

MODUL PRAKTIKUM HEMATOLOGI

**BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK**

DISUSUN OLEH :

TUTY YUNIARTY, S.SI., M.KES

TRI DYAH ASTUTI, S.ST., M.KES

SISKA ZAFRIDA, S.TR.AK, M.KES

ARDIYA GARINI SKM., M.KES

RANTI DWI ASTRIANI, S.ST., M.BIOMED

TITIK SUNDARI, SKM., M.SI

RINNY ARDINA, S.ST., M.SI

DR. BETTY NURHAYATI, M.SI

HIERONYMUS RAYI P, SST, M.SI

DR. ARINA NOVILLA, S.PD., M.SI



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)
2024**

MODUL PRAKTIKUM HEMATOLOGI

BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK

Tuty Yuniarty, S.Si., M.Kes
Tri Dyah Astuti, S.ST., M.Kes
Siska Zafrida, S.Tr.AK, M.Kes
Ardiya Garini SKM., M.Kes
Ranti Dwi Astriani, S.ST., M.Biomed
Titik Sundari, SKM., M.Si
Rinny Ardina, S.ST., M.Si
Dr. Betty Nurhayati, M.Si
Hieronymus Rayi P, SST, M.Si
Dr. Arina Novilla, S.Pd., M.Si
Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med (Reviewer)



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA
(AIPTLMI)**

Judul Buku:

MODUL PRAKTIKUM HEMATOLOGI

Penulis:

Tuty Yuniarty, S.Si.,M.Kes

Tri Dyah Astuti, S.ST., M.Kes

Siska Zafrida, M.Kes

Ardiya Garini SKM., M.Kes

Ranti Dwi Astriani, S.ST., M.Biomed

Titik Sundari, SKM., M.Si

Rinny Ardina, S.ST., M.Si

Dr. Betty Nurhayati, M.Si

Dr. Arina Novilla, S.Pd., M.Si

Hieronimus Rayi P, SST, M.Si

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med (Reviewer)

KATA PENGANTAR



Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga Modul Praktikum Hematologi dapat diselesaikan. Hematologi adalah salah satu cabang ilmu yang mempelajari darah dan segala komponen serta fungsinya. Modul ini dirancang untuk memberikan pemahaman dasar tentang hematologi serta memperkenalkan Anda pada teknik-teknik laboratorium yang digunakan dalam analisis hematologi.

Dalam praktikum hematologi dasar, Anda akan mempelajari komponen-komponen utama dalam darah, seperti eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit. juga akan memahami fungsi-fungsi penting dari masing-masing komponen ini dalam menjaga kesehatan tubuh. Selain itu, akan diperkenalkan pada teknik-teknik laboratorium yang digunakan untuk menganalisis sampel darah, seperti pengamatan mikroskopis pada sel darah, penghitungan sel darah merah, dan sel darah putih. Hal ini akan membantu memahami cara kerja laboratorium dalam mendiagnosis berbagai kondisi hematologi. Kami berharap modul praktikum hematologi dasar ini dapat memberikan landasan yang kuat dalam pemahaman tentang hematologi dan memberikan wawasan praktis dalam melakukan analisis hematologi dasar.

Saya selaku ketua AIPTLMI ijinilah mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada para dosen TLM seluruh Indonesia yang berkontribusi dalam memberikan masukan, tim kelompok kerja, dan pihak-pihak yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah berjuang dengan segala daya dan upaya, berkorban waktu, tenaga dan pikiran hingga tersusunnya modul ini.

Semoga Modul Praktikum Hematologi ini bisa berguna untuk membantu dalam proses penyelenggaraan pendidikan Teknologi Laboratorium Medis yang bermutu. Masukan dan saran tentu sangat diperlukan sebagai evaluasi dan perbaikan untuk penyesuaian sesuai kebutuhan di masa yang akan datang.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Jakarta, Agustus 2024
Ketua Umum AIPTLMI

Prof Dr. Budi Santoso, M.Si.Med



DAFTAR ISI

Prakata	i
Daftar isi	ii
Daftar Gambar	iv
Daftar Tabel	v
Modul 1	
Konsep Dasar Hematologi 1	1
Modul 2	
Pengambilan Darah (flebotomi)	13
Modul 3	
Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan Hematologi	44
Kegiatan Belajar 1	
Anti Pembeku Darah (Antikoagulan)	53
Kegiatan Belajar 2	
Hemositometer	61
Modul 4	
Pemeriksaan Hematologi Rutin	72
Kegiatan Belajar 1	
Hemoglobin	80
Kegiatan Belajar 2	
Laju Endap Darah	96
Kegiatan Belajar 3	
Leukosit	112
Kegiatan Belajar 4	
Hitung Jenis Leukosit	125
Modul 5	
Pemeriksaan Hematologi Atas Indikasi	141
Kegiatan Belajar 1	

Eritrosit	152
Kegiatan Belajar 2	
Eosinofil	164
Kegiatan Belajar 3	
Retikulosit	179
Kegiatan Belajar 4	
Hematokrit	194
Kegiatan Belajar 5	
Fragilitas Osmotik	212
Modul 6	
Penentuan Jenis-Jenis Anemia	229
Kegiatan Belajar 1	
Indeks Eritrosit	257
Modul 7	
Pemeriksaan Darah Menggunakan Alat Hematology Analyzer	277
Daftar Pustaka	



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis Tabung Vakum dan Fungsinya	23
Tabel 10.1 Jenis dan Ciri-ciri Leukosit	131
Tabel 16.1 Pengenceran Bertingkat Larutan NaCl	215
Tabel 16.2 Contoh Pemeriksaan Fragilitas Osmotik	216
Tabel 16.3 Persen (%) Hemolisis Normal	216



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Pembuluh Darah Arteri	15
Gambar 2.2 Struktur Kapiler	15
Gambar 2.3 Struktur Pembuluh Darah Vena	16
Gambar 2.4 Vena <i>fossa antecubital</i> di lengan kanan	16
Gambar 2.5 Sarung Tangan Lateks	17
Gambar 2.6 Tahapan Melepaskan Sarung Tangan	18
Gambar 2.7 Swab alkohol	18
Gambar 2.8 Plester	19
Gambar 2.9 Bagian Sput	20
Gambar 2.10 Bagian Jarum	20
Gambar 2.11 Jarum Untuk Sput	21
Gambar 2.12 Jarum <i>Vacutainer</i>	21
Gambar 2.13 Jarum <i>Butterfly / Wing Needle</i>	21
Gambar 2.14 Holder	22
Gambar 2.15 Jenis Wadah Pembuangan Jarum	24
Gambar 2.16 Baki Flebotomi	25
Gambar 2.17 Pungsi Vena Sistem Tertutup/Vakum	29
Gambar 2.18 Pungsi Vena Sistem Terbuka/Sput	30
Gambar 2.19 Imobilisasi Pasien Anak dan Bayi	31
Gambar 2.20 Lokasi pengambilan kapiler, A. Tumit B. Jari	32
Gambar 2.21 Peralatan Pengambilan Darah Kapiler	33
Gambar 2.22 Pengambilan Darah Kapiler Pada Bayi	34
Gambar 2.23 Terjadinya Hematoma	35
Gambar 3.1 Haematology Analyzer	45
Gambar 3.2 Fotometer	45
Gambar 3.3 Mikroskop	46
Gambar 3.4 Hemoglobinometer	47

Gambar 3.5	Bilik Hitung Improved Neubauer	47
Gambar 5.1	Kamar Hitung	62
Gambar 7.1	Prosedur Pemeriksaan Metode Kuprisulfat	83
Gambar 7.2	Booklet Tallquist	85
Gambar 8.1	Pemeriksaan Laju Endap Darah	97
Gambar 8.2	Caretium XC-A30	100
Gambar 8.3	Pemeriksaan LED Metode Westergren	101
Gambar 8.4	Pemereksiaan LED metode Wintrobe	101
Gambar 9.1	Bilik Hitung Improved Neubauer	116
Gambar 9.2	Aturan Menghitung Leukosit	116
Gambar 10.1	Cara Membuat Apusan Darah Tipis	128
Gambar 10.2	Kualitas Sediaan Apus Darah	129
Gambar 10.3	Zona Morfologi Pemeriksaan SAD	130
Gambar 10.4	Zona Penilaian dan Arah Pergeseran SAD	130
Gambar 10.5	<i>Differential counter</i>	131
Gambar 10.6	Sediaan Darah	133
Gambar 11.1	Sel Eritrosit Mikrositik Hipokrom	143
Gambar 11.2	Sel eritrosit Normositik Normokrom	144
Gambar 11.3	Sel Eritrosit Makrositik Normokrom	144
Gambar 11.4	Retikulosit	145
Gambar 11.5	Sel Eosinofil	146
Gambar 12.1	Hitung Jumlah Eritrosit	155
Gambar 13.1	Bilik Hitung Improved Neubauer	168
Gambar 13.2	Aturan Menghitung Sel Eosinofil	169
Gambar 13.3	Bilik hitung Fuch Rosenthal	169
Gambar 13.4	Aturan Menghitung Sel Eosinofil	170
Gambar 14.1	Retikulosit (tanda panah) pada sediaan basah dengan zat warna supra vital <i>New Methylene Blue</i>	183
Gambar 14.2	Retikulosit (tanda panah) pada sediaan kering dengan zat warna supra vital (A) <i>Briliant Cresyl Blue</i> dan (B) <i>New Methylene Blue</i>	184
Gambar 14.3	Retikulosit yang diwarnai zat warna NMB 1%, (b) Retikulosit yang diwarnai zat warna BCB 1%, (C) Badan Heinz	185
Gambar 14.4	Pewarna new methylene blue : (A) Retikulosit (B) Badan Inklusi HbH (C) Badan Heinz	186
Gambar 14.5	Pewarna Brilliant Cresyl Blue : (A) Badan Heinz (B) Retikulosit	186
Gambar 15.1	Komponen Darah Akan Terpisah Setelah Dilakukan Sentrifugasi	196
Gambar 15.2	Tabung Mikrohematokrit	197
Gambar 15.3	Malam/ <i>clay/creatoseal</i>	198
Gambar 15.4	Sentrifuge Mikrohematokrit	198
Gambar 15.5	Mikrohematokrit reader	198
Gambar 15.6	Tabung Wintrobe	199

Gambar 15.7 Sentrifuge	199
Gambar 15.8 Proses Pemeriksaan Mikrohematokrit	200
Gambar 15.9 Pembacaan Skala Mikrohematokrit	200
Gambar 15.10 Pembacaan Nilai Hematokrit Pada Pipa Kapiler	202
Gambar 15.11 Pembacaan Nilai Hematokrit Pada Tabung Wintrobe	202
Gambar 16.1 Berbagai Macam Keadaan Osmotik Eritrosit	213
Gambar 16.2 Kurva Pemeriksaan Fragilitas Osmotik	218
Gambar 17.1 Makrositik (MCV > 100 fL)	230
Gambar 17.2 Normositik Normokromik	230
Gambar 17.3 Mikrositik Hipokromik	231
Gambar 17.4 Diagram Skematis Instrumen <i>Hematology Analyzer</i>	233
Gambar 17.5 Persiapan Spesimen Untuk Instrumen Semi Otomatis	233
Gambar 17.6 Prinsip Hamburan Cahaya Optik atau <i>Flow Cytometry</i>	235
Gambar 18.1 Perbandingan Ukuran dan Warna Eritrosit	258
Gambar 19.1 Diagram Skematis Instrumen <i>Hematology Analyzer</i>	280
Gambar 19.2 Persiapan Spesimen Untuk Instrumen Semi Otomatis	280
Gambar 19.3 Prinsip Hamburan Cahaya Optik atau <i>Flow Cytometry</i>	281

BAB I

KONSEP DASAR HEMATOLOGI



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami ruang lingkup pemeriksaan hematologi
2. Mahasiswa mampu memahami tujuan pemeriksaan hematologi
3. Mahasiswa mampu memahami jenis pemeriksaan hematologi



PENDAHULUAN

Ilmu laboratorium klinik merupakan ilmu dasar (*basic science*) yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium klinik, perannya penting dalam penegakan diagnosis, skrining, pemeriksaan lanjutan (*Follow up*) dan prognosis suatu penyakit. Pemeriksaan spesimen dalam laboratorium klinik terdiri dari pemeriksaan hematologi, kimia klinik, mikrobiologi klinik, parasitologi klinik dan imunologi klinik (Kosasih, 2008)(Dosen, 2019).

Pengertian Hematologi

Kata hematologi berasal dari bahasa Yunani *haima* (berarti darah) dan *logos* (berarti ilmu), ilmu tentang hematologi adalah ilmu tentang darah. Hematologi mempelajari keadaan fisiologik maupun patologik baik dalam ilmu kedokteran dasar maupun kedokteran klinik (Keohane et al., 2016)

Hematologi mencakup ilmu tentang sel darah dan koagulasi. Diantaranya adalah analisis konsentrasi, struktur, dan fungsi sel dalam darah, prekursor di sumsum tulang, kandungan kimia plasma atau serum yang terkait erat dengan struktur dan fungsi sel darah, dan fungsi trombosit dan protein yang terlibat dalam pembekuan darah.

Tujuan Pemeriksaan Hematologi

Pada umumnya pemeriksaan hematologi mempunyai beberapa tujuan, antara lain :

1. Menegakkan atau menyingkirkan diagnosa penyakit yang berhubungan dengan sel-sel darah, misalnya kadar hemoglobin untuk anemia.
2. Skrining berbagai penyakit dan mengarahkan tes ke penyakit tertentu.
3. Membantu dalam melakukan terapi dan pengendalian suatu penyakit misalnya leukemia.
4. Membantu ketepatan terapi dan pengobatan.
5. Membantu mengikuti perjalanan penyakit.
6. Menentukan status Kesehatan umum (*general check-up*) (Hardjoeno, 2003).

Jenis Pemeriksaan Hematologi

Pemeriksaan hematologi merupakan pemeriksaan yang menggunakan sampel cairan darah (*whole blood*), secara umum pemeriksaan hematologi dibedakan menjadi 2 jenis pemeriksaan, yaitu :

1. Pemeriksaan darah lengkap atau darah rutin. Pemeriksaan tersebut mencakup sel darah atau pigmen darah baik yang normal maupun yang abnormal serta menentukan dan menetapkan sifat kelainannya (Riswanto, n.d.). Pemeriksaan darah rutin merupakan salah satu pemeriksaan yang digunakan untuk skrining dan monitoring baik pada pasien rawat jalan maupun pasien rawat nginap. Jenis pemeriksaan hematologi rutin, adalah pemeriksaan hemoglobin, pemeriksaan leukosit, pemeriksaan eritrosit, pemeriksaan trombosit, hitung jenis leukosit, pemeriksaan hematokrit dan penentuan nilai indeks eritrosit (Dosen, 2019).
2. Pemeriksaan hematologi yang mempunyai peranan dalam mengevaluasi gangguan pada mekanisme pembekuan darah atau yang disebut dengan pemeriksaan hemostasis (Riswanto, n.d.). Jenis pemeriksaan hemostasis, yaitu pemeriksaan prothrombin, pemeriksaan masa tromboplastin parsial teraktivasi, pemeriksaan masa trombin, pemeriksaan fibrinogen, masa perdarahan, masa pembekuan, dan retraksi bekuan (Riswanto, n.d.).

Mutu Pemeriksaan Hematologi

Mutu laboratorium dipengaruhi oleh dua komponen dasar, yaitu mutu pemeriksaan laboratorium dan mutu pelayanan laboratorium. Mutu pemeriksaan laboratorium dipengaruhi oleh akurasi dan presisi. Mutu pemeriksaan laboratorium dipengaruhi oleh faktor analitik dan non analitik. Faktor analitik yaitu peralatan, metode, bahan pemeriksaan dan reagen. Faktor non analitik diantaranya adalah pra analitik, analitik dan pasca analitik (Mulyono et al., 2010).

Pemeriksaan hematologi dapat bermanfaat untuk kepentingan klinis, maka harus diperhatikan efektivitas tes laboratorium, hasil tes laboratorium harus teliti (presisi), tepat (akurat), rentan, spesifik, murah dan dapat membedakan hasil tes normal dan tidak normal. Teliti atau presisi adalah kemampuan memperoleh hasil tes laboratorium yang hampir sama pada tes yang dilakukan berulang-ulang dengan menggunakan metode yang sama. Tes yang presisi belum tentu akurat. Tepat atau akurat merupakan kemampuan memperoleh hasil tes laboratorium yang benar sesuai dengan nilai biologis yang sebenarnya atau dikenal dengan "*true value*", tetapi untuk mencapai hasil akurat memerlukan waktu lama dan tes yang mahal. Kerentanan atau sensitivitas adalah kemampuan mendeteksi zat tertentu, menentukan substansi pada kadar terkecil yang diperiksa, semakin rendah kadar yang akan dideteksi maka semakin sensitif tes tersebut. Spesifik merupakan kemampuan mendeteksi penyakit dari substansi pada sampel yang diperiksa secara akurat tanpa gangguan substansi lain yang berada dalam sampel tersebut. Tidak mahal maksudnya pemeriksaan hematologi dapat dimanfaatkan oleh banyak orang atau pasien yang memerlukan tes laboratorium (Kosasih, 2008)(Hardjoeno, 2003).

Mutu pemeriksaan hematologi yang baik mempengaruhi hasil pemeriksaan, tahapan untuk mencapai hasil pemeriksaan yang cepat, tepat dan akurat adalah : tahapan pra-analitik, analitik dan pasca-analitik.

Pra-Analitik Pemeriksaan Hematologi

Pra-analitik merupakan tahapan persiapan sebelum melakukan pemeriksaan, tahapan awal dari seluruh rangkaian pemeriksaan hematologi. Faktor yang mempengaruhi tahapan pra-analitik adalah ketatausahaan, persiapan pasien, proses pengumpulan spesimen, penanganan spesimen, pengiriman spesimen dan pengolahan spesimen (Riswanto, n.d.)(Mulyono et al., 2010).

Proses ketatausahaan dilakukan dengan cara mengidentifikasi formulir permintaan pemeriksaan laboratorium, memverifikasi data kesesuaian identitas pasien pada formulir permintaan pemeriksaan dengan persiapan pasien. Hal ini dilakukan untuk mencegah tertukarnya hasil, membantu saat interpretasi hasil, dan menghindari hal-hal yang merugikan pasien (Dosen, 2019). Dalam melakukan verifikasi data dilakukan secara langsung dan menggunakan bahasa yang mudah dipahami pasien, data meliputi : nama pasien, alamat lengkap, tanggal lahir, jenis kelamin, dan nomor rekam medik (Hardjoeno, 2003).

Persiapan pasien dalam tahapan pra-analitik dilakukan sebelum melakukan pengambilan spesimen. Petugas memberikan informasi yang jelas kepada pasien tentang syarat sebelum pengambilan sampel. Informasi tersebut antara lain, pemeriksaan laboratorium

yang dilakukan pada saat puasa maka pasien harus dalam keadaan puasa. Pemeriksaan laboratorium sewaktu, spesimen pasien dapat diambil kapan saja. Selain itu faktor lain yang mempengaruhi hasil pemeriksaan adalah gaya hidup pasien antara lain mengkonsumsi alkohol, rokok, kopi dan obat adiktif (Hardjoeno, 2003).

Salah satu faktor yang menentukan akurasi hasil pemeriksaan laboratorium adalah kualitas spesimen yang diambil. Salah satu faktor yang diperhatikan dalam pemeriksaan hematologi yaitu pada saat pengambilan darah atau flebotomi. Pengambilan spesimen darah harus sesuai dengan prosedur baku yang ditetapkan, dimulai dari pemilihan lokasi pengambilan darah, penggunaan turniket, antiseptik, dan prosedur pengumpulan sampel. Selain itu faktor pengolahan dan penyimpanan spesimen juga perlu perhatian, penggunaan antikoagulan pada spesimen darah, dan penggunaan lemari pendingin turut mempengaruhi hasil pemeriksaan. Pada spesimen tunda harus diperhatikan lama penyimpanan, jenis pemeriksaan, wadah sampel dan stabilitas spesimen. Pada saat pengiriman spesimen memerlukan perlakuan khusus dengan memperhatikan suhu penyimpanan spesimen yaitu 2-8°C dan menggunakan wadah yang tepat agar suhu sampel tetap stabil (Hardjoeno, 2003). Kesalahan pada tahapan pra-analitik menyumbangkan kesalahan hingga 61% dari total kesalahan laboratorium (Dosen, 2019).

Analitik Pemeriksaan Hematologi

Faktor analitik pada pemeriksaan hematologi merupakan faktor yang ditentukan pada saat pemeriksaan hematologi dilakukan termasuk didalamnya adalah pemeliharaan atau kalibrasi alat, uji kualitas reagen dan uji ketelitian dan ketepatan. Kesalahan analitik pemeriksaan hematologi terdiri dari dua jenis, yaitu kesalahan acak (*random error*) dan kesalahan sistematis (*systematic error*), dimana kesalahan acak dapat dijadikan indikator tingkat presisi dan kesalahan sistematis menandakan tingkat akurasi suatu metode dan alat pemeriksaan (Mulyono et al., 2010).

Kesalahan analitik acak dapat disebabkan oleh instrumen yang digunakan tidak stabil, variasi temperatur, variasi reagen dan kalibrasi, variasi pada teknik prosedur pemeriksaan, dan variasi sumber daya manusia. Kesalahan analitik sistematis dapat disebabkan oleh spesifitas reagen dan metode pemeriksaan yang rendah, penggunaan blangko sampel dan blangko reagen yang kurang tepat, mutu reagen kalibrasi kurang baik, alat bantu pipet yang digunakan kurang akurat, panjang gelombang yang digunakan dan kesalahan pada saat melarutkan reagen (Mulyono et al., 2010).

Pasca-Analitik Pemeriksaan Hematologi

Tahap pasca analitik merupakan tahap penting dalam pemeriksaan hematologi, hasil pemeriksaan merupakan bahan penunjang dan penentu diagnosis yang akan berhubungan dengan terapi dan prognosis. Kegiatan pasca analitik meliputi penulisan hasil pemeriksaan, interpretasi hasil pemeriksaan dan pelaporan hasil. Kesalahan pasca analitik yang dapat timbul adalah adanya kesalahan perhitungan (*calculation*), kesalahan dalam cara menilai (*method evaluation*), kesalahan ketatausahaan (*clerical*) dan kesalahan penanganan informasi (*information handling*) (Mulyono et al., 2010).

Spesimen Hematologi

Spesimen hematologi merupakan bahan pemeriksaan (darah) pasien yang berasal dari pembuluh darah vena dan kapiler. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi, yaitu umur pasien, jenis kelamin, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, merokok, stres, kehamilan, posisi, aktivitas fisik.

1. Umur. Hasil pemeriksaan hematologi mempunyai pengaruh dengan umur pasien, sehingga faktor umur harus dipertimbangkan pada interpretasi hasil pemeriksaan. Contoh kadar eritrosit dan leukosit pada bayi baru lahir lebih tinggi dari pada orang dewasa.
2. Jenis kelamin. Jumlah komponen sel darah sangat dipengaruhi oleh jenis kelamin hal ini dilihat dari nilai normal yang berbeda jenis kelamin laki-laki dan perempuan.
3. Ketinggian. Beberapa hasil pemeriksaan hematologi dapat menunjukkan hasil yang sangat signifikan pada orang yang tinggal di daerah dataran tinggi dibandingkan dengan orang yang tinggal di daerah dataran rendah. Contoh pemeriksaan hemoglobin (Hb), orang yang tinggal di dataran tinggi memiliki kadar Hb lebih tinggi hal ini disebabkan di dataran tinggi kadar oksigennya rendah sehingga menyebabkan tubuh akan memproduksi eritrosit lebih banyak untuk memenuhi kebutuhan oksigen pada tubuh, adanya peningkatan jumlah eritrosit dalam tubuh maka akan berpengaruh pada kadar Hb dalam darah.
4. Dehidrasi. Pasien yang mengalami dehidrasi akibat muntah atau diare akan menyebabkan terjadinya hemokonsentrasi, yang akan mengakibatkan hasil pemeriksaan yang tidak akurat, hemokonsentrasi akan mempengaruhi komponen darah eritrosit, enzim, besi (Fe), kalsium (Ca), Natrium (Na), dan akan mempengaruhi faktor koagulasi.
5. Diet. Komposisi analit darah sangat dipengaruhi oleh makanan dan minuman yang dikonsumsi pasien, sehingga biasanya sebelum dilakukan pemeriksaan tertentu pasien diminta untuk berpuasa sekitar 8-12 jam. Beberapa pemeriksaan analit dalam darah yang berpengaruh dengan makanan dan minuman adalah glukosa, amonia, urea, kortisol,

hemoglobin, lipid dan trigliserida.

6. Variasi diurnal. Adanya fluktuasi waktu dapat mempengaruhi kadar analit dalam darah, sehingga waktu pengambilan sampel harus dipertimbangkan.
7. Terapi obat. Fungsi fisiologis komponen analit darah dapat berubah akibat obat yang dikonsumsi pasien, sehingga pada saat pengambilan sampel darah perlu diketahui informasi obat yang sedang dikonsumsi pasien. Contoh terapi obat yang mempengaruhi analit dalam darah adalah obat yang digunakan kemoterapi dapat menyebabkan terjadinya penurunan sel trombosit dan sel leukosit.
8. Olahraga. Aktivitas olahraga dapat mempengaruhi komponen analit darah, salah satu yang mempengaruhi adalah intensitas aktivitas olahraga, olahraga berat mempengaruhi kadar glukosa, kreatinin, insulin, asam laktat dan total protein, kadar kalium (K⁺) dalam plasma meningkat selama aktivitas olahraga dilakukan, kadar kreatinin kinase dan laktat dehidrogenase juga akan meningkat pada saat melakukan aktivitas olahraga.
9. Merokok. Merokok dapat mempengaruhi sejumlah komponen darah, kadar kolesterol, kortisol, glukosa, trigliserida, dan jumlah leukosit akan meningkat pada pasien yang merokok sebelum pengambilan spesimen darah.
10. Stres. Kecemasan, ketakutan dan trauma pada pasien dapat meningkatkan jumlah leukosit, penurunan kadar hemoglobin dan hematokrit.
11. Kehamilan. Kondisi kehamilan merupakan kondisi fisiologis tubuh yang mengakibatkan terjadinya perubahan dalam sistem tubuh pasien. Kadar hemoglobin dan eritrosit relatif rendah pada pasien wanita hamil.
12. Posisi. Posisi tubuh pada saat flebotomi berpengaruh pada komponen darah, jumlah sel darah eritrosit pada pasien yang berdiri akan lebih tinggi dari pada pasien yang posisi duduk (Kiswari, 2014).

Pengambilan Sampel

Spesimen adalah bahan pemeriksaan yang berasal dari pasien baik berupa cairan, apusan swab, kerokan, faeses, sputum, dan jaringan. Pengambilan spesimen merupakan bagian dari tahapan pra analitik. Pengambilan spesimen untuk pemeriksaan hematologi disebut flebotomi (Riswanto, n.d.). Pengambilan spesimen untuk pemeriksaan hematologi pada orang dewasa dilakukan pada pembuluh darah vena *fossa antecubital* yang terletak di area distal sendi siku dengan dua variasi tipe pembuluh darah, yaitu tipe H dan M. Pada permukaan tempat pengambilan darah terdiri dari tiga area, yaitu *vena cephalic*, *vena median cubital*, dan *vena basilic*. Pada pasien bayi dapat dilakukan pada *vena jugularis superficialis*

atau *sinus sagittalis superior* (Nugraha, 2022).

Faktor yang harus diperhatikan pada pengambilan spesimen, yaitu :

1. Identifikasi spesimen pasien.
2. Kondisi fisiologis pasien.
3. Persiapan pasien sebelum pengambilan spesimen.
4. Peralatan yang akan digunakan pada saat pengambilan spesimen.
5. Pemilihan lokasi pengambilan spesimen.

Waktu Pengambilan Spesimen

Waktu pengambilan spesimen di laboratorium ditentukan berdasarkan jam pelayanan laboratorium. Spesimen tertentu dikumpulkan berdasarkan jenis pemeriksaan, pengambilan spesimen yang tidak tepat waktu dapat mengakibatkan hasil pemeriksaan yang tidak tepat. Waktu pengambilan spesimen darah harus dicatat untuk mengetahui batas waktu pemeriksaan spesimen tersebut (Dosen, 2019)

Jenis Spesimen

Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan hematologi antara lain :

1. Darah utuh (*whole blood*), yaitu sampel darah yang berasal dari vena atau kapiler, *whole blood* dalam penggunaannya memerlukan antikoagulan.
2. Plasma, merupakan cairan yang berwarna kekuningan bagian dari darah yang diberi antikoagulan.
3. Serum, adalah bagian cair dari darah yang tidak diberi antikoagulan, serum terbentuk dari darah yang didiamkan, darah akan terpisah menjadi dua bagian, yaitu serum dan bekuan darah (Kiswari, 2014).

Pengolahan Spesimen

Pengolahan spesimen merupakan suatu proses analitik pada saat spesimen darah sudah diterima di laboratorium untuk selanjutnya dianalisis. Pengolahan spesimen di laboratorium terdiri dari tiga tahap, yaitu prasentrifugasi, sentrifugasi dan pascasentrifugasi. Spesimen darah yang mengandung antikoagulan EDTA sebaiknya disimpan pada lemari pendingin suhu 2 - 8°C selama 24 – 48 jam (Riswanto, n.d.).

Pengiriman Sampel

Pada keadaan tertentu spesimen dirujuk ke laboratorium yang memiliki peralatan lebih lengkap yang letaknya cukup jauh, spesimen membutuhkan perlakuan khusus salah satunya

adalah menjaga kestabilan suhu sampel 2 -8°C, spesimen dilindungi dari kontak langsung dengan cahaya yang akan menyebabkan kerusakan analit darah (Kiswari, 2014).



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat mengetahui pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Jelaskan ruang lingkup pemeriksaan hematologi.
2. Jelaskan tujuan pemeriksaan hematologi.
3. Jelaskan jenis pemeriksaan hematologi.
4. Jelaskan mutu pemeriksaan hematologi.

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar !

1. Seorang pasien laki-laki usia 45 tahun datang ke laboratorium Rumah sakit membawa formulir pemeriksaan. ATLM kemudian melakukan verifikasi data secara langsung kepada pasien tersebut. Jenis verifikasi apakah yang dilakukan oleh ATLM ?
 - A. Suku pasien
 - B. Agama pasien
 - C. Nama lengkap pasien
 - D. Nama orang tua pasien
 - E. Golongan darah pasien
2. Untuk keperluan pemeriksaan hematologi rutin seorang ATLM akan melakukan flebotomi pada pasien laki-laki usia 35 tahun, Faktor yang harus diperhatikan pada pengambilan spesimen adalah ?
 - A. Usia pasien
 - B. Alamat pasien
 - C. Jenis Kelamin
 - D. Laboratorium tempat pengambilan
 - E. Pemilihan lokasi pengambilan spesimen

3. Seorang ATLM melakukan pengambilan spesimen darah pada pasien di Puskesmas Desa Teratai, karena keterbatasan alat pemeriksaan, spesimen darah akan dikirim ke laboratorium rumah sakit yang jaraknya cukup jauh, untuk menjaga kestabilan suhu spesimen, berapakah suhu yang harus digunakan pada spesimen tersebut ?
 - A. 8 – 15°C
 - B. 2 – 8 °C
 - C. 2 - 10°C
 - D. 2 - 5°C
 - E. 8 - 10°C
4. Hemokonsentrasi yang terjadi pada pasien akibat muntah atau diare, akan mempengaruhi beberapa hasil pemeriksaan laboratorium. Komponen pemeriksaan hematologi apakah yang akan akan berpengaruh akibat hemokonsentrasi ?
 - A. Besi (Fe)
 - B. Enzim
 - C. Natrium (Na)
 - D. Kalsium (Ca)
 - E. Faktor koagulasi
5. Salah satu jenis pemeriksaan hematologi yang mempunyai fungsi untuk mengevaluasi gangguan pada mekanisme pembekuan darah adalah ?
 - A. Leukosit
 - B. Eritrosit
 - C. Hemoglobin
 - D. Laju Endap Darah
 - E. Retraksi bekuan

Kunci Jawaban :

1. C
2. E
3. B
4. E
5. E

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Memahami runag lingkup pemeriksaan hematologi	20

2	Memahami tujuan pemeriksaan hematologi	20
3	Memahami jenis pemeriksaan hematologi	20
4	Mengetahui mutu pemeriksaan hematologi	20
5	Memahami spesimen pemeriksaan hematologi	20
Jumlah		100



RINGKASAN

Kata hematologi berasal dari bahasa Yunani *haima* (berarti darah) dan *logos* (berarti ilmu), ilmu tentang hematologi adalah ilmu tentang darah. Tujuan pemeriksaan hematologi adalah menegakkan atau menyingkirkan diagnosa penyakit yang berhubungan dengan sel-sel darah, misalnya kadar hemoglobin untuk anemia, skrining berbagai penyakit dan mengarahkan tes ke penyakit tertentu, membantu dalam melakukan terapi dan pengendalian suatu penyakit misalnya leukemia, membantu ketepatan terapi dan pengobatan, membantu mengikuti perjalanan penyakit dan Menentukan status Kesehatan umum. Pemeriksaan hematologi dibedakan menjadi 2 jenis pemeriksaan, yaitu pemeriksaan darah rutin dan pemeriksaan hemostasis.

Mutu pemeriksaan hematologi yang baik mempengaruhi hasil pemeriksaan, tahapan untuk mencapai hasil pemeriksaan yang cepat, tepat dan akurat adalah tahapan pra-analitik, analitik dan pasca-analitik. Spesimen hematologi merupakan bahan pemeriksaan (darah) pasien yang berasal dari pembuluh darah vena dan kapiler, pengambilan spesimen untuk pemeriksaan hematologi disebut flebotomi. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi, yaitu umur pasien, jenis kelamin, ketinggian, dehidrasi, diet, variasi diurnal, terapi obat, olahraga, merokok, stres, kehamilan, posisi, aktivitas fisik. Jenis spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan hematologi adalah Darah utuh (*whole blood*), plasma dan serum.



DAFTAR PUSTAKA

- Dosen, T. (2019). *Hematologi*. EGC.
- Hardjoeno. (2003). *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik* (3rd ed.). Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin.
- Keohane, E. M., Smith, La. J., & Walenga, J. M. (2016). *Rodak's Hematology Clinical Principles And Applications*.
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi* (1st ed.). Erlangga.
- Kosasih. (2008). *Tafsiran hasil pemeriksaan laboratorium yang benar* (I). Karisma Publishing Group.
- Mulyono, B., Sukarini, U., Setyawati, Mulyono, H., Kismardhani, Windarwati, & Intansari, U. S. (2010). *Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Klinik* (U. Sukorini, D. K. Nugroho, M. Rizki, & B. Hendriawan (eds.); I). Kanal Medika dan Alfa Media.
- Nugraha, G. (2022). *Teknik Pengambilan dan Penanganan Spesimen Darah Vena Manusia Untuk Penelitian*. LIPI Press.
- Riswanto. (n.d.). *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi* (1st ed.). Alfamedika.

BAB II

PENGAMBILAN DARAH (FLEBOTOMI)



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami konsep flebotomi
2. Mahasiswa mampu memahami anatomi pembuluh darah
3. Mahasiswa mampu melakukan pengambilan darah kapiler
4. Mahasiswa mampu melakukan pengambilan vena
5. Mahasiswa mampu memahami komplikasi flebotomi



PENDAHULUAN

Teknik pengambilan darah dikenal dengan nama flebotomi berasal dari bahasa Yunani, *phlebos* artinya pembuluh darah dan *tomia* yang artinya sayatan. Pada zaman dahulu kegiatan flebotomi diawali dengan adanya teori fisiologis dan patologi dari Hipokrates dimana tubuh manusia terdiri dari empat unsur yang seimbang yaitu darah, dahak, empedu kuning dan empedu hitam, kelebihan cairan tubuh tersebut menyebabkan penyakit pada manusia sehingga diperlukan tindakan untuk menghilangkan kelebihan darah dengan cara membuat sayatan pada pembuluh darah dengan tujuan agar keseimbangan humoral kembali normal (Warekois & Robinson, 2016).

Saat ini proses pengambilan darah dilakukan untuk diagnosis dan pemantauan penyakit melalui prosedur dan peralatan yang dikembangkan dan sesuai standar dengan tujuan untuk memastikan keamanan, kenyamanan pasien dan menjaga integritas sampel darah yang dikumpulkan (Keohane et al., 2016). Proses pengambilan darah dilakukan oleh seorang tenaga profesional yang memiliki keterampilan, dan pengetahuan yang dikenal sebagai flebotomis (Nugraha, 2022). Dalam keterampilan kerja seorang flebotomis memiliki keterampilan teknis dalam mengumpulkan spesimen yang akan dianalisis, selain itu seorang flebotomis harus mampu menangani sampel dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat. Dalam bekerja seorang flebotomis akan berinteraksi dengan banyak orang termasuk

pasien sehingga dibutuhkan keterampilan interpersonal, seorang flebotomis yang profesional juga harus dapat mengelola stres dalam bekerja apabila menghadapi pasien yang sulit dan peralatan yang tidak berfungsi (Nugraha, 2022).

Tugas utama seorang flebotomis adalah mengumpulkan sampel darah atas permintaan dokter atau tenaga profesional kesehatan untuk dianalisis di laboratorium. Dalam melakukan pengambilan darah seorang flebotomis akan memastikan pasien dalam menerima perlakuan medis yang cepat dan lengkap. Tugas dan tanggung jawab seorang flebotomis adalah :

1. Memperoleh jenis permintaan pemeriksaan dari dokter atau tenaga profesional kesehatan.
2. Mengidentifikasi pasien dengan tepat.
3. Memilih peralatan yang sesuai untuk pemeriksaan.
4. Memilih dan mempersiapkan wadah sampel yang sesuai dengan pemeriksaan yang ditentukan.
5. Memberi label yang benar pada sampel, yang terdiri dari nama pasien, tanggal pengambilan sampel dan waktu pengambilan sampel.
6. Melakukan pengambilan darah sesuai dengan jenis pemeriksaan.
7. Mengangkut sampel ke laboratorium dengan waktu yang tepat dan sesuai dengan prosedur penanganan yang tepat.
8. Melakukan pengolahan data dan pemeriksaan kendali mutu.
9. Mematuhi peraturan keselamatan dan pengendalian infeksi selama proses pengambilan sampel.

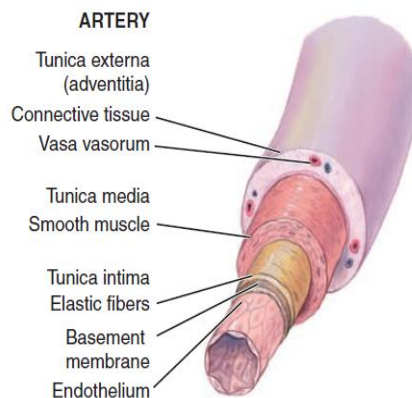
Selain mengumpulkan sampel darah seorang flebotomis harus mampu berinteraksi dengan pasien dan profesional kesehatan, mampu melakukan pencatatan yang akurat dan memiliki pengetahuan tentang pengoperasian komputer di laboratorium dan mampu melakukan pengambilan sampel selain darah (Warekois & Robinson, 2016). Sebelum melakukan pengambilan darah seorang flebotomis harus mengetahui dan memahami anatomi tubuh manusia terutama sistem vaskuler atau pembuluh darah manusia.

Pembuluh Darah

Secara umum pembuluh darah memiliki tiga lapisan yang mengelilingi lumen yaitu lapisan luar (tunica adventitia) terdiri dari jaringan ikat, lapisan tengah (tunica media) terdiri dari otot polos, dan lapisan dalam (tunica intima) yaitu lapisan endotel (Warekois & Robinson, 2016). Pembuluh darah manusia terdiri atas tiga jenis, yaitu arteri, kapiler dan pembuluh

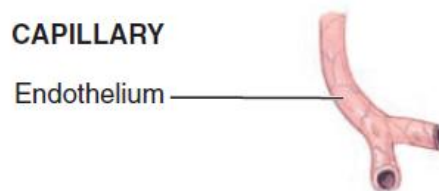
darah vena.

Pembuluh darah arteri mempunyai fungsi membawa darah dari jantung, arteri memiliki dinding otot yang tebal dan terletak lebih dalam dari pembuluh darah vena. Pembuluh darah arteri bercabang menjadi pembuluh darah lebih kecil yang disebut arteriol, yang akhirnya bercabang membentuk kapiler.



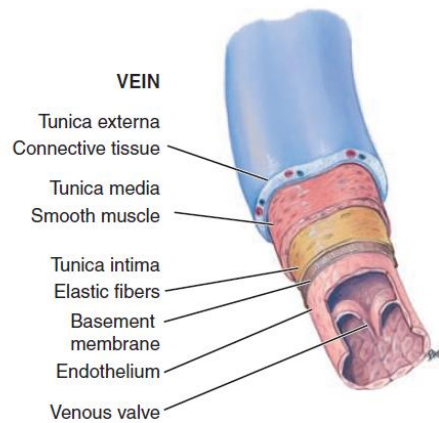
Gambar 2.1 Struktur pembuluh darah arteri (Warekois & Robinson, 2016)

Kapiler hanya memiliki lapisan endotel, memiliki jalinan yang disebut lapisan kapiler, dari segi komposisi kimia darah kapiler lebih mirip dengan darah arteri di bandingkan dengan darah vena.



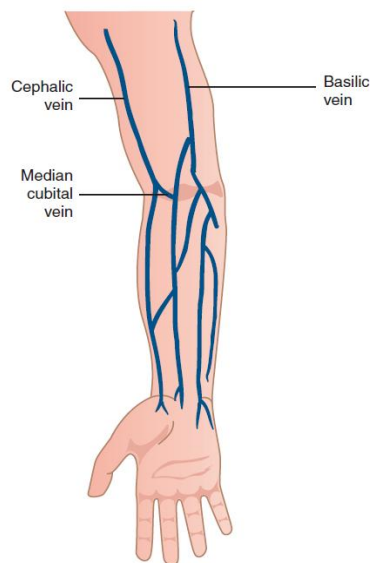
Gambar 2.2 Struktur kapiler (Warekois & Robinson, 2016)

Pembuluh darah vena memiliki fungsi membawa darah kembali ke jantung, vena memiliki dinding yang tipis dibandingkan dengan arteri dan terletak lebih dekat di permukaan kulit dibandingkan arteri, kebanyakan tes laboratorium menggunakan sampel darah vena (Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.3 Struktur pembuluh darah vena (Warekois & Robinson, 2016)

Pembuluh darah vena yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah *fossa antecubital* yang terletak di area distal sendi siku dengan dua variasi tipe pembuluh darah, yaitu tipe H dan M. Pada permukaan tempat pengambilan darah terdiri dari tiga area, yaitu vena *cephalic*, vena *median cubital*, dan vena *basilic*.



Gambar 2.4 Vena *fossa antecubital* di lengan kanan
(Warekois & Robinson, 2016)

Peralatan

A. Turniket

Turniket dikenal sejak zaman Romawi oleh ahli bedah militer yang menggunakan alat kompresi untuk mengendalikan perdarahan selama amputasi. Tahun 1628 William Harvey seorang ahli bedah Inggris menemukan dan menelusuri peredaran darah manusia, dan pada tahun 1718, Jean Louis Petit seorang ahli bedah Prancis mengembangkan alat

puntir mekanis yang kemudian dinamakan *Tourniquet*, kata *Tourniquet* berasal dari kata Perancis “*tourner*” yang berarti memutar.

Turniket adalah alat yang digunakan untuk membebat pembuluh darah (Nugraha, 2022), sehingga sirkulasi vena dan arteri terkontrol untuk jangka waktu tertentu dan memudahkan dalam menemukan pembuluh darah. Tekanan diterapkan secara melingkar pada kulit sehingga menyebabkan penyumbatan sementara. Tujuan penggunaan turniket adalah agar pembuluh darah vena tampak melebar dan menonjol ke permukaan kulit dan dinding pembuluh darah menjadi tipis sehingga memudahkan pada saat memasukkan jarum (Kiswari, 2014).

Penggunaan turniket tidak boleh lebih dari satu menit karena akan mengakibatkan terjadinya hemokonsentrasi yang dapat mengubah beberapa hasil pemeriksaan, selain itu dapat menyebabkan terjadinya hemolisis atau penghancuran sel darah merah dan dapat mengubah hasil pemeriksaan, pemasangan turniket yang lebih dari satu menit juga dapat menyebabkan terjadinya *petechiae* atau terbentuknya bintik merah pada kulit (Keohane et al., 2016). Penggunaan turniket dilakukan tiga hingga empat inci di atas daerah tusukan.

B. Sarung Tangan Medis

Sarung tangan medis dapat merupakan sarung tangan sekali pakai yang dapat digunakan selama melakukan prosedur medis, yang termasuk sarung tangan medis adalah sarung tangan pemeriksaan baik tidak steril maupun steril, sarung tangan bedah yang memiliki ketentuan tertentu yaitu ketebalan, elastisitas, kekuatan dan steril, serta sarung tangan kemoterapi. Tujuan penggunaan sarung tangan medis adalah :

1. Mengurangi risiko terjadinya kontaminasi pada tangan petugas kesehatan dari darah dan cairan tubuh pasien.
2. Mengurangi risiko penyebaran mikroorganisme pada lingkungan kerja khususnya laboratorium dan penularan dari petugas kesehatan ke pasien dan sebaliknya, serta penularan dari satu pasien ke pasien lain (Nuramdani, 2023).



Gambar 2.5 Sarung tangan lateks (Nuramdani, 2023)

Indikasi penggunaan sarung tangan adalah sebelum dilakukan prosedur steril, kontak dengan darah atau cairan tubuh lain termasuk kontak dengan kulit dan selaput lendir yang tidak utuh, kontak dengan pasien dan lingkungan pasien selama melakukan tindakan. Indikasi melepaskan sarung tangan adalah segera setelah sarung tangan rusak atau cacat, jika kontak dengan dengan cairan darah, kulit dan selaput lendir telah berakhir, dan setelah kontak dengan pasien dan lingkungan pasien telah berakhir.

Sarung tangan medis yang digunakan untuk flebotomi umumnya terbuat dari bahan lateks, nitril, neoprena, polietilena atau vinil. Flebotomis atau tenaga kesehatan yang alergi terhadap bahan-bahan sarung tangan tersebut dapat menggunakan sarung tangan yang terbuat dari bahan linen (Kiswari, 2014).



Gambar 2.6 Tahapan melepaskan sarung tangan (Keohane et al., 2016)

C. Antiseptik

Antiseptik adalah cairan yang digunakan pada saat flebotomi dengan tujuan untuk mencegah sepsis atau penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme (Arif, 2011). Antiseptik digunakan pada permukaan kulit sebelum melakukan pungsi vena, antiseptik kulit yang paling umum digunakan adalah isopropil alkohol 70% (swab alkohol). Isopropil alkohol bersifat bakteriostatik yang dapat menghambat pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Penggunaan isopropil alkohol 70% efektif maksimal digunakan pada permukaan kulit selama tiga puluh hingga enam puluh detik.



Gambar 2.7 Swab alkohol (OneMed, n.d.-a)

D. Plester

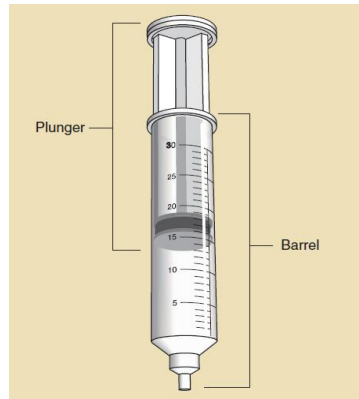
Plester merupakan suatu bahan yang digunakan untuk menutupi luka setelah dilakukan flebotomi yang berfungsi untuk mempercepat proses penyembuhan dan untuk mencegah terjadinya infeksi akibat luka tusukan jarum (Anwari, 2023). Plester yang umum digunakan adalah plester berbentuk bulat dengan diameter 2,4 cm, transparan berwarna coklat (OneMed, n.d.-b). Pasien yang memiliki alergi plester dapat menggunakan kain kasa steril sebagai penutup luka, dan sebaiknya menghindari menutup luka tusukan menggunakan kapas kering karena kapas kering cenderung menempel pada area luka sehingga menghambat proses pembekuan karena menghilangkan plug trombosit (Kiswari, 2014).



Gambar 2.8 Plester (OneMed, n.d.-b)

E. Sduit

Sduit secara umum merupakan pompa piston sederhana yang berfungsi untuk menyuntikkan atau menghisap cairan, dalam flebotomi sduit digunakan untuk mengambil dan mengumpulkan sampel darah. Sduit berguna untuk pasien dengan vena yang rapuh atau kecil pada pasien anak dan geriatri karena pengisapan dapat dilakukan secara bertahap sehingga tindakan flebotomi dapat terkontrol (Keohane et al., 2016), sduit terdiri atas tabung (*barrel*) diukur dalam mililiter dan piston yang dapat ditarik hingga belakang (*plunger*) (Nugraha, 2022). Sduit memiliki ujung yang terbuka dengan berbagai jenis ukuran sambungan jarum, kapasitas volume sduit antara lain 1 mL, 3 mL dan 10 mL . Sduit yang digunakan dalam flebotomi harus steril dan digunakan sekali pakai dan dibuang (*disposable single-use*) (Nugraha, 2022).

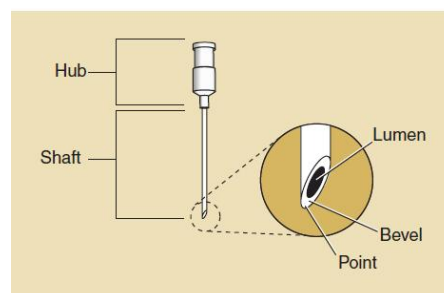


Gambar 2.9 Bagian Spuit (Keohane et al., 2016)

F. Jarum

Jarum (*needle*) merupakan merupakan alat yang digunakan untuk menusuk pembuluh darah (Nugraha, 2022). sehingga darah mengalir keluar kedalam tabung spuit. Jarum yang digunakan untuk proses flebotomi harus steril, dan hanya digunakan satu kali. Sebelum penggunaan jarum flebotomis harus memastikan segel kemasan jarum tidak rusak. Jarum yang digunakan harus lurus, tajam, miring (*bevel*) dan bebas dari goresan . Ukuran jarum dinyatakan dengan satuan gauge (G) (Kiswari, 2014). Ukuran jarum untuk flebotomi berkisar antara 19 hingga 23 gauge, ukuran jarum yang paling umum digunakan pada pungsi vena dewasa adalah 21 gauge dengan panjang jarum 1 inci (Keohane et al., 2016).

