroskop yang dikeluarkan oleh pabrik pembuat mikroskop.



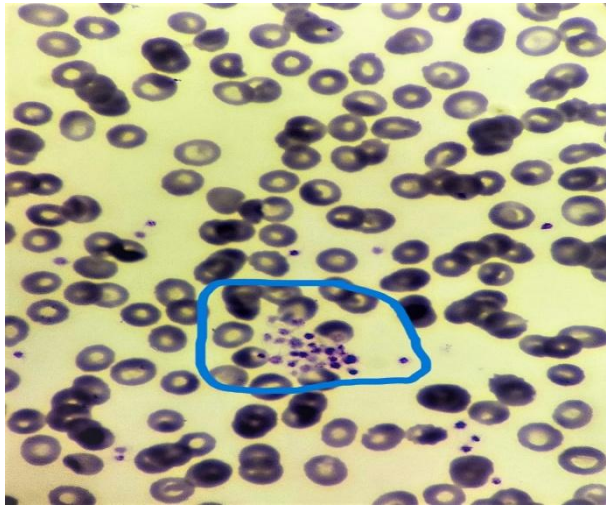
Gambar FN mikroskop (FN 18)

• Kelainan morfologi:

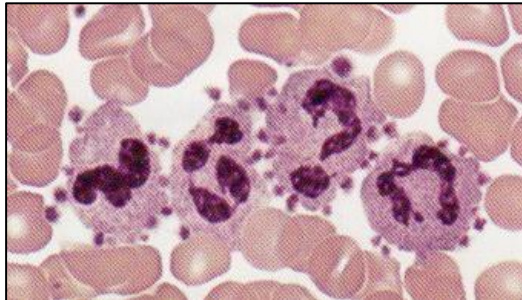
1. ***Giant platelet*** adalah ukuran thrombosit yang membesar dan mendekati ukuran eritrosit (lihat panah pada gambar di bawah ini)



2. **Gumpalan trombosit/ *clumping*** trombosit yaitu trombosit yang bergerombol, biasanya timbul akibat terlambat mencampur dengan EDTA. Hati-hati dapat menyebabkan trombositopenia palsu.



3. ***Platelet satellitism*** adalah trombosit yang mengelilingi/melekat pada netrofil. Dapat menyebabkan trombositopenia palsu.



LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

BAB IV HEMOPOIESIS

BAB V

ALAT HITUNG SEL DARAH OTOMATIK (HEMATOANALYZER)

Sebelum dekade 1950-an, pemeriksaan hematologi dilaksanakan secara manual misal:

- sentrifus dipakai untuk mengukur hematokrit
- spektrofotometer untuk mengukur hemoglobin
- kamar hitung □ untuk menghitung eritrosit, lekosit, dan trombosit
- hapusan darah tepi untuk hitung jenis

Pertengahan dekade 1960-an, *Coulter Electronics* menemukan metode penghitungan otomatis. Alat hitung otomatis mempunyai akurasi, presisi yang lebih baik serta lebih cepat dibanding dengan cara manual.

1. *Electrical*

- *electrical impedance*
- *electrical capacitance*

2. *Optical*

- *flow cytometry method*
- *ensemble method*
- *automatic microscopy*

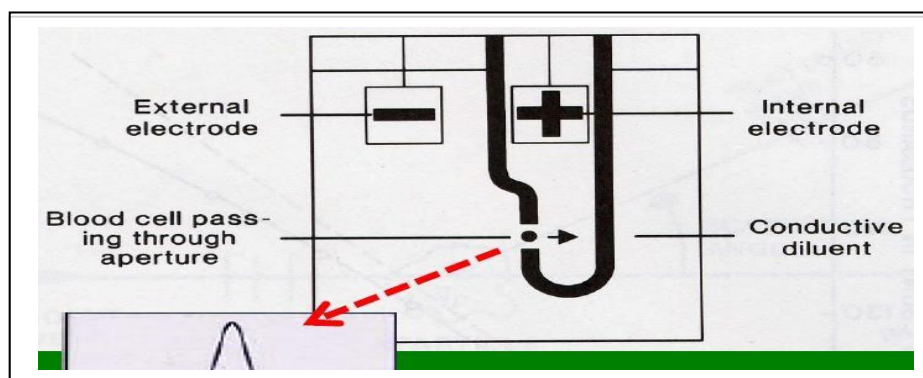
Saat ini yang banyak digunakan adalah metode *electrical impedance*, *flow cytometry*, atau gabungan kedua metode tersebut.