Jarum terdiri dari beberapa bagian, yaitu *hub* yang berfungsi sebagai penghubung antara spuit dan jarum, *shaft* merupakan bagian silinder panjang yang disebut dengan poros, *bevel* merupakan bagian dari jarum yang memiliki kemiringan atau sudut sehingga memudahkan poros masuk ke dalam kulit dan mencegah jarum mengeluarkan sumbat jaringan, *point* adalah bagian dari jarum yang tajam yang memberikan kemudahan dan kelancaran pada saat jarum masuk ke dalam kulit dengan rasa sakit yang minimal dan lumen adalah salah satu bagian jarum yang terletak di dalam poros jarum (Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.10 Bagian jarum (Warekois & Robinson, 2016)

Beberapa jenis jarum yang digunakan pada saat flebotomi, yaitu jarum spuit, jarum *vacutainer*, dan jarum bersayap (*butterfly/wing needle*) (Nugraha, 2022). Jarum spuit adalah jarum yang biasa digunakan pada flebotomi sistem terbuka.



Gambar 2.11 Jarum Untuk Spuit (Nugraha, 2022)

Jarum *vacutainer* memiliki jarum dua sisi (jarum multisampel), ketika salah satu jarum menembus kulit pasien, ujung jarum yang lain menebus tutup karet dari tabung pengumpul darah (Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.12 Jarum *vacutainer* (Keohane et al., 2016)

Jarum *butterfly/ wing needle* digunakan untuk pungsi vena pada vena yang kecil pada pasien anak dan pasien lanjut usia, ukuran jarum *butterfly/ wing needle* adalah 23 gauge, panjang $\frac{3}{4}$ inci, memiliki pegangan plastik berbentuk kupu-kupu dan dihubungkan ke pipa lateks fleksibel (Keohane et al., 2016).



Gambar 2.13 Jarum *butterfly/ wing needle* (Warekois & Robinson, 2016)

G. Holder

Holder merupakan salah satu alat yang digunakan pada saat flebotomi sistem tertutup, holder terbuat dari plastik yang merupakanudukan jarum, digunakan sekali

pakai dengan bentuk slinder memiliki lubang ulir kecil diujung tempat jarum terfiksasi (Kiswari, 2014).



Gambar 2.14 Holder (Keohane et al., 2016)

H. Tabung Evakuasi

Tabung evakuasi (tabung vakum) yang digunakan pada saat flebotomi merupakan tabung hampa udara (Nugraha, 2022), tabung vakum mempunyai fungsi menampung darah untuk pengujian di laboratorium, tabung tersebut terbuat dari plastik anti pecah dan kaca, tabung plastik lebih aman digunakan pada saat transportasi sampel darah, selain itu sampel darah yang membutuhkan aktivasi trombosit biasanya menggunakan tabung plastik, tutup tabung menggunakan sumbat karet tebal atau sumbat karet dengan tutup plastik, setiap jenis tabung memiliki bahan aditif yang berbeda tergantung pada tes yang akan dilakukan di laboratorium. Ukuran tabung tersedia dari 2 mL hingga 15 mL. Setiap tabung vakum memiliki tanggal kadaluwarsa, tabung yang kadaluwarsa akan mengalami penurunan vakum sehingga menyebabkan hasil tes tidak akurat (Warekois & Robinson, 2016). Beberapa zat aditif yang terkandung dalam tabung vakum, yaitu Antikoagulan, *clot activators*, gel polimer dan agen antiglikolitik.

Antikoagulan berfungsi mencegah pembekuan darah *Sodium* atau *potassium ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) mengikat kalsium, sehingga menghambat kaskade koagulasi. Selain itu bahan lain yang dapat mengikat kalsium antara lain natrium sitrat, kalium oksalat, dan natrium polianetholesulfonat (SPS). Antikoagulan lain heparin dapat menghambat pembekuan dengan mencegah konversi protrombin menjadi trombin. Pemilihan antikoagulan ditentukan berdasarkan pemeriksaan yang akan dilakukan sehingga dibutuhkan perbandingan yang sesuai antara sampel darah dan antikoagulan, serta agar larut merata maka tabung dibolak-balik. Antikoagulan EDTA menjaga integritas sel darah dengan baik, mencegah penggumpalan trombosit, dan kompatibel

dengan pewarnaan darah, namun mengganggu proses koagulasi. Antikoagulan sitrat digunakan untuk koagulasi, antikoagulan SPS digunakan untuk kultur darah karena dapat menghambat komponen sistem kekebalan dan menetralkan antibiotik yang mungkin dikonsumsi pasien. Antikoagulan heparin digunakan untuk menentukan kimia plasma dan menentukan gas darah. Antikoagulan kalium oksalat dikombinasikan dengan natrium fluorida atau iodoasetat digunakan dalam penentuan glukosa (Warekois & Robinson, 2016).

Tabel 1. Jenis Tabung Vakum dan Fungsinya (Warekois & Robinson, 2016)

Jenis Tabung/Warna	Tes	Aditif	Sampel	Ket
	Kultur darah	SPS untuk menghambat komplemen dan pepsitosis	Darah	Tabung digunakan untuk memulihkan mikroorganisme
	Tes koagulasi	Natrium sitrat	Plasma	Isi tabung hingga penuh dengan perbandingan 9 bagian darah dan 1 bagian Natrium sitrat
	Kimia, serologi, bank darah	Aktivator bekuan dalam plastik	Serum	Tabung harus dibalik perlahan sebanyak lima kali, serum berasal dari darah yang telah disentrifugasi
	Darah lengkap, sedimentasi	EDTA	Darah	Dipotassium (K ₂) EDTA dikeringkan dengan semprotan pada sisi tabung, Tripotassium (K ₃) EDTA berbentuk cair, dan disodium (Na ₂) EDTA berbentuk bubuk.
	Viral load	Gel polimer dengan EDTA	Plasma	
	Tes Kimia	Clot aktivator, gel polimer	Serum	Tabung yang disebut tabung pemisah serum (SST), pembekuan membutuhkan waktu minimum 30 menit.
	Pengukuran asam laktat, tes toleransi glukosa, gula darah puasa, tingkat alkohol darah	Agan antiglikolitik, Antikoagulan kalium oksalat atau heparin	Plasma	Iodoacetate mempertahankan glukosa selama 24 jam, Natrium fluorida mempertahankan glukosa selama 3 hari. Isi tabung dengan perbandingan empat bagian darah dan satu bagian sitrat
	Laju sedimentasi	Natrium sitrat buffer	Darah	Tabung diformulasikan mengandung timbal kurang dari 0,1 mcg/ml
	Lead Analisis	Heparin	Plasma	
	Tes kompatibilitas bank darah	K ₂ EDTA	Plasma atau darah	
	Tes kimia, amonia, elektrolit, gas darah arteri	Natrium heparin, litium heparin, atau amonium heparin	Plasma	
	Tes kimia	Heparin, gel polimer	Plasma	Tabung yang disebut tabung pemisah plasma (PST)
	Stat Kimia	Trombin	Serum	Tabung digunakan pada pasien yang menggunakan antikoagulan terapi
	Tes Toksikologi, analisis logam, analisis nutrisi	Heparin, EDTA	Plasma atau serum	Tabung ini bersih secara kimia, dan sumbatnya diformulasikan secara khusus untuk mencegah pelepasan sejumlah kecil bahan yang dapat mengkontaminasi sampel dan memberikan hasil pengujian yang salah

Clot activator merupakan salah satu jenis zat aditif yang mempercepat proses koagulasi. Pembekuan darah yang menggunakan tabung tanpa *clot activator* membutuhkan waktu sekitar 60 menit, dan yang menggunakan tabung *clot activator* membutuhkan waktu 30 menit. *Clot activator* menempel pada sisi tabung kaca sehingga pada saat penggunaan tabung, sampel harus dibolak-balik agar sampel darah dapat bersentuhan dengan aktivator (Warekois & Robinson, 2016).

Gel polimer disebut juga gel tiksotropik merupakan zat sintetik *inert* yang kepadatannya antara kepadatan sel dan serum darah atau plasma, ketika sampel disentrifugasi, gel akan cair dan bergerak antara lapisan sel bawah dan lapisan serum atau plasma atas. Gel akan mengeras lagi setelah didiamkan dan membentuk penghalang antara kedua lapisan, sehingga mencegah kontaminasi dan memudahkan pada saat pemisahan (Warekois & Robinson, 2016).

Agen antiglikolitik adalah zat aditif yang berfungsi dalam menghambat proses metabolisme glukosa, zat aditif tersebut mencegah terjadinya penurunan konsentrasi glukosa pada spesimen darah (Kiswari, 2014). zat aditif yang digunakan adalah natrium fluorida (NaF). Tabung NaF terdiri dari dua jenis yaitu tabung tanpa antikoagulan dan tabung tanpa antikoagulan [4]. Zat aditif NaF dapat mengawetkan sampel dalam tiga hari dan sekaligus dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Nugraha, 2022).

I. Wadah Pembuangan Jarum

Wadah pembuangan jarum atau *sharps containers* merupakan wadah yang *biohazard* yang telah diberi label dan tahan terhadap tusukan, selain itu wadah pembuangan harus dapat ditutup rapat, dan anti bocor. Jarum yang telah digunakan pada pasien merupakan limbah biohazard, jarum dibuang dalam keadaan adaptor masih terpasang segera setelah mengaktifkan alat pengaman jarum (Kiswari, 2014).



Gambar 2.15 Jenis Wadah Pembuangan Jarum (Keohane et al., 2016)

J. Baki Flebotomi

Baki flebotomi merupakan wadah yang digunakan pada saat melakukan flebotomi yang berisi peralatan yang dibutuhkan, baki dapat berbentuk kotak jinjing dan troli yang harus dikosongkan seminggu sekali dan didesinfeksi menggunakan larutan pemutih 10%

(Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.16 Baki Flebotomi (Warekois & Robinson, 2016)

Sistem Pengambilan Darah

Sistem pengambilan darah (flebotomi) merupakan prosedur yang dilakukan oleh flebotomis dalam mengumpulkan darah dari pembuluh darah. Sistem flebotomi pada pungsi vena dibagi dua, yaitu sistem tertutup dan sistem terbuka, sistem tertutup dalam flebotomi merupakan proses pengambilan darah menggunakan alat vakum yang dilengkapi dengan *holder* dan jarum. Flebotomi sistem vakum dapat mengurangi risiko paparan langsung terhadap darah dan mempermudah pengambilan banyak sampel dari satu pungsi vena. Sistem terbuka dalam flebotomi merupakan proses pengambilan darah menggunakan spuit dan jarum, salah satu kekurangan pada flebotomi sistem terbuka adalah adanya resiko tertusuk jarum dan sulit memperoleh volume sampel darah sesuai kebutuhan pemeriksaan (WHO, 2010)

Prosedur Pungsi Vena

Prosedur pungsi vena mulai dari pertemuan pertama dengan pasien hingga pengambilan sampel selesai dan flebotomis meninggalkan tempat pengambilan sampel, langkah-langkah pungsi vena, adalah :

1. Menyapa dan mengidentifikasi pasien.
 - a. Pungsi vena yang dilakukan pada pasien rawat inap, seorang flebotomis mengetuk pintu sebelum memasuki ruangan perawatan, dan mengucapkan salam.
 - b. Perkenalkan diri dan menjelaskan maksud dan tujuan untuk melakukan pungsi vena.
 - c. Jika pasien menanyakan tujuan tes, flebotomis sebaiknya menyampaikan singkat pemeriksaat tersebut atas permintaan dokter dan informasi tentang tujuan dan hasil tes dapat ditanyakan pada dokter yang bersangkutan.

- d. Flebotomis meminta pasien untuk menyebutkan nama lengkap dan tanggal lahir.
- e. Periksa daftar permintaan atau label dengan informasi yang diberikan pasien dan pita identitas pasien. Pita ID biasanya dipasang di pergelangan tangan pasien.
- f. Tanyakan kepada pasien kondisi pasien, diantaranya apakah pasien sedang berpuasa atau sedang mengonsumsi obat karena akan mempengaruhi hasil tes.
- g. Tanyakan kepada pasien apakah pernah melakukan pengambilan darah sebelumnya dan menanyakan masalah pada saat melakukan pengambilan darah seperti pingsan atau kesulitan menemukan pembuluh darah.
- h. Tempatkan baki flebotomi pada permukaan yang rata dan dekat dengan pasien, tetapi tidak menempatkan di tempat tidur atau meja makan pasien.

2. Persiapan Pasien

- a. Verifikasi persiapan pasien, sampel yang membutuhkan puasa sebelum tes, flebotomis menanyakan kepada pasien kapan terakhir kali pasien makan atau minum.
- b. Pasien harus diposisikan demi keamanan dan kenyamanan. Tidak boleh mengambil darah dari pasien yang sedang duduk di bangku tinggi atau berdiri. Pasien rawat jalan dapat duduk di kursi khusus dengan penyangga lengan. Jika kaki pasien disilangkan, minta dia untuk melepaskannya untuk meningkatkan stabilitasnya. Untuk pasien rawat inap, flebotomis boleh menurunkan rel tempat tidurnya akses yang lebih baik.
- c. Sangga lengan pasien yang akan melakukan pungsi vena di bawah siku dengan bantal, kecuali lengan pasien sudah bertumpu pada tempat tidur.
- d. Jelaskan prosedurnya, dan dapatkan persetujuan lisan dari pasien. Pasien harus menyetujui prosedur ini sebelum flebotomis melanjutkan kegiatan, bukti tanda setuju dari pasien ada tanda tangan dengan nama terang pasien pada formulir pemeriksaan.

3. Persiapan alat pelindung diri (APD)

4. Pemasangan turniket

- a. Turniket dipasang 3 sampai 4 inci di atas lokasi tusukan, tidak meletakkan turniket di atas luka terbuka, tidak satu jalur dengan infus, pungsi vena dipilih dengan meraba vena, pasien diminta mengepalkan tangan.
- b. Pemasangan turniket tidak boleh lebih dari satu menit, jari pasien tidak boleh kesemutan, lengan pasien tidak merah, akibat dari pemasangan turniket yang

tidak sesuai mengakibatkan terjadinya hemokonsentrasi, hemolisis dan *petechiae*.

5. Pemilihan Vena

- a. Vena terbaik untuk pungsi vena terletak di fosa antecubital, pada permukaan anterior lengan tepat distal siku.
- b. Vena cubiti media adalah vena pilihan pertama, letaknya di tengah permukaan lengan, berukuran besar dan tidak bergerak saat jarum dimasukkan.
- c. Vena sefalika adalah vena pilihan kedua terletak pada sisi lengan yang sama dengan ibu jari. Akses ke vena sefalika bisa jadi sulit karena lokasinya di tepi luar lengan. Namun, seringkali vena ini merupakan satu-satunya vena yang dapat dipalpasi (terletak dengan sentuhan) pada pasien obesitas.
- d. Vena basilika, merupakan pilihan ketiga yang terletak pada sisi lengan yang sama dengan jari kelingking. Ini adalah yang paling tidak tertambat kuat, dekat dengan saraf median dan arteri brakialis, dan lokasinya dekat brakialis. Flebotomis yang memasukkan jarum terlalu dalam, dapat mengakibatkan saraf dapat terbentur dan/atau arteri tertusuk.
- e. Sampel darah juga dapat diambil dari pembuluh darah pergelangan tangan dan tangan, namun hal ini memerlukan set infus bersayap (kupu-kupu) dengan jarum dan tabung yang lebih kecil, sehingga pengambilan darah menjadi lebih lambat dan meningkatkan risiko hemolisis.

6. Palpasi vena

- a. Vena yang paling baik ditemukan dengan cara palpasi, atau merasakan, bukan dengan melihat. Palpasi dilakukan dengan tourniquet terpasang. Jari telunjuk ditekan perlahan ke atas dan ke bawah untuk menentukan kedalaman, lebar, dan arah vena. Palpasi dengan jari telunjuk keduanya sejajar dan tegak lurus terhadap vena untuk merasakan lebar dan kedalaman vena. Pembuluh darah terasa kenyal, kenyal, dan kencang dan tendon terasa kaku dan tidak dapat bangkit kembali, sedang pembuluh darah arteri berdenyut.
- b. Flebotomis kesulitan menemukan lokasi vena, dapat meningkatkan sirkulasi dengan memijat lembut lengan tempat vena berada atau dengan meminta pasien mengepalkan tangan dapat pula menghangatkan lengan dengan lembut menggunakan handuk hangat atau kompres panas.

7. Persiapan alat

- a. Flebotomi mengumpulkan alat dan bahan yang digunakan untuk flebotomi

dengan memeriksa ulang tanggal kadaluwarsa pada tabung.

- b. Menyiapkan jarum untuk pungsi vena, memasang jarum ke adaptor.
 - c. Membawa semua peralatan ke area tempat pengambilan pungsi vena.
8. Bersihkan area penusukan
- a. Dengan menggunakan isopropil alkohol 70% atau antiseptik lainnya, bersihkan area penusukan secara melingkar konsentris, sekali usap
 - b. Area penusukan dibiarkan mengering selama 30 hingga 60 detik. Ini memberikan tindakan bakteriostatik maksimum, menghindari hemolisis spesimen, dan mencegah rasa perih pada pasien. Tidak meniup area penusukan. Jika vena perlu dipalpasi ulang, area tersebut harus dibersihkan kembali sebelum dilakukan tusukan.
9. Pemasangan kembali turniket
- Jika flebotomis melepas tourniquet selama area penusukan dibersihkan, untuk mencegah hemokonsentrasi atau hemolisis, turniket dipasang kembali ketika akan dilakukan penusukan setelah area penusukan dibersihkan dengan antiseptik.
10. Pemeriksaan jarum
- Buka tutup jarum dan periksa apakah ada cacat, seperti titik jarum tumpul atau berduri, lumen tersumbat, atau batang bengkok. Lakukan pemeriksaan ini di luar jangkauan pandang pasien, untuk menghindari kecemasan pasien. Buang jarum atau peralatan apa pun jika rusak.
11. Pungsi vena sistem tertutup (vakum)
- a. Kencangkan vena dengan menarik perlahan kulit hingga kencang menggunakan ibu jari tangan, 1 hingga 2 inci di bawah lokasi pungsi vena.
 - b. Masukkan jarum dengan posisi sudut 15 sampai 30 derajat terhadap permukaan kulit, dengan posisi lumen jarum menghadap ke atas. Gunakan jari telunjuk dan ibu jari tangan kanan pada saat jarum ditusukkan, darah akan kelihatan masuk pada jarum holder .
 - c. Tabung vakum dimasukkan pada holder dengan menggunakan ibu jari, tabung ditekan hingga terkunci.
 - d. Tabung vakum dibiarkan terisi penuh dengan sampel darah hingga darah berhenti mengalir.
 - e. Lepaskan tabung ketika darah berhenti mengalir, tarik perlahan tabung untuk

melepaskan.

- f. Tourniquet dapat dilepas setelah darah mulai mengalir ke dalam tabung, tourniquet harus dilepas sebelum jarum dikeluarkan dari vena untuk mencegah pembentukan hematoma, yaitu area yang memerah dan bengkak tempat darah terkumpul di bawah kulit. Hematoma terbentuk ketika tekanan ekstra dari tourniquet memaksa darah keluar melalui tusukan.
- g. Luka tusukan ditutup dan ditekan dengan kapas kering selama 5 menit, setelah dipastikan tidak ada darah yang keluar, bekas luka ditutup menggunakan plester.
- h. Jarum yang digunakan di buang dalam wadah pengumpul jarum.
- i. Tabung vakum yang berisi sampel darah diberi label, flebotomis tidak meninggalkan ruangan tanpa memberi label terlebih dahulu pada tabung. Gunakan pensil atau spidol tidak permanen pada saat memberi label dan harus mencantumkan nama dan nomor Id pasien, tanggal dan waktu pengambilan. Jika menggunakan label yang dibuat oleh komputer, pastikan label tersebut berisi semua informasi yang diperlukan, lalu tambahkan inisial atau nomor Id Phlebotomis serta tanggal dan waktu pengambilan. Tulis juga di formulir pemeriksaan.
- j. Periksa lokasi tusukan untuk memastikan pendarahan telah berhenti.
- k. Ucapkan terima kasih kepada pasien.
- l. Kirimkan spesimen ke laboratorium, lengkapi dokumen yang dibutuhkan (Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.17 Pungsi vena sistem tertutup / vakum (Nugraha, 2022)

12. Pungsi vena sistem terbuka (sput)

- a. Siapkan spuit dan jarum yang akan digunakan untuk pungsi vena.
- b. Putar jarum ke ujung spuit, tarik piston spuit (plunger) untuk memastikan bisa

bergerak bebas, lalu dorong kembali untuk mengeluarkan udara, disisakan sedikit rongga diujung spuit agar ada kondisi vacuum, untuk melihat indikator masuknya darah pada jarum

- c. Kencangkan vena dengan menarik perlahan kulit hingga kencang menggunakan ibu jari tangan, 1 hingga 2 inci di bawah lokasi pungsi vena.
- d. Lakukan pungsi vena, kilatan darah akan muncul di jarum menandakan bahwa jarum telah masuk ke dalam vena.
- e. Berbeda dengan tabung vakum, jarum spuit tidak otomatis terisi darah. Tarik piston spuit (plunger) secara merata, lembut, dan perlahan untuk mengeluarkan darah.
- f. Turniket dilepaskan segera atau < 1 menit setelah sampel darah masuk ke dalam spuit.
- g. Lanjutkan mengisap darah hingga spuit terisi penuh sesuai kebutuhan pemeriksaan, flebotomis mengarahkan pasien untuk melepaskan kepala tangan secara perlahan.
- h. Setelah tourniquet dilepas, jarum ditarik secara perlahan, letakkan kain kasa pada lokasi penusukan dan memindahkan sampel darah ke dalam tabung.
- i. Lepaskan kasa jika darah sudah berhenti dan tutup luka menggunakan plester.
- j. Tabung diberi label nama dan nomor ID pasien, tanggal dan waktu pengambilan.
- k. Buang spuit dan jarum dalam wadah yang telah disediakan (Warekois & Robinson, 2016).



Gambar 2.18 Pungsi vena sistem terbuka / spuit (Nugraha, 2022)

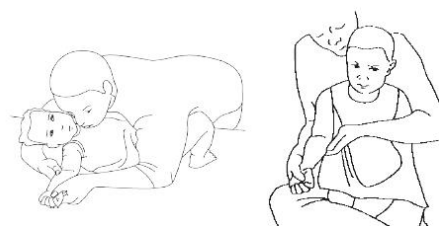
Pungsi Vena pada Anak dan Bayi

Flebotomi pada bayi (neonatus) atau pada anak (pediatrik) harus dilakukan oleh flebotomis yang memiliki pengalaman, keterampilan khusus untuk mengurangi rasa sakit

dan trauma psikologis (WHO, 2010). Keterampilan interpersonal yang baik diperlukan seorang flebotomis dalam menghadapi orang tua yang mendampingi pasien anak dengan kondisi yang putus asa, selain itu keterampilan interpersonal flebotomis juga dibutuhkan dalam menghadapi pasien anak-anak atau bayi yang menangis, menjerit atau ketakutan (Keohane et al., 2016). Imobilisasi pasien sangat penting dilakukan untuk keselamatan pasien anak dan neonatal yang menjalani proses mengeluarkan darah.

Prosedur flebotomi pada bayi dan anak-anak diawali dengan identifikasi pasien dengan menggunakan identitas pada gelang tangan atau kaki, tidak menggunakan identitas tempat tidur atau ranjang pasien. Tanyakan nama depan dan nama belakang pasien kepada orang tua atau wali yang mendampingi, kemudian periksa apakah nama, tanggal lahir yang tertera pada formulir laboratorium sesuai dengan identitas pasien. *Venapuncture* adalah metode pengambilan sampel darah yang disukai untuk neonatus dibandingkan tusukan tumit. Pasien anak-anak dan bayi sebaiknya menggunakan jarum ukuran 22 atau 23 menggunakan *winged needle*, flebotomis sebaiknya menghindari ukuran 25 karena akan menyebabkan risiko hemolisis (WHO, 2010) volume darah yang boleh diambil dalam hari tersebut adalah maksimal 10 % dari berat badan neonatus.

Salah satu persiapan yang dilakukan seorang flebotomis adalah menanyakan kepada orang tua apakah bersedia membantu imobilisasi pada saat pengambilan darah, imobilisasi dapat dilakukan dengan cara pasien anak dan bayi ditidurkan (Nugraha, 2022).



Gambar 2.19 Imobilisasi pasien anak dan bayi (WHO, 2010)

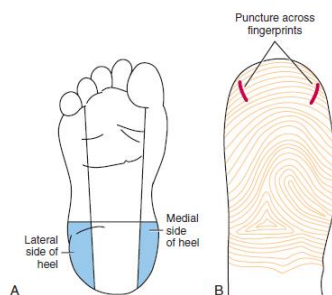
Pengambilan Darah Kapiler

Pengambilan darah kapiler disebut tusukan dermal atau tusukan kulit, suatu prosedur pengumpulan darah yang dilakukan pada bayi (Warekois & Robinson, 2016). Pada pasien dewasa, pengambilan darah kapiler dapat digunakan pada pasien yang mengalami luka bakar parah dan pembuluh darah untuk tujuan terapeutik, pada pasien yang sangat gemuk, dan pada pasien lanjut usia dengan pembuluh darah rapuh. Darah yang diperoleh dari kapiler merupakan campuran darah dari venula, arteriol, kapiler, serta cairan interstisial

dan intraseluler (Keohane et al., 2016).

Pengambilan darah kapiler merupakan salah satu metode untuk memperoleh sampel darah selain pungsi vena, metode yang digunakan pada bayi baru lahir dan bayi untuk bilirubin neonatal, skrining bayi baru lahir, selain itu darah kapiler juga digunakan untuk tes glukosa darah, pada pasien geriatri yang kadang memiliki pembuluh darah kecil atau rapuh yang dapat menyulitkan pengambilan darah vena. Namun beberapa tes tidak dapat dilakukan pada darah yang berasal dari kapiler yaitu kultur darah dan sebagian besar tes koagulasi rutin, pengambilan darah kapiler juga tidak boleh dilakukan pada tempat yang bengkak atau dimana sirkulasi atau drainase limfatik terganggu. Nilai referensi hasil pemeriksaan yang kemungkinan tinggi dalam darah kapiler yaitu glukosa, hemoglobin dan kalium (sampel serum) (Warekois & Robinson, 2016).

Lokasi pengambilan darah kapiler pada bayi di bawah usia 1 tahun adalah permukaan tumit plantar (bawah), lateral (luar), atau media (dalam) dengan kedalaman tusukan tidak boleh lebih dari 2 mm. Pada anak-anak usia 1 tahun dan pada orang dewasa permukaan palmar pada bagian distal jari ketiga (tengah) atau keempat (cincin) pada tangan nondominan dapat digunakan. Tusukan pada jari harus dibuat tegak lurus terhadap garis sidik jari, jari-jari bayi tidak boleh tertusuk karena risiko cedera tulang pada bayi (Keohane et al., 2016).



Gambar 2.20 Lokasi pengambilan kapiler, A. Tumit B. Jari (Keohane et al., 2016)

Sebelum pengambilan darah kapiler, flebotomis harus menghangatkan lokasi tusukan kulit dengan alat penghangat atau dengan menggunakan kain lap hangat dengan suhu tidak lebih dari 42°C dan tidak lebih dari 3 hingga 5 menit. Tujuan menghangatkan lokasi penusukan adalah dapat meningkatkan aliran darah tujuh kali lipat. Selain itu flebotomis lokasi tusukan kulit dibersihkan dengan isopropil alkohol 70% dan dibiarkan hingga kering.

Flebotomis tidak boleh menusuk area yang bengkak, memar, terinfeksi, atau sudah

tertusuk. Selain itu pada kulit pada pasien dengan edema, dehidrasi, atau sirkulasi perifer yang buruk dapat mengakibatkan akurasi pengujian dapat terganggu. Tetesan darah pertama harus dibersihkan dengan kain kasa bersih untuk mencegah kontaminasi spesimen dengan cairan jaringan dan untuk memperlancar aliran darah bebas.

Peralatan yang digunakan untuk pengambilan darah kapiler adalah lanset steril yang menusuk atau pisau steril yang membuat sayatan kecil pada kulit. Lancet atau bilahnya memiliki pegas di dalam perangkat, dan ketika diaktifkan oleh flebotomis akan menembus kulit. Alat tersebut sekali pakai, alat tersedia untuk bayi baru lahir, anak-anak, dan orang dewasa yang menghasilkan tusukan atau sayatan dengan kedalaman berbeda-beda di kulit. Wadah yang digunakan untuk menampung darah dari tusukan kulit meliputi tabung kapiler dan tabung mikrokoleksi. Tabung kapiler dengan berbagai ukuran tersedia dengan atau tanpa heparin, tabung yang digunakan sebaiknya tabung plastik untuk menghindari cedera akibat pecahan kaca. Tabung mikrokoleksi tersedia dengan atau tanpa bahan tambahan berdasarkan warna tutup tabung.



Gambar 2.21 Peralatan pengambilan darah kapiler, A. Alat penusukan, B. Tabung mikrokoleksi (Keohane et al., 2016)

Prosedur pengambilan darah kapiler adalah :

1. Siapkan permintaan pemeriksaan.
2. Mengidentifikasi pasien dengan meminta pasien atau orang tua menyebutkan secara lisan nama lengkap pasien dan mengkonfirmasi dengan nomor identifikasi pasien, alamat, dan/atau tanggal lahir. Pastikan informasi yang sama ada pada formulir permintaan.
3. Posisikan pasien dan orang tuanya (atau individu yang ditunjuk untuk menggendong bayi atau anak kecil) sesuai kebutuhan.
4. Cuci tangan dan kenakan sarung tangan.
5. Kumpulkan alat yang akan digunakan serta tabung yang sesuai untuk pengujian yang diminta. Periksa dokumen dan pemilihan tabung.
6. Pilih lokasi tusukan.

7. Hangatkan tempat tusukan.
8. Bersihkan tempat tusukan dengan isopropil alkohol 70% menggunakan lingkaran konsentris, lakukan dari dalam ke luar. Biarkan kulit mengering.
9. Buka dan periksa alat tusuk sekali pakai yang steril, dan lakukan tusukan sambil memegang tumit atau jari dengan kuat. Buang perangkat ke dalam wadah benda tajam yang sesuai.
10. Seka tetes darah pertama dengan kain kasa yang bersih dan kering. Ini menghilangkan sisa alkohol dan kontaminasi cairan jaringan.
11. Kumpulkan darah dalam tabung penampung yang sesuai dan homogenkan sesuai kebutuhan. Jika sampel darah yang diperoleh tidak mencukupi karena aliran darah terhenti, ulangi tusukan di tempat lain dengan peralatan baru.
12. Beri label pada setiap sampel darah dengan informasi yang diperlukan.
13. Buang semua peralatan tusukan dan bahan biohazard dengan benar.
14. Lepaskan sarung tangan dan cuci tangan.
15. Kirimkan spesimen yang diberi label dengan benar ke laboratorium (Keohane et al., 2016).



Gambar 2.22 Pengambilan darah kapiler pada bayi (Warekois & Robinson, 2016)

Komplikasi Flebotomi

Komplikasi yang dapat terjadi pada saat flebotomi adalah masalah komunikasi dengan pasien, kesalahan pemilihan area penusukan, desinfeksi pada lokasi tusukan, penggunaan turniket, kesalahan pada saat pengumpulan sampel dan kesalahan pada prosedur penyelesaian flebotomi. Kondisi tempat tusukan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, adalah terjadinya sklerosis dan oklusi pembuluh darah, dimana pembuluh darah mengeras yang diakibatkan adanya inflamasi, penyakit tertentu, kemoterapi dapat pula disebabkan karena pungsi vena yang dilakukan secara berulang di tempat tersebut, selain itu dapat kondisi edema dapat pula menyebabkan kesalahan hasil

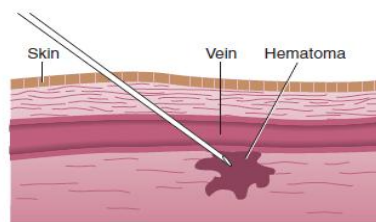
pemeriksaan, edema disebabkan adanya penumpukan cairan jaringan (Yuniarty, 2023).

Komplikasi flebotomi yang umum terjadi pada saat pungsi vena, adalah :

1. Hematoma

Hematoma merupakan suatu kondisi terjadinya pembengkakan di lokasi tusukan, akibat terjadinya kebocoran sehingga darah merembes dari vena ke jaringan sekitar. Hematoma menyebabkan warna kulit sekitar lokasi tusukan memar sampai berwarna kehitaman, penyebab dari hematoma, yaitu :

- a. Vena pasien tempat tusukan kecil dan rapuh.
- b. Jarum yang digunakan pada saat flebotomi terlalu besar.
- c. Flebotomis melakukan probing yang berlebihan pada saat mencari pembuluh darah vena.
- d. Jarum yang digunakan pada saat flebotomi melewati atau menembus vena.
- e. Flebotomis melepaskan jarum sebelum melepaskan turniket.
- f. Melipat / membengkokkan siku setelah dilakukan flebotomi.



Gambar 2.23 Terjadinya hematoma (Warekois & Robinson, 2016)

2. Ekimosis (memar)

Ekimosis adalah suatu keadaan komplikasi flebotomi akibat adanya kebocoran darah di jaringan di sekitar area pungsi vena. Ekimosis disebabkan karena pasien menekukkan lengan setelah dilakukan pungsi vena, dapat dicegah dengan memberikan tekanan di lokasi tusukan menggunakan kain kasa.

3. Sinkop (pingsan)

Sinkop merupakan salah satu komplikasi flebotomi yang disebabkan tekanan darah rendah pada saat dilakukan flebotomi sehingga aliran darah yang menuju otak berkurang atau jantung pasien tidak cukup menyuplai oksigen ke otak. Pertolongan pertama pada pasien yang mengalami sinkop adalah tourniquet dan jarum segera dilepaskan, kemudian pasien di dipindahkan dengan aman ke posisi berbaring, dan diberikan kompres dingin pada leher dan dahi (Nugraha, 2022).

4. Hemokonsentrasi

Hemokonsentrasi adalah kondisi dimana terjadi peningkatan konsentrasi sel darah merah dan analit ion kalium, fosfor, amonia dan protein total. Hemokonsentrasi dapat terjadi akibat pemasangan turniket yang terlalu lama pada lengan pasien, sehingga mengakibatkan plasma keluar ke jaringan sekitar yang kemudian menyebabkan sel-sel dalam darah terkonsentrasi (Buowari, 2013).

5. Hemolisis

Hemolisis merupakan suatu keadaan dimana sel darah merah pecah, yang mengakibatkan serum dan plasma berwarna merah. Hemolisis dapat terjadi akibat dari pungsi vena terlalu cepat ke dalam spuit, dan pada saat pengambilan darah menggunakan jarum yang terlalu kecil dari ukuran vena (Nugraha, 2022).

6. Petekie

Petekie merupakan salah satu komplikasi flebotomi akibat pemasangan turniket terlalu lama dan kencang sehingga menyebabkan permukaan kulit terdapat bintik merah, akibat keluarnya sejumlah kecil darah dari kapiler (Buowari, 2013).

7. Kejang

Kejang dapat terjadi pada pasien akibat respon pasien pada saat pungsi vena. Salah satu antisipasi jika terjadi kejang adalah flebotomis segera menghentikan proses flebotomi dengan melepaskan turniket dan melepaskan jarum (Buowari, 2013).

8. Emesis

Emesis atau mual, muntah pada pasien saat flebotomi disebabkan karena pasien yang mengalami stres fisik sebelum melakukan flebotomi, Ketika mual dan muntah terjadi flebotomis memberikan instruksi untuk bernafas perlahan, pasien diberikan kompres dingin pada bagian dahi dan kepala (Buowari, 2013).

9. Perdarahan

Perdarahan merupakan salah satu komplikasi yang dapat terjadi pada saat flebotomi, perdarahan dapat terjadi pada pasien yang melakukan pengobatan antikoagulan, aspirin dan obat yang menurunkan jumlah trombosit. Antisipasi penanganan komplikasi perdarahan yaitu dengan menekan lokasi tusukan selama lima menit, dan flebotomis dapat menghubungi perawat dan dokter jika perdarahan berlanjut (Buowari, 2013).



PRAKTIKUM

A. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:
Kesimpulan	:

Pembimbing

.....,
Praktikan

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat mengetahui pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakan Latihan berikut ini :

1. Lakukan pengambilan darah vena.
2. Lakukan pengambilan darah kapiler.

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar !

1. Seorang ATLM akan melakukan pengambilan darah pada pasien bayi 4 hari sebanyak 1 mL, untuk memudahkan pengambilan darah jarum ukuran berapakah yang digunakan pada saat pengambilan darah ?
 - A. 25 gauge
 - B. 22 gauge
 - C. 27 gauge
 - D. 24 gauge
 - E. 26 gauge
2. Pasien laki-laki usia 48 datang ke laboratorium untuk melakukan pemeriksaan darah lengkap,. ATLM menyiapkan alat dan bahan untuk pengambilan darah, agar sampel darah tidak membeku ATLM menggunakan Tabung vakum yang berisi antikoagulan. Antikoagulan apakah yang tepat untuk pemeriksaan tersebut ?
 - A. Natrium sitrat
 - B. EDTA
 - C. Heparin
 - D. Natrium sitrat buffer
 - E. Heparin gel polimer

3. Pada saat setelah pengambilan darah vena seorang pasien mengalami memar di jaringan sekitar area pungsi Vena, diduga akibat pasien menekukkan lengan setelah dilakukan pungsi vena. Komplikasi apa yang terjadi pada pasien ?
- A. Sinkop
 - B. Petekie
 - C. Hemolisis
 - D. Hematoma
 - E. Hemokonsentrasi
4. Pada saat pengambilan darah vena seorang pasien, pembuluh darah vena yang menjadi pilihan pertama dalam pengambilan darah adalah ?
- A. Vena cephalic
 - B. Vena median cubital
 - C. Vena basilic
 - D. Vena radial
 - E. Vena palmar
5. Apakah nama alat pengambilan darah yang digunakan dalam gambar di bawah ini ?



- A. Needle
- B. Wings
- C. Holder
- D. Evacuated tube
- E. Butterfly

Kunci Jawaban :

- 1. B
- 2. B
- 3. D
- 4. B
- 5. C

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui konsep flebotomi	10
2	Mengetahui anatomi pembuluh darah	10
3	Melakukan pengambilan darah vena	35
4	Melakukan pengambilan darah kapiler	35
5	Mengetahui komplikasi flebotomi	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Teknik pengambilan darah dikenal dengan nama flebotomi berasal dari bahasa Yunani, *phlebos* artinya pembuluh darah dan *tomia* yang artinya sayatan. Proses pengambilan darah dilakukan oleh seorang tenaga profesional yang memiliki keterampilan, dan pengetahuan yang dikenal sebagai flebotomis. Tugas utama seorang flebotomis adalah mengumpulkan sampel darah atas permintaan dokter atau tenaga profesional kesehatan untuk dianalisis di laboratorium. Pembuluh darah manusia terdiri atas tiga jenis, yaitu arteri, kapiler dan pembuluh darah vena, Pembuluh darah arteri mempunyai fungsi membawa darah dari jantung dan pembuluh darah vena memiliki fungsi membawa darah kembali ke jantung. Peralatan dan bahan yang digunakan pada saat pengambilan darah adalah turniket, sarung tangan medis, antiseptik, plester, spuit, holder, jarum, tabung evakuasi, wadah pembuangan jarum, baki flebotomi. Sistem flebotomi pada pungsi vena yaitu sistem tertutup dan sistem terbuka, sistem tertutup dalam flebotomi merupakan proses pengambilan darah menggunakan alat vakum yang dilengkapi dengan *holder* dan jarum sedangkan sistem terbuka dalam flebotomi merupakan proses pengambilan darah menggunakan spuit dan jarum. Komplikasi flebotomi yang umum terjadi pada saat pungsi vena antara lain hematoma, ekimosis, sinkop, hemokonsentrasi, hemolisis, petekie, kejang, emesis, dan perdarahan,



DAFTAR PUSTAKA

- Anwari, F. (2023). *Flebotomi* (1st ed.). CV. Qiara Media.
- Arif, M. (2011). *Dasar-dasar Flebotomi* (1st ed.). Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin (LEPHAS).
- Buowari, O. Y. (2013). Complications of venepuncture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 04(01), 126–128. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.41a018>
- Keohane, E. M., Smith, La. J., & Walenga, J. M. (2016). *Rodak's Hematology Clinical Principles And Applications*.
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi* (1st ed.). Erlangga.
- Nugraha, G. (2022). *Teknik Pengambilan dan Penanganan Spesimen Darah Vena Manusia Untuk Penelitian*. LIPI Press.
- Nuramdani, M. (2023). *Fungsi Sarung Tangan Medis Latex dan Cara Menggunakannya*. Farmaku Artikel.
- OneMed. (n.d.-a). *One Swab*.
https://onemed.co.id/index.php?route=product/product&path=139_88&product_id=600
- OneMed. (n.d.-b). *Plesterin bulat non woven*.
https://onemed.co.id/index.php?route=product/product&product_id=679
- Warekois, R. S., & Robinson, R. (2016). *Phlebotomy* (4th ed.). Elsevier.
<http://evolve.elsevier.com/Warekois/phlebotomy/YOU'VEJUSTPURCHASED>
- WHO. (2010). *WHO Guidelines On Drawing Blood : Best Practices In Phlebotomy*. WHO.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241599221>
- Yuniarty, T. (2023). Komplikasi Flebotomi. In *Flebotomi* (1st ed., pp. 183–192). CV. Eureka Media Aksara.

BAB III

BAHAN DAN ALAT UNTUK PEMERIKSAAN HEMATOLOGI



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami jenis-jenis bahan dan alat untuk pemeriksaan hematologi
2. Mahasiswa mampu memahami fungsi dari jenis-jenis bahan dan alat untuk pemeriksaan hematologi



PENDAHULUAN

Instrumen yang digunakan pada pemeriksaan hematologi di laboratorium klinik menggunakan metode otomatisasi dan metode manual yang terdiri instrumen utama dan instrumen pendukung (Ramadhani & Raga, 2022) (Dosen, 2019) (Riswanto, n.d.).

1. *Haematology automatic analyzer*

Seiring berjalannya waktu, instrumen pemeriksaan yang digunakan di laboratorium semakin berkembang. Salah satu instrumen utama di laboratorium hematologi yaitu *hematology analyzer* yang memiliki fungsi untuk mengukur sampel darah secara automatic.

Prinsip pengukuran yang digunakan pada alat *analyzer* adalah *Flow cytometry*, suatu metode pengukuran (metri) jumlah sel dan sifat-sifat sel (cyto), yang dibungkus oleh aliran cairan tertentu (flow) kemudian sel dialirkan melalui celah sempit .

Keunggulan alat *hematology analyzer* adalah peningkatan efisiensi waktu pemeriksaan, hasil pemeriksaan dapat memanfaatkan quality control (QC) secara online dengan dukungan sistem komunikasi jaringan yang terdapat pada instrumen tersebut.



Gambar 3.1 Haematology analyzer (Imazu, 2002)

2. Fotometer

Fotometer merupakan alat di laboratorium klinik untuk mengukur intensitas, penyerapan atau kekuatan cahaya suatu larutan sampel. Fotometer digunakan untuk mengukur analit dalam darah baik sampel plasma atau serum.

Prinsip kerja fotometer adalah sampel pasien yang telah diinkubasi dimasukkan ke dalam aspirator sampai ke dalam kuvet dan kemudian dibaca oleh sinar cahaya, setelah itu sampel pasien dimasukkan ke dalam pompa peristaltik menuju ke pembuangan (Atmojo, 2019).

Pada laboratorium hematologi instrumen fotometer digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin, pemeriksaan fragilitas osmotik dan pemeriksaan kadar HbF metode denaturasi alkali (Dosen, 2019).



Gambar 3.2 Fotometer (Atmojo, 2019)

3. Mikroskop

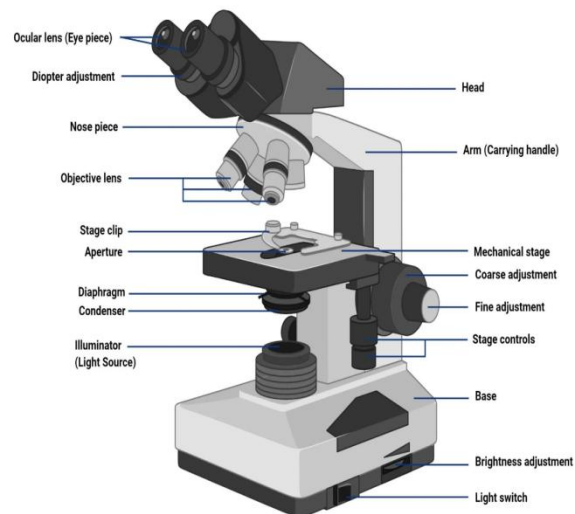
Mikroskop adalah instrumen yang digunakan untuk memperbesar benda kecil pada skala yang sesuai untuk pemeriksaan. Mikroskop pada bidang hematologi digunakan untuk menentukan sel dan mengamati morfologi dari sel (Riswanto, n.d. 2013). Beberapa jenis mikroskop dapat digunakan untuk mengamati suatu objek pada tingkat sel dengan melihat bentuk sel, nukleus, mitokondria dan organel sel lainnya.

Prinsip kerja mikroskop adalah pembesaran optik, bayangan benda akan lebih besar dari ukuran aslinya. Sistem pada komponen mikroskop terdiri atas 4, yaitu :

- a. Sistem penyangga (*Support system*). Sistem penyangga terdiri dari kaki mikroskop,

lengan mikroskop, pengubah objektif, meja objektif dan meja mekanis.

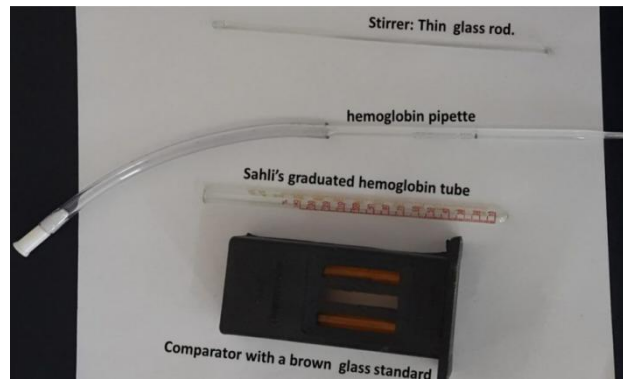
- b. Sistem pembesaran (*magnification system*), komponen pembesaran terdiri dari sistem lensa yaitu lensa objektif dan lensa okuler.
- c. Sistem iluminasi (*illumination system*), komponen ini terdiri atas sumber cahaya, cermin mikroskop, kondensator, diagfragma, dan filter.
- d. Sistem pengaturan (*adjustment system*), sistem pengaturan pada mikroskop terdiri atas pengatur fokus besar, pengatur fokus halus, pengatur kondensator, pemusat kondensator, pengatur diagfragma, dan pengatur meja benda (Riswanto, n.d, 2013) (Chairlan & Lestari, 2002).



Gambar 3.3 Mikroskop (Shannon & Ford, 2024)

4. Hemoglobinometer

Hemoglobinometer dikenal juga dengan istilah Hemometer Sahli, adalah alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin metode Sahli, Hemometer Sahli dilengkapi dengan alat pembanding warna atau standar warna yang berwarna coklat terdiri dari dua warna pembanding. Tabung hemoglobin yang dilengkapi dengan dua skala, yaitu skala g% dan skala %. Pipet hemoglobin merupakan pipet mikro dengan dasar putih volume 20 cmm dan pipet pengencer (Kiswari, 2014).



Gambar 3.4 Hemoglobinometer (Shankar, 2016)

5. Hemositometer

Hemositometer adalah alat yang digunakan untuk pemeriksaan hitung jumlah sel secara manual, terdiri dari beberapa bagian, yaitu bilik hitung, kaca penutup, dan pipet thoma untuk pengenceran darah (Dosen, 2019).

Bilik hitung (*counting chamber*) terbuat dari kaca tebal berbentuk persegi panjang yang ditemukan pertama kali oleh Louis-Charles Malassez. Bagian dari bilik hitung adalah dua area perhitungan sel darah berbentuk permukaan rata dan memiliki garis, kedua area dipisahkan oleh sebuah cekungan, cekungan tersebut berada di sebelah kanan dan kiri area perhitungan. Selain itu bilik hitung dilengkapi dua tanggul (*mounting support*) yang terletak disebelah kanan dan kiri dan dibatasi oleh cekungan.

Bilik hitung yang digunakan di laboratorium adalah bilik hitung *improved Neubauer* yang memiliki luas 9 mm² yang terbagi menjadi 9 bidang besar dengan luas masing-masing 1 mm².

Pipet thoma merupakan pipet yang digunakan untuk mengencerkan darah, pipet berbentuk pipa kapiler yang memiliki bulatan lonjong di bagian tengah dan dilengkapi dengan sebutir kaca berwarna putih untuk hitung sel leukosit dan merah untuk hitung sel eritrosit. Skala pipet eritrosit adalah 0,5, 1 dan 101 dan pipet leukosit adalah 0,5, 1 dan 11.



Gambar 3.5 Bilik hitung improved Neubauer (Lab, n.d.)



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

D. Tugas

Untuk dapat mengetahui pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Jelaskan jenis-jenis bahan dan alat untuk pemeriksaan hematologi.
2. Jelaskan fungsi bahan dan alat untuk pemeriksaan hematologi.

E. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar !

1. Seorang ATLM di Rumah sakit menerima spesimen darah untuk dilakukan pemeriksaan hematologi rutin. Instrumen yang digunakan untuk pemeriks rutin mempunyai prinsip pengukuran *Flow cytometry*. Instrumen apakah yang digunakan untuk pemeriksaan tersebut ?
 - A. Fotometer
 - B. Mikroskop
 - C. Hemositometer
 - D. Hemoglobinometer
 - E. Automatic analyzer
2. Seorang ibu hamil dengan kehamilan trimester kedua datang ke laboratorium puskesmas atas permintaan dokter untuk melakukan pemeriksaan hemoglobin, ATLM melakukan pemeriksaan secara manual. Alat apakah yang digunakan untuk pemeriksaan tersebut ?
 - A. Fotometer
 - B. Mikroskop
 - C. Hemositometer
 - D. Hemoglobinometer
 - E. Automatic analyzer
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung leukosit menggunakan metode manual. ATLM menggunakan bilik hitung untuk menghitung sel darah, kaca penutup dan pipet Thoma untuk pengenceran darah. Berapakah skala pipet Thoma untuk pemeriksaan leukosit ?
 - A. 0,5, 1 dan 11
 - B. 0,5, 1 dan 101

- C. 0,5, 11 dan 1
 - D. 1, 0,5 dan 101
 - E. 101, 1 dan 0,5
4. Seorang ATLM diminta melakukan pemeriksaan hemoglobin pada pasien ibu hamil. ATLM melakukan pemeriksaan metode Sahli menggunakan alat Hemoglobinometer yang dilengkapi dengan tabung hemoglobin yang memiliki dua skala. Berapakah skala yang tertera pada tabung tersebut ?
- A. g% dan 1%
 - B. g% dan %
 - C. % dan ml
 - D. %
 - E. g%
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung eritrosit menggunakan metode manual. ATLM menggunakan bilik hitung untuk menghitung sel darah, kaca penutup dan pipet Thoma untuk pengenceran darah. Berapakah skala pipet Thoma untuk pemeriksaan Eritrosit ?
- A. 0,5, 1 dan 101
 - B. 11, 1 dan 101
 - C. 0,5, 101 dan 1
 - D. 1, 0,5 dan 101
 - E. 101, 1 dan 0,5

Kunci Jawaban :

- 6. E
- 7. D
- 8. A
- 9. B
- 10. A

F. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui instrumen <i>Haematology automatic analyzer</i>	20
2	Mengetahui instrumen fotometer	20
3	Mengetahui instrumen mikroskop	20
4	Mengetahui instrumen Hemoglobinometer	20
5	Mengetahui instrumen Hemositometer	20
Jumlah		100



RINGKASAN

Instrumen yang digunakan pada pemeriksaan hematologi di laboratorium klinik menggunakan metode otomatisasi dan metode manual yang terdiri instrumen utama dan instrumen pendukung. Instrumen utama yang digunakan antara lain *Haematology automatic analyzer* yang menggunakan prinsip pengukuran adalah *Flow cytometry*, Keunggulan alat hematology analyzer adalah peningkatan efisiensi waktu pemeriksaan. Selain itu alat yang digunakan adalah Fotometer yaitu alat untuk mengukur intensitas, penyerapan atau kekuatan cahaya suatu larutan sampel. Fotometer digunakan untuk mengukur analit dalam darah baik sampel plasma atau serum. Prinsip kerja fotometer adalah sampel pasien yang telah diinkubasi dimasukkan ke dalam aspirator sampai ke dalam kuvet dan kemudian dibaca oleh sinar cahaya, setelah itu sampel pasien dimasukkan ke dalam pompa peristaltik menuju ke pembuangan.

Instrumen pendukung yang digunakan antara lain mikroskop yang digunakan untuk memperbesar benda kecil pada skala yang sesuai untuk pemeriksaan. Prinsip kerja mikroskop adalah pembesaran optik, bayangan benda akan lebih besar dari ukuran aslinya. Instrumen pendukung lain dalam pemeriksaan hematologi adalah Hemoglobinometer dikenal juga dengan istilah Hemometer Sahli, adalah alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin metode Sahli dan Hemositometer yaitu alat yang digunakan untuk pemeriksaan hitung jumlah sel secara manual, terdiri dari beberapa bagian, yaitu bilik hitung, kaca penutup, dan pipet thoma untuk pengenceran darah.



DAFTAR PUSTAKA

- Atmojo, T. . (2019). *Fotometer 5010*. Indonesian Medical Laboratory.
- Chairlan, & Lestari, E. (2002). *Pedoman Teknik Dasar Untuk Laboratorium Kesehatan* (2nd ed.). EGC.
- Dosen, T. (2019). *Hematologi*. EGC.
- Imazu, M. (2002). General Description of the Automated Hematology Analyzer , XT-2000 i. *Sysmex Journal International*, 12(1), 13–17.
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi* (1st ed.). Erlangga.
- Lab, C. (n.d.). *Kamar Hitung (Improved Neubauer) Senjata Tradisional Seorang ATLM Di Bidang Hematologi*.
- Ramadhani, D. G., & Raga, E. (2022). Perbandingan Pemeriksaan Trombosit Cara Rees Ecker dan Amonium Oxalate dengan Gold Standard Hematology Analyzer. *Cerdika: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 2(3), 358–364.
- Riswanto. (n.d.) (2013). *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi* (1st ed.). Alfamedika.
- Shankar, V. (2016). *Sahli's Hemoglobinometer*.
- Shannon, R. ., & Ford, B. (2024). *Microscope*.

BAB IV

ANTIKOAGULAN



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami macam-macam antikoagulan dalam pemeriksaan hematologi
2. Mahasiswa mampu memahami kegunaan dari macam-macam antikoagulan dalam pemeriksaan hematologi.



PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium hematologi merupakan pemeriksaan yang menggunakan spesimen darah yang bertujuan untuk mendefinisikan sel-sel darah serta menentukan sifat kelainannya. Jenis spesimen darah yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi adalah *whole blood* atau plasma dan serum. Plasma adalah darah yang ditambahkan antikoagulan yang bertujuan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Antikogulan merupakan zat yang pada dasarnya mengikat atau mengendapkan ion calcium dan akan menghambat pembentukan trombin. Trombin adalah enzim yang berperan dalam mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin. Ada beberapa jenis antikogulan yang digunakan pada laboraorium, dimana pemilihan jenis antikoagulan ini berdasarkan tujuan pemeriksaan yang akan dilakukan (Dosen TLM Indonesia, 2020)

Antikogulan yang sering digunakan pada pemeriksaan hematologi antara lain EDTA, heparin, oksala dan sitrat. Saat ini, antikogulan tersebut dalam praktek laboratorium tersedia dalam bentuk tabung hampa udara atau sering disebut dengan tabung vakum (Riswanto, 2013). Tabung ini memiliki beberapa ukuran dimana pemilihan ukuran tabung berdasarkan tujuan pemeriksaan, volume spesimen yang dibutuhkan untuk pemeriksaan, kondisi pasien dan usia pasien. Warna tutup tabung vacum menunjukkan jenis antikoagulan yang digunakan dalam tabung tersebut dan untuk memahami jenis dan warna tabung vacum tersebut dijelaskan pada

sub bab berikut ini :

EDTA (*Ethylen Diamine Tetra-Acetate*)

Antikogulan EDTA merupakan garam natrium atau kalium yang memiliki peran mengubah ion kalsium dalam darah. Antikoagulan ini tersedia dalam bentuk serbuk dan bentuk cair. Bentuk serbuk adalah Na_2EDTA (*Dinatrium Ethylen Diamine Tetra-Acetate*) dan K_2EDTA (*Dipotassium Ethylen Diamine Tetra-Acetate*) sedangkan bentuk cair adalah K_3EDTA (*Tripotassium Ethylen Diamine Tetra-Acetate*). Jenis antikoagulan serbuk yang lebih baik digunakan untuk pemeriksaan hematologi seperti pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, laju endap darah atau kecepatan endap darah (KED), hitung sel trombosit, leukosit, eritrosit, eosinofil, retikulosit, pembuatan sediaan apusan darah dan pemeriksaan golongan darah, berdasarkan *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) yang direkomendasikan adalah K_2EDTA , sedangkan EDTA dalam bentuk cair jarang digunakan karena zat antikogulan ini akan menyebabkan nilai pemeriksaan hitung sel trombosit, leukosit, eritrosit, hematokrit dan hemoglobin menjadi rendah. Antikogulan cair digunakan sebanyak 0,01 ml dalam 1 ml darah (Kurniawan 2016, Kiswari, 2014 & Riswanto, 2013).

Antikogulan EDTA dalam tabung vacum memiliki tutup tabung berwarna ungu atau pink dimana tabung vacum yang sering digunakan terbuat dari plastik karena tabung ini memiliki permukaan yang lebih halus dan dapat menghambat proses adhesi dan agregasi. Pemakaian antikogulan K_2EDTA yaitu dalam 1 mg K_2EDTA digunakan untuk 1 ml darah (Kiswari, 2014)

Dalam tabung vacum jumlah antikogulan sudah disesuaikan dengan batas volume darah maksimal yang harus ada pada tabung tersebut sehingga pengisian darah harus sesuai dengan ukuran tabung yang digunakan. Perbandingan yang tidak sesuai bisa mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi. Selain perbandingan antikoagulan dan spesimen, dalam pemeriksaan menggunakan tabung vacum dengan antikogulan juga harus memperhatikan teknik homogenisasi atau cara pencampuran sehingga sel trombosit tidak berkelompok dan tidak terjadi bekuan-bekuan darah. Homogenisasi bisa dilakukan secara inversi yaitu dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 8-10 kali secara lembut (Kiswari, 2014). Homogenisasi yang terlalu kencang dapat membuat sampel darah lisis, sel trombosit akan mengalami adhesi dan agregasi.

Heparin

Antikogulan heparin tersedia dalam 3 macam yaitu lithium heparin, ammonium heparin dan sodium heparin. Lithium heparin adalah heparin yang sering digunakan untuk pemeriksaan hematologi seperti pemeriksaan hemoglobin, hematokrit dimana pada tabung mikropipiler untuk pemeriksaan hematokrit yang memiliki garis warna merah dilapisi dengan antikoagulan heparin, *osmotic fragility test*, pemeriksaan analisa gas darah, pemeriksaan golongan darah dan tranfusi darah. Antikogulan heparin dalam tabung vacum memiliki tutup tabung berwarna hijau. Penggunaan heparin yaitu dalam 0,1 ml heparin untuk 1 ml darah. Tabung vacum untuk heparin ini sama dengan tabung EDTA dimana terbuat dari bahan plastik, setelah spesimen darah masuk dalam tabung, darah segera dihomogenkan salah satunya dengan teknik inversi yaitu dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 8-10 kali secara lembut (Gandasoebrata, 2016, & Riswanto, 2013).

Oksalat

Spesimen darah yang ditambahkan antikoagulan oksalat biasanya digunakan untuk pemeriksaan hemostasis yaitu plasma prothrombine time (PPT) dan untuk pemeriksaan glukosa. Antikoagulan ini mencegah terjadinya pembekuan darah dengan cara mengendapkan ion kalsium. Pada pemeriksaan laboratorium antikogulan oksalat digunakan dalam beberapa bentuk yaitu kalium, natrium, lithyum, dan ammonium tetapi yang sering digunakan untuk pengujian hematologi salah satunya adalah natrium oksalat. Antikogulan oksalat dalam tabung vacum memiliki tutup tabung berwarna abu-abu (Riswanto, 2013).

Penggunaan oksalat yaitu dengan membuat perbandingan antara antikoagulan dengan spesimen darah. 9 bagian darah ditambahkan dengan 1 bagian oksalat. Contoh, spesimen darah 4,5 ml maka antikoagulan oksalat adalah 0,5 ml. Atau jika spesimen darah yang digunakan 1,8 ml maka antikoagulan oksalat yang digunakan adalah 0,2 ml. Perbandingan ini harus diperhatikan dengan tepat, karena kalau perbandingan tidak tepat bisa mempengaruhi hasil contohnya pada pemeriksaan PPT dan APTT hasilnya bisa memanjang, tetapi memanjang palsu. Dalam tahapan pengambilan spesimen, spesimen darah yang telah masuk dalam tabung vacum harus segera dihomogenkan agar tidak terjadi bekuan-bekuan yang akan mempengaruhi hasil pemeriksaan. Teknik homogenisasi yang bisa dilakukan salah satunya dengan teknik inversi yaitu dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 8-10 kali secara lembut (Kiswari, 2014).

Sitrat

Natrium sitrat adalah antikoagulan yang disarankan oleh ICSH untuk pemeriksaan koagulasi seperti pemeriksaan *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT), *Plasma Protombine Time* (PPT), *Trombine Time* (TT) dan lain-lain. Natrium sitrat selain untuk koagulasi juga digunakan untuk pemeriksaan KED metode Westergren, penentuan golongan darah dan tranfusi darah. Antikoagulan ini mencegah terjadinya pembekuan darah dengan cara mengedapkan ion calsium menjadi bentuk tidak aktif. Antikoagulan sitrat dalam tabung vacum memiliki tutup tabung berwarna biru terang dimana untuk penggunaan antikoagulan ini dalam pemeriksaan yaitu natrium sitrat 3,2% (0,109M) (Riswanto, 2013).

Pada pemeriksaan koagulasi, perbandingan yang digunakan adalah 9 : 1 dimana 9 untuk darah dan 1 untuk natrium sitrat. Contoh, spesimen darah 4,5 ml maka antikoagulan natrium sitrat adalah 0,5 ml. Atau jika spesimen darah yang digunakan 1,8 ml maka antikoagulan natrium sitrat yang digunakan adalah 0,2 ml. Perbandingan antikoagulan untuk pemeriksaan koagulasi berbeda dengan pemeriksaan KED, dimana perbandingan untuk pemeriksaan KED adalah 4:1. 4 untuk darah dan 1 untuk antikoagulan natrium sitrat (Kurniawan, 2014). Contoh, spesimen darah sebanyak 2 ml maka ditambahkan antikoagulan sitrat sebanyak 0,5 ml.

Dalam tahapan pengambilan spesimen, spesimen darah yang telah masuk dalam tabung vacum harus segera dihomogenkan agar tidak terjadi bekuan-bekuan yang akan mempengaruhi hasil pemeriksaan. Teknik homogenisasi yang bisa dilakukan salah satunya dengan teknik inversi yaitu dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 4 kali secara lembut (Kiswari, 2014). Teknik inversi ini sedikit berbeda dengan teknik homogenisasi pada tabung vacum yang lainnya karena dapat mengaktifkan pembekuan platelet sehingga waktu pengujian menjadi pendek atau singkat.



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

1. Pahami macam-macam antikoagulan dalam pemeriksaan laboratorium hematologi
2. Pahami kandungan antikoagulan dalam tabung vacum sesuai dengan tutup tabung vakum.

B. Tes

- 1) Seorang pasien datang ke laboratorium dengan membawa formulir permintaan pemeriksaan dari dokter. Dokter meminta untuk dilakukan pemeriksaan Activated Partial Tromboplastine Time. ATLM yang bertugas mempersiapkan alat dan bahan untuk pemeriksaan. Apa tabung vacum yang sesuai untuk pemeriksaan tersebut ?
 - a. Tabung vacum kuning
 - b. Tabung vacum hijau
 - c. Tabung vacum ungu
 - d. Tabung vacum biru
 - e. Tabung vacum abu
- 2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan LED metode Westergren pada sampel darah EDTA pada pasien yang terdiagnosa anemia. Pada pemeriksaan tersebut ATLM mengencerkan spesimen dengan larutan dengan perbandingan 4:1. Sampel dimasukkan dalam tabung sampai tanda batas 0 dan dibiarkan selama 1 jam. Apa tabung vacum yang sesuai untuk pemeriksaan tersebut ?
 - a. Tabung vacum kuning
 - b. Tabung vacum hijau
 - c. Tabung vacum ungu
 - d. Tabung vacum biru
 - e. Tabung vacum abu
- 3) ATLM mendapat permintaan dari dokter untuk melakukan pemeriksaan hitung sel trombosit metode manual. Dalam pemeriksaan tersebut ATLM menggunakan tabung vacum berwarna ungu. Apa kandungan antikoagulan pada tabung tersebut ?
 - a. EDTA
 - b. Sitrat
 - c. Oksalat
 - d. Heparin
 - e. Gelseparator
- 4) Seorang ATLM mendapat permintaan dari dokter untuk melakukan pemeriksaan daya tahan osmotik. ATLM selanjutnya melakukan persiapan pengambilan darah dan memasukkan darah kedalam tabung vacum. Darah selanjutnya dilakukan pemeriksaan dengan tabung reaksi yang sudah berisikan aquadest. Apa tabung vacum yang sesuai untuk pemeriksaan tersebut ?
 - a. Tabung vacum kuning

- b. Tabung vacum hijau
 - c. Tabung vacum ungu
 - d. Tabung vacum biru
 - e. Tabung vacum abu
- 5) Seorang ATLM diminta untuk melakukan pemeriksaan hematologi darah rutin. ATLM yang bertugas segera melakukan pengambilan spesimen darah vena dan memasukkan spesimen darah kedalam tabung vacum. Apa tabung vacum yang sesuai untuk pemeriksaan tersebut ?
- a. Tabung vacum kuning
 - b. Tabung vacum hijau
 - c. Tabung vacum ungu
 - d. Tabung vacum biru
 - e. Tabung vacum abu

Pilihan Jawaban

- 1. D
- 2. D
- 3. A
- 4. B
- 5. C

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

1.Memahami macam-macam antikoagulan	35
2.Memahami kegunaan masing – masing antikoagulan	35
3.Memahami perbandingan antara antikoagulan dan spesimen	30
Total	100



RINGKASAN

Antikogulan merupakan zat yang pada dasarnya mengikat atau mengendapkan ion calcium dan akan menghambat pembentukan trombin sehingga darah tidak membeku. Antikoagulan yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi antara lain EDTA, heparin, oksalat dan sitrat. Antikogulan saat ini dalam bentuk tabung hampa udara atau sering disebut dengan tabung vakum (vacutainer tube). Dalam tabung vacuum jumlah antikogulan sudah disesuaikan dengan batas volume darah maksimal yang harus ada pada tabung tersebut sehingga pengisian darah harus sesuai dengan ukuran tabung yang digunakan. Perbandingan yang tidak sesuai bisa mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi.



DAFTAR PUSTAKA

- Dosen TLM Indonesia. 2020. Hematologi Teknologi Laboratorium Medis. Jakarta : EGC
- Gilang Nugraha. 2017. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta : TIM
- Gandasoebrata. 2016. Penuntun Laaboratorium Klinik. Jakarta : Dian rakyat
- Kurniawan Fajar. 2014. Hematologi Praktikum Analis Kesehatan. Jakarta : EGC
- Riswanto. 2013. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Yogyakarta : Alfamedia
- Rukman K. 2014. Hematologi dan Tranfusi. Jakarta : Erlangga

BAB

V

HEMOSITOMETER

TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami instrumen hemositometer yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi.
2. Mahasiswa mampu memahami kegunaan instrumen hemositometer yang digunakan dalam pemeriksaan hematologi.

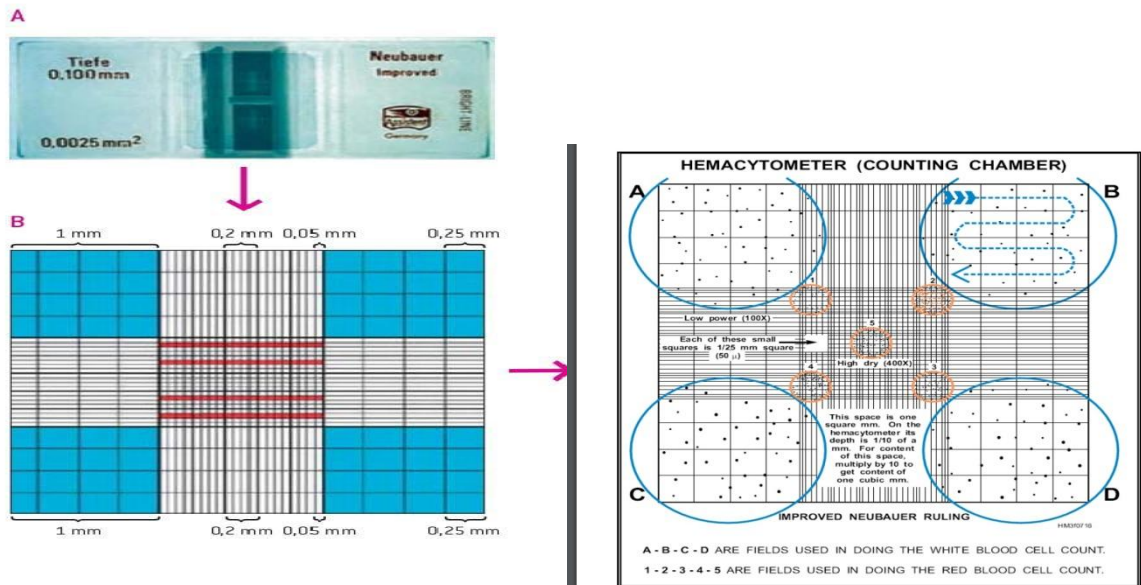
PENDAHULUAN

Hemositometer adalah alat yang digunakan untuk membantu menghitung jumlah sel baik itu eritrosit, leukosit dan trombosit dimana perhitungan sel ini dilakukan secara manual dengan menggunakan bantuan mikroskop, bilik hitung, pipet pengencer atau mikropipet dan cover glass (Riswanto, 2013). Bilik hitung yang bisa digunakan dalam pemeriksaan hitung jumlah sel baik sel eritrosit, leukosit dan trombosit adalah bilik hitung *Improved Neubauer*, meskipun ada juga bilik hitung lain yang bisa digunakan dalam hitung sel seperti hitung sel leukosit yaitu eosinofil menggunakan bilik hitung *Fusch Rosental* (Dosen TLM, 2020). Pipet yang bisa digunakan dalam pengenceran pemeriksaan hitung sel antara lain pipet thoma eritrosit dan pipet Thoma leukosit. Selain pengenceran dengan pipet Thoma hitung sel juga bisa menggunakan pengenceran diluar pipet yaitu menggunakan bantuan mikropipet dan tabung reaksi.

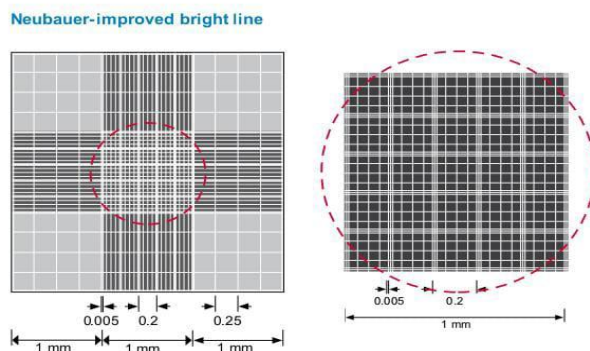
Bilik Hitung

Bilik hitung yang sering digunakan dalam hitung sel adalah bilik hitung *Improved Neubauer*, dimana bilik hitung ini terbuat dari kaca tebal, berbentuk persegi panjang dan memiliki dua bagian kotak bergaris dengan ukuran volume tertentu sebagai area untuk perhitungan sel. Bilik hitung ini diciptakan oleh Louis Charles dimana bilik ini memiliki luas 9 mm^2 , yang terbagi menjadi 9 bidang besar dengan luas masing-masing bidang 1 mm^2 . 1

bidang besar terdiri dari 16 bidang kecil dengan luas 0,25 mm x 0,25 mm. Dimana bidang ini terletak pada bagian kira atas, kanan atas, kiri bawah dan kanan bawah. Bidang besar lainnya terletak pada bagian tengah bilik hitung. 1 bidang besar terdiri dari 25 bidang sedang, dan setiap 1 bidang sedang terdiri dari 16 bidang kecil. 1 bidang sedang memiliki luas 0,20 mm x 0,20 mm. Tinggi kamar hitung merupakan jarak antara permukaan bilik hitung dengan kaca penutup atau cover glass. Tinggi kamar hitung untuk bilik hitung *Improved Neubauer* yaitu 0,1 mm (Kurniawan, 2014)



Gambar 5.1 Kamar Hitung



(Sumber : <https://bioscience.lonza.com> & <https://facukty.ksu.edu.sa.com>)
(Sumber : <https://www.dutscher.com>)

Pemeriksaan hitung sel dengan menggunakan bilik hitung hendaknya memperhatikan kebersihan dari bilik hitung yang akan digunakan. Bilik hitung yang kotor atau bilik hitung yang masih ada sisa cat dari pemeriksaan sebelumnya akan mengganggu dalam perhitungan sel, untuk itu bilik hitung setelah digunakan harus segera dibersihkan dan dikeringkan.

Pipet Pengencer

Pipet pengencer dalam hemometer terdiri dari pipet Thoma eritrosit dan pipet Thoma leukosit. Pipet ini digunakan untuk mengencerkan spesimen darah dengan larutan yang sesuai dengan tujuan pemeriksaan yang dilakukan. Pipet Thoma eritrosit adalah pipet yang digunakan untuk pengenceran pada pemeriksaan eritrosit dan trombosit. Pipet ini memiliki ciri-ciri yaitu memiliki batu berwarna merah ditengah, memiliki skala volume 0.5, 1 dan 101. Pipet Thoma leukosit adalah pipet Thoma yang digunakan untuk hitung jumlah sel leukosit ataupun digunakan untuk pemeriksaan hitung sel jenis tertentu saja dari leukosit yaitu sel eosinofil. Pipet Thoma leukosit ini memiliki ciri-ciri yaitu memiliki batu berwarna putih ditengah dari pipet Thoma, memiliki skala volume 0.5, 1 dan 11 (Dosen TLM, 2020). Dalam hemositometer juga ada respirator atau selang pipa yang digunakan untuk membantu menghisap spesimen dan reagen pada pipet thoma.

Dalam penggunaan pipet Thoma ini harus dipahami bahwa skala yang tertera pada pipet Thoma hanya memberikan gambaran mengenai pengenceran darah yang terjadi pada pipet bukan menggambarkan volume mutlak dari spesimen atau reagen yang dipipet dengan pipet Thoma tersebut. Contoh pada pemeriksaan hitung eritrosit dan trombosit, dimana pemipetan spesimen darah sampai tanda 0.5 selanjutnya dipipet reagen sampai tanda batas 101, maka pengenceran yang dilakukan dalam pipet Thoma posisi ditengah yang ada batu berwarna merah adalah 200 kali. Jika spesimen dipipet sampai tanda 1 dan reagen pengencer dipipet sampai tanda batas 101 maka pengenceran pada pipet adalah 100 kali. Pada pemeriksaan hitung leukosit, spesimen dipipet sampai tanda 0.5 dan reagen dipipet sampai tanda batas 11 maka pengenceran yang dilakukan dalam pipet Thoma posisi ditengah yang ada batu berwarna putih adalah 20 kali. Jika spesimen dipipet sampai tanda 1 dan reagen sampai tanda batas 11 maka pengenceran yang dilakukan dalam pipet Thoma posisi ditengah yang ada batu berwarna putih adalah 10 kali (Kiswari, 2014 & Dosen TLM, 2020).

Pengenceran dengan menggunakan pipet Thoma menurut Nugraha & Badrawi 2021 bisa menggunakan rumus persamaan yaitu :

$$\text{Pengenceran} = \frac{\text{Volume sebenarnya}}{\text{Volume spesimen}} = \frac{\text{Volume total} - 1}{\text{Volume spesimen}}$$

Sebagai contoh pengenceran dengan menggunakan pipet Thoma eritrosit untuk perhitungan jumlah eritrosit dan trombosit. Pertama spesimen dihisap sampai tanda 0,5 kemudian menghisap reagen sampai tanda 101 kemudian dihomogenkan dan sebelum campuran pada pipet Thoma dimasukkan dalam bilik hitung dibuang 1-2 tetes. 1-2 tetes ini dianggap 1 volume pada pipet Thoma sehingga volume sebenarnya adalah 101 - 1 yaitu 100. Jika kita masukkan dalam rumus adalah sebagai berikut :

$$\text{Pengenceran} = \frac{\text{Volume sebenarnya}}{\text{Volume spesimen}} = \frac{101 - 1}{0,5} = \frac{100}{0,5} = 200$$

Pengenceran dengan menggunakan pipet Thoma leukosit untuk perhitungan jumlah leukosit. Pertama spesimen dihisap sampai tanda 0,5 kemudian menghisap reagen sampai tanda 11 dan sebelum campuran pada pipet Thoma dimasukkan dalam bilik hitung dibuang 1-2 tetes. 1-2 tetes ini dianggap 1 volume pada pipet Thoma sehingga volume sebenarnya adalah 11 - 1 yaitu 10. Jika kita masukkan dalam rumus adalah sebagai berikut :

$$\text{Pengenceran} = \frac{\text{Volume sebenarnya}}{\text{Volume spesimen}} = \frac{11 - 1}{0,5} = \frac{10}{0,5} = 20$$

Pengenceran spesimen darah dengan reagen untuk hitung eritrosit, leukosit dan trombosit tidak hanya bisa dilakukan dengan pengenceran didalam pipet Thoma (pengenceran dalam), tetapi bisa juga melakukan pengenceran dengan tabung reaksi (pengenceran diluar) dengan bantuan mikropipet yang sudah diketahui volume pastinya dan dilengkapi dengan tip berbentuk kerucut (Riswanto, 2013 & kiswari, 2014). Tip ini memiliki beberapa warna yaitu biru, kuning dan transparan serta tip ini bersifat *disposibel* atau sekali pakai. Setelah digunakan untuk pengambilan spesimen ataupun reagen pengencer tip dibuang pada *safety box*. Dalam pemeriksaan ini mikropipet memiliki banyak ukuran volume yaitu dari 5 µl sampai dengan 1000 µl, dimana pemilihan ukuran mikropipet yang digunakan dalam

pengenceran tergantung dari pengenceran yang digunakan untuk masing-masing pemeriksaan hitung jumlah sel.

Pemeriksaan hitung sel eritrosit dilakukan dengan cara memipet larutan Hayem sebanyak 2000 µl dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian larutan dalam tabung reaksi dipipet 10 µl dan dibuang. Selanjutnya memipet spesimen darah sebanyak 10 µl dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisikan larutan Hayem. Dengan demikian ketika dimasukkan dalam rumus pengenceran ditemukan faktor pengencer untuk hitung eritrosit adalah 200x.

Rumus pengenceran yaitu :

$$\text{Pengenceran} = \frac{\text{Volume pengencer} + \text{Volume spesimen}}{\text{Volume spesimen}}$$

Contoh perhitungan pengenceran :

Larutan hayem : 2000µl - 10 µl = 1990µl
 Spesimen : 10µl
 Pengenceran : $\frac{1990 + 10}{10}$
 : 2000 / 10
 : 200 kali

Pengenceran untuk sel trombosit menggunakan reagen Rees Ecker dan teknik pengenceran yaitu memipet larutan rees Ecker sebanyak 2000 µl dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian larutan dalam tabung reaksi dipipet 10 µl dan dibuang. Selanjutnya memipet spesimen darah sebanyak 10 µl dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisikan larutan Rees Ecker (Riswanto, 2013)

Contoh perhitungan pengenceran :

Larutan Rees Ecker : 2000µl - 10 µl = 1990µl
 Spesimen : 10µl
 Pengenceran : $\frac{1990 + 10}{10}$
 : 2000 / 10
 : 200 kali

Pengenceran untuk perhitungan leukosit bisa dilakukan dengan memipet larutan Turk

sebanyak 1000 μl dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian larutan dalam tabung reaksi dipipet 50 μl dan dibuang. Selanjutnya memipet resimen darah sebanyak 50 μl dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisikan larutan Turk. Dengan demikian ketika dimasukkan dalam rumus pengenceran ditemukan faktor pengencer untuk hitung leukosit adalah 20x (Riswanto, 2013).

Contoh perhitungan pengenceran :

Larutan tur1 : $1000\mu\text{l} - 50\mu\text{l} = 950\mu\text{l}$

Spesimen : 50 μl

Pengenceran : $\frac{950 + 50}{50}$

: $1000 / 50$

: 20 kali

Pemeriksaan hitung sel dengan menggunakan pengenceran menggunakan mikropipet maka harus memahami terkait teknik penggunaan mikropipet sehingga hasil pemeriksaan sesuai dan valid. Saat melakukan pengambilan spesimen darah maupun reagen, maka ujung mikropipet bagian atas ditekan dari luar, ditekan sampai batas tekanan pertama pada mikropipet, sedangkan batas tekanan kedua pada mikropipet digunakan untuk membantu mengeluarkan spesimen darah atau reagen dari tip yang digunakan.



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

1. Pahami alat hemositometer dalam pemeriksaan hitung sel pada laboratorium hematologi
2. Pahami penggunaan alat-alat hemositometer dalam pemeriksaan hitung sel pada laboratorium hematologi

B. Tes

- 3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit menggunakan pipet Thoma. Sampel darah dihisap sampai tanda 0,5 dan larutan pengencer dihisap sampai tanda 101 kemudian dihomogenkan dan diinkubasi. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam bilik hitung Improved Neubauer. Berapa pengenceran yang dilakukan dalam pemeriksaan tersebut?

- a. 5 x
- b. 10 x
- c. 20 x
- d. 100 x
- e. 200 x

Pembahasan

Rumus pehitungannya adalah :

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran} &: \frac{101 - 0,5}{0,5} \\ &: 100 / 0,5 \\ &: 200 \text{ kali}\end{aligned}$$

- 4) Petugas laboratorium sedang melakukan pemeriksaan hitung sel. Sampel darah dihisap sampai tanda 1 dan larutan pengencer eosin diisi sampai garis 11. Sampel dimasukkan kedalam bilik hitung Fuchs-Rosenthal. Berapa pengenceran yang dilakukan dalam pemeriksaan tersebut?

- a. 5 x
- b. 10 x
- c. 20 x
- d. 100 x
- e. 200 x

Pembahasan

Rumus pehitungannya adalah :

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran} &: \frac{11 - 1}{1} \\ &: 10 / 1 \\ &: 10 \text{ kali}\end{aligned}$$

- 5) Seorang petugas laboratorium sedang melakukan pemeriksaan dengan menggunakan sampel darah vena dan reagen Turk. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi dimana larutan dihisap dengan micropipette sebanyak 1900 μL dan ditambahkan reagen sebanyak 10 μL . Tabung dihomogenkan dan inkubasi kemudian dimasukkan dalam kamar hitung Improved Neubaur. Berapa pengenceran yang dilakukan dalam pemeriksaan tersebut?

- a. 5 x
- b. 10 x
- c. 20 x
- d. 100 x
- e. 200 x

Pembahasan

Larutan Turk	: 1900 μl
Spesimen	: 10 μl
Pengenceran	: $1900 + 10$

10

: $2000 / 10$

: 200 kali

- 6) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung trombosit menggunakan metode manual. ATLM menggunakan bilik hitung Improved Neubauer dengan mengitung sel pada 25 bidang atau 1 bidang besar ditengah. Berapa luas untuk hitung sel tersebut ?

- a. 0,1 mm x 0,1 mm
- b. 0,2 mm x 0,2 mm
- c. 0,4 mm x 0,4 mm
- d. 0,25 mm x 0,25 mm
- e. 0,005 mm x 0,005 mm

Pembahasan

Bilik hitung Neubauer Improved luas seluruh bidang adalah 9 mm^2 dan masing-masing bidang memiliki luas 1 mm^2 . Bidang besar ini dibagi menjadi 16 bidang sedang yang luasnya masing-masing $1/4 \times 1/4 \text{ mm}^2$.

- 7) Seorang ATLM mendapat permintaan untuk hitung leukosit menggunakan metode manual. ATLM menggunakan bilik hitung Improved Neubauer dengan mengitung sel pada 4 bidang besar. Berapa luas untuk hitung sel tersebut ?

- a. 0,1 mm x 0,1 mm
- b. 0,2 mm x 0,2 mm
- c. 0,4 mm x 0,4 mm
- d. 0,20 mm x 0,20 mm
- e. 0,25 mm x 0,25 mm

Pembahasan

Bilik hitung Neubauer Improved luas seluruh bidang adalah 9 mm^2 dan masing-masing bidang memiliki luas 1 mm^2 . Bidang besar ini dibagi menjadi 16 bidang sedang yang luasnya masing-masing $1/4 \times 1/4 \text{ mm}^2$, sedangkan bidang besar ditengah memiliki luas 1 mm^2 dan luas masing-masing bidang $1/5 \times 1/5 \text{ mm}^2$.

Kunci Jawaban

1.E

2. B

3. E

4. B

5. E

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

1.Memahami macam-macam alat hemositometer	35
2.Memahami kegunaan masing – masing alat hemositometer	35
3.Memahami perawatan alat hemositometer	30
Total	100



RINGKASAN

Hemositometer adalah rangkaian alat yang digunakan untuk membantu menghitung jumlah sel baik eritrosit, leukosit dan trombosit dimana perhitungan sel dilakukan secara manual dengan bantuan mikroskop, bilik hitung *Improved Neubauer* dan *Fusch Rosental*, cover glass, pipet Thoma baik pipet Thoma eritrosit maupun pipet Thoma leukosit. Pipet Thoma eritrosit memiliki ciri-ciri yaitu memiliki batu berwarna merah ditengah, memiliki skala volume 0.5, 1 dan 101, sedangkan pipet Thoma leukosit memiliki ciri-ciri yaitu memiliki batu berwarna putih ditengah dari pipet Thoma, memiliki skala volume 0.5, 1 dan 11. Skala yang tertera pada pipet Thoma hanya memberikan gambaran mengenai pengenceran darah yang terjadi pada pipet bukan menggambarkan volume mutlak dari spesimen atau reagen yang dipipet.



DAFTAR PUSTAKA

- Dosen TLM Indonesia. 2020. Hematologi Teknologi Laboratorium Medis. Jakarta : EGC
- Gilang Nugraha. 2017. Panduan Pemeriksaaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta : TIM
- Gilang Nugraha & Imaduddin Badrawi. 2021. Pedoman Teknik Pemeriksaan laboratorium Klinik. Jakarta : Trans Info Media.
- Kurniawan Fajar. 2014. Hematologi Praktikum Analis Kesehatan. Jakarta : EGC
- Riswanto. 2013. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Yogyakarta : Alfamedia
- Rukman K. 2014. Hematologi dan Tranfusi. Jakarta : Erlangga
- https://bioscience.lonza.com/lonza_bs/ID/en/document/28417
- https://www.dutscher.com/data/pdf_guides/en/AMMARA.pdf
- https://faculty.ksu.edu.sa/sites/default/files/pdf_copy_haematology_laboratory_manual_cls_241.pdf

BAB VI

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI RUTIN



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa dapat mengetahui parameter-parameter pemeriksaan hematologi rutin
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan darah menggunakan alat pemeriksaan hematologi rutin
3. Mahasiswa mampu mencatat hasil pemeriksaan dan memberikan interpretasi terhadap hasil pemeriksaan.



PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium hematologi merupakan pemeriksaan cairan darah yang berhubungan dengan sel-sel darah biokimiawi yang berhubungan dengan sel darah.

Pemeriksaan laboratorium hematologi bertujuan untuk:

- a. Mengkonformasi suatu dugaan klinis atau menetapkan diagnosis penyakit, misalnya hemoglobin untuk anemia.
- b. Menentukan terapi atau pengelolaan dan pengendalian penyakit.
- c. Mengikuti perjalanan penyakit.
- d. Penapisan suatu penyakit.
- e. Menentukan status kesehatan secara umum.

Komponen Utama Pemeriksaan Hematologi Rutin:

1. Eritrosit (Red Blood Cell/RBC): Eritrosit bertanggung jawab untuk transportasi oksigen. Analisis jumlah dan karakteristik eritrosit membantu dalam diagnosis anemia, polisitemia, dan gangguan eritrosit lainnya (Buttarelli, M., 020)

2. Hemoglobin (Hb): Hemoglobin adalah protein pembawa oksigen dalam eritrosit. Kadar hemoglobin adalah indikator penting untuk menilai kapasitas pengangkutan oksigen darah (Agarwal & Prchal J., 2019).
3. Hematokrit (Hct): Hematokrit menunjukkan persentase volume darah yang terdiri dari eritrosit. Bersama dengan hemoglobin, hematokrit digunakan untuk mengevaluasi anemia dan polisitemia (Tsang, B. L., *et al.*, 2020).
4. Indeks Eritrosit:
 - Mean Corpuscular Volume (MCV)
 - Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)
 - Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)
 - Red Cell Distribution Width (RDW) Indeks ini membantu dalam klasifikasi morfologi anemia dan diagnosis diferensial
5. Leukosit (White Blood Cell/WBC): Leukosit adalah komponen kunci sistem imun. Hitung leukosit total dan diferensial membantu dalam diagnosis infeksi, peradangan, dan gangguan hematologi
6. Trombosit (Platelet): Trombosit berperan penting dalam hemostasis. Kelainan jumlah atau fungsi trombosit dapat mengindikasikan risiko perdarahan atau trombotosis.
7. Parameter Trombosit Lanjutan:
 - Mean Platelet Volume (MPV)
 - Platelet Distribution Width (PDW) Parameter ini memberikan informasi tambahan tentang ukuran dan variabilitas trombosit

Interpretasi hasil CBC harus selalu mempertimbangkan konteks klinis pasien dan mungkin memerlukan pemeriksaan lanjutan untuk konfirmasi diagnosis. Kemajuan teknologi dalam analisis hematologi otomatis telah meningkatkan akurasi dan memperluas cakupan parameter yang dapat diukur

Pemeriksaan hematologi rutin tetap menjadi alat diagnostik yang sangat berharga dalam praktik klinis modern. Namun, penting untuk memahami keterbatasan tes ini dan mengintegrasikannya dengan evaluasi klinis yang komprehensif untuk manajemen pasien yang optimal (Tsang *et al.*, 2020).

Persiapan jenis spesimen, antikoagulan (zat anti pembekuan darah) dan pengawasan mutu harus diperhatikan agar pemeriksaan tersebut dapat bermanfaat untuk kepentingan klinis (Riswanto, 2013).

Ada tiga faktor/fase tahapan pemeriksaan laboratorium Hematologi, yaitu:

- a. Pra Analitik; bendungan terlalu lama, spesimen tidak homogen, perbandingan antikoagulan dan darah tidak tepat.
- b. Analitik ; metode, kedudukan tabung, waktu pembacaan, getaran, suhu dan sinar matahari.
- c. Pasca Analitik ; pembacaan hasil, penulisan hasil dan pelaporan hasil.



EVALUASI

Seorang pasien wanita berusia 32 tahun datang ke klinik dengan keluhan mudah lelah, pusing, dan wajah pucat sejak 2 bulan terakhir. Pasien juga mengeluhkan siklus menstruasi yang lebih berat dari biasanya. Dokter memutuskan untuk melakukan pemeriksaan hematologi rutin. Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan:

- Eritrosit: 3,2 juta/ μ L (nilai normal: 4,2-5,4 juta/ μ L)
- Hemoglobin: 9,5 g/dL (nilai normal: 12-16 g/dL)
- Hematokrit: 28% (nilai normal: 37-47%)
- MCV (Mean Corpuscular Volume): 87 fL (nilai normal: 80-96 fL)
- MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin): 29 pg (nilai normal: 27-33 pg)
- MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration): 33 g/dL (nilai normal: 32-36 g/dL)
- Leukosit: 7.500/ μ L (nilai normal: 4.500-11.000/ μ L)
- Trombosit: 250.000/ μ L (nilai normal: 150.000-450.000/ μ L)

Pertanyaan:

1. Berdasarkan hasil pemeriksaan hematologi rutin di atas, apakah diagnosis yang paling mungkin untuk pasien ini?
2. Parameter apa saja yang menunjukkan kelainan pada hasil pemeriksaan tersebut?
3. Jelaskan mengapa parameter-parameter tersebut dapat mengalami perubahan pada kondisi pasien ini!
4. Pemeriksaan tambahan apa yang sebaiknya dilakukan untuk mengonfirmasi diagnosis pada pasien ini?
5. Berikan saran penanganan awal yang dapat diberikan kepada pasien berdasarkan hasil pemeriksaan ini

JAWABAN

1. Berdasarkan hasil pemeriksaan hematologi rutin di atas, apakah diagnosis yang paling mungkin untuk pasien ini?

Jawaban : Diagnosis yang paling mungkin adalah anemia defisiensi besi (iron deficiency anemia).

2. Parameter apa saja yang menunjukkan kelainan pada hasil pemeriksaan tersebut?

Jawaban: Parameter yang menunjukkan kelainan adalah:

- Eritrosit: rendah (3,2 juta/ μ L)
- Hemoglobin: rendah (9,5 g/dL)
- Hematokrit: rendah (28%)

3. Jelaskan mengapa parameter-parameter tersebut dapat mengalami perubahan pada kondisi pasien ini!

Jawaban:

- Eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit rendah karena kekurangan zat besi yang diperlukan untuk produksi sel darah merah dan hemoglobin.
- MCV, MCH, dan MCHC masih dalam batas normal, menunjukkan anemia normositik normokromik, yang bisa terjadi pada tahap awal anemia defisiensi besi.
- Leukosit dan trombosit normal, menunjukkan bahwa kelainan terfokus pada sel darah merah.

4. Pemeriksaan tambahan apa yang sebaiknya dilakukan untuk mengonfirmasi diagnosis pada pasien ini?

Jawaban: Pemeriksaan tambahan yang sebaiknya dilakukan:

- Serum ferritin (untuk mengukur cadangan zat besi)
- Serum iron dan Total Iron Binding Capacity (TIBC)
- Transferrin saturation
- Peripheral blood smear (untuk melihat morfologi sel darah merah)

5. Berikan saran penanganan awal yang dapat diberikan kepada pasien berdasarkan hasil pemeriksaan ini!

Jawaban:

- Suplementasi zat besi oral (ferrous sulfate atau ferrous fumarate)
- Evaluasi dan penanganan penyebab kehilangan darah (misalnya, menstruasi berat)
- Edukasi tentang diet kaya zat besi (daging merah, sayuran hijau, kacang-kacangan)
- Konsumsi vitamin C bersamaan dengan suplemen zat besi untuk meningkatkan penyerapan
- Pemeriksaan ulang dalam 4-6 minggu untuk mengevaluasi respons terhadap terapi



RINGKASAN

Pemeriksaan hematologi rutin merupakan pemeriksaan darah yang sering dilakukan karena sering diminta (rutin). Parameter pemeriksaan hematologi rutin meliputi jumlah hematokrit, hemoglobin, jumlah sel darah merah, indeks sel darah merah, jumlah sel darah putih dan jumlah trombosit. Pemeriksaan hematologi rutin dalam bahasa Inggris disebut dengan *Complete Blood Count* (CBC) yang dalam bahasa Indonesia diterjemahkan sebagai “hitung darah lengkap”.

Pemeriksaan darah lengkap atau pemeriksaan darah lengkap yang umum dilakukan di Indonesia adalah pemeriksaan hematologi rutin, hitung sel darah, sel darah putih, dan LED. Pemeriksaan-pemeriksaan ini merupakan bagian dari tes darah lengkap (complete blood count/CBC) yang sering digunakan dalam diagnosis berbagai kondisi kesehatan (Nugraha et al., 2021; Turgeon, 2012).



DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A. M., & Prchal, J. T. (2019). Anemia of chronic disease (anemia of inflammation). *Acta Haematologica*, 142(4), 204-213.
- Buttarelo, M. (2020). Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clinica Chimica Acta*, 485, 154-161.
- Kang, S. H., et al. (2021). Recent advances in the clinical applications of automated complete blood count. *Annals of Laboratory Medicine*, 41(2), 139-145.
- Keohane, E. M., Smith, L. J., & Walenga, J. M. (2016). *Rodaks's Hematology: Clinical Principles and Application* (5th ed.). Elsevier.
- Kosasih A., Lyana S, 2016 *Panduan Pemeriksaan Hematologi*, PDSPatKLIN, Jakarta. Manual Book Sysmex XN Series
- Nah, E. H., Kim, S., Cho, S., & Cho, H. I. (2018). Complete blood count reference intervals and patterns of changes across pediatric, adult, and geriatric ages in Korea. *Annals of Laboratory Medicine*, 38(6), 503–511. <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.6.503>
- Tarasova, N., et al. (2020). Artificial intelligence in hematology: Current status and future applications. *Journal of Clinical Medicine*, 9(12), 3927.
- Tsang, B. L., et al. (2020). Hematological parameters and prevalence of anemia in white and British Indian vegetarians and nonvegetarians in the UK Biobank. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 111(6), 1226-1235.
- Tuntum M.dkk, 2018, *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik(TLM)*, “Kendali Mutu”, Kemenkes RI
- Turner, J., & Badireddy, M. (2018). *Anemia*. StatPearls Publisng. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499994/>

BAB VII

HEMOGLOBIN



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan haemoglobin
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan haemoglobin metode kuprisulfat (CuSO_4), tallquist sahli, cyanmeth
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan haemoglobin



PENDAHULUAN

Hemoglobin merupakan protein yang terdiri dari hema dan globin dimana protein ini memiliki memiliki peran yang penting pada sel eritrosit atau sel darah merah sebagai transport oksigen dari paru-paru keseluruh jaringan tubuh dan pembawa karbondioksida dari seluruh jaringan tubuh ke paru-paru. Dengan demikian jika dalam eritrosit mengandung banyak mengikat oksigen maka warna merah pada eritrosit akan semakin cerah, dan jika dalam eritrosit banyak mengikat oksigen maka darah akan berwarna cenderung kemerah pekat. Hemoglobin dalam eritrosit merupakan komponen yang berperan dalam memberikan warna merah pada eritrosit dimana hampir 35% kadungan sel tersebut adalah hemoglobin dan 65% adalah air (Kiswari, 2014 & Nugraha, 2017).

Hemoglobin terbentuk didalam darah karena adanya komponen penting yang berperan seperti besi (Fe) dimana jika pada tahapan eritropoises kekurangan zat ini akan mengganggu pada pembelahan sel dan eritrosit akan berukuran kecil serta kadar hemolobin akan rendah. Asam folat dan Vitamin B12 juga memiliki kontribusi dalam pembentukan eritrosit sebagai pertukaran molekul karbon dan sintesis. Apabila kekurangan komponen ini pada eritropoises akan mengganggu DNA, inti sel, sitoplasama, sel megaloblastik (Riswanto, 2013).

Hemoglobin memiliki beberapa jenis yaitu Hemoglobin A atau biasanya disebut HbA,

Hemoglobin F atau HbF dan Hemoglobin E atau HbE. HbA adalah hemoglobin yang dijumpai pada orang dewasa dimana perkiraan kadar dari HbA ini bisa mencapai 98%. HbF adalah hemoglobin yang dapat dijumpai pada janin dan bayi baru lahir dimana perkiraan kadar dari HbF ini bisa mencapai 60-80%, sedangkan HbE adalah hemoglobi yang dapat ditemukan pada embrio. Hemoglobin dalam darah memiliki beberapa derivat atau turunan antara lain Methemoglobin, Oksihemoglobin, Karboksihemoglobin (Dosen TLM, 2020).