METODE ELECTRICAL IMPEDANCE

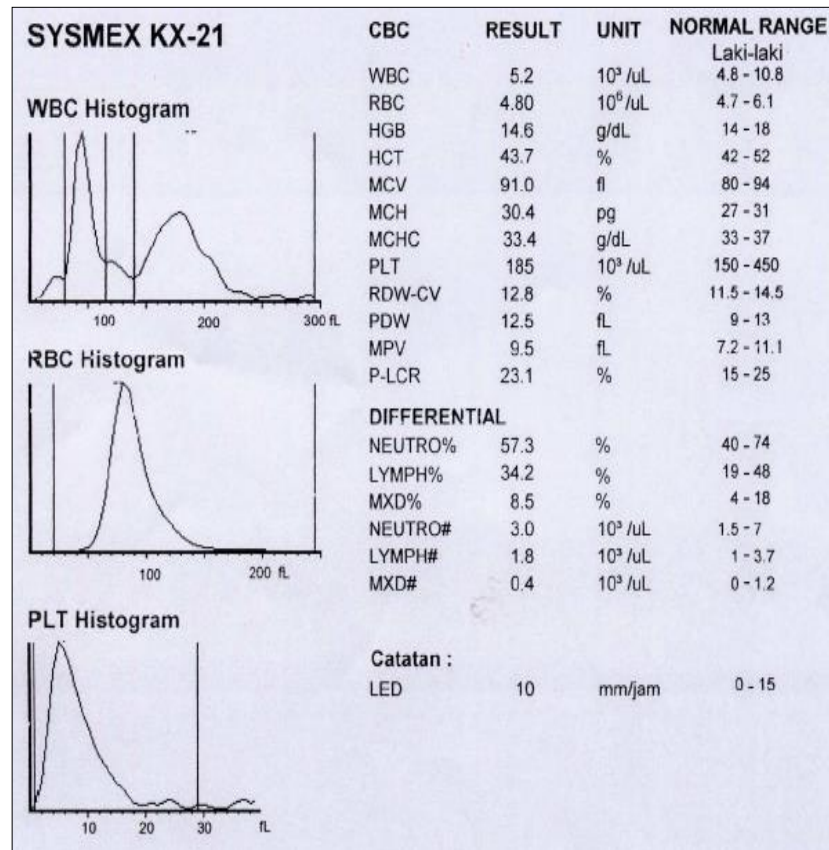
Prinsip: larutan sel darah dialirkan melalui aperture yang punya 2 elektroda pada keduasisinya, sehingga sel dalam larutan yang bersifat konduktor akan memberikan pulsa resistensi saat melalui aperture tersebut, sehingga interpretasinya adalah: jumlah puls

= jumlah sel yg lewat aperture; tinggi puls = volume sel.

Setiap puls yg terjadi identik dengan 1 sel, lebarnya pulsa menunjukkan besarnya sel. Metode ini hanya dapat ditentukan 3 macam jenis lekosit (*diff count*) yaitu netrofil, limfosit, dan *mixed* (monosit, basophil, eosinophil).



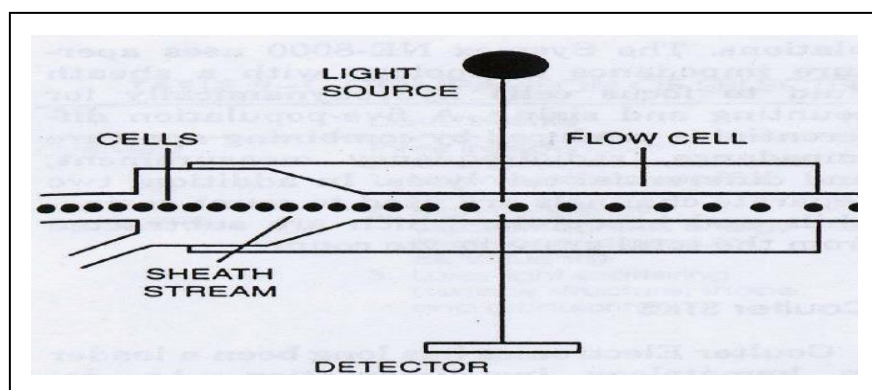
Metode *electrical impedance*



Contoh hasil *hematoanalyzer impedance*

METODE SITOMETRI-ARUS (*FLOWCYTOMETRY*)

Prinsip: sel dalam larutan darah dialirkan melalui *flow-cell* yang diberi sinar sehingga sinar tersebut akan dipendarkan oleh sel dan pendaran sinarnya ditangkap oleh efektor tertentu yang akan membaca ukuran sel, kepadatan sel (inti maupun granula didalamnya).