Pemeriksaan hemoglobin dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain metode Kuprisulfat (CuSO_4), Tallquist, Sahli dan Fotometrik-Kolorimeter. Penjelasan lebih lanjut akan dibahas pada sub bab berikut ini.



PRAKTIKUM

Metode Kuprisulfat (CuSO_4)

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menetapkan kadar hemoglobin secara kualitatif dan dilakukan pada kondisi tertentu misalnya pada seseorang yang akan melakukan donor darah.

2. Metode

Kualitatif dengan menggunakan CuSO_4 .

3. Prinsip

Penentuan kadar hemoglobin secara kualitatif berdasarkan berat jenis atau BJ pada sel eritrosit. Darah ditetaskan pada larutan tembaga sulfat atau CuSO_4 dengan BJ 1,053. Dalam 15 detik amati tetesan darah, jika tenggelam maka BJ hemoglobin diperkirakan lebih dari BJ CuSO_4 dan dapat diartikan kadar hemoglobin sama dengan atau lebih dari 12,5 g/dl, jika darah mengapung kadar hemoglobin kurang dari 12,5 g/dl.

4. Jenis dan kriteria specimen/syarat specimen

Darah kapiler.

Tetesan darah yang pertama kali keluar dari pembuluh darah kapiler dihapus dan tetesan berikutnya digunakan untuk pemeriksaan.

5. Alat dan bahan

Alat

- a) Gelas ukur
- b) Corong
- c) Kertas saring
- d) Urinometer
- e) Pen lanset
- f) Lanset

Bahan

- a) Serbuk CuSO_4
- b) Aquadest
- c) Alkohol 75%

B. Analitik

1. Prosedur kerja

- a) Siapkan beaker gelas dan masukkan larutan CuSO_4 yang sudah diketahui BJ nya 1,053.

- b) Siapkan alat untuk pengambilan darah dan lakukan sterilisasi dengan alkohol pada kulit yang akan dilakukan penusukan.
- c) Hapus darah yang pertama kali keluar dari tempat penusukan dan tetesan darah berikutnya diteteskan pada permukaan beaker gelas yang berisi larutan CuSO_4 kira-kira 2-3 cm diatas permukaan.
- d) Penurunan darah diamati selama 15 detik.
- e) Amati dan simpulkan hasil pemeriksaan.
- f) Bersihkan dan rapikan kembali peralatan dan bahan yang digunakan.



Gambar 7.1 Prosedur Pemeriksaan
(Sumber: Yayuningsih, 2017 dalam Hematologi TLM, Dosen TLM, 2022)

2. Nilai normal

Perempuan : 12 g/dl – 14 g/dl

Laki-laki : 13 g/dl – 16 g/dl

Tetesan darah tenggelam dalam kurun waktu 15 detik, maka Hb lebih dari 12,5 g/dl dan diperbolehkan donor darah, tetapi jika dalam kurun waktu 15 detik darah terapung maka kadar Hb kurang dari 12,5 g/dl dan tidak diperbolehkan donor darah.

3. Nilai kritis

Kritis rendah ≤ 7 g/dl

Kritis tinggi ≥ 20 g/dl

4. Perhitungan

-

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Tenggelam : Kadar Hb $\geq 12,5$ g/dl

Terapung : Kadar Hb $\leq 12,5$ g/dl

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- a) Berat jenis CuSO_4 tidak sesuai karena penguapan
- b) Berat jenis CuSO_4 tidak sesuai karena kotaminasi
- c) Berat jenis CuSO_4 tidak sesuai karena protein myeloma
- d) Berat jenis CuSO_4 tidak sesuai karena globulin abnormal

3. Jaminan mutu pemeriksaan

- a) Alat-alat yang digunakan dalam pemeriksaan dipastikan bersih
- b) Memastikan larutan CuSO_4 yang digunakan memiliki kualitas yang baik, tidak kadaluarsa, tidak terjadi perubahan warna dan memiliki BJ 1,053.

- c) Pembacaan hasil pemeriksaan dengan teliti dan sesuai waktu untuk interpretasi hasil

Metode Tallquist

A. Pra analitik

1. Tujuan pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menetapkan kadar hemoglobin dengan membandingkan warna darah dengan skala tallquist.

2. Metode

Tallquist

3. Prinsip

Kadar hemoglobin ditentukan dengan membandingkan warna darah asli dengan skala warna Tallquist dimana skala pada Tallquist dimulai dari warna merah muda sampai merah tua skala 10-100%. Nilai 100% setara dengan 15,8 g/dl

4. Jenis dan kriteria specimen

Darah kapiler.

Tetes darah yang pertama kali keluar dari pembuluh darah kapiler dihapus dan tetesan berikutnya digunakan untuk pemeriksaan.

5. Alat dan bahan

Alat

- a) Pen lanset
- b) Lanset
- c) Skala Tallquist
- d) Kertas uji

Bahan

Alkohol 75%

B. Analitik

1. Prosedur

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Ambil selembar tisu kertas pada booklet Tallquist
- c) Persiapkan untuk melakukan pengambilan darah kapiler, bersihkan ujung jari dengan kapas alkohol 75%, dan lakukan penusukan dengan lanset
- d) Darah yang pertama kali keluar dari lokasi penusukan dihapus dan tetesan berikutnya diletakkan pada bagian tengah kertas uji

- e) Tunggu 15 detik kemudian bandingkan spesimen pada kertas uji dengan skala warna pada skala talquist
- f) Catat dan laporkan hasil pemeriksaan.



Gambar 7.2 Booklet Tallquist

(Sumber : Yayuningsih, 2017 dalam Hematologi TLM, Dosen TLM, 2020)

2. Nilai normal

Perempuan : 12 g/dl – 14 g/dl

Laki-laki : 13 g/dl – 16 g/dl

3. Nilai kritis

Kritis rendah ≤ 7 g/dl

Kritis tinggi ≥ 20 g/dl

4. Perhitungan

$$100\% = 15,8\%$$

Jika pemeriksaan ini diketahui kadar Hb 60%, maka $60/100 \times 15,8 = 9,5$ g/dl

Kesimpulan kadar hemoglobin yang diperiksa adalah 9,5 g/dl

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Hasil dilaporkan sesuai warna dan perhitungan dengan satuan g/dl

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- a) Skala warna yang tidak bisa distandarkan
- b) Interpretasi hasil tidak bisa sama

3. Jaminan mutu pemeriksaan

- a) Dalam membandingkan warna darah asli dengan skala warna Tallquist harus dengan seksama
- b) Perhitungan dilakukan secara teliti dan tepat.

Metode Sahli

A. Pra analitik

1. Tujuan pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menetapkan kadar hemoglobin dengan membandingkan warna darah dengan warna standar pada hemometer.

2. Metode

Kuantitatif dengan metode Sahli

3. Prinsip

Larutan asam lemah dimasukkan dalam tabung pengencer dan ditambahkan sejumlah darah sehingga asam lemah akan mengubah hemoglobin menjadi hematin asam. Penentuan kadar hemoglobin dengan menambahkan aquadest pada tabung tersebut sampai warna larutan dalam tabung pengencer sesuai dengan standar warna hemometer Sahli

4. Jenis dan kriteria specimen

- a) Darah vena
- b) Darah kapiler : Tetesan darah yang pertama kali keluar dari pembuluh darah kapiler dihapus dan tetesan berikutnya digunakan untuk pemeriksaan.

5. Alat dan bahan

Alat

- a) Alat flebotomy
- b) Standar warna permanen hemometer Sahli
- c) Tabung pengencer
- d) Batang pengaduk
- e) Pipet tetes
- f) Pipet hemoglobin
- g) Respirator
- h) Tabung untuk HCl
- i) Tabung untuk aquadest

Bahan

- a) Asam lemah (HCl 0,1N)
- b) Aquadest

B. Analitik

1. Prosedur

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Masukkan larutan HCl 0,1N pada tabung pengencer yang sudah bersih dan kering sampai tanda batas 2.

- c) Darah yang akan digunakan dalam pemeriksaan dihomogenkan dan diisap dengan pipet hemoglobin sampai tanda batas 0,02 ml.
 - d) Hapus kelebihan spesimen pada ujung pipet dan masukkan specimen darah pada tabung pengencer sampai menyentuh larutan HCl pada tabung pengencer tersebut. Catat waktunya
 - e) Sebelum pipet dikeluarkan dari tabung pengencer, bilas specimen pada pipet dengan larutan HCl pada tabung pengencer sampai pipet bersih tidak ada specimen darah yang tertinggal.
 - f) Homogenkan HCl dan specimen darah pada tabung pengencer dan inkubasi selama 3 menit.
 - g) Setelah diinkubasi campuran pada tabung pengencer ditambahkan aquadest tetes demi tetes sambil diaduk dengan batang pengaduk sampai warna sesuai dengan standar warna hemometer.
 - h) Menyamakan warna dilakukan dekat dengan sumber cahaya.
 - i) Baca tinggi hemoglobin ketika sudah terjadi persamaan warna pada tabung pengencer dan standar warna hemometer.
 - j) Pembacaan hasil pemeriksaan hemoglobin menggunakan batas miniskus bawah.
2. Nilai normal
- Perempuan : 12 g/dl – 14 g/dl
- Laki-laki : 13 g/dl – 16 g/dl
3. Nilai kritis
- Kritis rendah ≤ 7 g/dl
- Kritistinggi ≥ 20 g/dl
4. Perhitungan

C. Post analitik

- 1. Pelaporan hasil

Persamaan warna antara larutan dan specimen dalam tabung pengencer sesuai dengan standar warna permanen hemometer serta pembacaan pada miniskus bawah.
- 2. Suber kesalahan pemeriksaan
 - a) Darah vena yang digunakan tidak dihomogenkan
 - b) Darah pada ujung pipet hemoglobin tidak dihapus
 - c) Darah pada pipet hemoglobin tidak dibilas dengan HCl 0,1 yang ada pada tabung pengencer
 - d) Darah yang dipipet dengan pipet hemoglobin kurang atau melebihi tanda batas

- e) Konsentrasi HCl yang digunakan tidak sesuai
 - f) Standar warna permanen hemometer yang sudah kusam
 - g) Sumber cahaya untuk pembacaan hasil baik
 - h) Kelelahan mata dalam pembacaan hasil
 - i) Kesalahan dalam menentukan skala pembaca
 - j) Tabung pengencer yang sudah buram
 - k) Pengenceran dengan aquadest yang kurang tepat
 - l) Kesalahan pada tahapan flebotomy
3. Jaminan mutu pemeriksaan
- a) Darah yang digunakan dalam pemeriksaan tidak bercampur dengan alkohol
 - b) Ketika kelebihan darah saat memipet darah dengan pipet hemoglobin, maka pipet harus dibilas dulu sebelum digunakan ulang untuk memipet darah
 - c) Jika pengenceran dengan aquadest terlalu berlebih sehingga warna larutan dalam tabung lebih terang dari standar warna permanen maka pemeriksaan harus diulangi

Metode Fotometrik kolorimeter.

A. Pra analitik

1. Tujuan pemeriksaan
Pemeriksaan ini bertujuan untuk menetapkan kadar hemoglobin yang lebih teliti dari pada metode secara visual.
2. Metode
Metode Fotometrik Kolorimeter dengan metode Sianmethemoglobin
3. Prinsip
Hemoglobin dalam darah akan dioksidasi oleh kalium ferri sianida menjadi methemoglobin dan selanjutnya kalium sianida akan mengubah lebih lanjut menjadi hemoglobin sianida atau sianmethemoglobin yang dapat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm
4. Jenis dan kriteria specimen
 - a) Darah vena
 - b) Darah kapiler : Tetesan darah yang pertama kali keluar dari pembuluh darah kapiler dihapus dan tetesan berikutnya digunakan untuk pemeriksaan.
5. Alat dan bahan
Alat

- a) Peralatan flebotomy
- b) Spektrofotometer atau fotometer
- c) Cuvet
- d) Tabung reaksi
- e) Pipet hemoglobin atau mikropipet
- f) Blue tip dan yellow tip
- g) Tissue

Bahan

- a) Alkohol
- b) Larutan Drabkin yang berisikan Kalium ferri sianida, kalium sianida, kalium dihidrogen fosfat, detergen non ionik dan aquadets

B. Analitik

1. Prosedur pemeriksaan

- a) Siapkan 2 tabung reaksi dan beri label tabung blanko dan spesimen
- b) Pipet larutan Drabkin sebanyak 5 ml dan masukkan pada masing-masing tabung reaksi.
- c) Pada tabung blanko tambahkan aquadest menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ l atau 0,02 ml dengan pipet hemoglobin.
- d) Pada tabung spesimen, pipet darah vena dengan antikoagulan menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ l atau 0,02 ml dengan pipet hemoglobin.
- e) Hapus kelebihan darah pada ujung pipet atau yellow tip dan masukkan darah pada pipet atau tip kedalam tabung yang digunakan untuk spesimen dengan pipet menyentuh larutan Drabkin pada tabung tersebut.
- f) Bilas pipet atau tip yang digunakan dalam mengambil specimen dengan larutan Drabkin pada tabung tersebut sampai tidak ada specimen yang tertinggal pada pipet atau tip.
- g) Campur masing-masing tabung tersebut dengan vortek atau cara konversi sampai homogen.
- h) Inkubasi tabung reaksi tersebut selama 3-5 menit dan baca absorben dengan menggunakan spektrofotometer atau fotometer dengan panjang gelombang 546 nm
- i) Lakukan perhitungan kadar Hemoglobin dengan rumus.

2. Nilai normal

Perempuan : 12 g/dl – 14 g/dl

Laki-laki : 13 g/dl – 16 g/dl

3. Nilai kritis

Kritis rendah ≤ 7 g/dl

Kritistinggi ≥ 20 g/dl

4. Perhitungan

Faktor = Faktor reagen sesuai dengan faktor reagen yang digunakan dan tertera pada label reagen.

Hb (g/dl) = Absorbans spesimen x Faktor reagen

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Hasil absorbans spesimen dimasukkan dalam rumus perhitungan dan dikalikan faktor reagen yang digunakan. Hasil pemeriksaan dinyatakan dalam satuan g/dl.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- a) Kesalahan pada tahapan pengambilan darah atau flebotomi seperti pembendungan torniquet terlalu lama, penusukan yang dilakukan berkali-kali, pengambilan darah pada vena yang sejalan dengan cairan intravena, pengambilan darah kapiler dengan diperas-peras, memasukkan specimen dalam tabung vacum terlalu kencang, dll.
- b) Darah vena tidak dihomogenkan.
- c) Darah kapiler tidak dibuang terlebih dahulu pada tetesan pertama.
- d) Memipet spesimen yang tidak tepat.
- e) Darah pada ujung pipet atau tip tidak dihapus.
- f) Darah pada pipet atau tip tidak dibilas.
- g) Setelah larutan dan darah diinkubasi tidak dihomogenkan ulang sebelum dibaca dengan spektrofotometer.
- h) Cuvet yang digunakan kotor dan buram.
- i) Pengaturan panjang gelombang yang tidak tepat.
- j) Perhitungan yang tidak tepat.

3. Jaminan mutu

- a) Larutan Drabkin disimpan pada suhu dingin agar stabilitas larutan terjaga
- b) Larutan Drabkin apabila sudah berubah warna dari kuning jernih menjadi warna kuning keruh maka harus dibuang.

- c) Larutan Drabkin dijadikan blangko pemeriksaan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm maka absorbansinya sama dengan nol, jika tidak nol maka larutan tidak bisa digunakan.

D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:
Hasil	: Data pasien
Kesimpulan	:

Pembimbing

Yogyakarta,
Praktikan

20...

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

3. Lakukan pemeriksaan hemoglobin metode Sahli secara tepat dan teliti
4. Lakukan pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin secara tepat dan teliti

B. Tes

- 1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hemoglobin metode Sahli pada spesimen pasien wanita dewasa yang terdiagnosa anemia. Pada hasil pemeriksaan didapatkan kadar hemoglobin 14 g/dl. Berdasarkan hasil tersebut dokter meminta dilakukan pemeriksaan ulang dan didapatkan kadar hemoglobin 8 g/dl, 8,2 g/dl. Apakah faktor kesalahan yang paling mungkin terjadi pada pemeriksaan tersebut ?
 - a. pH aquadest yang $\pm 7,0$
 - b. Pipet hb yang masih masih
 - c. Pemipetan spesimen lebih dari 0,5
 - d. Alat yang digunakan kurang bersih
 - e. Homogenisasi spesimen dengan HCl kurang adekuat
- 2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hemoglobin dengan menggunakan tabung reaksi yang ditambahkan dengan 5 ml reagen berwarna kuning jernih dan ditambahkan 0,02 ml spesimen darah. Larutan spesimen selanjutnya diperiksa dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Apakah reagen yang paling tepat digunakan dalam kasus tersebut ?
 - a. HCl 0,1 N
 - b. Drabkin
 - c. Kalium ferisianida
 - d. Kalium sianida
 - e. Kalium dihidrogen fosfat
- 3) Seorang ATLM mendapatkan permintaan pemeriksaan hemoglobin oleh dokter pada pasien wanita dewasa yang mengalami pusing. Pada pemeriksaan ini ATLM menggunakan metode Cyanmethemoglobin dan hasil yang diperoleh 4 g/dl. Dari hasil tersebut dokter meminta dilakukan pemeriksaan ulang dan didapatkan kadar hemoglobin 9 g/dl dan 9,4 g/dl. Apakah faktor kesalahan yang paling mungkin terjadi pada kasus tersebut ?
 - a. Homogenisasi yang terlalu kuat
 - b. Spesimen pada luar pipet tidak dihapus
 - c. Pembacaan hasil lebih dari 5 menit
 - d. Larutan spesimen tidak diinkubasi
 - e. Larutan diambil kurang dari 5 ml
- 4) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin secara manual. Pemeriksaan tersebut diantaranya adalah pemeriksaan dengan menggunakan spesimen darah kapiler

diteteskan pada larutan cupri sulfat (BJ 1,053). Spesimen tersebut ditetaskan pada permukaan gelas benda dengan ketinggian 2-3 cm dan spesimen darah diamati selama 15 detik. Apa metode pemeriksaan yang dilakukan ATLM tersebut ?

- a. Pemeriksaan Hb Metode Sahli
 - b. Pemeriksaan Hb metode Tallquist
 - c. Pemeriksaan Hb metode CuSO₄
 - d. Pemeriksaan Hematokrit
 - e. Pemeriksaan Bekuan Darah
- 5) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin dengan menggunakan spesimen darah EDTA. Pada pemeriksaan ini ATLM memipet spesimen darah sebanyak 0,02 ml direaksikan dengan reagen sebanyak 5 ml. Setelah diukur pada panjang gelombang 546 nm didapatkan absorban spesimen 0,422 sedangkan faktor pada reagen yang digunakan diketahui 36,8. Berapa kadar hemoglobin padapemeriksaan tersebut ?
- a. 15,5 g/dl
 - b. 14,5 g/dl
 - c. 15 g/dl
 - d. 14 g/dl
 - e. 13 g/dl

Kunci Jawaban

1. C
2. B
3. D
4. C
5. A

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

1.Memahami macam-macam metode pemeriksaan hemoglobin	10
2.Memahami reagen yang digunakan sesuai dengan metode pemeriksaan hemoglobin	10
3.Memahami waktu untuk inkubasi sehingga hasil pemeriksaan sesuai	10
4.Melakukan persiapan alat dan bahan dengan tepat sesuai dengan metode pemeriksaan hemoglobin	10
5.Melakukan preparasi spesimen pemeriksaan yang baik	10
6.Melakukan prosedur pemeriksaan yang tepat sesuai metode pemeriksaan yang dilakukan	20
7.Pembacaan hasil pemeriksaan yang tepat	10
8.Interpresati hasil yang tepat	10
9.Kesimpulan yang tepat	10
Total	100



RINGKASAN

Hemoglobin adalah protein yang ada didalam sel darah merah, yang memberikan warna merah pada sel eritrosit yang berfungsi sebagai pembawa oksigen (O_2) dari paru-paru kkeseluruh jaringan tubuh dan karbondioksida (CO_2) dari jaringan tubuh ke paru-paru. Hemoglobin memiliki beberpa jenis yaitu HbA, HbF dan HbE, sedangkan derivat hemoglobin terdiri dari beberapa komponen antara lain methemoglobin, oksihemoglobin, dan karboksihemoglobin. Hemoglobin dapat dilakukan pemeriksaan dengan beberapa metode yaitu metode kuprisulfat, tallquis, sahli dan sianmeth. Saat ini pemeriksaan hemoglobin metoda kuprisulfat dan tallquis sudah banyak ditinggalkan karena metode pemeriksaan tersebut memiliki faktor kesalahan yang tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Dosen TLM Indonesia. 2020. Hematologi Teknologi Laboratorium Medis. Jakarta : EGC
- Gilang Nugraha. 2017. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta : TIM
- Gandasoebrata. 2016. Penuntun Laaboratorium Klinik. Jakarta : Dian rakyat
- Kurniawan Fajar. 2014. Hematologi Praktikum Analis Kesehatan. Jakarta : EGC
- Riswanto. 2013. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Yogyakarta : Alfamedia
- Rukman K. 2014. Hematologi dan Tranfusi. Jakarta : Erlangga

BAB VIII

PEMERIKSAAN LAJU ENDAP DARAH



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu menjelaskan tujuan pemeriksaan Laju Endap Darah (LED)
2. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip pemeriksaan Laju Endap Darah (LED)
3. Mahasiswa mampu menjelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan Laju Endap Darah (LED)



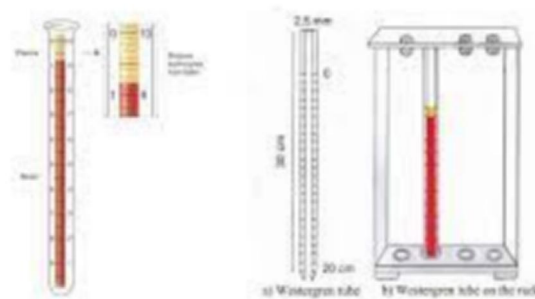
PENDAHULUAN

Laju sedimentasi eritrosit adalah tes hematologi rutin yang mengamati laju pengendapan sel darah merah dalam plasma setelah penambahan antikoagulan EDTA atau natrium sitrat 3,8%, dan hasilnya diukur dalam milimeter per jam. Istilah lain untuk LED antara lain ESR (*Erythrocyte Sedimentation Rate*); BSE (*Blood Sedimentation Erythrocyte*); BBS (*Blood Bzinking Snellhyd*). Tes laju sedimentasi eritrosit dilakukan dengan mengambil darah melalui tabung khusus. Semakin banyak sel darah merah yang diendapkan dalam tabung, maka hasil LED akan semakin tinggi. Hasil LED dipengaruhi oleh kondisi fisik, terutama bila terdapat peradangan. Fungsi LED adalah untuk menentukan kecepatan penyimpanan sel darah merah dalam plasma.

A. Tahapan atau Fase Laju Endap Darah

1. Fase pengendapan lambat pertama (*stage of agregation*) yaitu pembentukan penggumpalan pada darah, eritrosit yang baru saling menyatu, waktu yang diperlukan yaitu kurang dari 15 menit
2. Fase pengendapan secara maksimal (*stage of sedimentation*) yaitu pengendapan eritrosit dengan cepat karena partikel sel darah merah menjadi besar dengan permukaan lebih kecil sehingga lebih cepat proses pengendapaannya waktu yang diperlukan adalah 30 menit.

3. Fase pengendapan lambat kedua (*stage of packing*) yaitu pengendapan sel darah merah sehingga eritrosit mengalami pemampatan pada dasar tabung, kecepatan pengendapannya lebih berkurang. Fase ini diperlukan waktu kurang lebih 15 menit.



Gambar 8.1 Pemeriksaan Laju Endap Darah

B. Faktor-faktor yang mempengaruhi Laju Endap Darah

1. Faktor eritrosit

Faktor yang dapat menentukan kecepatan pengendapan eritrosit adalah besarnya masa dari partikel endapannya.

2. Faktor teknik dan mekanik

Faktor yang terpenting dalam proses pemeriksaan LED dan yang dapat menyebabkan kesalahan terbesar.

Menurut Santi (2012) dalam pemeriksaan LED terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi antara lain:

a. jumlah eritrosit

jika eritrosit semakin banyak maka nilai LED mengalami penurunan dan sebaliknya jika eritrosit sangat sedikit maka nilai LED semakin meningkat.

b. Viskositas darah

Viskositas darah yang tinggi disebabkan tekanan menuju ke atas dan kemungkinan dapat menetralkan tarikan ke bawah sehingga LED akan mengalami penurunan.

c. Muatan eritrosit

Hal ini termasuk sangat besar dalam penentuan tingginya hasil LED. Darah yang mengalami penggumpalan atau perlekatan, dapat juga meningkatnya LED.

d. Bentuk eritrosit

Eritrosit yang abnormal dapat menyebabkan hasil LED menurun.

e. Berat eritrosit

Makrositer : LED lambat turun

Spherositer : LED cepat turun

Mikrositer : LED lambat turun LED akan bertambah cepat bila eritrosit meningkat.

f. Waktu

Waktu yang diperlukan maksimal 2 jam setelah pengambilan darah. Apabila dikerjakan lebih 2 jam maka eritrosit akan cepat mengendap dan hasil LED semakin tinggi.

g. Luas permukaan tabung

Jika diameter tabung lebih besar maka LED semakin cepat turun.

h. Kedudukan tabung

Meletakkan tabung pada keadaan miring maka hasil LED akan meningkat. Tabung yang miring 30° akan mempercepat LED sebanyak 3%.

i. Pebandingan antara antikoagulan darah yang tidak tepat

perlakuan ini dapat menjadikan partial clotting yang akan memperlambat hasil LED. Antikoagulan yang digunakan jika terlalu banyak maka pengendapan sel juga berjalan lambat. setiap 1 ml darah dibutuhkan 1 mg EDTA untuk menghindari pembekuan darah.

C. Masalah Klinis

1. Penurunan Laju

Polisitemia vera, *Congestive heart failure* (CHF), anemia sel sabit, mononukleosis *infeksius*, defisiensi faktor V, artitis degeneratif, angina pektoris.

2. Peningkatan Laju

Artritis Reumatoid, demam reumatik, kanker (lambung, kolon, payudara, hati, ginjal), limfosarkoma, endokarditis bakterial, gout, hepatitis, sirosis hati, penyakit inflamasi panggul akut, sifilis, tuberkulosis, glomerulusnefritis, Sistemik Lupus Eritematosus (SLE), penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (eritoblastosis fetalis), kehamilan (trimester kedua dan ketiga)



PRAKTIKUM

D. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

- a. Menentukan seberapa cepat eritrosit mengendap selama satu jam akibat adanya perubahan komponen dalam darah akibat masalah klinis.
- b. Untuk membandingkan hasil pemeriksaan laboratorium lain guna mendiagnosis kondisi inflamasi.

2. Metode

Metode Westergren & Wintrobe

3. Prinsip

Metode Westergren

Penambahan antikoagulan Na. Sitrat 3,8% dalam darah atau NaCl 0,85% dalam darah EDTA dengan perbandingan tertentu akan mengencerkan darah dan dimasukkan dalam pipet *Wetergren* yang diletakkan tegak lurus dalam waktu tertentu, maka sel-sel darah akan mengendap karena perbedaan berat jenis. Jumlah milimeter darah merah yang mengendap selama 1 jam dinyatakan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.

Metode Wintrobe

Darah EDTA dalam tabung Wintrobe yang didiamkan tegak lurus dalam waktu tertentu, maka sel-sel darah akan mengendap karena perbedaan berat jenis. Jumlah milimeter darah merah yang mengendap selama 1 jam dinyatakan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.

Metode Automatic

Metode pemeriksaan LED otomatis, sampel yang digunakan adalah darah vena yang dicampur EDTA. Prinsip metode pemeriksaan otomatis adalah darah dikumpulkan dalam kuvet khusus dan kemudian disimpan di sepuluh lokasi pada alat tersebut. Dengan bantuan sensor digital (unit optoelektronik), alat secara otomatis menentukan tingkat pengendapan sel darah merah, kemudian mengolah darah dan secara otomatis mencetak atau menampilkannya di layar dalam mm/jam dalam waktu 20 menit.



Gambar 8.2 CARETIUM XC-A30
Automated Erythrocyte Sedimentation Rate Analyzer
 (Sumber : *e-katalog.lkpp.go.id*)

4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel
 - a. Darah vena (Na.Sitrat 3,8%) dengan perbandingan 4 bagian darah dan 1 bagian Na.sitrat 3,8%.
 - b. Darah vena (EDTA) yang ditambahkan NaCl 0,85% dengan perbandingan 4 bagian darah dan 1 bagian NaCl 0,85%.

5. Alat dan bahan

Metode Westergren

- a. Pipet Westergren
- b. Rak tabung *Wetergren*
- c. Bulb (karet penghisap)

Metode Wintrobe

- a. Tabung Wintrobe
- b. Rak tabung Wintrobe
- c. Pipet

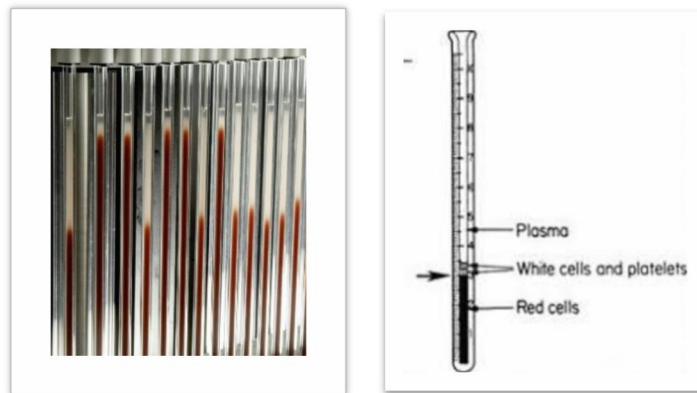
E. Analitik

Prosedur kerja

1. Metode Westergren

- a. Spesimen darah Na.Sitrat 3,8% atau darah EDTA dengan NaCl 0,85% dipipet menggunakan tabung Westergren sampai tanda batas 0.
- b. Letakkan tabung pada rak tabung atau penyangga pipet Westergren dengan posisi tegak lurus pada tempat rata dan jauh dari getaran dalam suhu ruangan.
- c. Biarkan selama 1 jam.

- d. Ukur tinggi plasma dalam mm, dari tanda batas 0 sampai tanda batas eritrosit mengendap. Catat dan laporkan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.

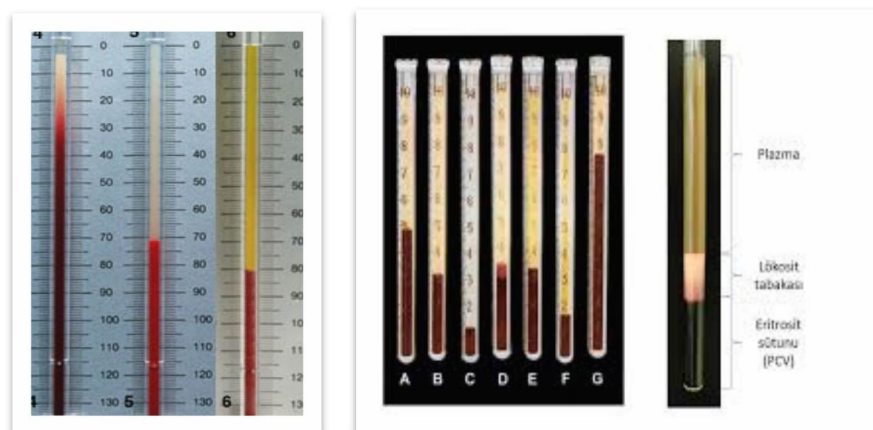


Gambar 8.3 Pemeriksaan LED metode Westergren
(Sumber : Riswanto, 2013)

Prosedur kerja :

2. Metode Wintrobe

- Masukkan darah ke dalam tabung Wintrobe sampai tanda batas 0 atau 10.
- Letakkan tabung Wintrobe dengan posisi tegak lurus pada rak tabung
- Setelah 1 jam, ukur tinggi plasma dalam mm. Catat dan laporkan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.



Gambar 8.4 Pemereksiaan LED metode Wintrobe
(Sumber : Riswanto, 2013)

1. Nilai Normal

Bayi baru lahir : 0 – 2 mm/jam
Anak : 0 – 10 mm/jam

Pria Dewasa <50 tahun

Metode Westergren : 0 – 15 mm/jam
Metode Wintrobe : 0 – 9 mm/jam

Pria Dewasa >50 tahun

Metode Westergren : 0 – 20 mm/jam
Metode Wintrobe : 0 – 9 mm/jam

Wanita Dewasa <50 tahun

Metode Westergren : 0 – 20 mm/jam
Metode Wintrobe : 0 – 15 mm/jam

Wanita Dewasa >50 tahun

Metode Westergren : 0 – 30 mm/jam
Metode Wintrobe : 0 – 15 mm/jam

F. Post analitik

Sumber kesalahan pemeriksaan

Adanya gumpalan dalam darah sehingga menyebabkan hasil LED tidak betul.
Gelembung-gelembung udara pada tabung sehingga menyebabkan adanya kesalahan.
Kemiringan tabung LED.

Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil	: Data pasien

Yogyakarta, 20...

Pembimbing Praktikan

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

E. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini:

1. Pemeriksaan LED dengan metode Westergren
2. Pemeriksaan LED dengan metode Wintrobe

F. Tes

1. Seorang wanita usia 43 tahun datang membawa form pemeriksaan laboratorium. Dokter diminta untuk melakukan pemeriksaan LED metode Wetergren. Bagaimana prosedur untuk tindakan tersebut?
 - a. Spesimen darah Na.Sitrat 3,8% atau darah EDTA dengan NaCl 0,85% dipipet menggunakan tabung Westergren sampai tanda batas 0.
 - b. Letakkan tabung pada rak tabung atau penyangga pipet Westergren dengan posisi tegak lurus pada tempat rata dan jauh dari getaran dalam suhu ruangan.
 - c. Biarkan selama 1 jam.
 - d. Ukur tinggi plasma dalam mm, dari tanda batas 0 sampai tanda batas eritrosit mengendap. Catat dan laporkan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.
2. Seorang pasien laki-laki berusia 58 tahun datang ke klinik dengan keluhan nyeri sendi yang menetap selama 3 bulan terakhir, terutama pada sendi lutut, pergelangan tangan, dan jari-jari tangan. Pasien juga mengeluhkan kekakuan sendi di pagi hari yang berlangsung lebih dari 1 jam. Dokter mencurigai adanya penyakit inflamasi dan memutuskan untuk melakukan pemeriksaan LED sebagai salah satu tes penunjang.

Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan:

- a. LED: 68 mm/jam (nilai normal untuk laki-laki usia 50+ tahun: < 20 mm/jam)
- b. Hemoglobin: 12.5 g/dL (nilai normal: 13.5-17.5 g/dL)
- c. Leukosit: 9.500/ μ L (nilai normal: 4.500-11.000/ μ L)
- d. Trombosit: 320.000/ μ L (nilai normal: 150.000-450.000/ μ L)

Pertanyaan:

- a. Apa arti dari hasil pemeriksaan LED pada pasien ini?
- b. Mengapa LED dapat meningkat pada kondisi seperti yang dialami pasien?
- c. Selain penyakit inflamasi sendi, sebutkan tiga kondisi lain yang dapat menyebabkan peningkatan LED!
- d. Apakah LED dapat digunakan sebagai satu-satunya parameter untuk mendiagnosis penyakit? Jelaskan jawaban Anda!

Jawaban:

- a. Hasil pemeriksaan LED pasien ini (68 mm/jam) menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan nilai normal untuk usia dan jenis kelaminnya (< 20 mm/jam). Ini mengindikasikan adanya proses inflamasi aktif dalam tubuh pasien.
- b. LED dapat meningkat pada kondisi ini karena:
 - 1) Inflamasi menyebabkan peningkatan produksi protein fase akut seperti fibrinogen.
 - 2) Protein-protein ini menyebabkan eritrosit membentuk rouleaux (tumpukan) yang mengendap lebih cepat.
 - 3) Proses inflamasi kronis pada sendi (seperti pada arthritis reumatoid) dapat menyebabkan peningkatan LED yang persisten.
- c. Tiga kondisi lain yang dapat menyebabkan peningkatan LED:
 - 1) Infeksi (misalnya, tuberkulosis, endokarditis)
 - 2) Keganasan (misalnya, limfoma, multiple myeloma)
 - 3) Penyakit autoimun lain (misalnya, lupus eritematosus sistemik, vaskulitis)
- d. LED tidak dapat digunakan sebagai satu-satunya parameter untuk mendiagnosis penyakit. Alasannya:
 - 1) LED adalah tes non-spesifik yang dapat meningkat pada berbagai kondisi.
 - 2) Peningkatan LED hanya menunjukkan adanya proses inflamasi, tanpa menunjukkan penyebab spesifiknya.

- 3) Beberapa penyakit inflamasi mungkin tidak selalu menunjukkan peningkatan LED.
- 4) Diperlukan evaluasi klinis dan pemeriksaan penunjang lainnya untuk menegakkan diagnosis yang tepat.

G. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan LED	10
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan LED	10
3	Menyiapkan alat dan reagen	10
4	Memipet sampel darah EDTA dan Na.sitrat 3.8% pada tabung wetergren	15
5	Menghitung 100 jenis sel lekosit pada dengan mikroskop pada perbesaran 1000x + minyak imersi	5
6	Menuliskan hasil perhitungan pada tabel yang sudah disiapkan	20
7	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
8	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
9	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100

1. Dibentuk 4 - 5 kelompok belajar. Masing-masing kelompok membuat materi presentasi tentang latar belakang dan tujuan dilakukannya pemeriksaan LED, isi materi meliputi :
 - A. Persiapan Pengambilan Bahan Pemeriksaan LED
 - B. Pengambilan Darah Vena
 - C. Transportasi bahan Pemeriksaan
 - D. Persiapan alat, reagen dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan :
 - E. Prosedur pemeriksaan /SOP
 - F. Interpretasi hasil serta kaidah pelaporan.

Materi dibuat dalam bentuk power point kemudian disajikan didepan kelas. Kelompok yang bertindak sebagai audiens diberi kesempatan untuk bertanya atau memberi sanggahan pada kelompok penyaji.

2. Latihan/Kasus.

- A. Seorang pasien wanita berumur 38 tahun melakukan pemeriksaan hematologi rutin namun ATLM tersebut sedang melakukan pemeriksaan sampel lain di laboratorium maka sampel dibaca setelah 5 jam. Hasil LED pasien ialah 50 mm/jam. Apakah hasil laboratorium ini normal atau tidak ?
- Apakah hasil laboratorium ini benar atau tidak ?
 - Apakah ada faktor yang mempengaruhi hasil tersebut.

Nilai normal

Wanita: 0 – 15 mm/jam dan

Pria: 0-10 mm/jam

- c. Data hasil lainnya :

LED: 50 mm/jam

B. Kesimpulan

Hasil pemeriksaan benar dan faktor yang mempengaruhi hasil pasien ialah adanya penundaan pembacaan hasil. Waktu yang diperlukan maksimal 2 jam setelah mengendap dan hasil LED semakin tinggi.

Kerjakan soal dibawah ini untuk uji daya serap pengetahuan.

1. Kasus (vignette)

Seorang ATLM melakukan pemeriksaan LED metode Westergreen, namun darah ketika ditambahkan antikoagulan didapatkan hasil terlalu encer. Setelah ditelusuri, ternyata ATLM tersebut memasukan antikoagulan 3 ml untuk 1 ml darah. berapah perbandingan yang seharusnya dilakukan ATLM tersebut?

- 1:1
 - 1:2
 - 1:3
 - 1:4
 - 1:5
2. Pasien datang ke laboratorium dengan membawa formulir permintaan pemeriksaan. Salah satu pemeriksaannya adalah Laju Endap Darah. ATLM melakukan

pengambilan darah pasien, lalu mengencerkan darah dengan perbandingan darah dan antikoagulan 4:1.

Apa nama antikoagulan yang digunakan ATLM pada kasus tersebut?

- A. Ammonium oksalat
 - B. EDTA
 - C. Heparin
 - D. Kalium oksalat
 - E. Natrium sitrat 3,8%
3. Seorang pria umur 38 tahun memiliki penyakit infeksi kronis datang ke laboratorium klinik. Pria tersebut selalu bekerja pada malam hari, ia ingin melakukan pemeriksaan Laju endap darah. Bagaimana kemungkinan hasil kadar laju endap darahnya ?
- a. Kadar LED menurun
 - b. Kadar LED meningkat
 - c. Kadar LED sedikit menurun
 - d. Kadar LEDsedikit meningkat
 - e. Kadar LED normal

Jawaban :

- 1. D
- 2. E
- 3. B



RINGKASAN

Tes laju sedimentasi eritrosit dilakukan dengan mengambil darah melalui tabung khusus. Semakin banyak sel darah merah yang diendapkan dalam tabung, maka hasil LED akan semakin tinggi. Hasil LED dipengaruhi oleh kondisi fisik, terutama bila terdapat peradangan. Fungsi LED adalah untuk menentukan kecepatan penyimpanan sel darah merah dalam plasma. Pemeriksaan LED yaitu dengan metode Westergren, Wintrobe dan automatic.



DAFTAR PUSTAKA

- Catlogs. (2022). Gambar LED Analyzer Roller 20 MC. Diakses pada 25 Januari 2022, dari <https://pdf.medicaexpo.com/pdf/alifax/roller-20-mc/67562-155757-2.html>
- Riswanto, 2013. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Jogjakarta : Alfabedia & Kanak Medika.
- Sukarmin, M., dan Iqlima, D. 2019. Perbandingan Hasil Pengukuran Laju Endap Darah Dengan Metode Manual dan Automatic. Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS. Dr. Soetomo, 5(1), 1-5
- Seran, B.Y. 2018. Sistem Peredaran Darah Pada Manusia. PT. Puri Delco: Bandung.
- Wijayanti, W.A. 2018.
- Yana, A.D. 2019. Hitung Laju Endap Darah (LED). Ponorogo: Uwais Inspirasi Indonesia

MODUL IX

JUMLAH LEUKOSIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan jumlah leukosit
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan jumlah leukosit metode pengenceran dengan pipet Thoma dan tabung
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan jumlah leukosit



PENDAHULUAN

Sel darah putih, yang juga dikenal sebagai leukosit, merupakan bagian seluler dari darah yang tidak mengandung hemoglobin. Sel ini memiliki inti dan mampu membelah diri. Leukosit berfungsi dalam sistem kekebalan tubuh dengan menghancurkan agen infeksi serta benda asing yang masuk ke aliran darah atau dengan memproduksi antibodi. (Nugraha & Badrawi, 2021)

Konsentrasi leukosit atau hitung leukosit adalah jumlah leukosit yang terdapat dalam setiap 1 liter darah. Jumlah leukosit dapat dihitung secara manual tetapi hasilnya kurang presisi. sehingga sebagian besar laboratorium klinis saat ini menggunakan penghitung sel elektronik otomatis untuk mempercepat waktu pengujian (Hamid, 2012).

Penentuan jumlah leukosit dengan metode manual menggunakan mikroskop di dalam bilik hitung. Darah yang akan dianalisis terlebih dahulu diencerkan menggunakan reagen Turk, yang mengandung asam asetat glasial untuk melisiskan dinding sel darah maka yang terbaca hanya inti sel saja dan gentian violet untuk mewarnai inti sel agar mudah dikenali. Pengenceran darah biasanya dilakukan sebanyak 20 kali, tetapi bisa disesuaikan dengan

kondisi pasien. Pada kasus leukositosis (peningkatan jumlah leukosit), darah bisa diencerkan lebih banyak, sedangkan pada leukopenia (penurunan jumlah leukosit), pengenceran bisa dikurangi. Kelemahan cara manual ini adalah sel darah merah berinti (*Nucleated Red Blood Cell, NRBC*) tidak bisa dibedakan dari sel darah putih atau sel darah merah berinti akan terbaca sebagai leukosit di kamar hitung. Jika terdapat NRBC, persentasenya dapat dihitung berdasarkan preparat hapusan darah, sehingga jumlah total sel berinti dapat dikoreksi. (Kiswari, 2014).

Pada alat hitung otomatis, sel darah putih dihitung menggunakan teknik *flowcytometri* dan *light scattering*. *Hematology analyzer* impedansi sering tidak mampu menghitung sel darah putih dalam jumlah sangat sedikit, sehingga diperlukan pemeriksaan dengan metode *flowcytometri* menggunakan pewarna DNA. Koreksi secara akurat dicapai dengan ekstrapolasi dari perhitungan berdasarkan pengenceran secara serial. (Nurhayati, Betty; Gunawan, 2021)

Pada beberapa penyakit, jumlah leukosit dalam darah mengalami perubahan misalnya pada mononukleosis infeksiosa dan infeksi bakteri, jumlah leukosit meningkat secara signifikan; sedangkan pada demam tifoid, jumlah leukosit menurun secara signifikan. (Nurhayati, Betty; Gunawan, 2021)



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan : Untuk melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit
2. Metode : Pengenceran dengan pipet Thoma dan tabung
3. Prinsip : Darah diencerkan dengan reagen Turk, larutan yang mengandung asam lemah yang akan melisiskan sel selain leukosit serta gentian violet yang akan mewarnai leukosit sehingga sel mudah lebih dihitung dibawah mikroskop.
4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel : darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan EDTA yang tidak mengandung bekuan dan tidak hemolisis
5. Alat dan Bahan :
 - ✓ Haemositometer yang terdiri dari bilik hitung Improved Neubauer, pipet Thoma leukosit, karet penghisap, dan kaca penutup.
 - ✓ Mikropipet 100 μL , 5 μL + *yellow tip*
 - ✓ Tabung serologis
 - ✓ Pipet tetes
 - ✓ Mikroskop
 - ✓ Larutan Turk yang mempunyai komposisi : asam asetat glasial 3 mL, gentian violet 1% 1 mL dan aquadest sampai 100 mL

B. Analitik

1. Prosedur Kerja :

Persiapan Bilik Hitung

1. Siapkan bilik hitung dan kaca penutup dengan kondisi bersih dan kering
2. Ambil sedikit air dan basahi kedua tanggul bilik hitung
3. Pasang kaca penutup di atas bilik hitung.
4. Geser kaca penutup keatas dan kebawah secara berulang hingga terbentuk cincin Newton (pelangi) pada kedua tanggul.

Pengenceran dengan Pipet Thoma Leukosit

1. Hisap darah sampai pada garis tanda "0,5" tepat.
2. Bersihkan sisa darah yang melekat pada ujung luar pipet.
3. Hisap larutan Turk perlahan-lahan sampai garis tanda "11" tepat, tanpa ada gelembung udara.
4. Tutup ujung pipet dengan ujung jari kemudian lepaskan karet penghisap.

5. Homogenkan larutan darah dan reagen dalam pipet Thoma selama 1-2 menit sehingga tercampur sempurna. Jika tidak akan segera dihitung, maka letakkan pipet dalam posisi horizontal diatas meja datar.
6. Buang larutan yang ada pada batang kapiler pipet Thoma (sekitar 1-2 tetes) dan kemudian alirkan larutan tersebut dengan menyentuh pinggir kaca penutup bilik hitung.
7. Biarkan bilik hitung yang sudah terisi tersebut sekitar 2-3 menit agar leukosit menyebar dan mengendap.
8. Tentukan pengenceran larutan dalam pipet Thoma berdasarkan rumus:

$$\text{Pengenceran pipet Thoma} = \frac{\text{volume total}-1}{\text{volume darah}}$$

$$\text{Pengenceran pipet Thoma} = \frac{11-1}{0,5} = 20 \text{ kali}$$

Pengenceran dengan Tabung

1. Pipet kedalam tabung, reagen Turk sebanyak 95 µL dan tambahkan 5 µL darah.
2. Homogenkan larutan selama 2-3 menit agar tercampur dan eritrosit terhemolisis.
3. Ambil 1 tetes campuran kemudian dan kemudian mengalirkan 1 tetes larutan tersebut dengan menyentuh pinggir kaca penutup bilik hitung.
4. Biarkan bilik hitung yang sudah terisi tersebut sekitar 2-3 menit agar leukosit menyebar dan mengendap.
5. Tentukan pengenceran larutan dalam tabung berdasarkan rumus :

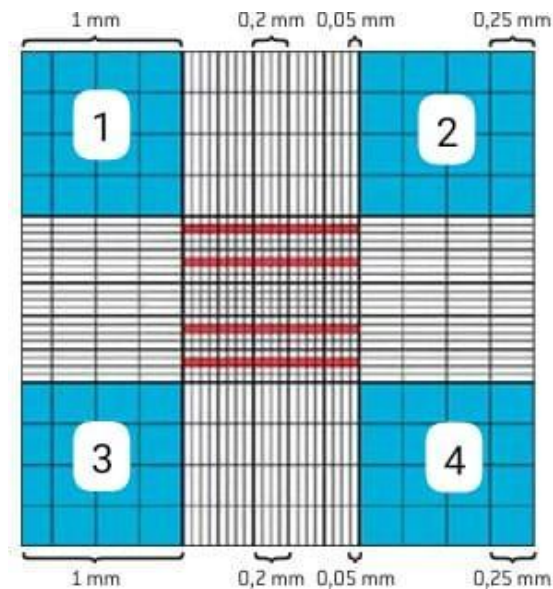
$$\text{Pengenceran tabung} = \frac{\text{volume reagen} + \text{volume darah}}{\text{volume darah}}$$

$$\text{Pengenceran tabung} = \frac{95+5}{5} = \frac{100}{5} = 20 \text{ kali}$$

Perhitungan jumlah leukosit

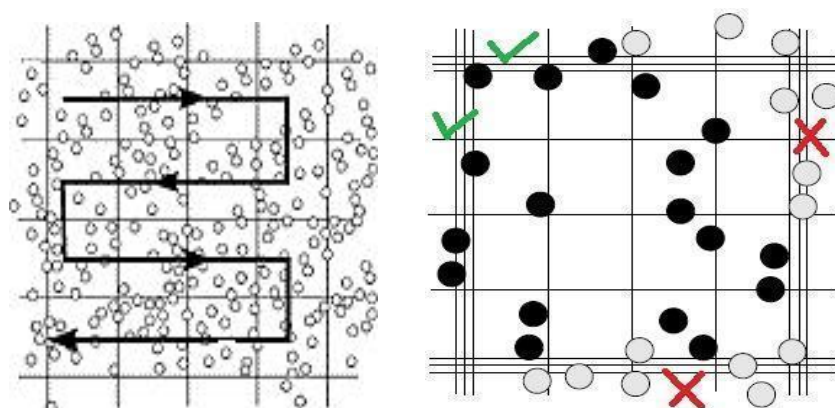
1. Letakkan bilik hitung yang telah berisi larutan darah dan reagen Turk diatas meja mikroskop.
2. Lakukan pembacaan leukosit dengan menggunakan lensa okuler 10x dan lensa objektif 10x (perbesaran menjadi 100x).
3. Hitung semua leukosit yang terdapat dalam 4 bidang besar disudut yang mempunyai luas 1 mm². Masing- masing bidang besar terbagi lagi menjadi 16 bidang sedang

4. Volume bilik hitung dapat dihitung dari 1 bidang besar leukosit menggunakan rumus: panjang x lebar x tinggi bilik hitung = 1 mm x 1 mm x 1/10 mm = 1/10 mm³ = 0,1 mm³. Jika leukosit dihitung dalam 4 bidang besar, maka volumenya menjadi = 4 x 1/10 mm³ = 4/10 mm³ = 0,4 mm³ (Lonza Cologne, 2009).



Gambar 9.1 Bilik hitung Improved Neubauer

5. Sel leukosit dihitung secara zigzag dengan aturan jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kiri atau garis batas tengah atas maka harus dihitung (ilustrasi sel berwarna hitam). Sebaliknya jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kanan atau bawah, maka tidak boleh dihitung (ilustrasi sel berwarna putih) (Marienfield, 2019).



Gambar 9.2 Aturan menghitung leukosit

Nilai Normal:

Bayi baru lahir	: 8.000 - 24.000 sel/ μ L
Bayi (3 – 6 bulan)	: 6.000 - 18.000 sel/ μ L

Anak- anak (6 – 12 tahun) : 5.000 - 14.000 sel/ μ L

Dewasa : 4.000 -10.000 sel/ μ L

(Bain, BJ; Bates, Imelda; Laffan, MA; Lewis, 2017)

Nilai Kritis:

Batas bawah : 1.000 sel/ μ L

Batas atas : 30.000 sel/ μ L

(Keng et al., 2016)

Perhitungan:

$$\text{Jumlah leukosit}/\mu\text{L} = \frac{\text{jumlah leukosit yang ditemukan} \times \text{pengenceran}}{\text{volume bilik hitung}}$$

$$\text{Jumlah leukosit}/\mu\text{L} = \frac{n \times 20}{0,4} = n \times 50$$

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

- ✓ Hasil ditulis dengan jelas dan dalam satuan sel/ mm^3 atau / μL .
- ✓ Leukopenia adalah keadaan jumlah leukosit dibawah nilai normal.
- ✓ Leukositosis adalah keadaan jumlah leukosit diatas nilai normal.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- ✓ tidak tepat memipet volume larutan reagen dan darah.
- ✓ adanya kotoran di bilik hitung dan lensa mikroskop.

Jaminan mutu pemeriksaan

- ✓ Faktor pengenceran.

Untuk meningkatkan ketepatan jumlah leukosit jika ditemukan jumlah sel yang sangat banyak pada kondisi leukositosis maka faktor pengenceran diperbesar, sebaliknya bila jumlah sel sedikit pada kondisi leukopenia maka faktor pengenceran menjadi lebih kecil.

- ✓ Koreksi terhadap eritrosit berinti.

Dalam kondisi normal, eritrosit berinti tidak ditemukan dalam darah tepi, tetapi jika ada maka sel ini tidak bisa hancur oleh larutan Turk. Akibatnya sel ini akan terhitung sebagai leukosit. Cara mengoreksi jumlah leukosit sebenarnya dilakukan dengan pemeriksaan sediaan apus darah tepi dan menghitung eritrosit berinti dalam 100 sel leukosit. Jumlah leukosit

sebenarnya kemudian dihitung dengan rumus berikut ini (Nugraha & Badrawi, 2021)

$$\text{Jumlah leukosit sebenarnya } (\mu\text{L}) = \text{Jumlah leukosit} \times \frac{100 \text{ leukosit}}{100 \text{ leukosit} + \text{jumlah eritrosit berinti}}$$

D. Jurnal Praktikum/Laporan Sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil Data pasien Nama Umur Jenis Kelamin Pengenceran Pipet Thoma Diketahui : Jumlah sel yang ditemukan pengenceran volume bilik hitung Jumlah leukosit Pengenceran Tabung Diketahui : Jumlah sel yang ditemukan pengenceran volume bilik hitung Jumlah leukosit	: : : : = = = = = = =	
Kesimpulan	:	

....., 20...

Praktikan

Pembimbing

() ()



EVALUASI

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakan latihan berikut ini:

1. Pemeriksaan jumlah leukosit metode pengenceran Thoma.
2. Pemeriksaan jumlah leukosit metode pengenceran tabung

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Surat pengantar pemeriksaan dokter menyatakan bahwa seorang pasien terindikasi mengalami peradangan akut, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit. Pemeriksaan dilakukan dengan metode manual. Apa reagen yang digunakan pada pemeriksaan tersebut?
 - a. Rees Ecker
 - b. Turk
 - c. Lugol
 - d. Hayem
 - e. Eosin
2. Larutan Turk adalah pengencer yang digunakan untuk menghitung jumlah leukosit. Larutan ini mengandung gentian violet dan asam asetat glasial. Apa tujuan penambahan larutan gentian violet dalam reagen ini?
 - a. Untuk mewarnai inti dan granula leukosit
 - b. Untuk mewarnai eritrosit dan trombosit
 - c. Untuk melisiskan eritrosit dan trombosit
 - d. Untuk melisiskan eritrosit
 - e. Untuk mengendapkan leukosit
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit dengan pipet Thoma. ATLM tersebut memipet darah sampai tanda 0,5 dan larutan Turk sampai tanda 11 kemudian memeriksa dengan mikroskop dalam 4 kotak besar bilik hitung Improved Neubauer ditemukan 100 leukosit. Berapa jumlah leukosit/ μ L darah?

- a. 2.400
 - b. 5.000
 - c. 7.500
 - d. 9.500
 - e. 11.000
4. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit pengenceran dengan tabung. ATLM tersebut memipet Turk sebanyak 95 μL dan menambah dengan spesimen darah sebanyak 5 μL . Selanjutnya ATLM kemudian memeriksa dengan mikroskop didalam 4 kotak besar bilik hitung Improved Neubauer ditemukan 150 sel leukosit. Berapa jumlah leukosit/ μL darah?
- a. 3.400
 - b. 5.000
 - c. 7.500
 - d. 8.500
 - e. 15.000
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit pengenceran tabung dan mendapatkan 15.000 sel/ μL darah. ATLM tersebut kemudian melakukan koreksi terhadap jumlah leukosit dengan memeriksa sediaan apus darah tepi dan menemukan sebanyak 50 berinti dalam 100 leukosit. Berapa jumlah leukosit/ μL sebenarnya?
- a. 5.000
 - b. 7.500
 - c. 10.000
 - d. 13.000
 - e. 19.000

Kunci Jawaban :

1. B
2. A
3. B
4. C
5. C

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
-----	------------------------------	---------------

1	Mengetahui prinsip pemeriksaan jumlah leukosit	5
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan jumlah leukosit	10
3	Menyiapkan alat dan reagen	10
4	Memipet spesimen darah dan reagen	10
5	Mencampur spesimen darah dan reagen sampai homogen	10
6	Menginkubasi campuran spesimen darah dan reagen.	5
7	Menghitung jumlah sel pada 4 bidang besar bilik hitung dengan mikroskop pada perbesaran 100x dan menuliskan hasilnya berdasarkan rumus perhitungan.	20
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Penghitungan jumlah leukosit yang sederhana bisa dilakukan secara manual menggunakan mikroskop di dalam bilik hitung. Darah yang akan dianalisis terlebih dahulu diencerkan dengan reagen Turk. Reagen ini mengandung asam asetat glasial yang berfungsi untuk melisiskan sel selain leukosit dan gentian violet yang membantu mewarnai inti leukosit sehingga lebih mudah dikenali. Pengenceran darah yang umum dilakukan adalah sebanyak 20 kali, namun bisa disesuaikan dengan kondisi pasien. Pada leukositosis (peningkatan jumlah leukosit), darah dapat diencerkan lebih tinggi, sementara pada leukopenia (penurunan jumlah leukosit), pengenceran bisa dikurangi.



DAFTAR PUSTAKA

- Bain, BJ; Bates, Imelda; Laffan, MA; Lewis, S. (2017). *Dacie and Lewis Practical Haematology 12th Edition*.
- Hamid, G. A. (2012). *Manual of Hematology*. <https://doi.org/10.1136/pgmj.61.721.1023>
- Keng, T. B., De La Salle, B., Bourner, G., Merino, A., Han, J. Y., Kawai, Y., Peng, M. T., & McCafferty, R. (2016). Standardization of haematology critical results management in adults: an International Council for Standardization in Haematology, ICSH, survey and recommendations. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(5), 457–471. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12526>
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi*. Penerbit Erlangga.
- Lonza Cologne. (2009). *Technical Reference Guide Cell Counting and Determination of Viability via Hemocytometer*.
- Marienfield. (2019). *Counting Chamber (Hemacytometer)*.
- Nugraha, G., & Badrawi, I. (2021). Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik. In *Trans Info Media*.
- Nurhayati, Betty; Gunawan, L. S. (2021). *Bahan Ajar TLM Hematologi*.

MODUL X

HITUNG JENIS LEUKOSIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan hitung jenis leukosit
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit



TUJUAN PEMBELAJARAN

Laboratorium sering menggunakan apusan darah yang telah diwarnai dan dievaluasi dengan baik. Sediaan Apus Darah Tepi (SADT) atau Apusan Darah Tepi (ADT) adalah pemeriksaan hematologi mikroskopis yang digunakan untuk mengamati morfologi sel darah dan memberikan petunjuk dalam berbagai kondisi medis seperti kelainan sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. SADT dibuat dari tetesan darah yang telah ditambahkan antikoagulan EDTA dan disebarakan secara tipis pada kaca objek. SADT yang memenuhi syarat dapat diwarnai menggunakan prinsip pewarnaan Romanowsky, seperti larutan Giemsa dan Wright. Prinsip pewarnaan Romanowsky berlandaskan pada karakteristik kimiawi dalam sel. Metode pewarnaan ini menggunakan dua zat warna yang berbeda: Azure B (*trimethylation*) yang bersifat basa dan eosin Y (*tetrabromofluorescein*) yang bersifat asam. Pewarnaan ini menghasilkan pewarnaan netral. Azure B, sebagai zat warna basa akan berikatan dengan inti sel yang bersifat asam dan menghasilkan warna biru keunguan. Sementara itu, eosin Y, sebagai zat warna asam akan berikatan dengan sitoplasma yang

bersifat basa dan menghasilkan warna merah (Bain, BJ; Bates, Imelda; Laffan, MA; Lewis, 2017).

Setelah pewarnaan, SADT dinilai secara mikroskopis dan sel darah diidentifikasi berdasarkan ukuran, bentuk, dan warnanya. Apusan tersebut harus dievaluasi secara sistematis menggunakan lensa obyektif mikroskop, dimulai dengan 10x, lalu 40x dan terakhir 100x ditambah dengan minyak imersi. Evaluasi hapusan mencakup diferensial dan morfologi leukosit, morfologi eritrosit, serta perkiraan jumlah trombosit (Rodak, 2013).

Pemeriksaan hitung jenis leukosit adalah bagian dari pemeriksaan darah rutin yang dilakukan secara manual dengan mikroskop maupun dengan menggunakan alat hitung otomatis *hematology analyzer*. Pemeriksaan hitung jenis leukosit secara mikroskopis bertujuan untuk mengetahui jumlah relatif atau persentase berbagai jenis leukosit dalam 100 sel. Hitungan ini sering diabaikan jika jumlah total leukosit normal. Namun, beberapa kelainan dengan indikasi adanya demam, dugaan infeksi, kasus alergi, penggunaan obat, leukemia, inflamasi, dan gangguan imunologis dapat menyebabkan perubahan persentase jenis leukosit meskipun jumlah total leukosit berada dalam batas normal. Jenis-jenis leukosit tersebut meliputi basofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit, dan monosit. (Nurhayati, Betty; Gunawan, 2021).



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

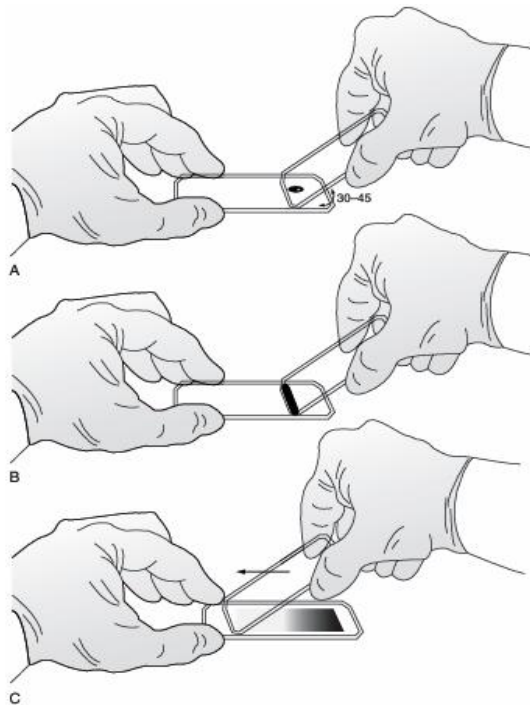
1. Tujuan Pemeriksaan : untuk melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
2. Metode : manual dengan tabulasi
3. Prinsip : Sediaan Apus Darah Tipis (SADT) yang sudah diwarnai dengan Giemsa / Wright kemudian diperiksa dibawah mikroskop. Jenis leukosit yang ditemukan kemudian dihitung jumlahnya dalam 100 leukosit.
4. Jenis dan kriteria spesimen / syarat : darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan EDTA yang tidak mengandung bekuan dan tidak hemolisis. Spesimen stabil pada suhu kamar dalam waktu 1 jam setelah pengambilan.
5. Alat dan Bahan :
 - ✓ Kaca Objek
 - ✓ *Spreader* / kaca penghapus (kaca objek yang ujungnya rata)
 - ✓ Bak pewarnaan
 - ✓ Pipet tetes
 - ✓ Mikroskop + minyak imersi
 - ✓ Metanol Absolut
 - ✓ Larutan Giemsa
 - ✓ Larutan Wright
 - ✓ Buffer pH 6,4

B. Analitik

1. Prosedur Kerja :

Pembuatan Sediaan Apus darah Tipis (SADT)

1. Teteskan darah sekitar 2-3 cm dari ujung kanan kaca objek.
2. Letakkan *spreader* di depan darah dan sentuhkan pada darah.
3. Dorong *spreader* secara perlahan dengan sudut sekitar 30 - 45° derajat ke arah ujung kaca objek dengan panjang sekitar 3 - 4 cm. Darah harus habis sebelum *spreader* mencapai ujung.
4. Keringkan hasil apusan darah yang cukup tipis pada suhu kamar. Tulis identitas pasien pada bagian sediaan yang tebal.



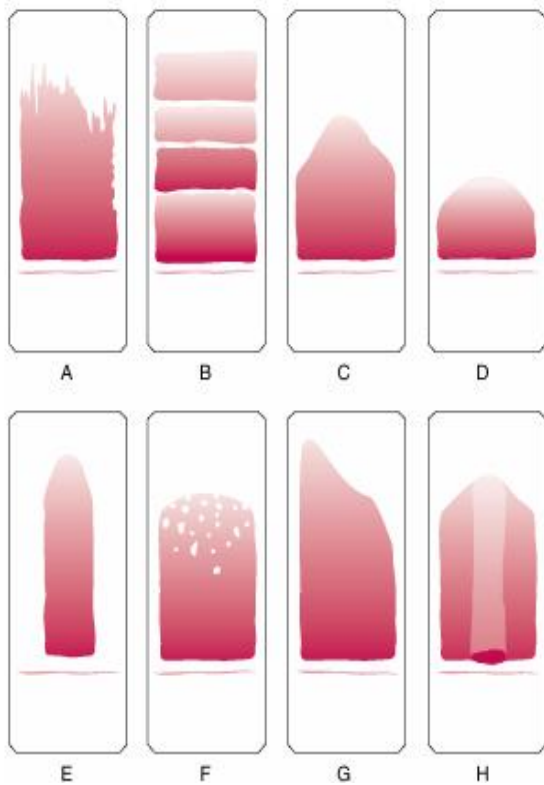
Gambar 10.1 Cara membuat apusan darah tipis
Sumber : (Rodak, 2013)

5. Sediaan hapus yang baik mempunyai ciri - ciri sebagai berikut ini :

- Berbentuk seperti lidah kucing.
- Sediaan tidak melebar ke tepi kaca dengan panjang sekitar $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ panjang kaca.
- Pinggir sediaan rata, tidak berlubang, tidak bergaris-garis dan tidak bergelombang.



Sediaan apus darah yang baik



Sediaan apus darah yang tidak baik bisa disebabkan oleh:

- A. *Spreader* bergerigi atau pecah atau kasar.
- B. Ragu-ragu dalam gerakan mendorong *spreader*.
- C. *Spreader* digerakkan terlalu cepat.
- D. Tetesan darah terlalu sedikit.
- E. Tetesan darah tidak menyebar ke seluruh lebar kaca objek.
- F. Ada kotoran atau minyak pada kaca objek; juga bisa disebabkan oleh peningkatan lipid dalam spesimen darah.
- G. Tekanan yang tidak merata pada *spreader*.
- H. Penundaan waktu; tetesan darah mulai mengering.

Gambar 10.2 Kualitas sediaan apus darah
Sumber : (Rodak, 2013)

Pewarnaan Giemsa

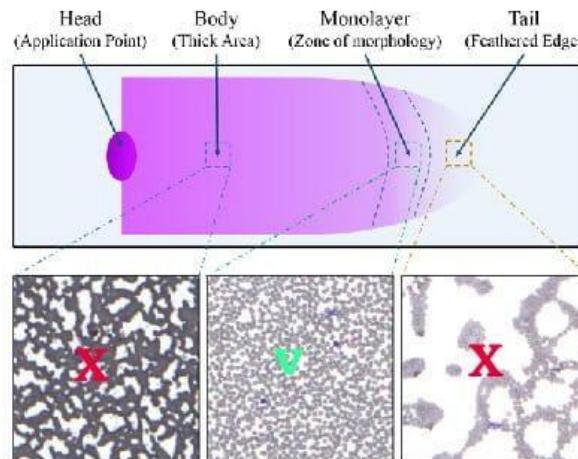
1. Fiksasi sediaan apus darah yang sudah kering dengan meneteskan larutan metanol absolut.
2. Tunggu sampai larutan metanolnya menguap.
3. Tetesi sediaan dengan larutan Giemsa yang sudah diencerkan dengan buffer pH 6,4 dengan perbandingan 1:9.
4. Tunggu selama 15 menit kemudian membilas dengan air mengalir.
5. Keringkan sediaan apus darah secara vertikal pada rak pengeringan.

Pewarnaan Wright

1. Teteskan larutan Wright di atas sediaan apus darah selama 2 menit.
2. Teteskan larutan buffer pH 6,4 di atas sediaan itu dan biarkan selama ± 12 menit.
3. Bilas sediaan itu dengan air mengalir
4. Keringkan sediaan dalam posisi vertikal.

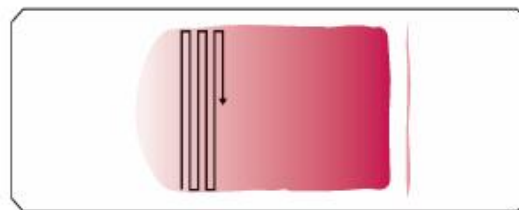
Menghitung Jenis Leukosit

1. Letakkan sediaan apus darah yang telah diwarnai dengan Giemsa atau Wright diatas meja mikroskop.
2. Lihat kualitas preparat yang baik dengan menggunakan lensa objektif 40x. Pembacaan ini dilakukan pada zona morfologi IV dan V.



Gambar 10.3 zona morfologi pemeriksaan SAD
Sumber : (Jahanifar, 2016)

3. Ganti lensa objektif 100x dengan memberikan minyak imersi.
4. Identifikasi 6 (enam) jenis sel leukosit dari lapangan pandang pinggir bawah sediaan berpindah kearah atas digeser kekanan, digeser lagi kearah bawah dan seterusnya.



Gambar 10.4 zona penilaian dan arah pergeseran SAD
Sumber : (Rodak, 2013)

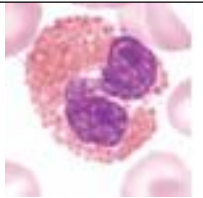
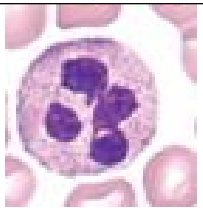
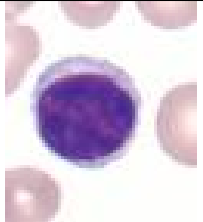
5. Hitung jenis leukosit menggunakan *differential counter*, dengan cara menekan tombol yang sesuai dengan gambar pada alat sampai jumlahnya 100 jenis leukosit atau bisa juga menggunakan tabulasi / Schilling hemogram dengan menuliskan jenis leukosit yang ditemukan kedalam tabel yang terdapat kolom - kolom untuk masing-masing jenis leukositnya.



Gambar 10.5 *Differential counter*

(Sumber Lab Essentials, n.d.)

Tabel 1. Jenis dan ciri-ciri leukosit

Jenis Leukosit	Gambar	Ciri – ciri
Basofil		Ukuran sel : 12 - 18 μm Bentuk sel : bulat atau oval Warna sitoplasma : ungu tua, tertutup granula dan inti Granula : basofilik, ukurannya bervariasi besar dan kecil. Bentuk inti : oval Tipe kromatin: padat
Eosinofil		Ukuran sel : 15 - 25 μm Bentuk sel : oval atau bulat Warna sitoplasma : pucat, tertutup oleh granula Granula : ukurannya sama, rapat, merah oranye (Wright), tidak menutupi inti Bentuk inti : bulat seperti kaca mata, berlobus 2-3 buah Tipe kromatin : padat
Neutrofil Batang		Ukuran sel : 14 – 20 μm Bentuk sel : Bulat atau oval Warna sitoplasma : merah muda Granula : halus berwarna merah muda Bentuk inti : seperti huruf C, S, L. Tipe kromatin: padat
Neutrofil segmen		Ukuran sel : 14 – 20 μm Bentuk sel : oval atau bulat Warna sitoplasma : merah Granularitas : halus berwarna merah muda Bentuk inti : berlobus 2 - 5 Tipe kromatin: padat
Limfosit		Ukuran sel : 7 - 14 μm Bentuk sel : oval atau bulat Warna sitoplasma : biru keabu-abuan Granula : tidak ada Bentuk inti : oval atau bulat Tipe kromatin: padat

Monosit



Ukuran sel : 10 – 22 μm
Bentuk sel : oval atau irreguler
Warna sitoplasma : biru keabu-abuan, terkadang ada vakuola, lebih terang.
Granula : tidak ada
Bentuk inti : ginjal atau otak, bergelombang
Tipe kromatin: jarang, tidak rapat

Sumber : (Rodak, 2013)

2. Nilai Normal (Rodak, 2013)

Jenis Sel Leukosit	Jumlah relatif (%)	Jumlah absolut (Sel x 10^9 / L)
Basofil	0 – 1	0,0 – 0,1
Eosinofil	0 – 5	0,0 – 0,4
Netrofil batang	0 – 5	0,0 – 0,6
Netrofil segmen	50 – 70	2,3 – 8,1
Limfosit	20 – 40	0,8 – 4,8
Monosit	3 – 11	0,5 -1,3

3. Nilai kritis (Mayo Clinic Laboratories, n.d.) :

Batas bawah : jumlah neutrofil absolut $\leq 0,5 \times 10^9/\text{L}$

Batas atas : jumlah neutrofil absolut tidak menentu

4. Perhitungan :

Jumlah relatif jenis leukosit (%) = jenis leukosit yang ditemukan dalam 100 leukosit.

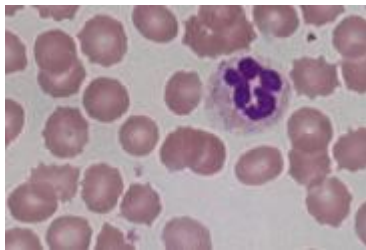
C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

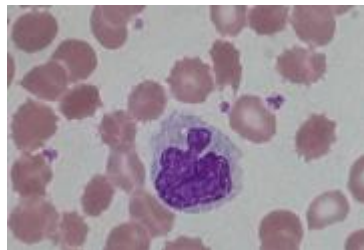
- ✓ Hasil ditulis dengan jelas dalam satuan persen (%) atau μL atau $\times 10^9/\text{L}$
- ✓ Basofilia adalah keadaan jumlah basofil diatas nilai normal
- ✓ Eosinofilia adalah keadaan jumlah eosinofil diatas nilai normal
- ✓ Neutropenia adalah keadaan jumlah neutrofil dibawah nilai normal
- ✓ Neutrofilia adalah keadaan jumlah neutrofil diatas nilai normal
- ✓ Limfopenia adalah keadaan jumlah limfosit dibawah nilai normal
- ✓ Limfositosis adalah keadaan jumlah limfosit diatas nilai normal
- ✓ Monositosis adalah keadaan jumlah monosit di atas jumlah normal

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

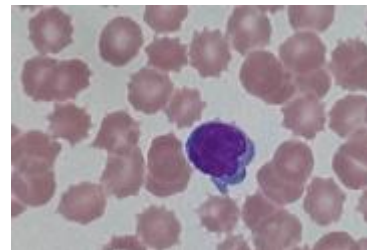
- ✓ Penundaan pembuatan apusan darah EDTA > 24 jam bisa menyebabkan perubahan morfologi pada lobus inti dan bagian sitoplasma neutrofil, limfosit dan monosit (gambar A, B, C).
- ✓ Penggunaan metanol yang tercampur air pada saat fiksasi (gambar D)
- ✓ Sediaan yang tebal sehingga morfologi leukosit tidak terlihat jelas (gambar E)
- ✓ Sediaan terlalu tipis atau menggunakan *spreader* yang tidak rata menyebabkan sel leukosit bergerombol dibagian tepi dan di ekor (gambar F).



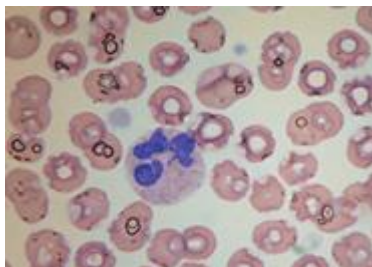
A



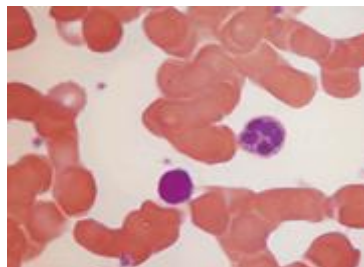
B



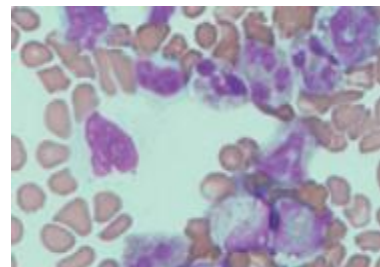
C



D



E



F

Sumber 10.6 Sediaan Darah (Dacie, 2011)

3. Jaminan mutu pemeriksaan

Pembacaan dilakukan di zona V akan memberikan hasil yang baik karena pada zona ini sel darah tersebar satu-satu dan tidak menumpuk sehingga morfologi leukosit bisa dilihat dengan jelas.

D. Jurnal Praktikum/Laporan Sementara

Judul	:	
Tujuan	:	
Prinsip	:	
Spesimen Pemeriksaan	:	
Alat dan Bahan	:	
Langkah Kerja	:	

Hasil

Data pasien

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin :

Jenis Leukosit	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Jumlah
Basofil											
Eosinofil											
Netrofil batang											
Netrofil segmen											
Limfosit											
Monosit											
Jumlah	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

Kesimpulan :

....., 20...

Pembimbing

Praktikan

()

()



EVALUASI

A. Tugas :

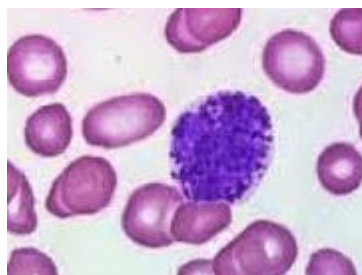
Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Pemeriksaan hitung jenis leukosit dengan SADT pewarnaan Giemsa
2. Pemeriksaan hitung jenis leukosit dengan SADT pewarnaan Wright

B. Tes

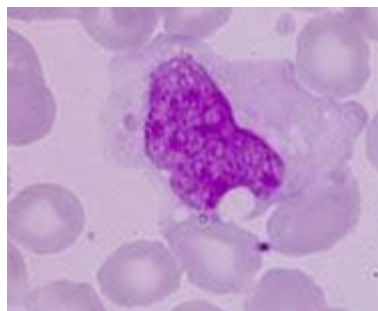
Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang anak perempuan berumur 5 tahun mendapat diagnosa Leukemia. Dokter memberikan surat pengantar untuk pemeriksaan darah hitung jenis leukosit. Setelah membuat sediaan apus darah, ATLM kemudian akan melakukan fiksasi pada sediaan darah tersebut. Bagaimana prosedur untuk tindakan tersebut?
 - a. Melidah apikan sediaan di atas lampu spiritus
 - b. Menggenangi sediaan dengan metanol absolut
 - c. Merendam sediaan di dalam larutan NaCl 0,85%
 - d. Menuangi sediaan dengan larutan buffer pH 7,0
 - e. Mengeringkan di bawah bola lampu listrik dengan suhu 60°C
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit pada pasien dengan dugaan alergi. Pemeriksaan dilakukan sesuai prosedur dan kualitas pewarnaan baik. Pada pemeriksaan banyak ditemukan sel seperti gambar berikut ini. Apa nama sel tersebut?



- a. Basofil
- b. Eosinofil
- c. Neutrofil
- d. Limfosit
- e. Monosit

3. Seorang ATLM sedang melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit pada pasien Leukemia. Dari 100 sel leukosit yang dihitung didapatkan 70% sel dengan inti yang berbentuk bulat berwarna biru keunguan, tidak mempunyai granula dan bagian sitoplasma yang relatif sempit berwarna biru keabu-abuan. Apakah jenis leukosit dalam kasus tersebut?
- Basofil
 - Eosinofil
 - Neutrofil
 - Limfosit
 - Monosit
4. Petugas di laboratorium Puskesmas sedang melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit. Dalam 100 sel leukosit yang dihitung ditemukan sel dengan jumlah 57%, bergranula halus, inti sel berlobus 3 dan warna sitoplasma kemerahan. Apa jenis leukosit pada pemeriksaan tersebut?
- Basofil
 - Eosinofil
 - Neutrofil Batang
 - Limfosit Segmen
 - Monosit
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit pada pasien dengan diagnosa TBC. Pemeriksaan dilakukan sesuai prosedur dan kualitas pewarnaan baik. Pada pemeriksaan ditemukan sel seperti gambar berikut ini. Apa nama sel tersebut?



- Basofil
- Eosinofil
- Neutrofil Batang
- Limfosit Segmen
- Monosit

Kunci Jawaban :

1. B
2. A
3. D
4. D
5. E

3. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan jenis leukosit	5
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan jenis leukosit	10
3	Menyiapkan alat dan reagen	10
4	Membuat Sediaan Apus Darah Tipis (SADT)	10
5	Mewarnai SADT dengan Giemsa / Wright	10
6	Menghitung 100 jenis leukosit pada dengan mikroskop pada perbesaran 1000x + minyak imersi	5
7	Menuliskan hasil perhitungan pada tabel yang sudah disiapkan	20
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

SADT yang digunakan dalam laboratorium hematologi adalah apusan darah tetes tipis. Pembuatan preparat apus ini bisa dilakukan dengan metode kaca objek. Langkah berikutnya, SADT yang memenuhi syarat bisa dilanjutkan dengan melakukan pewarnaan menggunakan prinsip Romanowski misalnya larutan Giemsa dan Wright. Terakhir SADT bisa dinilai secara mikroskopis dan diidentifikasi jenisnya berdasarkan ciri-ciri ukuran, bentuk dan warna sel darah.

Pemeriksaan hitung jenis leukosit dengan metode mikroskopis bertujuan untuk mengetahui persentase jumlah leukosit yang ditemukan dalam 100 sel. Jenis-jenis leukosit tersebut adalah Basofil, Neutrofil Batang, Neutrofil Segmen, Limfosit, dan Monosit.



DAFTAR PUSTAKA

- Bain, BJ; Bates, Imelda; Laffan, MA; Lewis, S. (2017). *Dacie and Lewis Practical Haematology 12th Edition*.
- Dacie, L. (2011). *Practical Haematology* (Ed 11). Elsevier.
- Jahanifar, M. M. H. S. J. (2016). Automatic zone identification in blood smear images using optimal set of features. *Iranian Conference on Biomedical Engineering*.
<https://www.semanticscholar.org/paper/Automatic-zone-identification-in-blood-smear-images-Jahanifar-Hasani/b852727641b349cd2d2488ccf8329b0ee2d3bf7d>
- Lab Essentials, I. (n.d.). *Manual Differential Counters for Reliable Cell Counting*.
- Mayo Clinic Laboratories. (n.d.). *Mayo Clinic Laboratories Critical Values / Critical Results List*.
https://www.mayocliniclabs.com/it-mmfiles/DLMP_Critical_Values_-_Critical_Results_List.pdf
- Nugraha, G., & Badrawi, I. (2021). Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik. In *Trans Info Media*.
- Nurhayati, Betty; Gunawan, L. S. (2021). *Bahan Ajar TLM Hematologi*.
- Rodak, B. F. & J. H. C. (2013). *Clinical Hematology Atlas 4th*.
<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-59379-1>
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420070-8.00002-7>
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2015.03.024>
<https://doi.org/10.1080/07352689.2018.1441103>
<http://www.chile.bmw-motorrad.cl/sync/showroom/lam/es/>

BAB XI

PEMERIKSAAN HEMATOLOGI ATAS INDIKASI



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa dapat mengetahui pemeriksaan hematologi atas indikasi
2. Mahasiswa mampu memahami prinsip-prinsip pemeriksaan hematologi atas indikasi



PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi dapat dilakukan untuk membantu mendiagnosis kondisi klinis. Pasien dengan kondisi medis tertentu, dapat dilakukan pemeriksaan hematologi atas indikasi suatu penyakit tertentu. Contohnya pasien yang terinfeksi, kemungkinan akan mengalami peningkatan laju endap darah akibat peningkatan protein tertentu ketika seseorang mengalami infeksi. Penderita anemia dapat didiagnosis melalui beberapa pemeriksaan hematologi, diantaranya yaitu pemeriksaan nilai eritrosit dan jumlah retikulosit. Hasil pemeriksaan nilai indeks eritrosit dapat membantu diagnosis anemia berdasarkan morfologi sel darah merah, sedangkan jumlah retikulosit dapat menunjukkan fungsi sumsum tulang untuk membedakan seseorang menderita anemia atau tidak. Morfologi sel darah merah juga dapat mempengaruhi resistensi sel darah merah pada kondisi hipotensi, sehingga pengujian resistensi osmotik sel darah merah dapat dilakukan untuk melihat kemampuan sel darah merah dalam menahan lisis pada konsentrasi hipotensi. Tes darah lainnya, seperti jumlah eosinofil, dapat dilakukan untuk mengetahui respons tubuh terhadap alergi atau infeksi cacing. Pada Bab ini akan mempelajari tentang pemeriksaan hematologi untuk mengetahui indikasi (Nurhayati,2015) yang mencakup topik-topik berikut :

1. Pemeriksaan Laju Endap Darah

Pada kondisi inflamasi (peradangan), tubuh akan mengalami perubahan, antara lain, perubahan konsentrasi protein, serum seperti peningkatan kadar fibrinogen, haptoglobin, caeruloplasmin, imunoglobulin (Ig) dan *C-reactive protein* (CRP), serta

penurunan albumin. Perubahan konsentrasi protein dapat terjadi pada keadaan infeksi akut, masa aktif inflamasi kronis, kerusakan jaringan akut dengan perlukaan fisik.

Pengukuran respon fase akut merupakan indikator yang dapat membantu diagnosis inflamasi, kerusakan jaringan serta respon terhadap pengobatan. Pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan untuk melihat respon tubuh terhadap inflamasi yaitu, pemeriksaan laju endap darah (LED). LED merupakan pemeriksaan penyaring, dengan metode pemeriksaan manual dan otomatis. LED bukan merupakan respon imun spesifik namun secara klinis bermanfaat untuk membantu diagnosis kelainan yang berkaitan dengan peningkatan produksi protein fase akut.

A. Prinsip dan Mekanisme Proses Laju Endap Darah (LED)

Prinsip pemeriksaan LED adalah darah EDTA diletakkan pada tabung secara vertikal selama satu jam, kecepatan sedimentasi sel eritrosit yang nampak sebagai tinggi plasma diukur sebagai nilai LED. Pemeriksaan LED terjadi melalui tiga tahap, yaitu sebagai berikut.

- 1) Fase pengendapan lambat pertama, yaitu terbentuknya rouleaux dan agregasi yang terjadi pada 15 menit pertama pemeriksaan
- 2) Fase pengendapan cepat, yaitu pengendapan agregat terjadi dengan konstan waktu yang diperlukan 30 menit.
- 3) Fase pengendapan lambat kedua, yaitu sel eritrosit mengisi celah-celah, memadat di bagian bawah tabung dengan lambat, fase ini diperlukan waktu kurang lebih 15 menit.

B. Alat Pemeriksaan Laju Endap Darah

Pemeriksaan LED metode Westergren menggunakan tabung Westergren yang terbuat dari kaca, beberapa ada yang menggunakan plastik yang terbuat dari *polypropylen* dan *polycarbonate*. Tabung Westergren memiliki panjang 30 cm, diameter 2,55 mm, berskala 0-200 dan memiliki volume sekitar 1 mL. Tabung Westergren diletakkan secara vertikal pada rak Westergren.

Pemeriksaan LED metode Wintrobe menggunakan tabung Wintrobe dengan tinggi tabung 100 mm, diameter 2,8 mm. Penggunaan tabung tersebut harus dalam keadaan bersih dan kering ketika digunakan.

2. Pemeriksaan Indeks Eritrosit

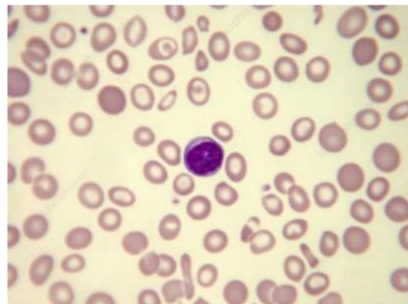
Pemeriksaan indeks eritrosit merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk

menunjang diagnosis anemia berdasarkan morfologi eritrosit. Klasifikasi anemia berdasarkan morfologi dapat dibedakan berdasarkan ukuran sel eritrosit, yaitu; normositik, mikrositik dan makrositik. Klasifikasi anemia berdasarkan derajat hemoglobinisasi dapat dilihat dari warna sel eritrosit, yaitu normokromik dan hipokromik. Pemeriksaan indeks eritrosit terdiri atas *Mean Cospuscular Volume* (MCV), *Mean Cospuscular Hemoglobin* (MCH), *Mean Cospuscular Hemoglobin Concencration* (MCHC) dan *Red Cell Distribution Width* (RDW).

Diagnosis anemia berdasarkan morfologi dapat dilakukan dengan pemeriksaan penunjang indeks eritrosit. Jenis anemia berdasarkan morfologi eritrosit adalah sebagai berikut.

1) Anemia Mikrositik Hipokrom

Pada anemia mikrositik hipokrom ukuran sel eritrosit lebih kecil dari ukuran normal eritrosit serta bagian pucat pada tengah sel eritrosit lebih dari sepertiga bagian. Hasil indeks eritrosit menunjukkan nilai MCV rendah (<80 fL) dan MCHC dibawah nilai normal ($< 30\%$). Anemia mikrositik hipokrom dapat disebabkan penurunan sintesis hemoglobin seperti pada anemia defisiensi besi dan thalassemia.

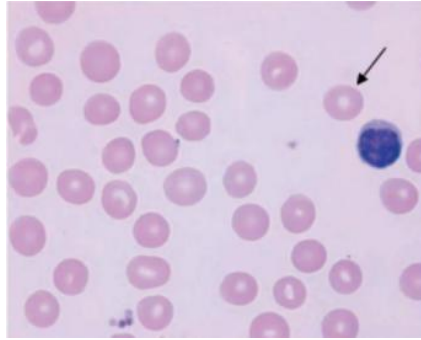


Gambar 11.1 Sel eritrosit mikrositik hipokrom

Sumber : <https://www.sciencephoto.com>

2) Anemia Normositik Normokrom

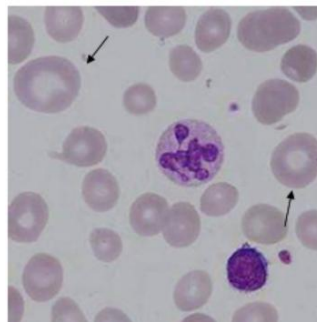
Pada anemia normositik normokrom, ukuran sel eritrosit dan besar bagian pucat sel eritrosit dalam batas normal. Hasil indeks eritrosit, MCV normal (82-100 fL) dan MCHC normal (33-36 %). Anemia normositik normokrom dapat terjadi pada kondisi kehilangan darah akut.



Gambar 11.2 Sel eritrosit Normositik Normokrom
Sumber : Turgeon 2012

3) Anemia Makrositik Normokrom

Pada anemia makrositik normokrom ukuran sel eritrosit lebih besar dari ukuran normal. Nilai MCV meningkat (>100 fL) dengan nilai MCHC normal. Anemia makrositik normokrom dapat terjadi karena kurangnya proses maturasi prekursor eritroid di sumsum tulang. Anemia makrositik normokrom sering ditemukan pada defisiensi vitamin B12 dan asam folat.



Gambar 11.3 Sel Eritrosit Makrositik Normokrom
Sumber : <http://haematologyetc.co.uk>

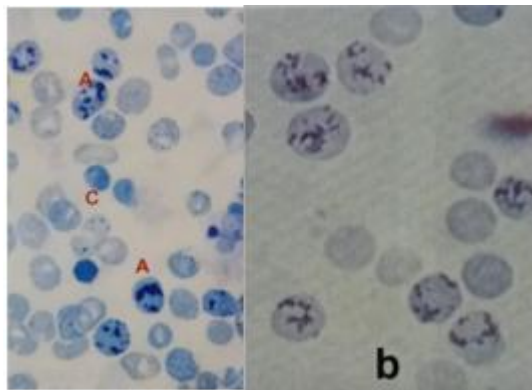
3. Pemeriksaan Hitung Jumlah Retikulosit

Retikulosit merupakan sel eritrosit *immature* yang tidak memiliki nukleus dan beredar di peredaran darah. Morfologi retikulosit, mempunyai ukuran lebih besar dibandingkan dengan eritrosit *mature*, yaitu 8-9 μm . Retikulosit merupakan sel motil, multilobular, mengandung mitokondria dan ribosom, serta mensintesis hemoglobin dan beberapa komponen membran sel seperti protein 4.1, dan glycophorin C. Semakin *immature* retikulosit, benang retikulum akan semakin banyak, dan sebaliknya, semakin matur/matang usia retikulosit, sisa RNA akan berubah menjadi beberapa titik.

Hitung retikulosit dilakukan untuk membedakan anemia yang disebabkan oleh kegagalan sumsum tulang dengan anemia yang disebabkan oleh kehilangan darah akut atau kronis ataupun karena hemolisis, memantau efektifitas pengobatan anemia

pernisiosa, serta anemia asam folat dan defisiensi zat besi, memantau penyembuhan fungsi sumsum tulang pada anemia aplastik, dan menentukan efek radioaktif pada pekerja yang terpapar radioaktif. Peningkatan jumlah retikulosit dalam peredaran menandakan peningkatan produksi sel eritrosit oleh sumsum tulang untuk mengganti kehilangan sel eritrosit.

Sel retikulosit yang mengandung ribosom dan RNA diwarnai dengan pewarna supravital seperti *brilliant cresyl blue* (BCB) dan *new methylene blue* (NMB), serta diinkubasi pada suhu 37°C ketika sel eritrosit dalam keadaan hidup.



Gambar 11.4 Retikulosit

Sumber : (A) Retikulosit yang diwarnai zat warna NMB 1%, (b) Retikulosit yang diwarnai zat warna BCB 1%, (C) Badan Heinz.(Wirawan 2011)

4. Pemeriksaan Resistensi Osmotik/Fragilitas Osmotik

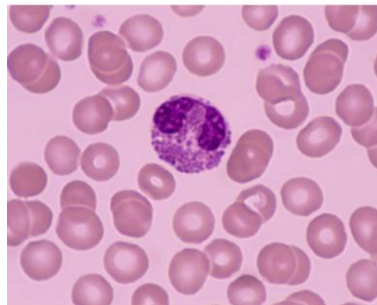
Sel eritrosit memiliki membran sel yang tidak dapat diregangkan namun dapat dilalui oleh air. Sel eritrosit tidak lisis dalam larutan saline (NaCl 0,9%) buffer normal (pH 7). Pemeriksaan resistensi osmotik atau fragilitas osmotik dilakukan untuk mengukur kemampuan sel eritrosit dari proses lisis ketika sel eritrosit dilarutkan pada larutan NaCl hipotonis pada berbagai macam konsentrasi. Hasil pemeriksaan dilihat berdasarkan persen hemolisis yang dilaporkan sebagai peningkatan fragilitas osmotik atau penurunan resistensi osmotik. Pola lisis sel eritrosit pada pemeriksaan tersebut membantu menentukan bentuk eritrosit.

Prinsip pemeriksaannya yaitu Sel eritrosit disuspensikan pada larutan saline hipotonis bertingkat. Pada titik kritis membran sel eritrosit akan rusak sehingga hemoglobin akan keluar dari sel dan menyebabkan kekeruhan suspensi larutan. Kekeruhan suspensi kemudian dilihat secara visual atau fotokalorimetri dan dilaporkan dalam bentuk persen.

5. Pemeriksaan Hitung Jumlah Eosinofil

Eosinofil merupakan sel lekosit seri mieloid yang pembentukannya distimulus oleh *common myeloid progenitor* (CMP) *comitted progenitor cells* untuk eosinofil (CFU-Eo). Sel eosinofil beredar dalam peredaran darah sebanyak 1-6% dari keseluruhan jumlah sel lekosit. Sel eosinofil memiliki inti sel dengan dua lobus dan sitoplasma dengan granula spesifik berwarna orange. Granula sel eosinofil mengandung *major basic protein* (MBP), peroksidase, enzim lisosomal, protein Leyden crystal. Pada permukaan sel eosinofil terdapat reseptor imunoglobulin E yang berperan pada reaksi alergi dan proses eliminasi parasit.

Prinsip Pemeriksaannya yaitu Darah dengan penambahan larutan pengencer akan membuat granula sel eosinofil yang bersifat basa terwarnai oleh larutan eosin yang bersifat asam sedangkan sel lainnya akan lisis dikarenakan adanya aquadest. Sel eosinofil diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 X, dan jumlah sel dihitung menggunakan faktor perkalian sesuai pengenceran dan volume sampel yang dihitung.



Gambar 11.5 Sel Eosinofil

Sumber : <https://www.verywellhealth.com>



EVALUASI

A. Tugas

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut !

1. Jelaskan prinsip pemeriksaan LED!
2. Jelaskan apa yang anda ketahui tentang indeks eritrosit!
3. Bagaimana nilai indeks eritrosit pada keadaan klinis anemia mikrositik normokrom?
4. Jelaskan tentang morfologi retikulosit!
5. Jelaskan prinsip pemeriksaan Resistensi Osmotik
6. Jelaskan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan Laju Endap Darah (LED), pada 15 menit pertama pemeriksaan LED, apa yang terjadi pada sel darah merah ?
 - A. Roulaux
 - B. Aglutinasi
 - C. Padatan
 - D. Mengisi celah-selah kosong
 - E. Agregasi
2. Pemeriksaan indeks eritrosit dilakukan pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan didapatkan : nilai MCV 85 fL, MCH 30 pg dan MCHC 32 %. Apakah bentuk sel eritrosit berdasarkan hasil pemeriksaan tersebut ?
 - A. Normositik normokrom
 - B. Normositik hipokrom
 - C. Mikrositik normokrom
 - D. Mikrositik hipokrom
 - E. Makrositik hipokrom
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan Retikulosit secara manual. Apa reagensia yang digunakan untuk mewarnai ribosom dan RNA?
 - A. Hayem
 - B. Giemsa
 - C. Turk
 - D. New Methylene Blue
 - E. Rees Ecker

4. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan resistensi osmotik. ATLM melakukan persiapan alat dan bahan. Apa pereaksi yang perlu disiapkan oleh ATLM tersebut ?
- A. Na Citrat
 - B. EDTA
 - C. Heparin
 - D. NaF
 - E. NaCl
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan mikroskopis hitung jenis sel leukosit. Ditemukan sel yang mempunyai reseptor terhadap IgE yang berperan dalam proses eliminasi sel parasit dan reaksi alergi. Apakah jenis leukosit yang dimaksud ?
- A. Basofil
 - B. Eosinofil
 - C. Neutrofil
 - D. Limfosit
 - E. Monosit

Jawaban :

- 1. A
- 2. A
- 3. D
- 4. E
- 5. B



RINGKASAN

Pemeriksaan Hematologi atas indikasi terdiri dari topik-topik berikut :

1. Pemeriksaan laju endap darah

Pemeriksaan LED merupakan pemeriksaan penyaring sebagai penanda respon tubuh terhadap inflamasi. Pemeriksaan LED dilakukan menggunakan metode Westergren, Wintrobe dan alat otomatis. Prinsip pemeriksaan LED ada 3 Fase yaitu Fase pengendapan lambat I, Fase pengendapan cepat dan Fase pengendapan lambat II

2. Pemeriksaan indeks eritrosit

Pemeriksaan nilai indeks eritrosit dilakukan untuk membantu menunjang diagnosis anemia berdasarkan morfologi eritrosit. Pemeriksaan indeks eritrosit terdiri atas pemeriksaan MCV, MCH, MCHC, RDW.