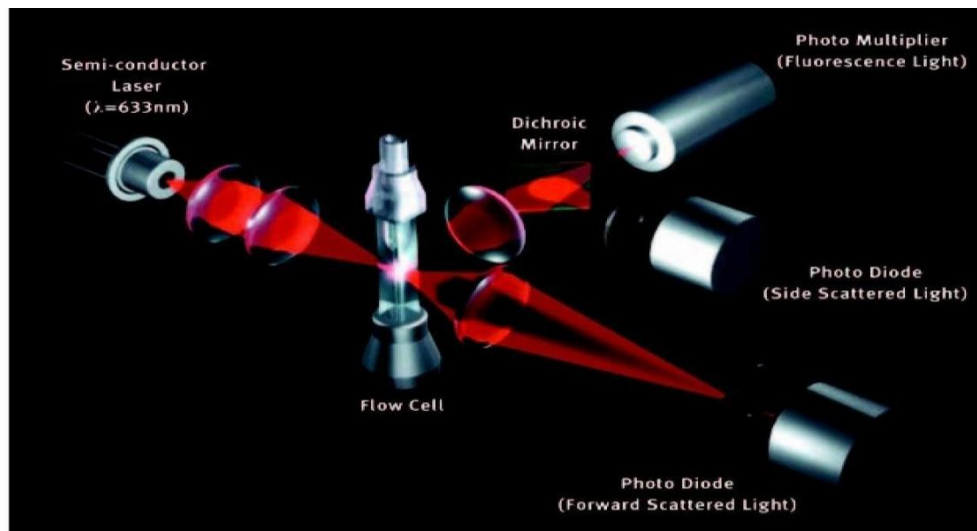


Metode *flowcytometry*

Dengan metode ini, kita dapat menentukan 5 jenis leukosit (*diffcount*) yaitu neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit. Kelemahannya belum mampu membedakan netrofil segmen dengan netrofil batang

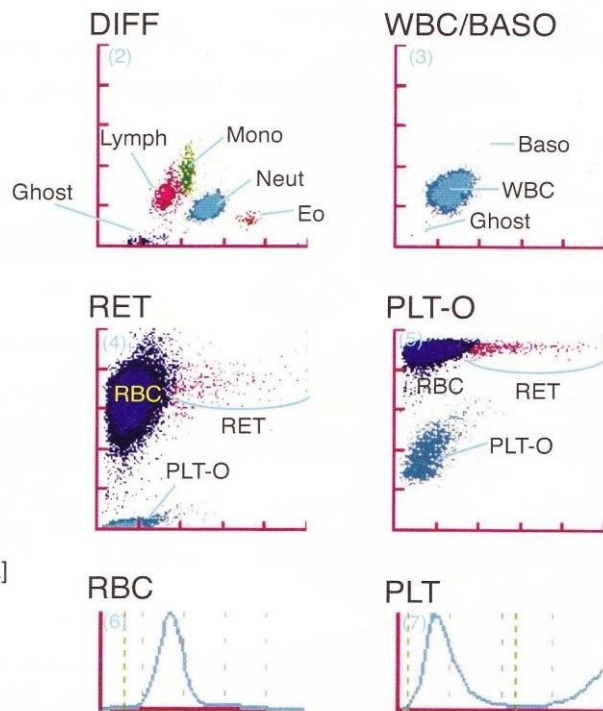
Hematoanalyzer terkini telah menggunakan penggabungan metode otomatis. Pada metode gabungan sel yang lewat disinari dengan laser semikonduktor pada panjang gelombang tertentu dengan pewarnaan *polymethine*.

- sinar *forward scatter* ditunjukkan mengukur ukuran sel
- sinar *side scatter* ditunjukkan untuk kompleksitas sel (inti dan granula sitoplasma)
- *side fluorescence* ditunjukkan untuk jumlah DNA & RNA (maturitas)



Ilustrasi metode gabungan *hematoanalyzer*

(1)			
WBC	7.25	[10 ⁹ /L]	
RBC	3.97	[10 ¹² /L]	
HGB	115	[g/L]	
HCT	32.4	[%]	
MCV	81.6	[fL]	
MCH	29.0	[pg]	
MCHC	355	[g/L]	
PLT	271	[10 ⁹ /L]	
RDW-SD	52.3	[fL]	
RDW-CV	17.0	[%]	
PDW	10.1	[fL]	
MPV	9.2	[fL]	
P-LCR	19.0	[%]	
PCT	0.25	[%]	
NEUT	5.65	[10 ⁹ /L]	78.1 [%]
LYMPH	1.04	[10 ⁹ /L]	14.3 [%]
MONO	0.46	[10 ⁹ /L]	6.3 [%]
EO	0.09	[10 ⁹ /L]	1.2 [%]
BASO	0.01	[10 ⁹ /L]	0.1 [%]
RET	1.36	[%]	54.0 [10 ⁹ /L]
IRF	12.3	[%]	
LFR	87.7	[%]	
MFR	11.2	[%]	
HFR	1.1	[%]	