3. Pemeriksaan hitung retikulosit

Retikulosit merupakan sel eritrosit imatur yang masih memiliki sisa RNA. Hitung retikulosit dilakukan untuk membedakan anemia yang disebabkan oleh kegagalan sumsum tulang dengan anemia yang disebabkan oleh kehilangan darah. Hitung retikulosit dapat dilakukan menggunakan metode manual dan otomatisasi.

4. Pemeriksaan resistensi osmotik

Pemeriksaan resistensi osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengukur kemampuan sel eritrosit dari proses lisis ketika sel eritrosit dilarutkan pada larutan NaCl hipotonis pada berbagai macam konsentrasi.

5. Pemeriksaan hitung jumlah eosinofil

Sel eosinofil merupakan sel seri mieloid yang dapat dihitung menggunakan pewarna yang bersifat asam agar granula eosinofil yang bersifat basa dapat terwarnai. Hitung sel eosinofil dapat dilakukan menggunakan bilik hitung Fuch Rosenthal dan larutan Dunger's.



GLOSARIUM

Hipotonis : Larutan yang konsentrasi zat terlarutnya lebih rendah daripada cairan di dalam sel

Larutan saline : Larutan NaCl dengan tekanan isotonis (tekanan NaCl sama dengan tekanan cairan di dalam sel)

RNA : Materi genetik hasil dari transkripsi DNA

Rouleaux : Eritrosit yang menumpuk memanjang



DAFTAR PUSTAKA

Nurhayati, B. dkk. 2022. Hematologi, Jakarta : PPSDM Kemenkes

Turgeon, M. L. (2012) Clinical Hematology Turgeon.

Wirawan R., 2018, Pemeriksaan Laboratorium Hematologi, Jakarta : Departemen Patolohi
Klinik FKUI

http://haematologyetc.co.uk/Macrocytic_Red_Cells

<https://www.sciencephoto.com/media/995898/view/microcytic-hypochromic-anaemia-lm>

<https://www.verywellhealth.com/guide-to-eosinophils-797211>

BAB XII

PEMERIKSAAN ERITROSIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu menjelaskan tujuan pemeriksaan Eritrosit
2. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip pemeriksaan Eritrosit
3. Mahasiswa mampu menjelaskan faktor 2 yang mempengaruhi hasil pemeriksaan Eritrosit



PENDAHULUAN

Darah tersusun atas dua komponen utama, yaitu 45% sel terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit, serta 55% plasma. Plasma darah mengandung ion seperti natrium, kalium, magnesium, klorida dan bikarbonat. Fungsi umum darah adalah eritrosit sebagai pembawa O₂ dari paru-paru bersirkulasi ke seluruh tubuh dan mengangkut CO₂ dari seluruh tubuh ke paru-paru.

Fungsi leukosit Antigen fagositik dan trombosit berpartisipasi dalam pembekuan darah. Fungsi darah adalah mengangkut air, hormon, enzim dan zat aktif lainnya didistribusikan ke seluruh tubuh. Eritrosit mengandung hemoglobin yang berperan sebagai pembawa O₂ dan CO₂. Komponen eritrosit terdiri dari membran eritrosit, sistem enzim dan hemoglobin (heme dan globin).

Perkembangan eritrosit dimulai dari sel-sel muda sel besar mempunyai inti sampai tua, sel kecil tidak mempunyai inti. Eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, dengan diameter 6,7 hingga 8,0 µm dan eritrosit mengalami vakuola. Oleh karena itu, umur rata-rata eritrosit adalah 120 hari, sel-sel eritrosit rusak dan hancur dalam sistem retikulum endotelium di hati dan limpa. Penghancuran eritrosit adalah suatu proses Disebut penghancuran eritrosit yang terjadi akibat proses penuaan sel proses penuaan. Ini disebut kerusakan patologis eritrosit

hemolisis. Hemolisis eritrosit terjadi secara intravaskular dan ekstrasvaskular, terutama pada sistem RES, yaitu limpa dan hati.

Hitung Jumlah Eritrosit

Hitung Jumlah eritrosit merupakan bagian dari tes darah untuk menentukan jumlah eritrosit dalam 1 ml darah. Satuan yang digunakan untuk menyatakan hasil adalah sel/mL, sel/mm³, 10³ sel/ml, x 10⁶ sel/L. Anda dapat memeriksa jumlah eritrosit dilakukan dengan 2 cara yaitu manual dan otomatis. Prosedur manual hal ini dilakukan dengan menggunakan kalkulator dan metode otomatis peneliti darah (Gandasoebrata, 2013). Nilai referensi kontrol perhitungan jumlah eritrosit sebagai berikut; pada bayi 4,8 hingga 7,2 juta sel/ml, anak-anak 3,8 hingga 5,5 juta sel/ml, wanita dewasa 4,0 hingga 5,0 juta sel/ml, dan dewasa 4,6 hingga 6,0 juta sel/ml (Riswanto., 2014).

Masalah Klinis

1. Penurunan Laju

Polisitemia vera, *Congestive heart failure* (CHF), anemia sel sabit, mononukleosis *infeksius*, defisiensi faktor V, artitis degeneratif, angina pektoris.

2. Peningkatan Laju

Artritis Reumatoid, demam reumatik, kanker (lambung, kolon, payudara, hati, ginjal), limfosarkoma, endokarditis bakterial, gout, hepatitis, sirosis hati, penyakit inflamasi panggul akut, sifilis, tuberkulosis, glomerulusnefritis, Sistemik Lupus Eritematosus (SLE), penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (eritoblastosis fetalis), kehamilan (trimester kedua dan ketiga)



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan
 - a) Untuk mengetahui hasil jumlah sel eritrosit
 - b) Untuk mendukung uji hematologi lain yang diperlukan untuk mendiagnosis anemia atau polisitemia.
2. Metode
Improved Neubauer
3. Prinsip
Jumlah sel dalam 1 mm^3 darah dapat dihitung dengan jalan mengencerkan dengan larutan tertentu dan berdasarkan volume darah yang sudah diencerkan ini dalam kamar hitung.
4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel
Hitung jumlah eritrosit digunakan untuk jumlah sel darah merah dalam satu mikroliter atau milimeter kubik.
Persiapan pasien :
 - a) Beritahukan kepada pasien bahwa suatu sampel darah akan diambil.
 - b) Jelaskan kepada pasien bahwa ia mungkin mengalami perasaan sedikit tidak nyaman akibat pungsi dan tourniquet
5. Alat dan bahan
 - a) Pipet pengencer eritrosit
 - b) larutan Hayem
 - c) Bulatan kapas
 - d) Mikroskop
 - e) Hemocytometer

B. Analitik

Prosedur kerja

1. Dicampur spesimen dengan jalan mengocok perlahan – lahan selama 1 menit.
2. Darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan dihisap kedalam pipet erytrosit sampai tanda “0,5” apabila melampaui batas sedikit dapat dikeluarkan dengan menyentuh – nyentuh ujung jari

3. Bagian luar pipet dihapus dengan kapas kering untuk menghilangkan darah yang melekat disitu.
4. Segera larutan Hayem dihisap sampai tepat mencapai tanda “101” , selama penghisapan pipet harus diputar – putar melalui sumbu panjangnya supaya darah dan larutan Hayem bercampur dengan baik.
5. Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah kemudian dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama 2 menit
6. Larutan Hayem yang terdapat didalam kapiler dan yang tidak mengandung darah dibuang dengan meneteskan isi pipet 3 tetes
7. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menempatkan ujung pipet pada tepi gelas penutup
8. Kamar hitung yang sudah terisi diletakkan di bawah mikroskop dan penghitungan dilakukan dengan menggunakan objektif 40 x (baca di kotak R1, R2, R3, R4, R5).



Gamba 12.1 Hitung jumlah eritrosit

Perhitungan

Jumlah Sel Eritrosit per mm³ = P x V x N

Keterangan:

P: Pengenceran

$$\text{Rumus Pengenceran} = \frac{\text{Jml. Hayem yang dipipet} + \text{Jml.darah EDTA yang dipipet}}{\text{Jml darah EDTA yang dipipet}}$$

V: Volume Bilik Hitung

$$\begin{aligned}\text{Rumus Volume} &= P \times L \times T \times \text{Jumlah kotak} \\ &= \frac{1}{5} \text{ mm} \times \frac{1}{5} \text{ mm} \times \frac{1}{10} \times 5 \\ &= \frac{5}{250} = \frac{250}{5} / \text{mm}^3\end{aligned}$$

N : Jumlah Sel Eritrosit yang dihitung

Nilai Normal

- Wanita: 3,6 – 5,0 juta / mm^3 darah
- Pria: 4,2 – 5,4 juta / mm^3 darah
- anak-anak/bayi: 5,0- 6,5 juta / mm^3 darah

Faktor yang Mempengaruhi Hitung Jumlah Eritrosit Temuan Laboratorium

A. Tahap Pra-Analitik

Hal-hal yang terlibat dalam proses penelitian pertama adalah pentingnya data dan sampel pasien, antikoagulan sampel, pengumpulan sampel, transfer sampel, pemrosesan dan penyimpanan sampel. Menunda penelitian sebaiknya memperhatikan bagian akhir dan suhu penyimpanan dan antikoagulan yang digunakan untuk analisis jumlah eritrosit. Waktu penyimpanan dan suhu dapat bervariasi morfologi eritrosit secara *in vitro* sehingga mempengaruhi jumlah eritrosit.

B. Tahap Analitik

Tahap analitik mencakup kalibrasi alat, bahan pemeriksaan, kualitas reagen dan pemeriksa.

1. Kalibrasi alat

Alat untuk pemeriksaan hitung jumlah eritrosit metode otomatis dilakukan perawatan secara berkala yaitu setiap hari (pagi) sekali melakukan hitung blangko. Alat dikalibrasi 1 tahun sekali oleh teknisi untuk menghindari sistem eror.

2. Analisis jumlah eritrosit menggunakan sampel darah vena mendapatkan hasil yang baik. Periksa jumlah eritrosit yang digunakan Metode otomatis Arcus pro membutuhkan minimal 0,5 ml sampel darah. Jika Anda menggunakan sedikit sampel darah.

3. Kualitas reagen Reagen yang digunakan sangatlah penting Perhatikan tanggal kadaluwarsanya, cara penggunaannya, tindakan pengamanannya, semuanya Persiapkan sesuai dengan instruksi pabrik reagen. Perawatan yang buruk reagen, misalnya suhu penyimpanan yang tidak tepat, tidak memperhatikan tanggalnya Kedaluwarsa dan penggunaan yang tidak tepat akan mempengaruhi hasil tes.

C. Tahap Pasca Analitik

Menurut Depkes RI tahun 2018 tahap pasca analitik meliputi kegiatan dan pelaporan hasil laboratorium yang dilakukan dengan cermat dan teliti karena hasil pemeriksaan yang dikeluarkan harus benar-benar valid atau dapat dipertanggung jawabkan.

Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil : Data pasien

Pembimbing

Praktikan

20...

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Buatlah sedian untuk pemeriksaan hitung jumlah eritrosit dengan metode *Improved Neubauer*.
2. Hitunglah jumlah eritrosit dari sedian yang telah anda buat.

B. Tes

1. Seorang dokter memberikan surat pengantar kepada pasiennya untuk pemeriksaan darah hitung jumlah eritrosit. ATLM kemudian akan melakukan pembuatan sedian pada kasus tersebut. Bagaimana prosedur untuk tindakan tersebut?
 - a) Dicampur spesimen dengan jalan mengocok perlahan – lahan selama 1 menit.
 - b) Darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan dihisap kedalam pipet erytrosit sampai tanda “0,5” apabila melampaui batas sedikit dapat dikeluarkan dengan menyentuh – nyentuh ujung jari
 - c) Bagian luar pipet dihapus dengan kapas kering untuk menghilangkan darah yang melekat disitu.
 - d) Segera larutan hayem dihisap sampai tepat mencapai tanda “101” , selama penghisapan pipet harus diputar – putar melalui sumbu panjangnya supaya darah dan larutan hayem bercampur dengan baik.
 - e) Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah kemudian dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama 2 menit
 - f) Larutan hayem yang terdapat didalam kapiler dan yang tidak mengandung darah dibuang dengan meneteskan isi pipet 3 tetes
 - g) Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menempatkan ujung pipet pada tepi gelas penutup
 - h) Kamar hitung yang sudah terisi diletakkan di bawah mikroskop dan penghitungan dilakukan dengan menggunakan objektif 40 x (baca di kotak R1, R2, R3, R4, R5).

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan jumlah eritsoit	5
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan jumlah eritsoit	10
3	Menyiapkan alat dan reagen	5
4	Memipet larutan dan sampel	10
5	Membuat Sediaan kamar hitung	5
6	Menghitung sel eritrosit pada mikroskop	20
7	Menuliskan hasil perhitungan pada tabel yang sudah disiapkan	20
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	5
Jumlah		100

1. Dibentuk 4 - 5 kelompok belajar. Masing-masing kelompok membuat materi presentasi tentang **Aktifitas Pembelajaran**

Dibentuk 4 - 5 kelompok belajar. Masing-masing kelompok membuat materi presentasi tentang latar belakang dan tujuan dilakukannya pemeriksaan Hitung jumlah Eritrosit, isi materi meliputi :

- A. Persiapan Pengambilan Bahan Pemeriksaan Hitung jumlah Eritrosit
- B. Pengambilan Darah Vena
- C. Transportasi bahan Pemeriksaan
- D. Persiapan alat, reagen dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan :
- E. Prosedur pemeriksaan /SOP
- F. Interpretasi hasil serta kaidah pelaporan.

Materi dibuat dalam bentuk power point kemudian disajikan didepan kelas. Kelompok yang bertindak sebagai audiens diberi kesempatan untuk bertanya atau memberi sanggahan pada kelompok penyaji.

2. Latihan/Kasus.

Jumlah eritrosit: R1 =104, R2 = 113, R3= 109, R4= 116, R5= 107.

kedalaman objek: 10

Pengenceran: 200

Jumlah sampel/Ruang: 5

perhitungan pengenceran = $10 \times 200 \times 5 = 10.000$

Rumus jumlah eritrosit total = $N \times 10.000$

$$= 549 \times 10.00 = 5.490.000$$

Nilai normal :

Wanita: 3,6 – 5,0 juta / mm^3 darah

Pria: 4,2 – 5,4 juta / mm^3 darah

Anak-anak/bayi: 5,0- 6,5 juta / mm^3 darah

Kerjakan soal dibawah ini untuk uji daya serap pengetahuan.

1. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan jumlah eritrosit sebagai konfirmasi dari hasil pemeriksaan Hematology Analyzer. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengencerkan spesimen darah sebanyak 100x. ATLM tersebut melakukan perhitungan dalam 10 kamar bagian tengah. Sel yang ditemukan sebanyak 225 sel. Berapa jumlah sel pada pemeriksaan?
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan jumlah eritrosit sebagai konfirmasi dari hasil pemeriksaan Hematology Analyzer. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengencerkan spesimen darah sebanyak 100x. ATLM tersebut melakukan perhitungan dalam 10 kamar bagian tengah. Sel yang ditemukan sebanyak 312 sel. Berapa jumlah sel pada pemeriksaan?



RINGKASAN

Penghancuran eritrosit adalah suatu proses Disebut penghancuran eritrosit yang terjadi akibat proses penuaan sel proses penuaan. Ini disebut kerusakan patologis eritrosit hemolisis. Hemolisis eritrosit terjadi secara intravaskular dan ekstrasvaskular, terutama pada sistem RES, yaitu limpa dan hati. Hitung Jumlah eritrosit merupakan bagian dari tes darah untuk menentukan jumlah eritrosit dalam 1 ml darah. Satuan yang digunakan untuk menyatakan hasil adalah sel/mL, sel/mm^3 , 10^3 sel/ml , $\times 10^6 \text{ sel/L}$



DAFTAR PUSTAKA

Irianto, K. (2012). Anatomi dan Fisiologi. Bandung: Alfabeta.

Krelza, J.L., Dororic, A., Grzunov, A., & Mardin, M. (2015). Capillary blood sampling: national recommendations on behalf of the Croation Society of Medical Biochemistry and Laboroty Medicine. *Biochemia Medica*, 335-358.

Riswanto. (2013) Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Yogyakarta: Alfabeta.

Nugraha, Gilang., (2017). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar. Jakarta. CV.Trans Info Media.

MODUL XIII

JUMLAH EOSINOFIL



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan jumlah eosinofil
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan jumlah eosinofil metode pengenceran pipet thoma dan tabung dengan bilik hitung Improved Neubauer dan Fuch Rosenthal
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan jumlah eosinofil



PENDAHULUAN

Eosinofil adalah jenis sel darah putih dari kategori granulosit dari seri mieloid. Eosinofil terbentuk di sumsum tulang melalui proses haematopoiesis yang pembentukannya dirangsang oleh *common myeloid progenitor* (CMP) dan *committed progenitor cells* untuk eosinofil (CFU-Eo). Eosinofil beredar dalam dalam sistem peredaran darah dan dapat bertahan selama 8-12 jam. Di dalam jaringan, eosinofil mampu bertahan sekitar 8-12 hari dengan proporsi 1-6% dari total jumlah eosinofil. Secara mikroskopis sel ini akan nampak memiliki inti dengan dua atau tiga lobus dan sitoplasma yang mengandung granula berwarna oranye. Granula ini mengandung *Major Basic Protein* (MBP), peroksidase, enzim lisosomal, dan protein kristal Leyden. Di permukaan sel eosinofil terdapat reseptor imunoglobulin E yang berperan dalam reaksi alergi dan eliminasi parasit (Nurhayati, Betty; Gunawan, 2021).

Tes hitung jumlah eosinofil adalah pemeriksaan darah yang digunakan untuk mengukur jumlah eosinofil dalam tubuh. Tes ini biasanya dilakukan sebagai bagian dari pemeriksaan darah lengkap. Penghitungan eosinofil dapat dilakukan secara manual maupun otomatis.

Indikasi klinis untuk melakukan pemeriksaan jumlah eosinofil meliputi reaksi alergi yang parah, efek samping obat, dan infeksi parasit.(Nugraha & Badrawi, 2021)

Pemeriksaan jumlah eosinofil secara manual dapat menggunakan reagen pengencer Eosin / Dungen. Reagen ini mengandung eosin yang akan mewarnai granula eosinofil menjadi merah oranye, aseton untuk memfiksasi eosinofil, dan aquadest untuk melisiskan eritrosit. Penghitungan dilakukan dalam bilik hitung. Karena jumlah eosinofil relatif sedikit, penggunaan bilik hitung Improved Neubauer dapat menyebabkan kesalahan sekitar 35%, sehingga mengurangi ketelitian. Untuk mengatasi masalah ini, dapat digunakan bilik hitung Fuchs-Rosenthal yang memiliki luas 16 mm² dan tinggi 0,2 mm, sehingga meningkatkan ketelitian (Gandasoebrata, 2010)



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan pemeriksaan : untuk melakukan pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
2. Metode : pengenceran dengan pipet Thoma dan tabung
3. Prinsip : Darah diencerkan dengan larutan yang mengandung eosin yang akan memberi warna merah pada granula eosinofil. Larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam bilik hitung Improved Neubauer atau Fuch Rosenthal dan dihitung jumlahnya dalam volume tertentu dibawah mikroskop.
4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel : darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan EDTA yang volumenya cukup, tidak mengandung bekuan dan tidak hemolisis
5. Alat dan Bahan :
 - ✓ Hemositometer yang terdiri dari bilik hitung Improved Neubauer, pipet Thoma leukosit, karet penghisap, dan kaca penutup.
 - ✓ Bilik hitung Fuch Rosenthal
 - ✓ Mikropipet 500 μL , 50 μL + *blue tip* / *yellow tip*
 - ✓ Tabung serologis
 - ✓ Pipet tetes
 - ✓ Mikroskop
 - ✓ Larutan Eosin / Dungen yang mempunyai komposisi : eosin 2% 5 mL, aseton 5 mL dan aquadest sampai 100 mL

B. Analitik

1. Prosedur Kerja :

Persiapan Bilik Hitung

1. Siapkan bilik hitung dan kaca penutup yang bersih dan kering
2. Ambil sedikit air dan basahi kedua tanggul bilik hitung
3. Pasang kaca penutup di bagian atas bilik hitung.
4. Geser kaca penutup keatas dan kebawah secara berulang hingga terbentuk cincin Newton (pelangi) pada kedua tanggul.

Pengenceran dengan Pipet Thoma Eosinofil

1. Hisap darah sampai pada garis tanda "1" tepat.
2. Bersihkan sisa darah yang melekat pada ujung luar pipet.
3. Hisap reagen Dunger perlahan-lahan sampai garis tanda "11" tepat, tanpa ada gelembung udara.
4. Tutup ujung pipet dengan ujung jari kemudian lepaskan karet penghisap.
5. Homogenkan larutan darah dan reagen dalam pipet Thoma selama 1-2 menit sehingga tercampur sempurna. Jika tidak akan segera dihitung, maka letakkan pipet dalam posisi horizontal diatas meja datar.
6. Buang larutan yang ada pada batang kapiler pipet Thoma (sekitar 1-2 tetes) dan kemudian alirkan larutan tersebut dengan menyentuh pinggir kaca penutup bilik hitung.
7. Biarkan bilik hitung yang sudah terisi tersebut sekitar 2-3 menit agar eosinofil menyebar dan mengendap.
8. Tentukan pengenceran larutan dalam pipet thoma berdasarkan rumus:

$$\text{Pengenceran pipet Thoma} = \frac{\text{volume total}-1}{\text{volume darah}}$$

$$\text{Pengenceran pipet Thoma} = \frac{11-1}{1} = 10 \text{ kali}$$

Pengenceran dengan Tabung

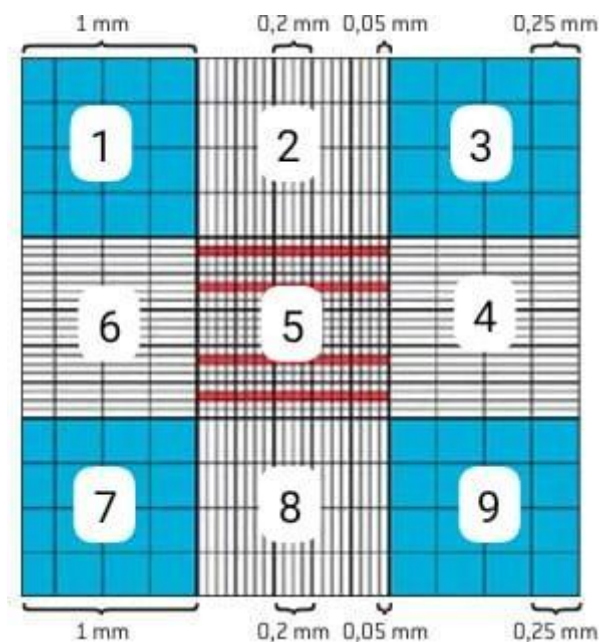
1. Pipet ke dalam tabung, reagen Dunger sebanyak 450 μL dan tambahkan 50 μL darah.
2. Homogenkan larutan selama 2-3 menit agar tercampur dan eritrosit hemolisis.
3. Ambil 1 tetes campuran kemudian dan kemudian mengalirkan 1 tetes larutan tersebut dengan menyentuh pinggir kaca penutup bilik hitung.
4. Biarkan bilik hitung yang sudah terisi tersebut sekitar 2-3 menit agar eosinophil menyebar dan mengendap.
5. Tentukan pengenceran larutan dalam tabung berdasarkan rumus :

$$\text{Pengenceran tabung} = \frac{\text{volume reagen} + \text{volume darah}}{\text{volume darah}}$$

$$\text{Pengenceran tabung} = \frac{450+50}{50} = \frac{500}{50} = 10 \text{ kali}$$

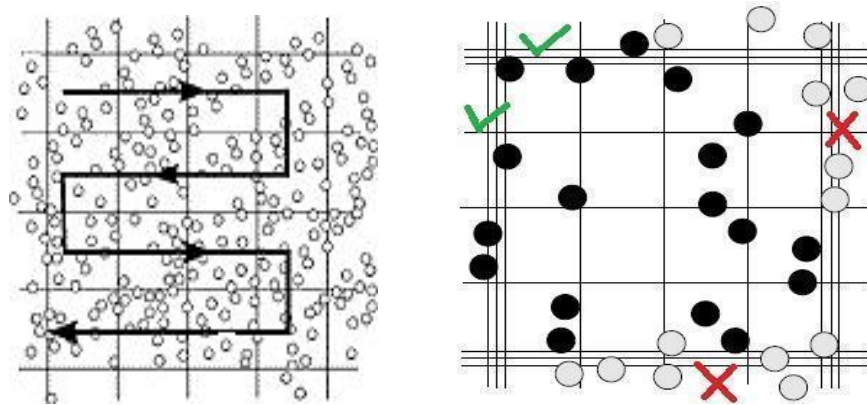
Perhitungan jumlah sel eosinofil pada bilik hitung Improved Neubauer

1. Letakkan bilik hitung yang telah berisi larutan darah dan reagen Dunger diatas meja mikroskop.
2. Lakukan pembacaan sel eosinofil dengan menggunakan lensa okuler 10x dan lensa objektif 10x (perbesaran menjadi 100x).
3. Hitung semua eosinofil yang terdapat dalam 9 bidang besar dengan luas 9 mm^2 .
4. Volume bilik hitung dari 1 bidang besar dapat dihitung menggunakan rumus: panjang x lebar x tinggi bilik hitung = $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 1/10 \text{ mm} = 1/10 \text{ mm}^3 = 0,1 \text{ mm}^3$. Jika sel eosinofil dihitung dalam 9 bidang besar , maka volumenya menjadi = $9 \times 1/10 \text{ mm}^3 = 9/10 \text{ mm}^3 = 0,9 \text{ mm}^3$ (Lonza Cologne, 2009).



Gambar 13.1 Bilik hitung Improved Neubauer

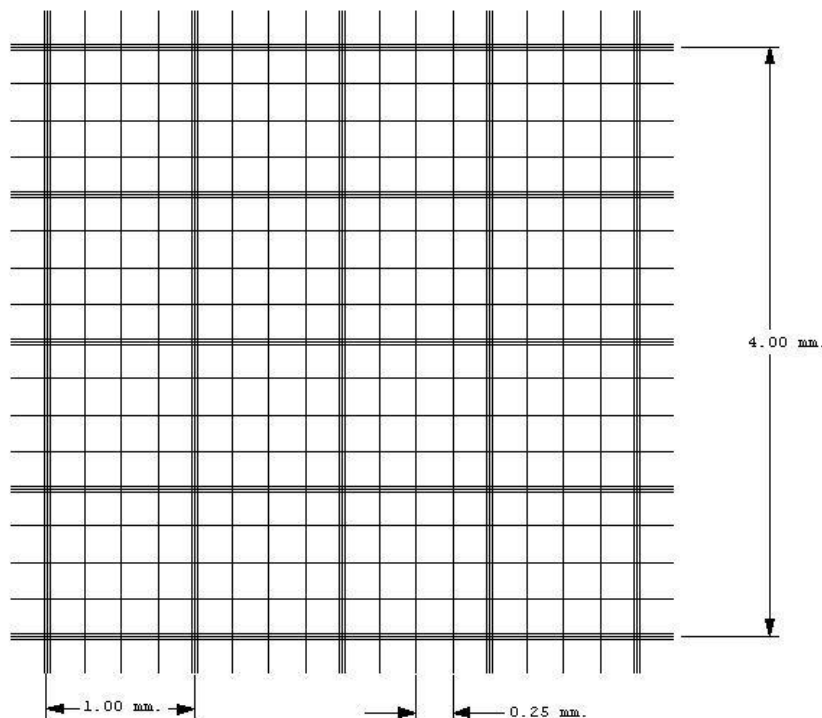
5. Sel eosinofil dihitung secara zigzag dengan aturan jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kiri atau garis batas tengah atas maka harus dihitung (ilustrasi sel berwarna hitam). Sebaliknya jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kanan atau bawah, maka tidak boleh dihitung (ilustrasi sel berwarna putih) (Marienfeld, 2019).



Gambar 13.2 Aturan menghitung sel eosinofil

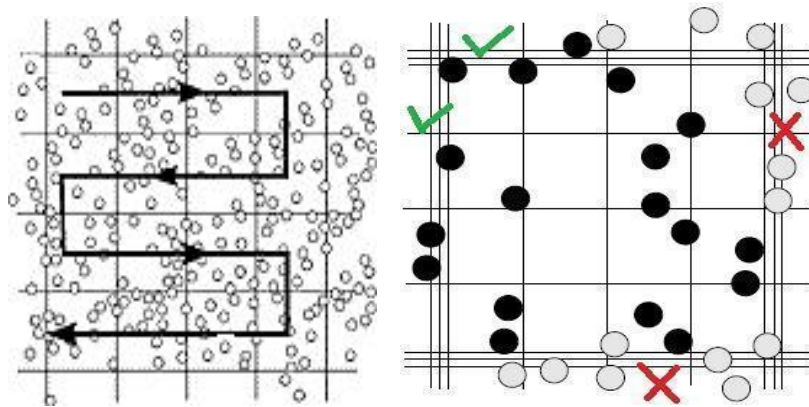
Perhitungan jumlah sel eosinofil pada bilik hitung Fuch Rosenthal

1. Letakkan bilik hitung yang telah berisi larutan darah dan reagen Dunger diatas meja mikroskop.
2. Lakukan pembacaan sel eosinofil dengan menggunakan lensa okuler 10x dan lensa objektif 10x (perbesaran menjadi 100x).
3. Hitung semua eosinofil yang terdapat dalam 16 bidang besar dengan luas 16 mm².
4. Volume bilik hitung dari 1 bidang besar dapat dihitung menggunakan rumus: panjang x lebar x tinggi bilik hitung = 1mm x 1 mm x 2/10 mm = 2/10 mm³ = 0,2 mm³. Jika sel eosinofil dihitung dalam 16 bidang besar , maka volumenya menjadi = 16 x 2/10 mm³ = 32/10 mm³ = 3,2 mm³ (Hausser, 2016).



Gambar 13.3 Bilik hitung Fuch Rosenthal

5. Sel eosinofil dihitung secara zigzag dengan aturan jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kiri atau garis batas tengah atas maka harus dihitung (ilustrasi sel berwarna hitam). Sebaliknya jika ada sel-sel yang menyinggung garis batas tengah sebelah kanan atau bawah, maka tidak boleh dihitung (ilustrasi sel berwarna putih) (Marienfeld, 2019).



Gambar 13.4 Aturan menghitung sel eosinofil

6. Nilai Normal:

Anak- anak dan dewasa : 50 - 500 sel/ μ L (Vedel-krogh, 2018)

1. Nilai Kritis: -

2. Perhitungan:

$$\text{Jumlah eosinofil}/\mu\text{L} = \frac{\text{jumlah eosinofil} \times \text{pengenceran}}{\text{volume bilik hitung}}$$

$$\text{Bilik hitung Improved Neubauer jumlah eosinofil}/\mu\text{L} = \frac{n \times 10}{0,9}$$

$$\text{Bilik hitung Fuch Rosenthal jumlah eosinofil}/\mu\text{L} = \frac{n \times 10}{3,2}$$

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

- ✓ Hasil ditulis dengan jelas dan dalam satuan sel/ mm^3 atau μl .
- ✓ Eosinofilia adalah keadaan jumlah eosinofil diatas nilai normal.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- ✓ tidak tepat memipet volume larutan reagen dan darah.

- ✓ adanya kotoran di bilik hitung dan lensa mikroskop.

3. Jaminan mutu pemeriksaan

- ✓ Waktu pengambilan : jumlah sel eosinophil akan meninggi pada waktu malam hari dan menjelang pagi hari dibandingkan pada siang hari.
- ✓ Luas bidang pemeriksaan : untuk meningkatkan ketelitian hitung jumlah eosinofil lebih baik digunakan bilik hitung Fuch Rosenthal.

D. Jurnal Praktikum/Laporan Sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil	:	
Data pasien		
Nama	:	
Umur	:	
Jenis Kelamin	:	
Bilik Hitung Improved Neubauer		
Diketahui :		
Jumlah sel yang ditemukan	=	
pengenceran	=	
volume bilik hitung	=	
Jumlah eosinofil	=	
Bilik Hitung Fuch Rosenthal		
Diketahui :		
Jumlah sel yang ditemukan	=	
pengenceran	=	
volume bilik hitung	=	
Jumlah eosinofil	=	
Kesimpulan	:	

....., 20...

Praktikan

Pembimbing

() ()



EVALUASI

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakan latihan berikut ini:

1. Pemeriksaan jumlah eosinofil metode pengenceran thoma dan tabung dengan bilik hitung Improved Neubauer
2. Pemeriksaan jumlah eosinofil metode pengenceran thoma dan tabung dengan bilik hitung Fuch Rosenthal

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Surat pengantar pemeriksaan dokter menyatakan bahwa seorang pasien terindikasi mengalami peradangan akut, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan hitung jumlah eosinofil. Pemeriksaan dilakukan dengan metode manual. Apa reagen yang digunakan pada pemeriksaan tersebut?
 - a. Rees Ecker
 - b. Turk
 - c. Lugol
 - d. Hayem
 - e. Dungen
2. Larutan Dungen adalah pengencer yang digunakan untuk menghitung jumlah eosinofil. Larutan ini mengandung eosin 2% dan aseton. Apa tujuan penambahan larutan eosin dalam reagen ini?
 - a. Mewarnai granula
 - b. Mewarnai leukosit
 - c. Melisiskan eritrosit
 - d. Menggumpalkan trombosit
 - e. Mengendapkan eosinofil
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil dengan pipet thoma. ATLM tersebut memipet darah sampai tanda 1 dan larutan pengencer sampai tanda 11 kemudian memeriksa dengan mikroskop dalam 9 kotak besar bilik hitung Improved Neubauer ditemukan 50 sel eosinofil. Berapa jumlah eosinofil/ μ L darah?

- a. 150
 - b. 230
 - c. 333
 - d. 450
 - e. 555
4. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil pengenceran dengan tabung. ATLM tersebut memipet larutan Dungen sebanyak 450 μL dan menambah dengan spesimen darah sebanyak 50 μL . Selanjutnya ATLM kemudian memeriksa dengan mikroskop di dalam 16 kotak besar bilik hitung Improved Neubauer ditemukan 100 sel eosinofil. Berapa jumlah eosinofil/ μL darah?
- a. 152
 - b. 222
 - c. 312
 - d. 452
 - e. 532
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil pengenceran dengan tabung. ATLM tersebut memipet larutan Dungen sebanyak 450 μL dan menambah dengan spesimen darah sebanyak 50 μL . Selanjutnya ATLM kemudian memeriksa dengan mikroskop di dalam 16 kotak besar bilik hitung Improved Neubauer ditemukan 50 sel eosinofil. Berapa jumlah eosinofil/ μL darah?
- a. 112
 - b. 156
 - c. 312
 - d. 452
 - e. 532

Kunci Jawaban :

- 1. E
- 2. A
- 3. E
- 4. C
- 5. B

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan jumlah eosinofil	5
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan jumlah eosinofil	10
3	Menyiapkan alat dan reagen	10
4	Memipet spesimen darah dan reagen	10
5	Mencampur spesimen darah dan reagen sampai homogen	10
6	Menginkubasi campuran spesimen darah dan reagen.	5
7	Menghitung jumlah sel pada 9 bidang besar bilik hitung Improved Neubauer atau 16 bidang besar bilik hitung Fuch Rosenthal dengan mikroskop pada perbesaran 100x dan menuliskan hasilnya berdasarkan rumus perhitungan.	20
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Pemeriksaan jumlah eosinofil secara manual bisa menggunakan reagen pengencer Eosin / Dungen. Reagen ini mengandung zat warna eosin yang akan mewarnai granula eosinofil menjadi merah oranye, aseton untuk memfiksasi eosinofil dan aquadest untuk melisiskan eritrosit. Perhitungan dilakukan didalam sebuah bilik hitung. Jumlah sel eosinofil yang relatif sedikit sehingga jika menggunakan bilik hitung Improved Neubauer maka kesalahannya lumayan besar yaitu sekitar 35% akibatnya ketelitiannya pun menjadi berkurang. Sehingga untuk mengatasi kesalahan tersebut yaitu bisa dengan memakai bilik hitung Fuchs-Rosenthal dengan luas 16 mm^2 dan tingginya $0,2 \text{ mm}$ sehingga ketelitiannya menjadi lebih tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Gandasoebrata, R. (2010). *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat.
- Hausser, S. (2016). Counting Chambers Fuchs-Rosenthal. In *Hausser Scientific*.
<http://www.hausserscientific.com/products/fuchs-rosenthal.html>
- Lonza Cologne. (2009). *Technical Reference Guide Cell Counting and Determination of Viability via Hemocytometer*.
- Marienfield. (2019). *Counting Chamber (Hemacytometer)*.
- Nugraha, G., & Badrawi, I. (2021). Pedoman Teknik Pemeriksaan Laboratorium Klinik. In *Trans Info Media*.
- Nurhayati, Betty; Gunawan, L. S. (2021). *Bahan Ajar TLM Hematologi*.
- Vedel-krogh, S. (2018). Eosinophil count. *Nursing Critical Care*, 14(3), 32.
<https://doi.org/10.1097/01.CCN.0000554836.64412.de>

BAB XIV

RETIKULOSIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan retikulosit
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan retikulosit
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan retikulosit



PENDAHULUAN

Hematopoiesis adalah proses produksi sel-sel darah yang bersirkulasi secara terus menerus, yang dimulai sejak terbentuknya kehidupan janin di dalam kandungan sampai individu tersebut dilahirkan. Proses hematopoiesis diawali dengan adanya sel induk hemopoiesis (*hematopoietic stem cells*, HSC) yang berkembang menjadi sel-sel darah. Sel induk hemopoiesis adalah sel yang dapat memperbarui dirinya, memproduksi dan berdiferensiasi menjadi semua jenis sel darah. Eritropoiesis merupakan proses pembentukan eritrosit, yang dimulai dari sel induk hemopoiesis hingga terbentuk sel matang yang beredar di darah tepi, yaitu eritrosit. Proses eritropoiesis menghasilkan 2×10^{11} eritrosit baru yang dikeluarkan ke dalam sirkulasi setiap hari untuk menggantikan 2×10^{11} eritrosit lama, atau sekitar satu persen dari total eritrosit. (Meri, 2020).

Eritrosit dibentuk dari sel induk yang bernama sel induk hemopoietic HSC. HSC dapat memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi sel progenitor, yaitu progenitor myeloid umum (*common myeloid progenitor*), progenitor megakariosit-eritrosit (*megakaryocyte-erythrocyte progenitor*), kemudian berdiferensiasi menjadi sel prekursor eritrosit, yaitu pronormoblas, normoblast basofilik, normoblast polikromatofilik, normoblast ortho-

kromatofilik, eritrosit polikromatofilik (retikulosit) dan eritrosit yang beredar di daerah tepi. Ciri perkembangan eritrosit secara mikroskopik berdasarkan tahapan perkembangannya yaitu : Pronormoblas – Normoblas Basofilik – Normoblast Polikromatofil – Normoblas ortokromatofilik – Retikulosit – Eritrosit. (Meri, 2020).

Retikulosit adalah sel eritrosit muda yang baru dilepaskan ke peredaran darah tepi dari sumsum tulang. Sel ini mempunyai karakteristik masih memiliki sisa RNA ribosom. Dalam proses pematangan sel eritrosit, sisa RNA akan hilang. Sisa RNA pada sel retikulosit dapat terwarnai dengan zat warna supravital, yaitu *brilliant cresyl blue* (BCB) atau *new methylene blue* (NMB). Pada proses pewarnaan, RNA yang tersisa tampak sebagai filamen atau butiran ungu atau biru, bergantung pada pewarna yang digunakan, Hal ini hanya terlihat pada sedimen yang tidak terfiksasi dan diwarnai dalam keadaan vital. (Cahyono, 2019)

Retikulosit dibentuk di sumsum tulang melalui eritropoiesis kemudian dilepaskan ke dalam aliran darah, biasanya retikulosit berada di peredaran darah tepi selama 24 jam sebelum retikulosit mengeluarkan sisa RNA menjadi eritrosit, dalam waktu 2 hingga 3 hari retikulosit akan berubah menjadi eritrosit. Setiap hari sumsum tulang menggantikan sekitar 1% eritrosit. Hitung jumlah retikulosit adalah pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan jumlah retikulosit dalam darah melalui apusan darah, satuan yang digunakan adalah persen (%). Pemeriksaan hitung jumlah retikulosit digunakan sebagai indikator aktivitas sumsum tulang (eritropoiesis) dan diagnosis anemia. (Nugraha, 2021)

Jumlah retikulosit yang ada di dalam darah tepi menunjukkan jumlah eritrosit yang harus diganti setiap harinya, karena sudah waktunya untuk dihancurkan. Peningkatan hitung jumlah retikulosit menunjukkan adanya peningkatan produksi eritrosit yang dapat disebabkan penurunan volume darah, penurunan jumlah eritrosit atau kebutuhan oksigen jaringan berkurang. Peningkatan jumlah retikulosit dapat terjadi pada kondisi anemia (hemolitik, sel sabit), thalassemia mayor, perdarahan kronis, pasca perdarahan (3 sampai 4 hari), pengobatan anemia (defisiensi zat besi, vitamin B₁₂, asam folat), leukemia, eritroblastosis fetalis, penyakit hemoglobin C dan D, kehamilan. Pada kasus penurunan jumlah retikulosit yang terus menerus dapat menggambarkan adanya penurunan eritropoiesis pada sumsum tulang atau anemia aplastik. Penurunan jumlah retikulosit dapat terjadi pada kondisi anemia (pernisiosa, defisiensi asam folat, aplastik), terapi radiasi, efek iradiasi sinar X, hipofungsi adrenokortikal, hipofungsi hipofisis anterior, sirosis hati. (Nugraha, 2021)

Dalam menentukan jumlah retikulosit, pemeriksaan dilakukan dengan cara menghitung retikulosit dalam 1000 eritrosit. Pada kondisi tertentu kondisi eritrosit di dalam darah dapat berubah yang ditandai dengan nilai hematokrit (Ht) yang abnormal, sehingga tidak menggambarkan nilai jumlah retikulosit yang sebenarnya. Untuk mengimbangi hal tersebut perlu dilakukan koreksi hitung jumlah retikulosit terhadap nilai hematokrit normal 45%. Rumus koreksi hitung jumlah retikulosit adalah : (Nugraha, 2021)

$$\text{Koreksi Hitung Jumlah Retikulosit} = \frac{\text{Nilai Ht pasien}}{\text{Nilai Ht normal}} \times \text{hitung retikulosit}$$

Hitung jumlah retikulosit bukan pemeriksaan rutin, melainkan pemeriksaan khusus yang termasuk ke dalam salah satu pemeriksaan hematologic atas indikasi. Metode hitung retikulosit terdiri atas metode manual dan otomatis. Hitung jumlah retikulosit metode manual dilakukan dengan menggunakan mikroskop, yaitu dengan menghitung persentase eritrosit yang memiliki reticulum setelah sampel diinkubasi dengan zat warna supravital. Hitung jumlah retikulosit metode otomatis dilakukan dengan alat otomatisasi hematologi analyzer, dengan prinsip perhitungan berdasarkan aliran retikulosit yang diwarnai dengan zat warna fluoresens yang mengikat RNA. (Cahyono, 2019)

Jenis pewarna supravital yang dapat digunakan untuk metode manual adalah larutan *Brilliant Cresyl Blue* (BCB) atau *Purified Azur B, New Methylene Blue* (NMB). (Wirawan, 2011). Zat warna yang digunakan untuk metode otomatisasi yaitu zat warna fluorokrom, seperti *Thiazole orange*, *Auramine O*, *Acridine orange*, dan *Polymethine*. (Cahyono, 2019)



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

Untuk mengetahui jumlah retikulosit di dalam darah dan menginterpretasikan hasil perhitungan jumlah retikulosit dalam darah

2. Metode

Manual

3. Prinsip

Darah ditambah larutan pewarna vital *Brilliant Cresyl Blue (BCB)* atau *New Methylen Blue*, maka sisa-sisa inti (ribosom) dan RNA pada retikulosit tampak sebagai filamen atau granula berwarna, kemudian jumlahnya dibandingkan dengan jumlah eritrosit dan dinyatakan dalam persen (%) atau permil (‰).

4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel

Bahan Pemeriksaan yang dapat digunakan adalah darah kapiler atau darah EDTA. Darah EDTA dapat ditunda 6-8 jam, setelah waktu tersebut jumlah retikulosit akan menurun. (Wirawan, 2011)

5. Alat dan bahan

a. Alat :

- 1) Mikroskop Cahaya
- 2) Penangas air (Waterbath) suhu 37°C
- 3) Tabung reaksi kecil
- 4) Kaca Objek dan kaca penggeser
- 5) Kaca penutup
- 6) Pipet Pasteur
- 7) Cawan Petri
- 8) Kertas
- 9) Larutan pewarna supravital dapat menggunakan Zat warna *brilliant cresyl blue* (BCB) atau *new methylene blue* (NMB)

Komposisi BCB 1% :

Brilliant Cresyl Blue 1,0 g

NaCl 0,85% 99 mL

Larutkan pewarna dalam sedikit pemanasan

Komposisi NMB 1%

<i>New Methylene Blue</i>	1,0 g
NaCl	0,8 g
Kalium oksalat	1,4 g
Aquadest	100 mL

B. Analitik

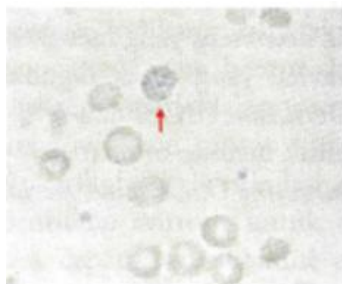
1. Prosedur kerja

a. Sediaan Basah

1. Teteskan 1 tetes larutan BCB/ NMB 1% ditengah-tengah kaca objek.
2. Tambahkan 2 tetes darah dilarutan BCB/NMB 1%, homogenkan darah dengan zat pewarna menggunakan sudut kaca objek sampai homogen.
3. Tutup campuran tersebut dengan kaca penutup hingga lapisan dasarnya menjadi benar-benar tipis.
4. Inkubasi dalam cawan petri lembab selama beberapa menit.
5. Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali.
6. Pilih area Dimana eritrosit tersebar merata, hitung jumlah retikulosit dalam 1000 eritrosit.

7. Tentukan hasilnya dengan menggunakan perhitungan berikut :

$$\text{Hitung Retikulosit} = \frac{\text{Jumlah Retikulosit}}{\text{Jumlah Eritrosit}} \times 100$$



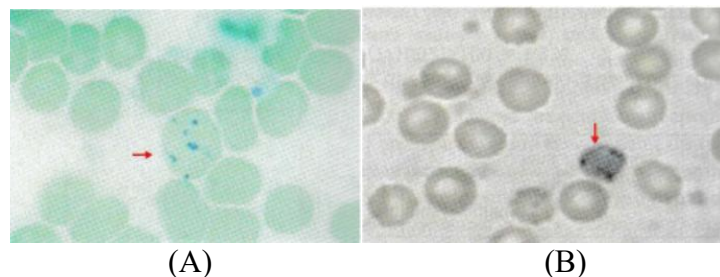
Gambar 14.1 Retikulosit (tanda panah) pada sediaan basah dengan zat warna supra vital *New Methylene Blue* (Sumber : Jujuk, 2020)

b. Sediaan Kering

1. Masukkan 3 tetes zat warna supravital (BCB/NMB 1%) ke dalam tabung serologi.
2. Tambahkan 3 tetes darah kapiler atau darah EDTA ke dalam tabung reaksi yang berisi zat warna tersebut.

3. Homogenkan kedua campuran tersebut dan tutup tabung dengan parafilm.
4. Inkubasi campuran tersebut pada waterbath dengan suhu 37° C selama 15-20 menit.
5. Setelah diinkubasi, tabung di homogenkan lagi.
6. Buat sediaan apus dan biarkan kering di udara.
7. Periksa sediaan apus di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 100x menggunakan oil imersi.
8. Pilih area Dimana eritrosit tersebar merata, hitung jumlah retikulosit dalam 1000 eritrosit.
9. Tentukan hasilnya dengan menggunakan perhitungan berikut :

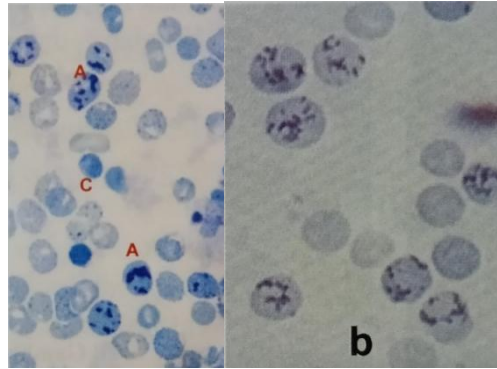
$$\text{Hitung Retikulosit} = \frac{\text{Jumlah Retikulosit}}{\text{Jumlah Eritrosit}} \times 100$$



Gambar 14.2 Retikulosit (tanda panah) pada sediaan kering dengan zat warna supra vital (A) *Briliant Cresyl Blue* dan (B) *New Methylene Blue* (Sumber : Jujuk, 2020)

c. Pembacaan Hasil Sediaan

1. Lakukan pembacaan pada daerah yang eritrositnya berdekatan (tidak berkelompok atau tidak terpisah-pisah).
2. Sel retikulosit relatif lebih besar daripada sel eritrosit dan mengandung granula/filamen:
 - a. Apabila menggunakan pewarnaan *Brilliant cresyl blue* (BCB) 1%, maka eritrosit berwarna biru muda keunguan, sedangkan *Substansial Granula Filamentosa* (SGF) berwarna ungu tua.
 - b. Apabila menggunakan pewarnaan *New Methylen blue* maka eritrosit berwarna biru muda, sedangkan SGF berwarna biru tua
- c. Lakukan pembacaan jumlah retikulosit dalam 10 lapang pandang (1000 eritrosit)



Gambar 14.3 (A) Retikulosit yang diwarnai zat warna NMB 1%, (b) Retikulosit yang diwarnai zat warna BCB 1%, (C) Badan Heinz. (Wirawan 2011)

d. Nilai Normal

Bayi baru lahir	: 2,5 – 6,5 %
Bayi	: 0,5 – 3,5 %
Anak	: 0,5 – 2,0 %
Dewasa	: 0,5 - 1,5 %

e. Nilai Kritis

f. Perhitungan

a. Dalam persen (%) : $\frac{\text{Jumlah Retikulosit}}{\text{Jumlah Eritrosit}} \times 100$

b. Dalam Permil (‰) : $\frac{\text{Jumlah Retikulosit}}{\text{Jumlah Eritrosit}} \times 1000$

C. Post analitik

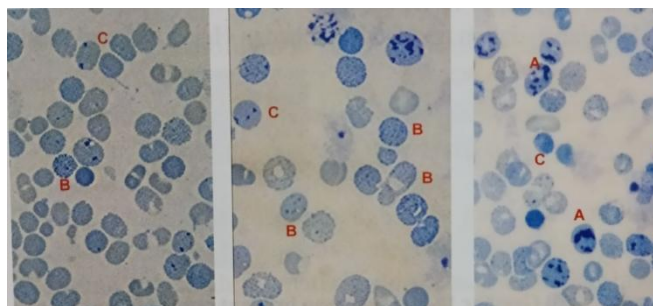
1. Pelaporan hasil

Untuk pelaporan hasil hitung jumlah retikulosit dinyatakan dalam persen (%) atau permil (‰)

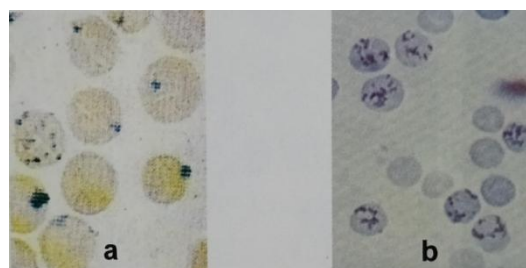
2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- Jenis kelamin, Jumlah Retikulosit pada wanita umumnya lebih tinggi dari pada pria karena adanya siklus haid yang dapat memicu terjadinya eritropoiesis
- Usia, pada usia lanjut umumnya jumlah retikulosit lebih rendah karena aktivitas eritropoiesis sudah berkurang.