(8) WBC IP Message(s)

(9) RBC/RET IP Message(s)

(10) PLT IP Message(s)

(1) Analysis data (2) DIFF scattergram (3) WBC/BASO scattergram (4) RET scattergram (5) PLT-O scattergram (6) RBC histogram (7) PLT histogram (8) WBC system IP message (9) RBC/RET system IP message (10) PLT system IP message

Contoh hasil pemeriksaan metode gabungan

LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

BAB VI

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI PADA HEMOSTASIS

Hemostasis adalah proses fisiologis untuk menghentikan atau mencegah suatu perdarahan. Koagulasi adalah proses pembekuan darah atau proses menghentikan perdarahan pada suatu perlukaan dan mencegah embekuan darah pada pembuluh darah yang intak. Istilah hemostasis sering disamakan dengan koagulasi.

Hemostasis merupakan proses yang sangat kompleks. Hemostasis tidak hanya menghentikan/mencegah perdarahan tetapi juga adanya proses keseimbangan untuk mempertahankan supaya darah tetap cair melalui proses fibrinolisis.

Jadi hemostasis merupakan mekanisme fisiologis tubuh untuk :

- Menghentikan perdarahan (spontan atau traumatis)
- Mempertahankan “*fluiditas*” darah dalam pembuluh darah

Ada 3 faktor berpengaruh terhadap hemostasis:

1. Pembuluh darah
2. Trombosit
3. Faktor koagulasi

Ketiga faktor ini saling berkaitan dan tidak dapat dipisahkan.

Pemeriksaan laboratorium hemostasis terdiri dari:

1. Pemeriksaan penyaring hemostasis
2. Pemeriksaan laboratorium lanjutan / khusus

Pemeriksaan penyaring hemostasis terdiri dari:

1. Tes penyaring untuk kelainan vaskuler dan trombosit
2. Tes penyaring untuk kelainan koagulasi & fibrinolisis

Uji penyaring hemostasis adalah:

1. Masa perdarahan (*bleeding time*)
2. Tes Rumple leede/tes pembendungan (*tourniquet test*)
3. Hitung jumlah trombosit (*platelet count*)
4. Masa pembekuan (*clotting time*)
5. Retraksi bekuan
6. *Prothrombin time* (PT)
7. *Activated partial thromboplastin time* (APTT)
8. *Thrombin time* (TT)
9. *Screening for F XIII*

A. MASA PERDARAHAN

Adalah pemeriksaan untuk mengukur waktu untuk menghentikan perdarahan pada pembuluh darah kecil dengan perlukaan yang terstandarisasi. Ketelitian kurang.

Tujuan memeriksa masa perdarahan adalah menilai integritas pembuluh darah dan trombosit (dipengaruhi oleh jumlah dan fungsi trombosit).

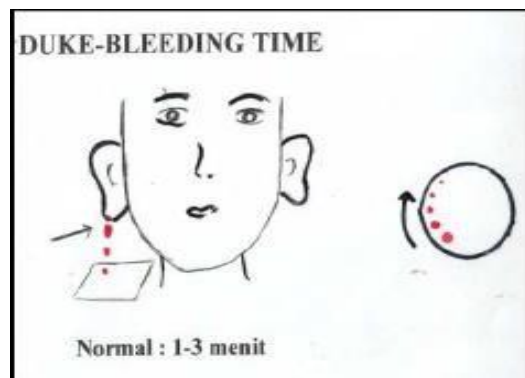
Hal yang ikut mempengaruhi: ketebalan kulit, elastisitas pembuluh darah saat berkontraksi. Tidak untuk menilai faktor koagulasi.

Pemeriksaan masa perdarahan:

1. Cara Duke
2. Cara Ivy

Cara Duke

1. Bersihkan anak daun telinga dengan alkohol 70% dan biarkan kering.
2. Tusuklah pinggir anak daun telinga itu dengan lanset sedalam 2 mm.
3. Jika terlihat darah mulai keluar jalankan *stopwatch*.
4. Isaplah tetes darah yang keluar dengan kertas saring setiap 30 detik. Hati-hati jangan sampai menekan kulit pada waktu mengisap darah (dapat merusak sumbat trombosit).
5. Hentikan *stopwatch* pada waktu darah tidak dapat diisap lagi dan catatlah waktunya.
6. Masa perdarahan normal cara Duke: 1-3 menit