- c. Kondisi hipoksia (kekurangan oksigen), umumnya dijumpai pada perokok, individu yang bermukim di area dataran tinggi, dan sebagainya.
- d. Pada anemia berat, volume darah yang harus lebih banyak dari zat warna yang dipakai, demikian pula sebaliknya.
- e. Zat warna yang tidak disaring mungkin mengendap pada eritrosit sehingga mengganggu pembacaan sediaan.
- f. Waktu inkubasi campuran antara darah dan zat warna kurang lama, paling sedikit diperlukan waktu 30 menit
- g. Sebelum membuat sediaan, campuran darah dan zat warna tidak dicampur sampai homogen. Retikulosit mempunyai berat jenis yang lebih rendah dan eritrosit sehingga cenderung berada di bagian atas dari campuran. Oleh karena itu campuran antara darah dengan zat warna perlu dicampur dengan baik sebelum dibuat sediaan hapus
- h. Menghitung di daerah yang jumlah eritrositnya terlalu padat
- i. Jumlah eritrosit yang dihitung tidak mencapai 1000 atau tidak mencapai 10 lapang pandang
- j. Keterampilan petugas dalam mengidentifikasi dan menghitung jumlah retikulosit seperti kesalahan dalam membedakan badan Heinz dan retikulosit.



Gambar 14.4 Pewarna *new methylene blue* :
 (A) Retikulosit (B) Badan Inklusi HbH (C) Badan Heinz
 Sumber : Wirawan, 2011

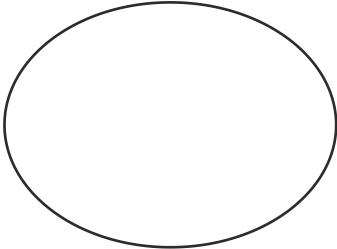


Gambar 14.5 Pewarna *Brilliant Cresyl Blue* :
 (A) Badan Heinz (B) Retikulosit
 Sumber : Wirawan, 2011

3. Jaminan mutu pemeriksaan
 - a. Pencampuran zat warna dengan spesimen darah yang baik dan benar
 - b. Pembuatan Sediaan Apus yang baik dan benar
 - c. pH zat warna yang sesuai
 - d. Keterampilan petugas dalam mengidentifikasi dan menghitung jumlah retikulosit

D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil : Gambar Retikulosit di Mikroskop 											
	Lapang pandang ke ...										Jmlh (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Retikulosit											
Eritrosit											
Kesimpulan :											

, 20...

Pembimbing

Praktikan

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Lakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit cara kering secara tepat dan teliti
2. Lakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit cara basah secara tepat dan teliti

B. Tes

Pilihlah jawaban yang paling tepat !

1. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit cara kering.
ATLM mereaksikan reagen dengan sampel darah pada tabung serologi. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 15-20 menit.
Apa nama alat yang digunakan untuk menginkubasi pada kasus tersebut ?
 - A. Cawan Petri
 - B. Inkubator
 - C. *Hot Plate*
 - D. Waterbath
 - E. *Biosafety Cabinet*
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit cara basah.
ATLM meneteskan zat warna kemudian di campurkan dengan specimen darah sampai homogen dan ditutup dengan kaca penutup.
Apa langkah selanjutnya yang dilakukan oleh ATLM tersebut ?
 - A. Menginkubasi pada inkubator 37°C
 - B. Melakukan pemeriksaan di bawah mikroskop
 - C. Meletakkan sediaan pada cawan petri lembab
 - D. Membuat sediaan apus darah
 - E. Menuliskan hasil pemeriksaan
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit didapatkan jumlah retikulosit sebanyak 2 dalam 1000 eritrosit.
Berapa % jumlah retikulosit yang didapatkan?
 - A. 0,1
 - B. 0,2

- C. 0,4
D. 2
E. 20
4. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan retikulosit secara mikroskopis. Sediaan apus retikulosit dibaca pada perbesaran 100 kali menggunakan minyak imersi. Pada bagian lapang pandang eritrosit yang bagaimana untuk menghitung jumlah retikulosit tersebut ?
A. Berdekatan
B. Bertumpuk
C. Terpisah
D. Merata
E. Tumpang tindih
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan sediaan apus untuk menghitung jumlah retikulosit. Kesalahan dapat terjadi pada saat pembacaan sel retikulosit. Apa sel yang mirip dengan retikulosit sehingga dapat menyebabkan kesalahan dalam pembacaan ?
A. Badan Heinz
B. *Howel jolly Bodies*
C. *Papenheimer Bodies*
D. *Basophilic stippling*
E. Sel sasaran

Kunci Jawaban :

1. D
2. C
3. B
4. D
5. A

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan retikulosit	5
2	Menyiapkan alat dan bahan	10

3	Mempersiapkan specimen darah	10
4	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan retikulosit cara kering	10
5	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan retikulosit cara basah	10
6	Melakukan pembuatan apus darah untuk pemeriksaan retikulosit	5
7	Melakukan pemeriksaan mikroskopik retikulosit	10
8	Melakukan perhitungan jumlah retikulosit	10
9	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
10	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
11	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Retikulosit adalah eritrosit muda yang tidak memiliki nukleus dan masih memiliki sisa ribosom dan RNA di sitoplasmanya. Ribosom dan RNA sisa dapat divisualisasikan dengan pewarnaan dengan new methylene blue, brilliant cresyl blue, atau purified azure B. RNA yang tersisa tampak sebagai filamen atau butiran ungu atau biru, bergantung pada pewarna yang digunakan. Hal ini hanya terlihat pada sediaan yang tidak difikisasi dan diwarnai dalam keadaan vital.



GLOSARIUM

RNA : Materi genetik hasil dari transkripsi DNA



DAFTAR PUSTAKA

- Cahyono, JA.2021.Hematologi : Pemeriksaan Hitung Retikulosit. Jakarta : AIPTLMI-EGC
- Meri. 2020. Dosen TLM Indonesia. Hematologi Teknologi Laboratorium Medik : Penetapan Nilai Hematokrit. Jakarta : AIPTLMI – EGC
- Jujuk. 2020. Dosen TLM Indonesia. Hematologi Teknologi Laboratorium Medik : Penetapan Nilai Hematokrit. Jakarta : AIPTLMI - EGC
- Nugraha, G. 2021. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi dasar Edisi 2. Jakarta : Trans Info Media
- Nurhayati, B. Dkk. 2022. Hematologi, Jakarta : PPSDM Kemenkes
- Wirawan R., 2018, Pemeriksaan Laboratorium Hematologi, Jakarta : Departemen Patolohi Klinik FKUI

BAB XV

HEMATOKRIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan hematokrit
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hematokrit
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan hematokrit



PENDAHULUAN

Hematokrit dalam kamus kedokteran Webster's new world (2010:193) didefinisikan sebagai jumlah volume darah merah terhadap seluruh darah yang dinyatakan dalam persentase (%). Hematokrit adalah perbandingan bagian darah yang mengandung eritrosit terhadap volume seluruh darah atau eritrosit dalam seluruh volume darah yang dihitung dalam persentase (%). Semakin tinggi persentase hematokrit berarti konsentrasi darah semakin kental, diperkirakan banyak plasma darah yang keluar dari pembuluh darah yang berlanjut ke keadaan shock hipovolemik (Sutedjo, 2013). Nilai hematokrit digunakan untuk mengetahui ada tidaknya anemia dan menghitung indeks eritrosit (Riswanto, 2013).

Nilai Hematokrit dipengaruhi oleh bentuk, jumlah eritrosit, dan volume plasma. Nilai hematokrit di atas nilai normal menunjukkan adanya peningkatan jumlah eritrosit yang beredar ataupun adanya penurunan volume plasma. Peningkatan nilai hematokrit dapat terjadi pada kondisi polisitemia vera, yaitu adanya gangguan yang menyebabkan produksi eritrosit meningkat hingga 70%. Individu yang tinggal di dataran tinggi juga cenderung mempunyai nilai hematokrit di atas nilai normal. Hal ini dikarenakan kadar oksigen yang lebih rendah sehingga memicu tubuh memproduksi eritrosit dalam jumlah besar sebagai mekanisme

kompensasi tubuh agar tidak terjadi hipoksia atau kekurangan oksigen pada jaringan tubuh. Kondisi dehidrasi ataupun adanya luka bakar yang menyebabkan hilangnya sejumlah volume plasma darah juga dapat meningkatkan nilai hematokrit (Handayati, 2019).

Nilai hematokrit di bawah nilai normal menunjukkan adanya penurunan jumlah eritrosit ataupun peningkatan volume plasma. Nilai hematokrit di bawah nilai normal dapat ditemui pada kondisi keadaan hipovolemia, anemia, infeksi kronis, leukemia, dan limfoma. Pada gagal ginjal akut juga dapat menurunkan nilai hematokrit, karena produksi eritropoietin yang lebih rendah sehingga menurunkan jumlah produksi eritrosit. Kehamilan juga dapat membuat nilai hematokrit rendah, hal ini karena adanya faktor dilusi, yang berakibat pada proporsi volume plasma yang lebih tinggi dibandingkan sel eritrosit. (Handayati, 2019)

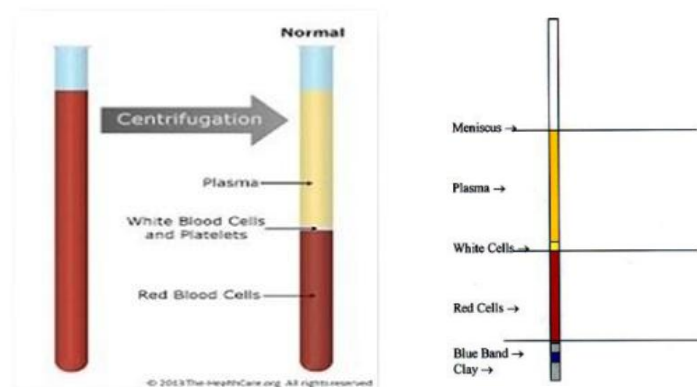
Nilai hematokrit dapat ditetapkan menggunakan metode manual maupun otomatisasi. Prinsip pengukuran nilai hematokrit pada kedua metode tersebut berbeda. Nilai pengukuran hematokrit pada metode manual didasarkan pada proses pemadatan sel karena proses sentrifugasi pada kecepatan dan waktu tertentu. Oleh sebab itu, istilah hematokrit pada metode ini sama dengan *packed cell volume* (PCV). PCV diukur sebagai tinggi kolom sel eritrosit setelah disentrifugasi dalam mikrokapiler ataupun tabung Wintrobe. (Handayati, 2019)

Pengukuran nilai hematokrit pada metode otomatisasi (Hct) berdasarkan pada perhitungan rata-rata volume sel darah merah (*mean cell volume*, MCV) dan jumlah eritrosit, yang keduanya diukur langsung dari alat otomatisasi *hematology analyzer*. (Handayati, 2019). Pemeriksaan hematokrit merupakan salah satu metode yang paling teliti dan simple dalam mendeteksi derajat anemia atau polisitemia. Nilai hematokrit juga digunakan untuk menghitung nilai eritrosit rata-rata. Biasanya nilai itu ditentukan dengan darah vena atau darah kapiler (Gandasoebrata, 2007).

Metode pemeriksaan hematokrit secara manual meliputi metode makro-hematokrit dan metode mikro-hematokrit. Pemeriksaan hematokrit metode makro bahan yang digunakan adalah darah vena. Sedangkan pemeriksaan hematokrit metode mikro dapat menggunakan darah kapiler dan darah vena. (Handayati, 2019)

Pemeriksaan Hematokrit harus dilakukan dua kali pemeriksaan (duplo) dengan tujuan koreksi teknik pengerjaan. Jika terjadi selisih lebih dari 2%, maka pemeriksaan hematokrit harus diulang bahkan jika perlu dilakukan pengambilan darah kembali. (Gilang, 2021).

Pada pemeriksaan hematokrit baik metode makro maupun mikro terdapat lapisan *buffy coat* yang letaknya di antara lapisan sel darah merah dan plasma. Lapisan ini terdiri dari leukosit dan trombosit yang berwarna kelabu kemerahan atau keputih-putihan. Dalam keadaan normal tingginya lapisan *buffy coat* 0,1 mm sampai dengan 1mm. Tinggi 0,1 mm kira-kira sesuai dengan 1.000 leukosit/mm³. Tinggi *buffy coat* yang masih dalam range normal belumlah berarti benar, misalnya kalau ada limfosit yang pada umumnya lebih kecil dari granulosit. Oleh karena itu tingginya lapisan *buffy coat* merupakan perkiraan saja terhadap ada tidaknya leukositosis (Dacie dan Lewis, 2010).



Gambar 15.1 Komponen darah akan terpisah setelah dilakukan sentrifugasi



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

Memantau volume sel darah merah dalam darah

2. Metode

- Mikrohematokrit
- Makrohematokrit

3. Prinsip

Darah dimasukkan ke dalam pipa kapiler mikrohematokrit hingga $\frac{3}{4}$ volume pipa kapiler. Kemudian, darah disentrifuse dalam waktu dan kecepatan tertentu. Nilai hematokrit (Ht)/ *packed cell volume* (PCV) dibaca dari skala lapisan atas endapan sel eritrosit terhadap skala volume keseluruhan darah menggunakan mikrohematokrit reader, dan dilaporkan dengan persentase (%).

4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel

Darah vena dengan antikoagulan EDTA atau darah kapiler yang langsung dimasukkan ke dalam pipa kapiler. Sampel yang hemolisis dan terdapat bekuan tidak dapat digunakan dalam pemeriksaan ini.

5. Alat dan bahan

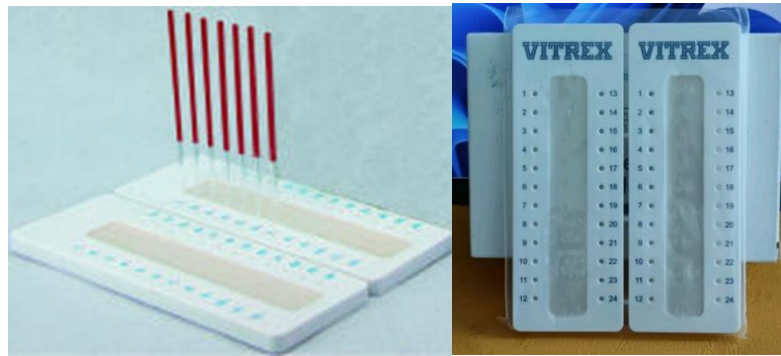
a. Mikrohematokrit

- 1) Pipa kapiler/tabung mikrohematokrit. Pipa ini mempunyai Panjang 75 ± 0.5 mm dan diameter 1.1 – 1.2 mm. Pipa kapiler dengan garis berwarna biru tidak mengandung antikoagulan dan digunakan untuk darah EDTA. Pipa kapiler dengan garis warna merah mengandung antikoagulan heparin, dan digunakan untuk darah kapiler.



Gambar 15.2 Tabung Mikrohematokrit
Sumber : Marinfeld

- 2) Malam/*clay/creato*seal untuk menutup ujung pipa kapiler



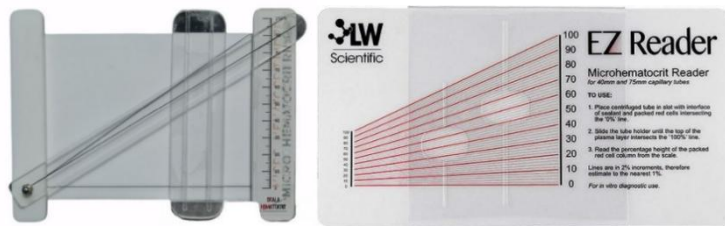
Gambar 15.3 Malam/*clay/creato*seal
Sumber : Vitrex

- 3) Sentrifuge mikrohematokrit



Gambar 15.4 Sentrifuge Mikrohematokrit
Sumber : Hettich, <https://qml.co.id/microbiology/>

- 4) Alat pembaca Hematokrit, mikrohematokrit *reader* (*reading device*)



Gambar 15.5 Mikrohematokrit reader
Sumber : EZ Reader, <https://www.lwscientific.com/products/hematocrit-reader-card>

b. Makrohematokrit

- 1) Tabung Wintrobe (Panjang 110 mm dan diameter 2,5 mm, dengan skala 10/100 di bagian atas dan angka 0 di bagian bawah)



Gambar 15.6 Tabung Wintrobe

Sumber : Asisstant, <https://www.lemariasam.id/tabung-wintrobe/>

- 2) Pipet Wintrobe, yaitu sejenis pipet tetes, dengan ujung lebih Panjang dan kecil dibandingkan pipet tetes biasa
- 3) Sentrifuge



Gambar 15.7 Sentrifuge

Sumber : Hettich EBA 280

B. Analitik

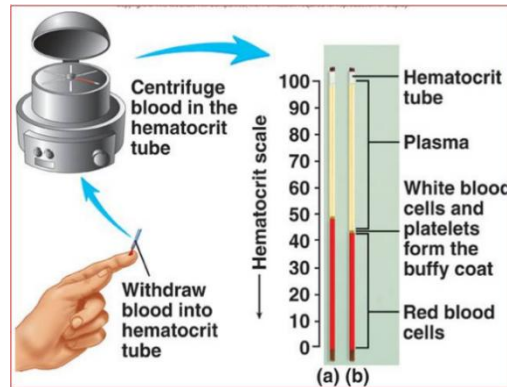
1. Prosedur kerja

a. Mikrohematokrit

- 1) Jika sampel yang digunakan adalah darah EDTA, pipa yang digunakan adalah pipa kapiler yang tidak dilapisi antikoagulan yang ditandai dengan garis warna biru. Darah EDTA dihomogenkan dengan baik dan diisap ke dalam pipa kapiler. Volume darah yang diisikan kurang lebih $\frac{3}{4}$ volume pipa kapiler. Jika yang digunakan adalah darah kapiler, jenis pipa kapiler yang digunakan adalah yang mengandung antikoagulan heparin yang ditandai dengan garis berwarna merah.
- 2) Masukkan darah ke dalam dua pipa kapiler (tanpa antikoagulan/dengan antikoagulan)
- 3) Salah satu ujung masing-masing pipa kapiler ditutup dengan menggunakan malam/*clay*/*creatoseal*
- 4) Tempatkan pipa kapiler pada sentrifuge khusus mikrohematokrit. Pastikan pipa kapiler berada pada posisi yang sesuai yaitu bersebrangan, dan ujung yang tertutup malam/*clay*/*creatoseal* berada di sisi luar sentrifuge menghadap ke pusat

sentrifuge. Jika posisi pipa kapiler tidak sesuai, dikhawatirkan sampel darah keluar dari pipa kapiler.

- 5) Pasang tutup sentrifuge yang mendatar di tempatnya. Jika penutup sentrifuge yang merupakan penutup wadah pipa kapiler tidak dipasang, pipa kapiler dapat terlepas dari wadahnya pada saat sentrifuge.
- 6) Pipa kapiler disentrifuge pada kecepatan 11.000 – 16.000 rps selama 5 menit.
- 7) Pipa kapiler dikeluarkan segera setelah sentrifuge berhenti, jangan dibiarkan terlalu lama dalam sentrifuge, sebab endapan eritrosit dapat terlarut Kembali ke dalam plasma
- 8) Nilai mikrohematokrit dibaca dengan mikrohematokrit reader. Pada saat pembacaan, pastikan batas antara *malam/clay/creatoseal* dengan sel eritrosit berada di skala 0 dan tinggi plasma bagian atas berada di skala 100, kemudian dibaca skala endapan eritrosit.
- 9) Jika nilai hematokrit tidak dibaca dengan segera, pipa kapiler ditempatkan dalam posisi vertikal.
- 10) Hasil yang didapat dari kedua hematokrit harus memiliki selisih $\pm 2\%$. Jika tidak, lakukan pemeriksaan ulang.



Gambar 15.8 Proses pemeriksaan mikrohematokrit
Sumber : Handayanti, 2020



Gambar 15.9 Pembacaan skala mikrohematokrit
Sumber : Nurhayati, B. 2022

b. Makrohematokrit

- 1) Isi tabung Wintrobe dengan darah EDTA menggunakan pipet Wintrobe sampai skala teratas (10/100).
- 2) Tabung Wintrobe dimasukkan ke dalam sentrifuge, pastikan posisi tabung seimbang dan tidak bergoyang.
- 3) Tabung Wintrobe disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.
- 4) Pada saat pembacaan Nilai hematokrit, pastikan volume plasma mencapai skala maksimal, yaitu 10/100. Nilai hematokrit dibaca berdasarkan tinggi endapan eritrosit terhadap volume darah keseluruhan. Jika bagian atas endapan eritrosit miring karena letak tabung Wintrobe selama proses sentrifuge, tinggi endapan eritrosit ditentukan melalui perhitungan.

2. Nilai Normal

- | | |
|---------------------------|-------------|
| a. Bayi baru lahir | : 44 - 46 % |
| b. Usia 1 sampai 3 tahun | : 29 – 40 % |
| c. Usia 4 sampai 10 tahun | : 31 – 43 % |
| d. Pria Dewasa | : 40 – 54 % |
| e. Wanita Dewasa | : 36 – 46 % |

3. Nilai kritis

Batas bawah : $\leq 20\%$

Batas atas : $\geq 60\%$

4. Perhitungan

a. Mikrohematokrit

Jika nilai hematokrit tidak dapat dibaca menggunakan skala hematokrit (*reading device*), maka pembacaan nilai hematokrit dapat menggunakan penggaris dengan cara mengukur tinggi endapan eritrosit dan tinggi keseluruhan volume darah, dengan rumus :

$$\text{Nilai hematokrit} = \frac{\text{Tinggi endapan eritrosit (cm)}}{\text{Tinggi keseluruhan volume darah}} \times 100\%$$

b. Makrohematokrit

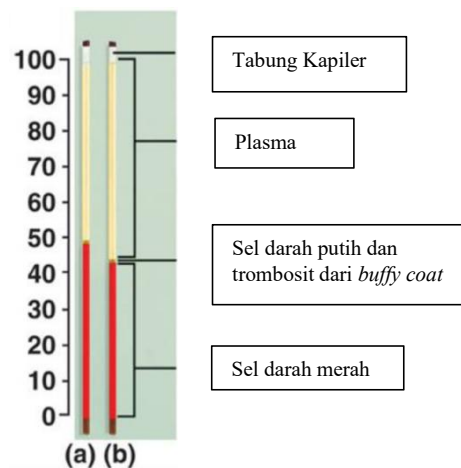
$$\begin{aligned}\text{Nilai hematokrit} &= \frac{\text{Kemiringan terendah} + \text{kemiringan tertinggi}}{2} \\ &= \frac{a}{10} \times 100\%\end{aligned}$$

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

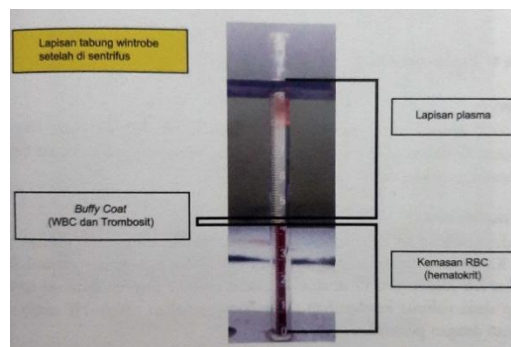
a. Mikrohematokrit

Untuk pelaporan hasil, sebagai contoh, nilai hematokrit (a) 48%. Hal ini menunjukkan bahwa dari 100% volume atau bagian darah, 48% nya merupakan volume atau bagian sel eritrosit, sedangkan 52% nya merupakan volume atau bagian plasma. Kemudian nilai hematokrit (b) 42% yang artinya, 42% merupakan volume atau bagian sel eritrosit, sedangkan 58% nya merupakan bagian plasma



Gambar 15.20 Pembacaan Nilai Hematokrit pada pipa kapiler
Sumber : Handayanti, 2020

b. Makrohematokrit



Gambar 15.21 Pembacaan Nilai hematokrit pada tabung Wintrobe
Sumber : Handayanti, 2020

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- Bila memakai darah kapiler, tetes pertama harus dibuang karena bercampur dengan cairan interstisial.
- Proses homogenisasi yang kurang baik pada darah dengan antikoagulan.

- c. Penggunaan antikoagulan berlebihan mengakibatkan eritrosit mengerut sehingga nilai hematokrit akan lebih rendah dari sebenarnya dan nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) meningkat.
- d. Penutupan ujung pipa kapiler dengan malam yang tidak benar sehingga sampel darah dapat keluar selama proses sentrifugasi.
- e. Kecepatan dan waktu sentrifugasi yang tidak sesuai sehingga darah tidak mengendap sempurna
- f. Bahan pemeriksaan yang ditunda lebih dari 6 jam akan meningkatkan nilai hematokrit.
- g. Darah yang digunakan untuk pemeriksaan tidak boleh mengandung bekuan.
- h. Di daerah dengan iklim tropis, pipet kapiler yang berisi antikoagulan heparin cepat rusak karena itu harus disimpan dalam lemari es.
- i. Pemakaian mikrohematokrit sentrifus dalam waktu yang lama mengakibatkan alat menjadi panas sehingga dapat mengakibatkan hemolisis.
- j. Pembacaan skala nilai hematokrit yang tidak sesuai, dengan menyertakan lapisan *buffy coat* sebagai nilai hematokrit ataupun salah dalam melihat dan membaca skala.
- k. Pada saat setelah selesai sentrifugasi, tabung Wintrobe ataupun pipa kapiler tidak langsung diangkat sehingga terlalu lama berada dalam posisi mendatar. Hal tersebut menyebabkan sel eritrosit bercampur kembali dengan plasma dan mengubah tinggi endapan eritrosit.
- l. Pada penetapan nilai hematokrit menggunakan metode otomatisasi, dapat diperoleh hasil tinggi palsu jika nilai MCV juga tinggi palsu. Hal tersebut dapat disebabkan oleh proses penyimpanan atau penggunaan sampel lisis dapat memengaruhi hitung eritrosit, yang berakibat pada nilai hematokrit yang tidak valid
- m. Jumlah eritrosit juga memengaruhi nilai hematokrit. Apabila jumlah eritrosit mengalami peningkatan (misal pada keadaan polisitemia), nilai hematokrit akan meningkat. Sebaliknya jika jumlah eritrosit berkurang (misal pada keadaan anemia), nilai hematokrit akan menurun.
- n. Ukuran eritrosit juga dapat memengaruhi viskositas darah. Jika viskositas darah tinggi, nilai hematokrit akan menurun.
- o. Bentuk eritrosit, apabila terjadi kelainan bentuk (misal poikilositosis), dapat terjadi *trapped plasma* (plasma yang terperangkap) sehingga nilai hematokrit akan meningkat.

3. Jaminan mutu pemeriksaan

- a. Pemeriksaan Hematokrit harus dilakukan dua kali pemeriksaan (duplo) dengan tujuan koreksi teknik pengerjaan. Jika terjadi selisih lebih dari 2%, maka pemeriksaan hematokrit harus diulang bahkan jika perlu dilakukan pengambilan darah kembali.

D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:

Langkah Kerja	:



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

D. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Lakukan pemeriksaan hematokrit metode mikrohematokrit secara tepat dan teliti
2. Lakukan pemeriksaan hematokrit metode makrohematokrit secara tepat dan teliti

E. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hematokrit pada pasien terduga anemia. ATLM melakukan pemeriksaan menggunakan metode mikrohematokrit. ATLM melakukan pemeriksaan dengan memasukkan darah ke dalam pipa kapiler. Apa prosedur selanjutnya yang dilakukan ATLM pada kasus tersebut ?
 - A. Sentrifugasi sampel
 - B. Homogenisasi
 - C. Menutup salah satu sisi pipa kapiler dengan malam/*clay/creatoseal*
 - D. Inkubasi selama 1 jam
 - E. Membaca hasil pemeriksaan
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hematokrit metode manual menggunakan mikrohematokrit. Sampel yang sudah masuk di dalam pipa kapiler disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Pembacaan nilai hematokrit diukur menggunakan penggaris, didapat tinggi eritrosit 2 cm, dan tinggi volume darah total 5 cm.

Berapa persen (%) nilai hematokrit pada kasus tersebut ?

 - A. 50
 - B. 32
 - C. 35
 - D. 38
 - E. 40
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hematokrit menggunakan metode mikrohematokrit. Setelah tabung disentrifugasi, perlu pembacaan nilai hematokrit menggunakan skala hematokrit.

Tinggi lapisan apa yang diukur pada hasil pemeriksaan tersebut ?

- A. *Buffy coat*
- B. Plasma
- C. Sel darah merah
- D. Serum
- E. Leukosit

4. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hematikrit menggunakan metode makrohematokrit. Sampel darah sudah dimasukkan ke dalam tabung WIntrobe kemudian dilakukan sentrifugasi.

Berapa rpm kecepatan sentrifugasi dan waktu dalam menit pada kasus tersebut ?

- A. 3000, 30
- B. 3000, 5
- C. 3000, 15
- D. 12000, 5
- E. 12000, 15

5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hematokrit menggunakan metode mikrohematokrit. Sampel darah dimasukkan ke dalam pipa kapiler, kemudian salah satu ujung pipa ditutup menggunakan malam dan disentrifugasi. Hasil sentrifugasi dilakukan pembacaan pada skala hematokrit.

Bagaimana cara meletakkan pipa kapiler pada skala hematokrit tersebut ?

- A. Plasma sejajar angka 0
- B. Batas antara *creatoseal* dengan sel darah merah pada angka 0
- C. Sel darah merah ditempatkan pada angka 100
- D. *Creatoseal* sejajar angka 0
- E. Diletakkan dimana saja

Kunci Jawaban :

- 1. C
- 2. E
- 3. C
- 4. A
- 5. B

F. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan hematokrit	5
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan hematokrit	10
3	Menyiapkan alat dan bahan	10
4	Menyiapkan spesimen darah	10
5	Memasukkan sampel darah ke dalam pipa kapiler atau tabung wintrobe	10
6	Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sesuai	5
7	Melakukan pembacaan pada skala hematokrit dan tabung wintrobe dengan tepat	20
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Hematokrit (Ht atau Hct) atau dalam bahasa Inggris disebut *packed cell volume* (PCV) adalah pemeriksaan untuk menentukan perbandingan eritrosit terhadap volume darah atau volume eritrosit di dalam 100 mL darah, yang ditetapkan dalam satuan persen (%). Pemeriksaan ini menggambarkan komposisi eritrosit di dalam tubuh. Nilai hematokrit dapat ditetapkan menggunakan metode manual maupun otomatisasi. Terdapat dua metode pemeriksaan hematokrit manual yaitu mikrohematokrit dan makrohematokrit.



GLOSARIUM



DAFTAR PUSTAKA

- Gandasoebrata, R. 2010. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat.
- Handayani, Anik. 2020. Dosen TLM Indonesia. Hematologi Teknologi Laboratorium Medik : Penetapan Nilai Hematokrit. Jakarta : AIPTLMI - EGC
- Hoffbrand & Moss. 2015. *Hoffbrand's Essential Haematology*. Wiley Blackwell
- Nugraha, G. 2021. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi dasar Edisi 2*. Jakarta : Trans Info Media
- Nurhayati, B. dkk. 2022. *Hematologi*, Jakarta : PPSDM Kemenkes
- Sutedjo, A.Y. 2013. *Mengenal penyakit melalui hasil pemeriksaan laboratorium*. Yogyakarta: Amara Books
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Alfabedika dan Kanak Medika. Yogyakarta
- Hettich, <https://qmli.co.id/microbiology/>
- EZ Reader, <https://www.lwscientific.com/products/hematocrit-reader-card>
- Ali, 2024. Tabung Wintrobe: Prinsip Kerja, Jenis, Fungsi, Bagian, Cara Penggunaan, Nilai Normal, dan Cara Pemeliharaan Pada Tabung Wintrobe. <https://www.lemariasam.id/tabung-wintrobe/>

BAB XVI

FRAGILITAS OSMOTIK



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu menjelaskan tujuan dilakukan pemeriksaan daya tahan osmotik eritrosit.
2. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip dilakukannya pemeriksaan daya tahan osmotik eritrosit.
3. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan daya tahan eritrosit dalam berbagai kadar NaCl.
4. Mahasiswa mampu menjelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan daya tahan osmotik eritrosit.



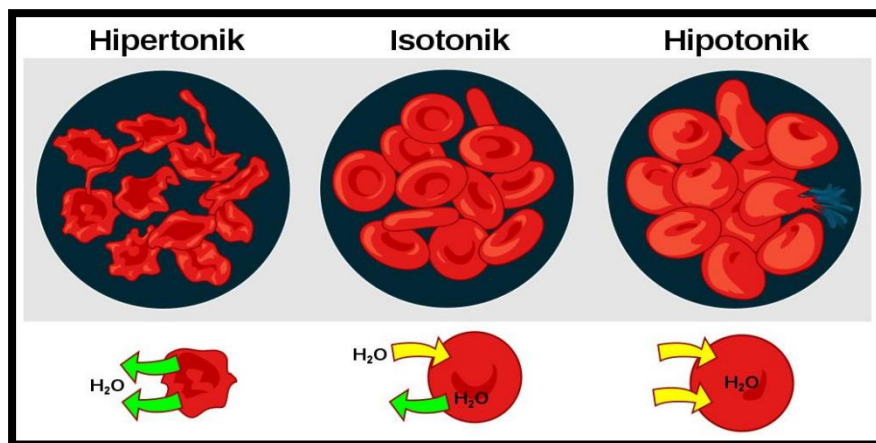
PENDAHULUAN

Fragilitas osmotik (*osmotic fragility*) atau resistensi osmotik eritrosit merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk menentukan daya tahan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis yang dapat melisiskan eritrosit (hemolisis). Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara memasukkan sampel darah ke dalam larutan salin dengan konsentrasi bertingkat. Larutan yang digunakan adalah larutan salin (NaCl). Eritrosit yang lisis akan melepaskan hemoglobinnya ke dalam larutan salin, sehingga warna larutan menjadi merah, kadar Hb dalam larutan diukur dengan fotometer dan dilaporkan dalam g/dL.

Cairan di luar eritrosit (plasma) dan cairan di dalam eritrosit memiliki tekanan serupa, sehingga menghasilkan tekanan osmotik yang sama. Kondisi ini dinamakan isotonik atau isoosmolar. Secara fisiologis, setiap saat terjadi perpindahan air dari dalam plasma ke dalam sel atau sebaliknya. Perpindahan terjadi secara osmotik dimana cairan berpindah ke daerah yang memiliki kadar air lebih rendah melalui suatu pembatas (membran sel). Jika terjadi

ketidak seimbangan tekanan, baik di dalam atau di luar eritrosit, dapat terjadi perubahan bentuk pada eritrosit, dapat terjadi perubahan ukuran pada eritrosit (mengkerut atau mengembang) bahkan bisa terjadi hemolisis (Kee, 2007).

Proses lisis bisa terjadi saat konsentrasi air di luar sel lebih tinggi dari pada di dalam sel, akibatnya air akan bermigrasi ke dalam eritrosit, sehingga eritrosit mengembang (bengkak). Jika kondisi ini berlanjut, dinding eritrosit tidak akan sanggup menahan tekanan dari dalam, sehingga pecah.



Gambar 16.1 Berbagai macam keadaan osmotik eritrosit (Nugraha, 2017).

Keterangan Gambar: Pada kondisi hipertonik, eritrosit akan kehilangan air sehingga sel mengempis. Pada kondisi isotonik, jumlah air yang keluar sebanding dengan jumlah air yang masuk ke dalam sel sehingga mempertahankan bentuknya. Pada keadaan hipertonik, eritrosit akan banyak mendapat air sehingga sel mengembang dan lisis.

Hasil pemeriksaan diproyeksikan dalam bentuk kurva, yang kemudian dibandingkan dengan kurva standar. Jika terjadi hemolisis pada larutan yang sedikit hipotonik (0,36 – 0,37%), maka dinyatakan terjadi peningkatan fragilitas osmotik. Sedangkan jika hemolisis terjadi pada NaCl dengan konsentrasi yang sangat hipotonik, maka terjadi penurunan fragilitas osmotik.



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

Menentukan daya tahan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis yang dapat melisis eritrosit (hemolisis).

2. Metode

Kolorimetri

3. Prinsip

Eritrosit disuspensikan pada larutan saline hipotonis bertingkat. Pada titik kritis membran sel eritrosit akan rusak sehingga hemoglobin akan keluar dari sel dan menyebabkan kekeruhan suspensi larutan. Kekeruhan suspensi kemudian dilihat secara visual atau fotokolorimetri dan dilaporkan dalam bentuk persen.

4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Spesimen yang digunakan yaitu darah segar (maksimal 2 jam setelah pengambilan). Sebaiknya digunakan darah heparin agar terjadi defibrinasi. Tetapi jika tidak memungkinkan boleh menggunakan darah K₃EDTA.

5. Alat dan bahan

1) Alat

- Tabung reaksi kecil/tabung serologi
- Pipet tetes
- Mikro pipet 50 uL
- Fotometer
- Aquadest

2) Bahan

- Reagen

Larutan stok buffer NaCl 10 % dengan komposisi sebagai berikut:

- NaCl : 9,0 g
- Na₂PO₄ : 1,365 g
- NaH₂ PO₄H₂O : 0,2215 g

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquadest sampai 100 mL. Larutan ini digunakan sebagai larutan stok (buffer saline 1 %). Untuk membuat larutan stok diencerkan dengan aquadest 11 x (perbandingan 1 : 10). Jika tidak memiliki bahan untuk pembuatan stock buffer, maka dapat digunakan NaCl 0,9% / 0,85%

B. Analitik

1. Prosedur kerja

- 1). Disediakan 12 tabung kemudian dibuat pengenceran bertingkat dengan konsentrasi sebagai berikut : 0,85 %, 0,75 %, 0,65 %, 0,60 %, 0,55 %, 0,50 %; 0,45 %; 0,40 %; 0,35 %; 0,30 %; 0,20 % dan 0,1 %.

Tabel 1. Pengenceran Bertingkat Larutan NaCl

Tabung	Stock buffer saline 0,9% (ml)	Aquadest (ml)	Konsentrasi NaCl (%)
1	4,7	0,3	0,85
2	4,2	0,8	0,75
3	3,6	1,4	0,65
4	3,3	1,7	0,60
5	3,0	2,0	0,55
6	2,8	2,2	0,50
7	2,5	2,5	0,45
8	2,2	2,8	0,40
9	1,9	3,1	0,35
10	1,7	3,3	0,30
11	1,1	3,9	0,20
12	0,6	4,4	0,10

2. Ditambahkan 50 uL sampel darah ke dalam tiap tabung, dicampur hingga homogen.
 - 1) Campuran ini diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar .
 - 2) Campuran dihomogenkan kembali, kemudian masing-masing tabung diputar dengan sentrifus selama 5 menit pada kecepatan 3000 rpm.
 - 3) Supernatan tiap campuran diukur absorbannya pada $\lambda = 540$ nm, supernatan tabung pertama digunakan sebagai blanko (NaCl 0,85 %).
 - 4) Persentase hemolisis dihitung dengan cara membagi absorbansi sampel dengan absorbansi tabung ke 12 dikalikan 100 %.
 - 5) Kurva dibuat dengan konsentrasi NaCl sebagai axis (sumbu x) dan % hemolisis sebagai ordinat (sumbu y).
 - 6) Hasil dilaporkan dengan membandingkan kurva sampel dengan kurva nilai normal.

Contoh pemeriksaan fragilitas osmotik. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan fragilitas osmotik dengan data seperti pada Tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1. Contoh pemeriksaan fragilitas osmotik

No Tabung	Konsentrasi NaCl (%)	Absorbansi Suspensi Larutan Sampel	Persen hemolisis (%)
1	0,85	0,001	0
2	0,75	0,002	0
3	0,65	0,003	0
4	0,60	0,0035	0
5	0,55	0,004	0
6	0,50	0,230	23
7	0,45	0,430	44
8	0,40	0,602	61
9	0,35	0,870	89
10	0,30	0,950	97
11	0,20	0,960	98
12	0,10	0,980	100

3. Nilai Normal

Nilai normal pemeriksaan fragilitas osmotik adalah sebagai berikut:

1. Permulaan hemolisis terjadi pada konsentrasi NaCl 0,40 – 0,45%
2. Hemolisis sempurna terjadi pada konsentrasi NaCl 0,30 – 0,35%
3. Persentase hemolisis pada keadaan normal adalah sebagai berikut:

50-90%	hemolisis dalam NaCl 0,40%	97-100% hemolisis dalam NaCl 0,30%
5-45%	hemolisis dalam NaCl 0,45%	
0%	hemolisis dalam NaCl 0,55%	

Tabel 2. Persen (%) Hemolisis Normal

No.	Konsentrasi NaCl (%)	% Hemolisis (Kurva 1)	% Hemolisis (Kurva 2)
0	0	100	100
1	0.10	100	100
2	0.20	97	100
3	0.30	97	100
4	0.35	90	99
5	0.40	50	90

6	0.45	5	45
7	0.50	0	5
8	0.55	0	0
9	0.60	0	0
10	0.65	0	0
11	0.75	0	0
12	0.85	0	0

4. Nilai Kritis : Tidak ada (*None*)

5. Perhitungan

Contoh pembuatan NaCl dengan persentase tertentu dari larutan stok NaCl 1%.

1. Pembuatan 5,0 mL larutan NaCl 0,9%
dari larutan stok NaCl 1%.

$$V1 \times \text{Konsentrasi 1} = V2 \times \text{Konsentrasi 2}$$

$$V1 \times 1,0\% = 5,0 \text{ mL} \times 0,9\%$$

$$V1 = (5,0 \times 0,9) : 1,0 = 4,5 \text{ mL}$$

Maka 5,0 mL larutan NaCl 0,9% dibuat dengan mencampurkan 4,5 mL NaCl 1,0% dengan 0,5 mL aquadest.

2. Pembuatan 5,0 mL larutan NaCl 0,45%
dari larutan stok NaCl 1%.

$$V1 \times \text{Konsentrasi 1} = V2 \times \text{Konsentrasi 2}$$

$$V1 \times 1,0\% = 5,0 \text{ mL} \times 0,45\%$$

$$V1 = (5,0 \times 0,45) : 1,0 = 2,25 \text{ mL}$$

Maka 5,0 mL larutan NaCl 0,45% dibuat dengan mencampurkan 2,25 mL NaCl 1,0% dengan 2,75 mL aquadest.

Contoh cara perhitungan persen hemolisis.

$$\text{Persen hemolisis} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi tabung ke-12 (NaCl 0,10\%)}} \times 100\%$$

$$\text{Tabung 1} = \frac{0,001}{0,980} \times 100\% = 0 \%$$

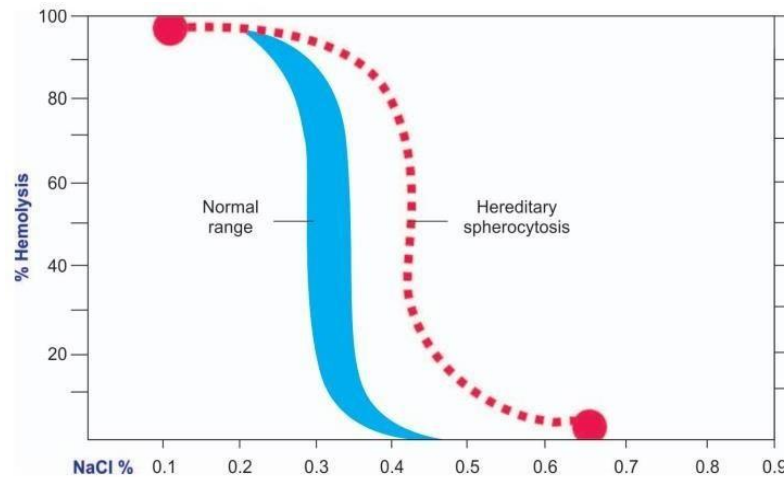
$$\text{Tabung 6} = \frac{0,230}{0,980} \times 100\% = 23 \%$$

$$\text{Tabung 12} = \frac{0,980}{0,980} \times 100\% = 100 \%$$

6. Interpretasi hasil

Hasil tes fragilitas osmotik dipengaruhi oleh bentuk sel eritrosit yang tergantung pada

volume, luas permukaan membran, dan kondisi membran sel eritrosit. Pada kondisi normal, sel eritrosit akan mulai lisis dalam larutan NaCl 0,5% dan lisis 100 % pada larutan NaCl 0,3%. Hasil pemeriksaan resistensi osmotik harus dibandingkan dengan kurva normal seperti pada gambar 2 berikut.



Gambar 16.2 Kurva pemeriksaan fragilitas osmotik (Nayak, R., Rai, S. and Gupta, A., 2011).

Kurva normal digambarkan pada garis biru, kurva garis putus berwarna merah merupakan hasil resistensi osmotik pada sel eritrosit dengan bentuk sferosit. Gambar 2 tersebut memperlihatkan peningkatan fragilitas osmotik sel eritrosit atau *shift to the right* dari grafik kurva normal.

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Hasil pemeriksaan fragilitas osmotik dinyatakan dalam persen hemolisis.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- 1) Faktor pH plasma, suhu, konsentrasi glukosa, saturasi oksigen dalam darah, serta sampel darah yang diambil lebih dari tiga jam; menyebabkan kecenderungan fragilitas osmotik yang lebih tinggi. Kehamilan dan laktasi dapat mempengaruhi fragilitas osmotik, dikarenakan efek destabilisasi hormon progesteron yang mempengaruhi membran eritrosit pada wanita hamil.
- 2) Proses pemeriksaan sampel dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, yang terdapat pada tahapan pra analitik, analitik maupun, paska analitik. Pengambilan sampel yang terlalu cepat, penentuan konsentrasi NaCl, pemipetan sampel, suhu ruang pemeriksaan, serta spektrofotometer juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan.
- 3) Antikoagulan yang digunakan pada proses sampling darah vena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan fragilitas osmotik. Penggunaan EDTA dapat meningkatkan fragilitas osmotik sel eritrosit dibandingkan dengan heparin.

Fragilitas osmotik ditemukan meningkat pada sel eritrosit yang disimpan selama 42 jam dengan menggunakan antikoagulan *citrate- phosphate-dextrose-adenin* (CPDA-1).

- 4) Penyimpanan sampel juga dapat mempengaruhi fragilitas osmotik sel eritrosit. Sel eritrosit yang disimpan pada tabung kaca di suhu 0°C memperlihatkan peningkatan hemolisis dan fragilitas osmotik dibandingkan dengan sel eritrosit yang disimpan pada kantung plastik khusus darah yang terbuat dari polyvinylchloride dengan 2-ethylhexyl phthalate (DEHP) (Betty Nurhayati, dkk., 2021).

3. Jaminan mutu pemeriksaan

1. Spesimen sesuai persyaratan
2. Prosedur pemeriksaan dilaksanakan sesuai SOP.
3. Dibandingkan dengan kurva normal.

D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:											
Tujuan	:											
Prinsip	:											
Spesimen	:											
Pemeriksaan	:											
Alat dan Bahan	:											
Langkah Kerja	:	a. Pengenceran bertingkat larutan saline <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">Tabung</th> <th style="width: 20%;">Stock buffer saline 1% (ml)</th> <th style="width: 15%;">Aquadest (ml)</th> <th style="width: 15%;">Konsentrasi NaCl (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">1</td> <td></td> <td></td> <td style="text-align: center;">0,85</td> </tr> </tbody> </table>			Tabung	Stock buffer saline 1% (ml)	Aquadest (ml)	Konsentrasi NaCl (%)	1			0,85
Tabung	Stock buffer saline 1% (ml)	Aquadest (ml)	Konsentrasi NaCl (%)									
1			0,85									

2			0,75
3			0,65
4			0,60
5			0,55
6			0,50
7			0,45
8			0,40
9			0,35
10			0,30
11			0,20
12			0,10

Hasil : Data pasien

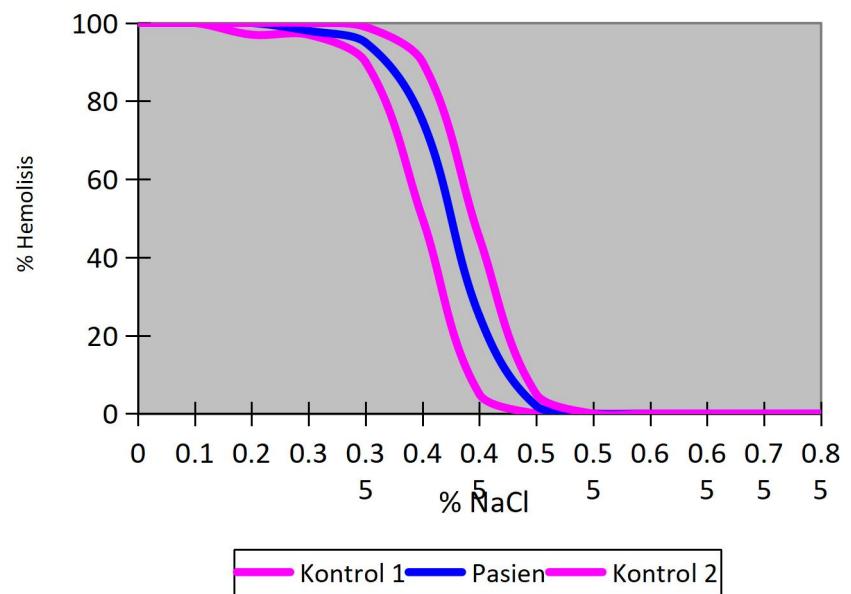
a. Persen (%) Hemolisis Sampel

No.	Konsentrasi NaCl (%)	Hemolisis (%)
0	0	100
1	0.10 (tabung ke-12)	
2	0.20 (tabung ke-11)	
3	0.30 (tabung ke-10)	
4	0.35 (tabung ke-9)	

5	0.40 (tabung ke-8)	
6	0.45 (tabung ke-7)	
7	0.50 (tabung ke-6)	
8	0.55 (tabung ke-5)	
9	0.60 (tabung ke-4)	
10	0.65 (tabung ke-3)	
11	0.75 (tabung ke-2)	
12	0.85 (tabung ke-1)	

b. Kurva hasil OFT

Contoh :



Kesimpulan :

Yogyakarta,

20...