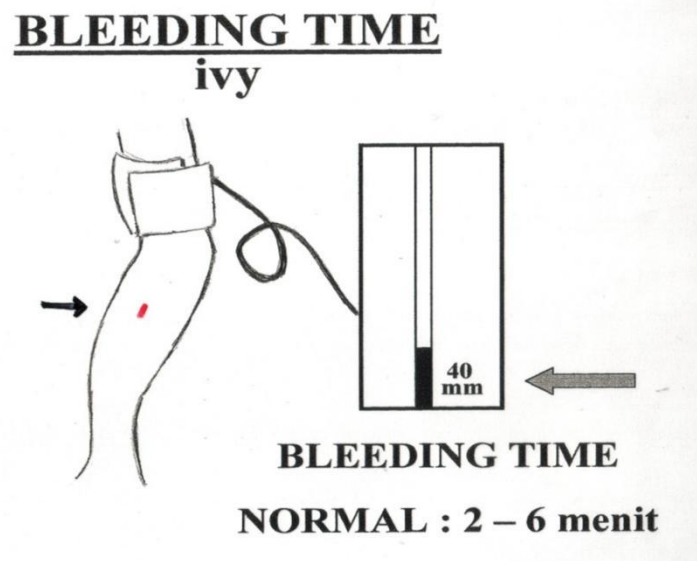


Masa perdarahan cara Duke

Cara Ivy

1. Bersihkanlah bagian volar lengan bawah dengan alkohol 70% dan biarkan.
2. Kenakan ikatan sfigmomanometer pada lengan atas dan pompalah sampai tekanan 40 mm Hg dan dipertahankan dengan mengunci sfigmomanometer.
3. Tegangkanlah kulit lengan bawah dengan sebelah tangan dan tusuklah dengan lanset darah pada satu tempat kira-kira 3 jari di bawah lipat siku sampai 3 mm dalamnya. Perhatikan jangan di daerah yang ada pembuluh darahnya.
4. Jika terlihat darah mulai keluar jalankan *stopwatch*.
5. Isaplah tetes darah yang keluar dengan kertas saring setiap 30 detik. Hati-hati jangan sampai menekan kulit pada waktu mengisap darah (dapat merusak sumbat trombosit).

6. Hentikan *stopwatch* pada waktu darah tidak dapat diisap lagi dan catatlah waktu itu.
7. Masa perdarahan normal cara Ivy: 1-6 menit



Masa perdarahan cara Ivy

Masa perdarahan memanjang dapat ditemukan pada keadaan:

- Trombositopenia (biasanya jumlah trombosit $<50.000/uL$). Bila jumlah trombositopenia berat $<10.000/uL$ dipastikan masa perdarahan memanjang → tidak dianjurkan melakukan pemeriksaan).
- Kelainan fungsi trombosit (akibat obat: aspirin, anti inflamasi, keadaan uremia, kelainan mieloproliferatif, DIC).
- Penyakit *von Willebrand*
- Penyakit Glandzmann trombastenia
- Penyakit Bernard soulier
- Afibrinogenemia (masa perdarahan memanjang ringan)

B. UJI BENDUNG/TES RUMPLE LEEDE/TOURNIQUET

Percobaan ini bertujuan untuk menilai fragilitas (ketahanan) kapiler setelah dilakukan pembendungan pada vena dan kapiler. Kapiler yang terbebundung akan menyebabkan darah menembus dinding kapiler dan masuk ke jaringan sekitarnya, menimbulkan *ptechiae* (salah satu fungsi trombosit adalah mempertahankan integritas kapiler). Uji pembendungan/RL dipengaruhi oleh jumlah dan fungsi trombosit.

Prosedur uji bendung:

1. Periksa terlebih dahulu lengan bawah, tangan, dan jari untuk meyakinkan bahwa tidak ada *ptechiae*. Jika ada *ptechiae* spontan, pemeriksaan tidak usah dilakukan.
2. Buatlah lingkaran dengan diameter 5 cm kira-kira 4 cm dari distal fosa kubiti.
3. Pasanglah ikatan sfigmomanometer pada lengan atas. Pompalah manset sampai tekanan 100 mmHg. Jika tekanan sistolik kurang dari 100 mmHg, pompalah sampai tekanan di tengah nilai sistolik dan diastolik.
4. Pertahankan dalam tekanan tersebut selama 5 - 10 menit dengan cara mengunci tensimeter.
5. Lepaskan bendungan dan tunggu sampai statis dari pembuluh darah hilang (warna

kulit pada lengan yang dibendung menjadi normal).

6. Lihatlah *ptechiae* pada lingkaran tersebut juga pada lengan bawah dan sekitar jari setelah 5-10 menit. Positif bila ada 5 petichae atau lebih.



Pemeriksaan *Rumple Leede*

C. MASA PEMBEKUAN (*CLOTTING TIME*)

Pemeriksaan ini menunjukkan lamanya waktu yang diperlukan bagi darah untuk membeku. Tujuan pemeriksaan ini adalah: menilai faktor pembekuan jalur instrinsik sekaligus memantau penggunaan heparin.

Jika masa pembekuan abnormal menunjukkan ada gangguan satu/lebih factor pembekuan jalur instrinsik. Pemeriksaan ini kurang sensitif karena hasil abnormal baru terjadi pada keadaan defisiensi faktor pembekuan berat.

Prosedur masa pembekuan cara tabung (*Lee dan White*):

1. Sediakan 4 tabung berdiameter 7 - 8 mm. Susun dalam rak tabung.
2. Lakukanlah pungsi vena dengan semprit berukuran 10 ml. Pada saat darah kelihatan masuk ke dalam semprit jalankan *stopwatch*. Isaplah 5 ml darah.
3. Cabut jarum dari semprit dan alirkanlah secara perlahan sebanyak 1 ml darah ke dalam tiap tabung. Tabung dimiringkan pada waktu diisi darah.
4. Setelah semua tabung terisi, tiap 30 detik tabung pertama diangkat dari rak dan dimiringkan untuk melihat apakah telah terjadi pembekuan. Ingat, hanya tabung pertama. Tabung lain jangan sampai tergoyang.
5. Setelah darah dalam tabung pertama beku, catat waktu (lamanya) tabung pertama membeku. Kemudian periksalah tabung kedua tiap 30 detik. Perlakukan sama seperti tabung 1. Catat juga waktunya.
6. Tindakan yang sama dilakukan berurutan terhadap tabung ketiga dan keempat. Catatlah juga waktunya.
7. Masa pembekuan darah itu ialah rerata masa pembekuan dari tabung kedua, ketiga dan keempat. Masa pembekuan itu dilaporkan dengan dibulatkan sampai $\frac{1}{2}$ menit.

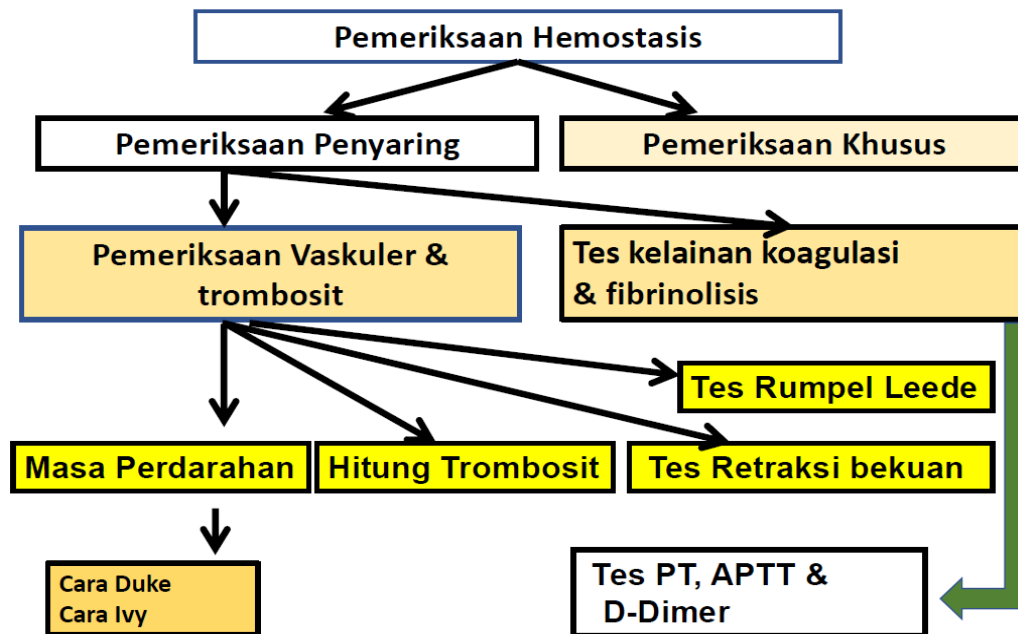
Nilai normal masa pembekuan Lee and White: 9-15 menit.

Masa pembekuan yang melebihi 20 menit dianggap pasti abnormal.

Hal yang dapat mempengaruhi masa pembekuan adalah:

- Diameter tabung turut mempengaruhi. Makin besar diameter tabung, makin panjang masa pembekuan.
- Adanya gelembung udara akan menghambat pembekuan sehingga masa pembekuan memanjang

- Teknik punksi yang buruk dapat menyebabkan hemolisis atau menyebabkan rangsangan pada tromboplastin jaringan sehingga mempercepat proses pembekuan → masa pembekuan memendek.
- Menggoyang tabung yang tidak diperiksa atau keadaan tabung yang kotor akan menyebabkan masa pembekuan memendek.



LAPORAN PRAKTIKUM

LAPORAN PRAKTIKUM

BAB VII

GOLONGAN DARAH

The International Society of Blood Transfusion (ISBT) pada menyebutkan ada 285 antigen golda (golongan darah) dan diklasifikasikan dalm 29 sistem golda, dan dari 29 golda, sistem golda “ABO” dan “Rhesus” (Rh) dianggap paling bermakna.

Golongan darah dapat diketahui dengan menentukan Antigen dan Antibodi darah. Antigen (Ag) terdapat pada permukaan sel darah merah, sedangkan antibodi (Ab) terdapat dalam plasma atau serum.

GOLONGAN DARAH ABO

Ditemukan pertama kali oleh Karl Landsteiner. Pada tahun 1901: ditemukan A, B, dan O, dan 1902: A, B, O dan AB. Antigen pada golda ABO disebut Aglutinogen. Ada 3 jenis Aglutinogen: H, A dan B, semuanya terdapat di permukaan eritrosit. Ke-3 jenis Aglutinogen ini menghasilkan 4 fenotip golda: A,B, AB dan O.

Aglutinası adalah peristiwa terjadinya agregasi akibat interaksi antara antigen yang tidak larut (aglutinogen) dengan antibodi (aglutinin).

Dasar: Reaksi hemagglutinası antara Ag-Ab.

Tipe pemeriksaan golongan darah:

- *Test ABO metode forward*
- *Serum grouping/reverse grouping*

A. TES ABO METODE FORWARD

Yaitu penentuan golda ABO berdasarkan antigen pada eritrosit.

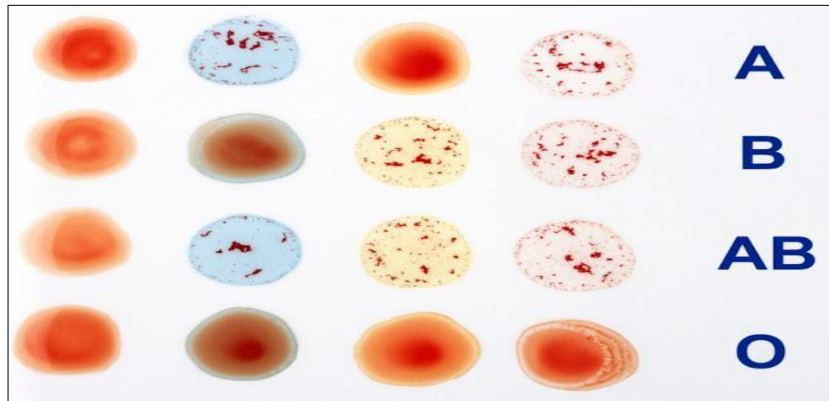
Dasar: Aglutinası akan terjadi bila Ag pada permukaan eritrosit bereaksi dengan antisera yang mengandung IgM.

Alat dan Bahan:

1. Gelas Objek
2. Darah yang akan diperiksa
3. Reagen Anti A,B, dan AB
4. Pengaduk

Prosedur kerja:

- Gelas obyek diberi tanda A, B, dan O
- Ambil reagen anti A,B dan AB dan teteskan pada tempat yang sudah ditentukan masing-masing 1 tetes
- Ambil darah atau darah yg telah dicuci dengan larutan garam fisiologis, teteskan masing-masing 1 tetes disamping reagen anti ABO.
- Campur dengan pengaduk
- Lihat aglutinası yang terbentuk



The ABO Blood System				
Blood Type (genotype)	Type A (AA, AO)	Type B (BB, BO)	Type AB (AB)	Type O (OO)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 A agglutinogens only	 B agglutinogens only	 A and B agglutinogens	 No agglutinogens
Plasma Antibodies (phenotype)	 b agglutinin only	 a agglutinin only	NONE No agglutinin	 a and b agglutinin

Ilustrasi reaksi Ag-Ab pada golongan darah

B. SERUM GROUPING/REVERSE GROUPING/BACK TYPING

Dasar menentukan golongan darah ABO berdasarkan antibodi (Ab) dalam serum/plasma. Bila ditemukan Ab dalam serum, aglutinasi akan terjadi ketika Ab bereaksi dengan Ag pada eritrosit.

Catatan: immunoglobulin pada bayi masih rendah, sehingga pemeriksaan golongan darah metode *reserve* tidak dilakukan.

Bahan yang diperiksa: Plasma / serum

Alat :

- Tabung
- Pipet pasteur
- Gelas obyek
- Centrifuge
- Mikroskop

Reagen:

1. Suspensi sel A 3%
2. Suspensi sel B 3%

Prosedur kerja:

1. Taruhlah disebelah kiri dan kanan masing-masing 1 tetes serum yang diperiksa, tambahkan suspensi ery B 3% disebelah kiri dan suspensi sel eritrosit 3% disebelah kanan.
2. Campur dengan ujung lidi dan goyangkan kaca secara melingkar.
3. Perhatikan adanya aglutinasi dalam 2-3 menit secara makroskopik.
4. Pastikan secara mikroskopik.

Tabel 1. Interpretasi Pemeriksaan Golongan darah metode *reverse*

Sel	A	B	O
Gol. A	-	+	-
Gol. B	+	-	-
Gol. AB	-	-	-
Gol. O	+	+	-
Gol. Oh	+	+	+

GOLONGAN RHESUS (RH)

Sistem Rh memiliki 45 Ag, namun hanya 5 Ag yg bermakna secara klinis, yang oleh Fisher Race menyebutkan sebagai Ag D, C, E, c, e. Diantara ke – 5 Ag ini, Ag D yang terpenting karena memiliki imunogenitas tertinggi. Rh positif bila pd permukaan eritrosit didapatkan Ag-D.

Prinsip: Golongan darah Rhesus positif memperlihatkan aglutinasi antara Ag D pada permukaan eritrosit dan serum Anti D monoclonal (IgG dan IgM) yang terkandung dalam reagen.

Alat dan Bahan

1. Gelas Slide
2. Mikroskop
3. Darah (25-40%) yang akan diperiksa dan telah di cuci
4. Bovine albumin 22%
5. Reagen Anti D
6. Pengaduk

Prosedur metode slide Rhesus:

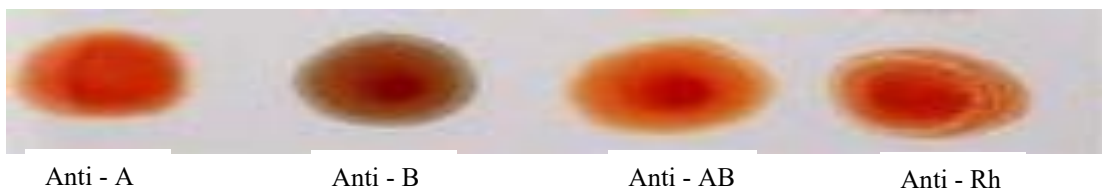
- a. 1 tts anti D + 1 tetes darah yg telah dicuci dengan NaCl fisiologis (25-40%)
- b. Pada tempat lain teteskan juga 1 tetes *Bovine albumin* 22% sebagai kontrol
- c. Diaduk hingga rata, baca dalam 2 menit, bila perlu diperiksa dengan mikroskop.
- d. Suhu optimal reaksi pada suhu 37°C

Aglutinası	Interpretasi	Kontrol
(+)	Rh D +	(-)
(-)	<i>Rh D (-) atau D weak</i>	(-)
+ atau -	<i>Rh D (+) atau D (-)</i>	(+)→ invalid ulang pemeriksaan

Apabila hasil pemeriksaan menunjukkan Rh D negative atau *weak* maka penentuan Rhesus harus dilanjutkan dengan Pemeriksaan Faktor D^u.



Golongan darah AB, Rhesus positif



Anti - A

Anti - B

Anti - AB

Anti - Rh

Golongan darah O, Rhesus negatif

LAPORAN PRAKTIKUM

DAFTAR PUSTAKA

1. Buku Materi Pembelajaran Blok 14 Hematologi, Patologi Klinik FK UKI 2025
2. Wintrobe's (1998), Clinical Hematology, Tenth edition, Baltimore Maryland, Williamand Wilkins
3. Hillman (2005), Hematology in clinical practice, fourth edition, MC Graw Hill,
4. Bishop ML (2005), Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations, fifth edition, Salt Lake Utah; Lippincott William & Wilkins
5. Desal (2000), Clinician's Guide to Laboratory Medicine, LEXI-COMP INC Houston,
6. Brecher (2005), Technical Manual, aabb, fifteenth edition, Maryland, USA
7. Dalimunthe (2011), Dasar-Dasar Transfusi, Patologi Klinik FK Padjadjaran, Bandung
8. Gandasoebrata R (2016), Penuntun Praktikum Laboratorium Klinik, Edisi 13, Jakarta, Dian Rakyat.
9. Chernecky CC (2004), Laboratory Tests and Diagnostic Procedures, Saunders Elsevier, ST. Louis Missouri
10. Hemoglobin, Medical Author: Melissa Conrad Stöppler, MD, <https://www.medicinenet.com/hemoglobin/article.htm>, 2024