Pembimbing

Praktikan



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat menerapkan pemahaman Anda mengenai pemeriksaan fragilitas osmotik, lakukan aktivitas berikut ini :

1. Dibentuk 4-5 kelompok belajar. Masing-2 kelompok membuat materi presentasi tentang latar belakang dan tujuan dilakukannya pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit, isi materi meliputi persiapan sampel, alat, bahan dan reagen yang digunakan, prosedur pemeriksaan dan interpretasi hasil serta kaidah pelaporan.

Materi dibuat dalam bentuk power point kemudian disajikan didepan kelas. Kelompok yang bertindak sebagai audiens diberi kesempatan untuk bertanya atau memberi sanggahan pada kelompok penyaji.

2. Selanjutnya masing-masing mahasiswa diinstruksikan untuk melakukan pemeriksaan fragilitas osmotik metode kolorimetri secara tepat dan teliti!

B. Tes

Kerjakan soal-soal di bawah ini untuk uji daya serap pengetahuan.

1. Larutan NaCl yang isotonis memiliki kadar.....
 - A. 1,0 %
 - B. 0,85 %
 - C. 0,75 %
 - D. 0,10 %
 - E. 10 %
2. Kondisi dimana tekanan di luar sel lebih besar dari pada tekanan di dalam sel dinamakan
 - A. Hipertonis
 - B. Hipotonis

- C. Osmosis
 - D. Isotonis
 - E. Migrasi
3. Perpindahan air dari daerah berkadar air tinggi ke daerah yang berkadar air lebih rendah dinamakan ...
- A. Hipertonis
 - B. Hipotonis
 - C. Osmosis
 - D. Isotonis
 - E. Migrasi
4. Untuk membuat larutan pokok NaCl 1,0 % larutan stok diencerkan dengan perbandingan
- A. 1 : 10
 - B. 1 : 22
 - C. 1 ; 11
 - D. 1 : 5
 - E. 1 : 100
5. Sampel darah untuk pemeriksaan uji fragilitas osmotik eritrosit sebaiknya menggunakan
- A. Plasma heparin
 - B. Plasma EDTA
 - C. Darah EDTA
 - D. Darah heparin
 - E. Darah penuh (*Whole blood*)
6. Panjang gelombang yang digunakan pada pemeriksaan uji fragilitas osmotik adalah ...
- A. 380 nm
 - B. 460 nm
 - C. 540 nm
 - D. 600 nm
 - E. 580 nm
7. Yang tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan uji fragilts osmotik adalah ...
- A. pH Plasma
 - B. Kadar glukosa

- C. Usia eritrosit
 - D. Penundaan waktu pemeriksaan
 - E. Jumlah eritrosit
8. Jika tekanan dari luar sel lebih rendah dibandingkan dari dalam maka dapat terjadi...
 - A. Pembengkakan sel
 - B. Pengekerutan sel
 - C. Hemokonsentrasi
 - D. Autohemolisis
 - E. Hemodialisis
 9. Keseimbangan antar tekanan dari dalam sel dengan tekanan dari luar sel dinamakan
 - A. Hipertonis
 - B. Isotonis
 - C. Isoosmolar
 - D. Hipotonis
 - E. *Pressure balance*
 10. Kondisi dimana tekanan diluar sel lebih rendah daripada tekanan didalam sel dinamakan ...
 - A. Hipotonis
 - B. Hipertonis
 - C. Isotonis
 - D. Isoosmolar
 - E. Osmosis

A. Kunci Jawaban

1. B
2. A
3. C
4. A
5. A
6. C
7. E
8. A

9. C

10. A

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No.	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mampu menjelaskan tujuan dan prinsip pemeriksaan fragilitas osmotik	5
2	Mampu melakukan persiapan alat dan bahan	5
3	Mampu menyiapkan spesimen darah yang sesuai persyaratan	5
4	Mampu melakukan pengenceran bertingkat dengan konsentrasi NaCl tertentu	10
5	Mampu melakukan homogenisasi spesimen	5
6	Mampu melakukan pemipetan spesimen darah dengan volume yang tepat	5
7	Mampu melakukan homogenisasi spesimen dengan larutan NaCl	5
8	Mampu melakukan inkubasi sesuai suhu dan waktu	5
9	Mampu melakukan homogenisasi kembali pasca inkubasi	5
10	Mampu melakukan sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu tertentu	5
11	Mampu melakukan pengukuran supernatant pada spektrofotometer sesuai panjang gelombang tertentu dan menggunakan blanko yang sesuai.	10
12	Mampu melakukan perhitungan persentase hemolisis	10
13	Mampu melakukan pembuatan kurva fragilitas osmotik	10
14	Mampu melakukan interpretasi hasil dan melaporkan hasil.	10
15	Mampu menerapkan K3 sebelum, saat dan setelah pemeriksaan	5
Jumlah		100



RINGKASAN

Fragilitas osmotik (*osmotic Fragility*) atau resistensi osmotik merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk menentukan daya tahan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis yang dapat melisiskan eritrosit (hemolisis).

Cairan di luar eritrosit (plasma) dan cairan di dalam eritrosit memiliki tekanan serupa, sehingga menghasilkan tekanan osmotik yang sama kondisi ini dinamakan isotonik atau isoosmolar.

Persentase hemolisis dalam kondisi normal adalah :

97 – 100 %	hemolisis dalam NaCl 0,30 %
50 – 90 %	Hemolisis dalam NaCl 0 40 %
5 – 45 %	Hemolisis dalam NaCl 0,45 %
0 %	Hemolisis dalam NaCl 0,55 %

Faktor -faktor yang mempengaruhi hasil :

- 1) pH plasma, suhu, konsentrasi glukosa dan saturasi oksigen pada darah.
- 2) Usia eritrosit : Eritrosit yang berumur tua cenderung memiliki fragilitas osmotik tinggi.
- 2) Sampel darah yang diperiksa lebih dari 3 jam setelah pengambilan akan meningkat fragilitas osmotiknya



GLOSARIUM

Istilah	Keterangan
Hipotonis	Larutan yang konsentrasi zat terlarutnya lebih rendah daripada cairan di dalam sel.
Larutan saline	Larutan NaCl dengan tekanan isotonis (tekanan NaCl sama dengan tekanan cairan di dalam sel).



DAFTAR PUSTAKA

- Dacie, SJV and Lewis, SM (1994). *Practical Haematology*, 8th Ed, ELBS.
- Nugraha, Gilang. 2017. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Edisi 2. Jakarta: Trans Info Media.
- Nurhayati,B., Astuti,D., Maharani,EA., Nugraha,G., Gunawan, LS. dan Ujiani, S. Cetakan pertama 2021. Edisi 2022. Kemenkes RI., PPSDMKes., BPPSDMKes.
- Kee, J. L. 2007. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. Jakarta: EGC.
- Nayak, R., Rai, S. and Gupta, A. (2011) *Essentials in Hematology and Clinical Pathology*. doi:10.1108/17506141211259140.

BAB XVII

PENENTUAN JENIS-JENIS ANEMIA



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami tentang jenis-jenis anemia
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan yang secara umum digunakan untuk diagnosa anemia
3. Mahasiswa mampu memberikan interpretasi hasil berkaitan dengan anemia
4. Mahasiswa mampu melakukan konfirmasi menggunakan sediaan apus darah tepi



PENDAHULUAN

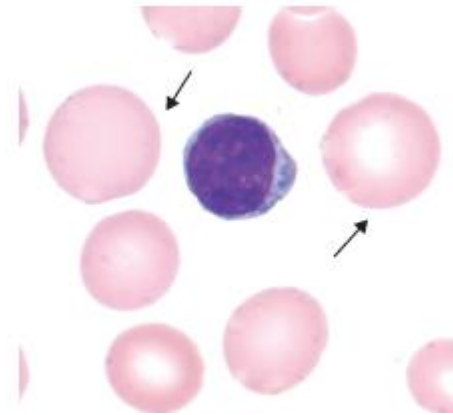
Jenis-jenis Anemia

Anemia didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi penurunan konsentrasi hemoglobin dalam darah yang dapat disebabkan oleh penurunan jumlah sel darah merah (*red blood cell*), hemoglobin, dan hematokrit di bawah nilai rujukan untuk individu sehat pada usia, jenis kelamin, dan ras yang sama dalam kondisi lingkungan yang serupa. Anemia secara garis besar dikelompokkan menjadi 2 (dua) yaitu anemia berdasarkan morfologi eritrosit dan anemia berdasarkan etiologi (penyebab). Anemia berdasarkan morfologi menurut Williams (2009) dan Bain et al. (2017) terdiri dari :

1) Anemia makrositik

Anemia makrositik adalah kondisi dimana konsentrasi hemoglobin di bawah nilai normal, ukuran eritrosit lebih besar dari normal dan nilai indeks eritrosit lebih besar dari nilai normal (MCV >100 fL, MCH >31 pg, MCHC > 32%). Makrositik biasanya ditemukan pada anemia megaloblastik yang terjadi akibat defisiensi vitamin B12 atau asam folat, sedangkan anemia non-megaloblastik diakibatkan defek dari maturasi eritrosit. Anemia non-megaloblastik yang berhubungan dengan peningkatan perubahan laju eritropoiesis terjadi pada anemia hemolitik dan anemia *posthemorrhagic*,

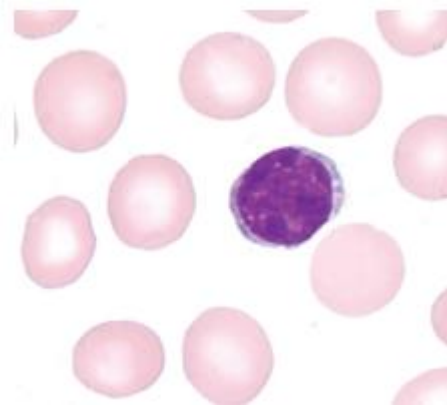
sedangkan penyakit-penyakit lain yang menunjukkan anemia makrositik adalah alkoholik, penyakit hati, penyakit ginjal, anemia aplastik, sindrom mielodisplastik, anemia sideroblastik, hipotiroidism, retikulositosis, dan inflamasi.



Gambar 17.1 Makrositik (MCV > 100 fL) (Rodak & Carr, 2012)

2) Anemia normositik normokromik

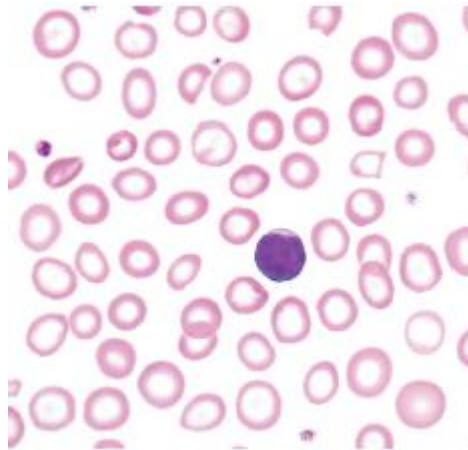
Anemia normositik normokromik sering terjadi akibat penyakit kronis atau penyakit non hematologis, kehilangan darah akut, atau penyakit ginjal. Penegakkan diagnosa anemia ini harus mencakup skrining terhadap insufisiensi ginjal, infeksi subklinis, penyakit autoimun dan neoplasia. Adanya anemia tanpa disertai polikromasia, maka pemeriksaan harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan retikulosit. Peningkatan jumlah retikulosit dapat terlihat pada anemia hemolitik intrinsik dan ekstrinsik. Anemia hemolitik instrinsik diakibatkan oleh defek membran eritrosit, hemoglobinopati, dan defisiensi enzim. Anemia hemolitik ekstrinsik terjadi akibat reaksi imun atau cedera non-imun oleh agen infeksi, obat-obatan, bahan kimia, racun atau luka bakar sedang.



Gambar 17.2 Normositik normokromik (MCV 80-100 fL dan MCHC 32-36 g/dL atau 32%-36%) (Sumber Rodak & Carr, 2012)

3) Anemia mikrositik hipokromik

Mikrositik biasanya merupakan hasil defek pada hemoglobin. Mikrositosis adalah karakteristik anemia defisiensi besi, talasemia, anemia sideroblastik, keracunan timbal, hemoglobinopati dan kasus berat pada anemia penyakit kronik. Sel mikrositik biasanya disertai dengan penurunan hemoglobin sehingga membuat warna eritrosit pudar dan umumnya disebut anemia mikrositik hipokromik. Sel mikrositik menunjukkan nilai MCV <80 fL. Mikrositosis yang berhubungan dengan defek sintesis hemoglobin harus dapat dibedakan dari fragmentasi eritrosit atau skistosis, karena kedua abnormalitas ini dapat memicu penurunan nilai MCV. Akan tetapi, MCV yang rendah biasanya berhubungan dengan defek sintesis hemoglobin, sedangkan fragmentasi jarang terjadi karena fragmentasi hanya terjadi pada sebagian kecil eritrosit.



Gambar 17.3 Mikrositik hipokromik (MCV > 80 fL dan MCHC 32-36 g/dL atau 32%-36%) (Rodak & Carr, 2012)

Anemia berdasarkan etiologi (penyebab) diklasifikasikan ke dalam 3 (tiga) kategori besar yaitu :

1. Produksi eritrosit terganggu, yang terjadi pada defisiensi zat besi, defisiensi vitamin B12, defisiensi asam folat, sindrom mielodisplastik, leukemia akut, racun, obat-obatan, kanker metastatik, infeksi, fibrosis, anemia penyakit kronik, anemia aplastik, dan *bone marrow replacement anemia*.
2. Destruksi/penghancuran eritrosit yang berlebihan atau penurunan masa hidup eritrosit. Keadaan ini ditemukan pada anemia hemolitik hereditas, defisiensi enzim eritrosit, antibodi anti eritrosit dan trauma mekanis pada eritrosit yang bersirkulasi.
3. Kehilangan darah yang berlebihan secara spontan (Rodak & Carr, 2012; Turgeon, 2018; Turgeon, 2018).

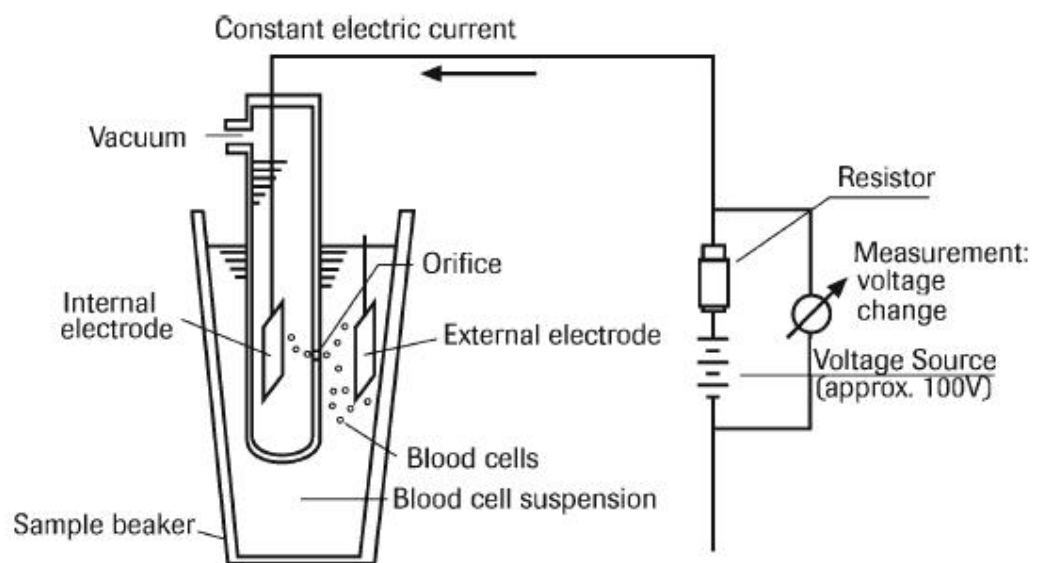
Pemeriksaan Hematologi untuk Menentukan Anemia

Pemeriksaan hematologi yang umum dilakukan untuk mendiagnosis anemia adalah hemoglobin, hematokrit, eritrosit dan indeks eritrosit yang dapat dianalisis menggunakan instrumen otomatis atau semi-otomatis seperti *Complete Blood Count (CBC) Analyzer* atau *Hematology Analyzer (HA)*, serta penilaian morfologi eritrosit pada sedimen apus darah tepi sebagai konfirmasi. Saat ini banyak instrumen CBC atau HA yang disediakan oleh produsen dengan tingkat kemajuan dan kompleksitas yang bervariasi. Akan tetapi secara garis besar terdapat 2 (dua) prinsip dasar dalam pengoperasiannya yaitu impedansi listrik (resistansi) dan *optical scatter* (hamburan sinar optik). Impedansi listrik atau resistansi arus searah (*direct current*; DC) bertegangan rendah merupakan metodologi yang paling umum digunakan. Resistansi arus radiofrekuensi (RF), atau arus bolak-balik, adalah modifikasi yang kadang-kadang digunakan bersamaan dengan impedansi listrik DC. Hamburan cahaya optik dapat menggunakan sinar laser maupun sinar non-laser dan ini merupakan instrumen yang sering digunakan dalam bidang hematologi saat ini (Wick et al., 2011 dan Bain et al., 2017).

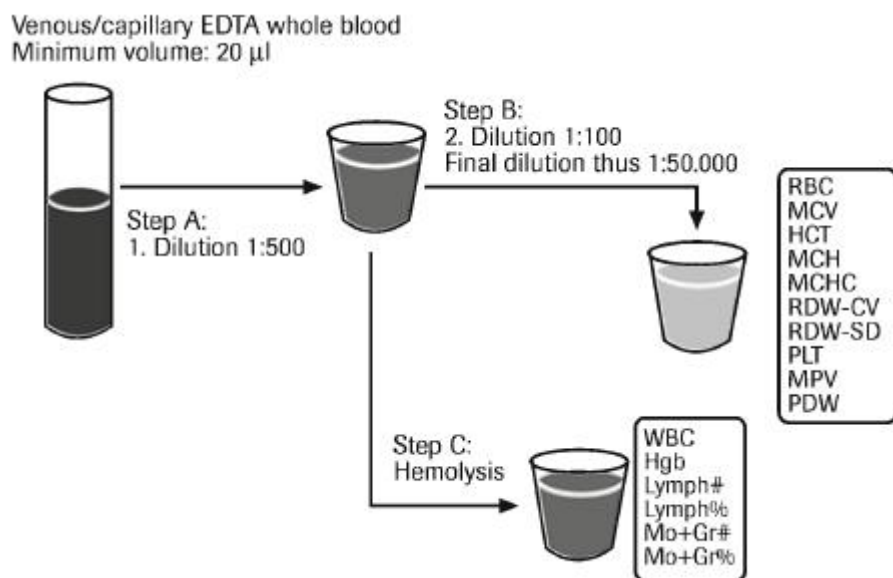
Penghitungan dengan prinsip impedansi berawal pada eritrosit sebagai konduktor listrik yang buruk, sedangkan beberapa diluent adalah konduktor yang baik. Perbedaan ini membentuk dasar sistem penghitungan yang digunakan dalam instrumen *Beckman Coulter*, *Sysmex*, *Abbott*, *Horiba Medical*, dan sejumlah instrumen lainnya. Cara kerja impedansi listrik yaitu darah diencerkan dalam larutan elektrolit (buffer). Laju aliran spesimen yang telah diencerkan ini dikendalikan oleh *mercury siphon* (seperti pada instrumen *Coulter*). Hal ini menghasilkan sejumlah volume terukur dari spesimen yang selanjutnya akan melewati suatu tabung apertur dengan dimensi tertentu (misalnya, dimensi : 100 mm dan panjang : 70 mm). Adanya sumber listrik konstan dimana arus searah (DC) dipertahankan pada dua elektroda, satu di dalam wadah spesimen atau ruang sekitar tabung apertur dan yang lainnya di dalam tabung apertur itu sendiri. Ketika sel-sel darah melewati apertur, sel-sel ini menggeser sebagian dari cairan penghantar dan meningkatkan resistansi listrik. Hal ini menghasilkan perubahan potensial listrik antar dua elektroda. Tingginya pulsa listrik yang dihasilkan dari perubahan tersebut menunjukkan volume sel yang melewati apertur. Pulsa-pulsa ini dapat ditampilkan pada layar osiloskop. Pulsa-pulsa tersebut kemudian diteruskan ke sirkuit *threshold* yang dilengkapi dengan diskriminator amplitudo yang dapat memilih tinggi pulsa minimal yang akan dihitung. Tinggi pulsa tersebut digunakan untuk menentukan volume sel-sel darah termasuk eritrosit (Bain et al., 2017).

Prinsip pengukuran untuk penghitungan partikel oleh instrumen *Hematology Analyzer*

diilustrasikan pada **Gambar 4** yang memungkinkan penghitungan sel eritrosit, leukosit, dan trombosit. Dikarenakan konsentrasi yang berbeda di dalam darah, maka sel-sel ini harus dihitung dalam dua pengenceran (dilusi) berbeda (**Gambar 5**). Pada dilusi pertama, leukosit dihitung setelah eritrosit telah dipecah oleh agen pelisis. Pada dilusi kedua, eritrosit dan trombosit dapat dihitung dikarenakan ukuran dari kedua sel ini berbeda, sehingga eritrosit dan trombosit dapat dibedakan satu sama lain oleh ambang pulsa listrik yang dikenal sebagai **diskriminator** (Wick et al., 2011).



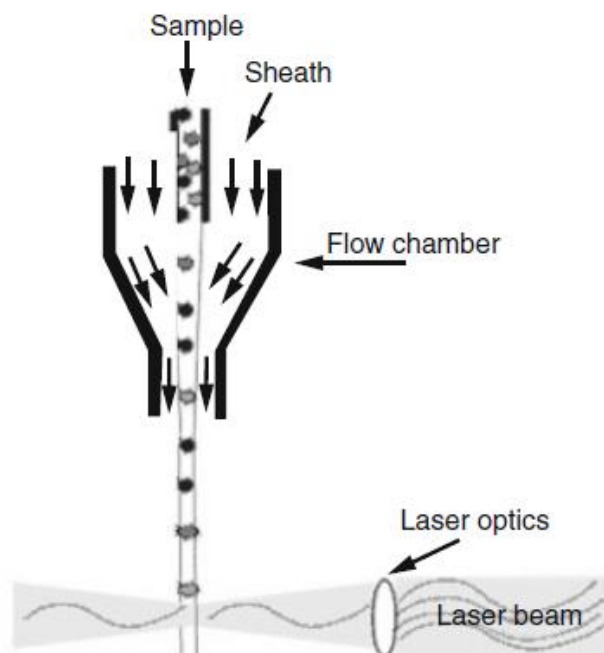
Gambar 17.4 Diagram skematis instrumen *Hematology Analyzer* dengan prinsip impedansi listrik (Wick et al., 2011)

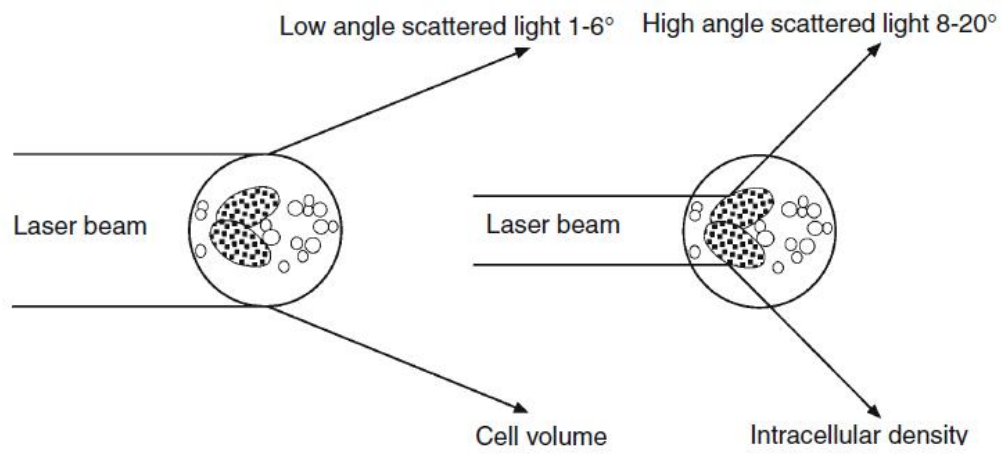


Gambar 17.5 Persiapan spesimen untuk instrumen semi otomatis

(panel hitung darah) (Wick et al., 2011)

Eritrosit dan sel darah lainnya dapat dihitung menggunakan detektor elektro-optik yang menjadi dasar prinsip hamburan cahaya optik. Suspensi sel yang telah diencerkan mengalir melalui sebuah celah apertur sehingga sel-sel bergerak satu per satu tepat di depan sumber cahaya. Cahaya yang terlewati oleh sel-sel tadi akan tersebar dan cahaya yang tersebar ini kemudian dideteksi oleh sebuah fotomultiplier atau fotodiode, yang mengubahnya menjadi impuls listrik lalu diakumulasikan dan dihitung. Jumlah cahaya yang tersebar sebanding dengan luas permukaan dan terhitung sebagai volume sel sehingga tinggi pulsa listrik dapat digunakan untuk memperkirakan volume sel. Sinar laser koheren berintensitas tinggi yang digunakan dalam instrumen saat ini memiliki kualitas optik yang lebih unggul dibandingkan dengan cahaya tungsten non-koheren dari instrumen-instrumen sebelumnya. Aliran yang terbungkus memungkinkan sel-sel mengalir dalam arus aksial dengan diameter tidak jauh lebih besar dari sel-sel darah dimana cahaya dapat difokuskan secara tepat pada aliran sel ini (Wick et al., 2011 dan Bain et al., 2017). Prinsip pengukuran volume sel dan densitas intrasel dengan prinsip *flow cytometry* dapat dilihat pada **Gambar 6**. Detektor elektro-optik digunakan untuk pengukuran dan penghitungan eritrosit dalam sistem *Siemens* (sebelumnya *Bayer-Technicon*) dan untuk penghitungan *differential count* dalam sejumlah instrumen lainnya (Bain et al., 2017).





Gambar 17.6 Prinsip hamburan cahaya optik atau *flow cytometry*
 (Sumber Wick et al., 2011)



PRAKTIKUM

E. Pra analitik

6. Tujuan Pemeriksaan :

- a) Dapat melakukan pemeriksaan menggunakan alat otomatis atau semi-otomatis untuk *complete blood count* dan dapat memberikan interpretasi hasil terutama yang berhubungan dengan kemungkinan adanya anemia; dan
- b) Dapat melakukan konfirmasi menggunakan sediaan apus darah tepi dan melakukan penilaian sederhana terhadap gambaran morfologi eritrosit pada sediaan apus darah tepi.

7. Metode

- a) Otomatis atau semi-otomatis menggunakan instrumen *Hematology Analyzer*
- b) Mikroskopis

8. Prinsip

Impedansi Listrik (Sysmex XP-300)

Darah EDTA diencerkan bersama larutan elektrolit sesuai volume yang telah ditentukan, lalu campuran ini ditempatkan dalam ruang transduser yang terhubung dengan larutan elektrolit tambahan melalui lubang kecil (50–100 μm). Arus listrik konstan dipasang pada dua elektroda di kedua sisi lubang. Suspensi sel ditarik melalui lubang pengukuran dengan menggunakan metode vakum. Ketika sebuah sel melewati lubang, sel-sel itu akan berperan sebagai penghantar non-konduktor sehingga menyebabkan resistansi meningkat. Pulsa-pulsa tersebut kemudian diteruskan ke sirkuit *threshold* yang dilengkapi dengan diskriminator amplitudo yang dapat memilih tinggi pulsa minimal yang akan dihitung. Tinggi pulsa tersebut digunakan untuk menentukan volume sel-sel darah (Wick et al., 2011).

Flow Cytometry (Sysmex XN-1000)

Prinsip-prinsip hamburan cahaya optik (*light scattering*), eksitasi cahaya, dan emisi cahaya dari molekul fluorokrom untuk menghasilkan data multi-parameter spesifik dari partikel (misalnya, inti sel) dan sel yang terkandung di dalam darah serta cairan tubuh lainnya yang diterapkan dalam *flow cytometry*. Spesimen disuntikkan ke pusat aliran pembungkus. Sel atau partikel difokuskan secara hidrodinamik sebelum menyusuri sinar laser yang diarahkan secara optimal. Aliran yang digabungkan

tersebut kemudian dikurangi diameternya, sehingga memaksa sel masuk ke tengah aliran. Dengan demikian, sinar laser akan terhalangi oleh satu sel pada satu waktu. Setiap partikel atau sel yang mengalir melalui sinar laser akan menyebarkan cahaya dengan cara tertentu dan bahan kimia fluoresen yang terdapat dalam partikel atau yang melekat pada partikel tersebut terangsang untuk mengeluarkan cahaya pada frekuensi yang lebih rendah daripada sumber cahaya. Kombinasi antara cahaya yang tersebar dan fluoresen selanjutnya ditangkap oleh detektor dan dengan menganalisis fluktuasi kecerahan di setiap detektor (satu untuk setiap puncak emisi fluoresen) maka kemudian dimungkinkan untuk mendapatkan berbagai jenis informasi tentang struktur fisik dan kimia dari setiap sel atau partikel masing-masing (Wick et al., 2011).

Mikroskopis

Sediaan apus darah tepi (SADT) atau apusan darah tepi (ADT) merupakan pemeriksaan hematologi yang dilakukan secara mikroskopis untuk mengamati morfologi sel darah dan bisa digunakan sebagai petunjuk pada berbagai kondisi medis, salah satunya kelainan eritrosit. SADT yang sudah diwarnai dengan Giemsa/Wright diperiksa menggunakan mikroskop, lalu dilakukan pengamatan pada morfologi eritrosit untuk mengonfirmasi kebenaran hasil pada *Hematology Analyzer* (Rodak & Carr, 2012).

9. Jenis dan kriteria spesimen/syarat spesimen: spesimen darah vena K₂EDTA atau K₃EDTA yang tidak mengandung bekuan dan tidak hemolisis.
10. Alat dan bahan :
 - a) Alat semi-otomatis *Hematology Analyzer* Sysmex XP-300
 - b) Mikroskop
 - c) Kaca objek
 - d) Kaca penggeser
 - e) Pipet tetes atau pipet *Pasteur*
 - f) Tabung vakum tutup ungu (berisi antikoagulan K₂EDTA atau K₃EDTA)
 - g) Rak pengecatan
 - h) Giemsa stok
 - i) Buffer phosphate pH 7,2
 - j) Metanol
 - k) Kit reagen alat semi-otomatis *complete blood count* (Sysmex XP-300)
 - l) Bahan kontrol *high*, *normal*, dan *low*
 - m) Minyak imersi

- n) Spesimen darah vena K₂EDTA atau K₃EDTA

F. Analitik

7. Prosedur kerja

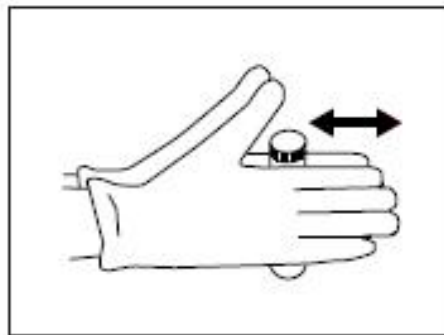
4) Semi-otomatis *Hematology Analyzer Sysmex XP-300*

1) Menyalakan alat

- a) Tekan tombol power “ON” pada bagian belakang alat.
- b) Setelah tombol power “ON” ditekan, logo Sysmex akan muncul dan operasi *startup* akan dilakukan. Kemudian layar utama akan muncul. Operasi “Analysis” dilakukan pada layar utama. Ketika tombol [Menu] pada layar utama ditekan, layar “Menu” akan muncul.
- c) Menu untuk memilih fungsi yang diperlukan akan tampil pada layar “Menu”.

2) Persiapan dan Pengukuran Bahan Kontrol

- a) Keluarkan vial bahan kontrol dari lemari es dan biarkan mencapai suhu ruangan (18-30°C) selama 15 menit sebelum digunakan.
- b) Letakkan vial di antara telapak tangan dan gulung ke depan dan belakang sebanyak 10 kali (lihat ilustrasi).

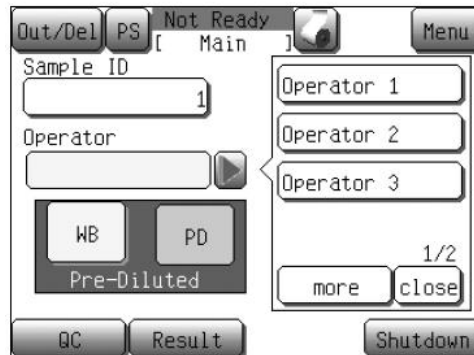


- c) Bolak-balik vial dan putar sebanyak 10 kali lagi.
- d) Ulangi langkah (2) dan (3) sebanyak 8 kali atau selama total 2 menit. Periksa bagian bawah vial dan pastikan pencampuran yang menyeluruh dengan memastikan tidak ada pelet/endapan sel yang menempel di bagian bawah vial sebelum melakukan analisis. Jika masih ada pelet/endapan sel, ulangi langkah (3).
- e) Analisis spesimen darah kontrol dengan cara yang sama seperti spesimen darah utuh pasien, sesuai dengan prosedur yang sudah ditentukan.

- f) Lap bagian ulir tutup dan vial dengan tisu bersih bebas serat sebelum menutup kembali tutup vial. Tutup vial dengan rapat.
- g) Simpan pada suhu 2-8°C dalam posisi tegak. Bahan kontrol tahan hingga 7 hari setelah dibuka.

3) Analisis Spesimen

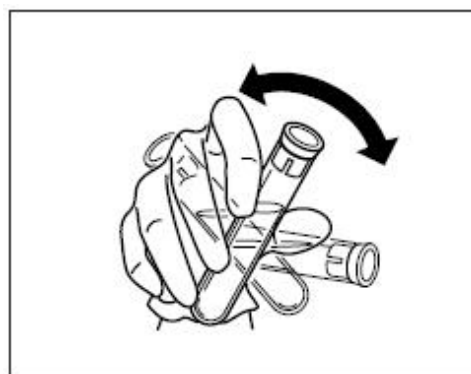
- a) Setelah tombol power “ON” ditekan, maka layar LCD akan menyala. Versi program akan ditampilkan secara singkat.
- b) Setelah proses “*self-check*”, “*auto rinse*”, dan “*background check*” selesai, layar utama akan muncul.
- c) Pada layar utama akan menampilkan dua mode yaitu mode WB (*whole blood*) dan PD (*pre-diluted*). Instrumen akan otomatis berada dalam mode *whole blood* segera setelah power “ON” utama dihidupkan karena mode *default* adalah mode *whole blood*. Untuk beralih ke mode analisis yang berbeda, ikuti langkah-langkah berikut:
 - Pastikan tampilan status menunjukkan “*Ready*”.
 - Tekan tombol [WB].
- d) Tekan “*Sample ID*” untuk memasukkan identitas spesimen yang akan dianalisis. *Sample ID* spesimen dapat dimasukkan dengan 2 (dua) metode berikut:
 - Memasukkan melalui dialog tombol numerik, atau
 - Memasukkan melalui pemindai *barcode* portabel
- e) Tekan tombol (➡) yang terletak di sebelah kanan kolom tampilan [Operator] pada layar utama. Dialog pemilihan “operator ID” akan muncul. Isi menggunakan nama dengan huruf alfabet atau numerik.



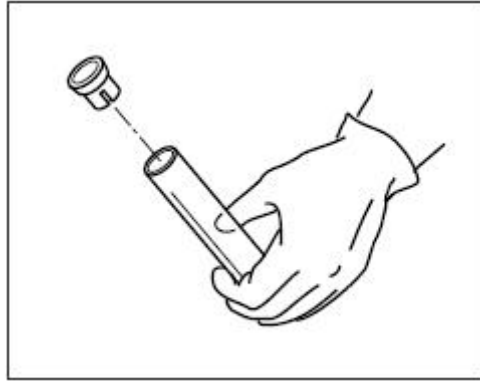
- f) Pastikan tulisan [Ready] tampil pada indikator status instrumen bagian atas area *display* dan mode analisis diatur ke mode *whole blood*.



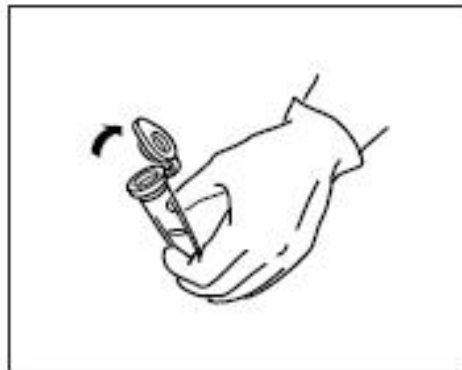
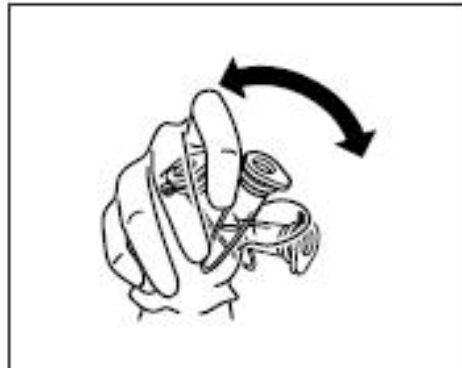
- g) Homogenkan spesimen dengan baik dengan cara membolak-balik tabung spesimen seperti berikut :



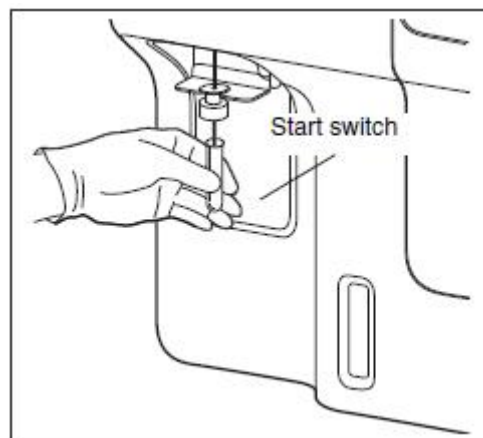
- h) Lepas penutup tabung spesimen dengan hati-hati.



- i) Apabila menggunakan mode PD (*pre-diluted*), maka sebelum spesimen dianalisis, spesimen terlebih dahulu harus diencerkan dengan cara :
- Bersihkan wadah seperti labu Erlenmeyer, gelas ukur, atau lainnya dengan menggunakan CELLPACK dan hilangkan segala kotoran.
 - Dengan menggunakan spuit atau pipet, ambil CELLPACK ke dalam wadah yang telah dibersihkan tadi.
 - Gunakan mikropipet (500 μL) untuk memipet 500 μL CELLPACK, lalu tuangkan ke dalam tabung mikro.
 - Pipet 20 μL spesimen darah, lalu tuangkan ke dalam tabung mikro.
 - Pasang penutup tabung dan homogenkan hingga merata.
- Untuk proses pengoperasian :
- Pastikan bahwa tulisan [*Ready*] tampil pada indikator status instrumen bagian atas area *display* dan mode analisis diatur ke mode PD.
 - Homogenkan spesimen dengan baik dengan membolak-balik tabung mikro.
 - Lepaskan penutupnya sambil berhati-hati agar tidak ada percikan darah.

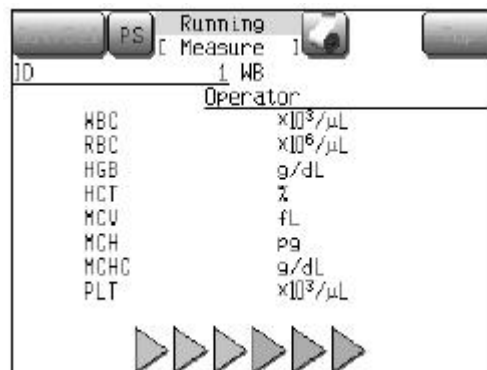


- j) Letakkan tabung spesimen ke *sample probe*, lalu tekan *start switch* berwarna hijau pada bagian belakang *sample probe*.

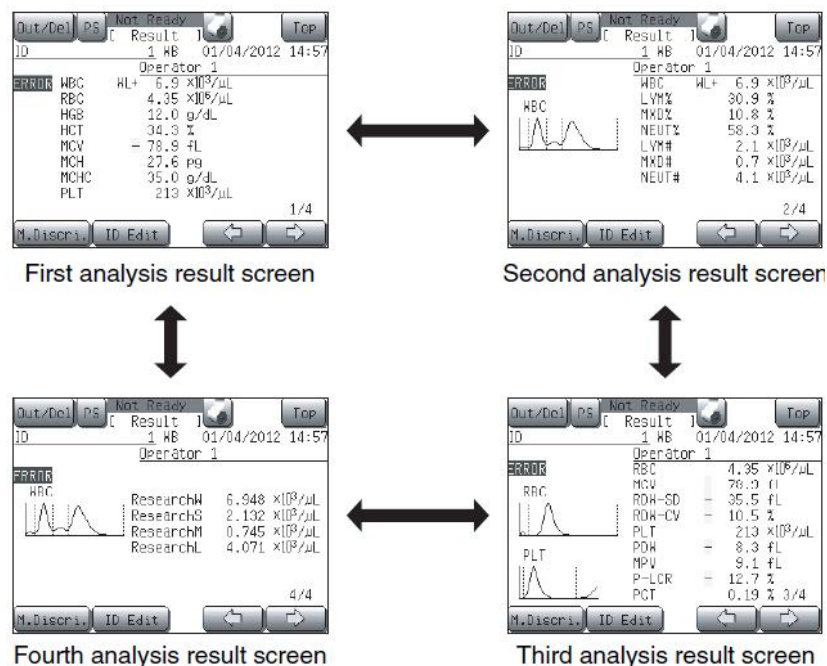


- k) Selanjutnya proses analisis spesimen otomatis dimulai, tampilan status menunjukkan [*Aspirating*]. Apabila terdengar bunyi “*Beep*” sebanyak

dua kali, maka tabung dapat dilepas dari *sample probe*. Ketika pengaspirasian spesimen selesai, tampilan status [*Aspirating*] akan berubah menjadi [*Running*].



- 1) Hasil analisis untuk semua parameter hematologi ditampilkan sekitar 60 detik setelah proses analisis dimulai.



- 4) Mematikan Instrumen
 - a) Klik *Shutdown*.
 - b) Masukkan *Cellclean* melalui *sample probe* dan tekan *start switch*.
 - c) Setelah semua proses selesai tekan tombol power “OFF”.

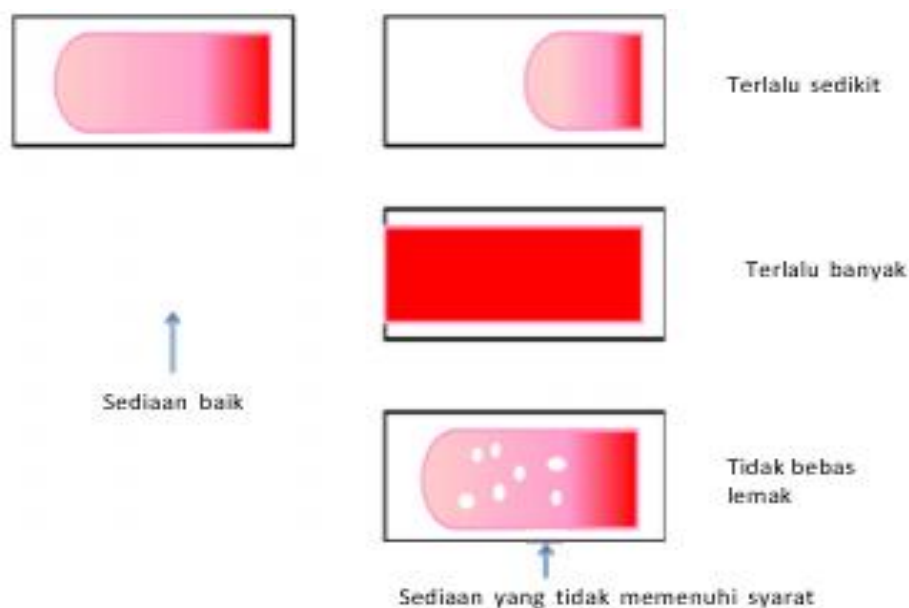
(Sysmex Corporation, 2017)

5) Sediaan Apus Darah Tepi

Pembuatan dan pewarnaan sediaan apus darah tepi menurut Rodak & Carr (2012) dan Bain et al. (2017)

1) Pembuatan Sediaan Apus Darah Tepi (SADT)

- Meneteskan darah sekitar 2-3 cm dari ujung kanan kaca objek.
- Menyiapkan *spreader* atau kaca objek lain yang ujungnya rata, kemudian letakkan di depan darah dan sentuhkan pada darah.
- Mendorong kaca objek pengapus secara perlahan menggunakan sudut sekitar 30°-45° dengan panjang 3-4 cm. Darah harus habis sebelum kaca pengapus mencapai ujung.
- Mengeringkan hasil apusan yang cukup tipis pada suhu kamar atau segera dikeringkan dengan hair dryer. Identitas ditulis pasien pada bagian sediaan yang tebal.
- Sediaan apus yang baik mempunyai ciri - ciri sebagai berikut ini :
 - Berbentuk seperti lidah kucing.
 - Sediaan tidak melebar ke tepi kaca dengan panjang sekitar $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ panjang kaca.
 - Pinggir sediaan rata, tidak berlubang, tidak bergaris-garis dan tidak bergelombang.



2) Pewarnaan Giemsa

- Melakukan fiksasi pada sediaan apus darah yang sudah kering dengan mencelupkannya ke dalam larutan metanol absolut.
- Menunggu sampai larutan metanol menguap.
- Menggenangi sediaan apus darah tipis dengan larutan Giemsa yang sudah diencerkan dengan buffer pH 6,4.

- d) Menunggu selama 15 menit kemudian membilas dengan air mengalir perlahan saja,
- e) Mengeringkan sediaan apus darah secara vertikal pada rak pengeringan.

3) Pewarnaan Wright

- a) Meneteskan larutan Wright di atas sediaan apus darah selama 2 menit.
- b) Menambah larutan buffer pH 6,4 di atas sediaan dan biarkan selama $\pm$ 12 menit.
- c) Membilas sediaan dengan air mengalir didaerah pembacaan cukup keras
- d) Mengeringkan sediaan dalam posisi vertikal.

4) Pengamatan Mikroskopis

- a) Meletakkan sediaan apus darah yang telah diwarnai dengan Giemsa atau Wright di atas meja mikroskop.
- b) Melihat kualitas preparat yang baik dengan menggunakan lensa objektif 40x Pembacaan ini dilakukan pada zona morfologi V dan IV.
- c) Selanjutnya mengganti lensa objektif 100x dengan memberikan minyak imersi.
- d) Melakukan pengamatan pada morfologi eritrosit dengan cara zig-zag.
- e) Melakukan pencatatan dan interpretasi hasil.

8. Nilai Normal

Hasil Hematology Analyzer

- Hemoglobin

Laki-laki	: 13,0-17,0 g/dL
Perempuan	: 12,0-15,0 g/dL
- Eritrosit

Laki-laki	: 4,5-5,5 juta/ μ l
Perempuan	: 3,8-4,8 juta/ μ l
- Hematokrit

Laki-laki	: 40-50%
Perempuan	: 36-46%
- MCV : 83-101 fL

- MCH : 27-32 pg
- MCHC : 31,5-34,5 g/dL
- RDW CV : 11,6-14,0%

(Bain et al., 2017)

Hasil Penilaian Mikroskopis SADT

Gambaran eritrosit

Normal : sel berbentuk cakram bikonkaf tanpa inti sel dan berwarna kemerahan karena mengandung hemoglobin.

Abnormal : sel memiliki bentuk dan atau ukuran yang bervariasi

G. Post analitik

1. Pelaporan hasil

- a) Hasil *print out* yang keluar dari instrumen *Hematology Analyzer* ditulis kembali dengan jelas pada laporan praktikum sesuai dengan satuan masing-masing parameter seperti berikut :

Hemoglobin	: g/dL
Eritrosit	: juta/ μ L
Hematokrit	: %
MCV	: fL
MCH	: pg
MCHC	: g/dL

- b) Hasil mikroskopis dilaporkan dan ditulis dengan jelas sesuai gambaran eritrosit yang teramati.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

- Rasio antara darah dan antikoagulan tidak tepat. Rasio yang tepat antara darah dan antikoagulan EDTA adalah 1 mL darah : 1 mg EDTA.
- Hemolisis pada spesimen yang digunakan
- Adanya aglutinasi atau gumpalan pada spesimen selama proses pra analitik
- Homogenisasi kurang tepat. Homogenisasi yang benar harus dilakukan 8-10 kali dengan cara dibolak-balik secara perlahan
- Reagensia dan bahan kontrol yang sudah kadaluarsa. Bahan kontrol hematologi umumnya berupa liofilisat yang harus dipreparasi dengan penambahan aquadest.

Bahan kontrol ini memiliki masa yang pendek jika sudah diencerkan yaitu selama 2 minggu

- *Human error*
- Sumber kesalahan dalam pengukuran hemoglobin dapat berasal dari kondisi spesimen. Kadar hemoglobin dapat secara salah meningkat akibat lipemia (plasma keruh), jumlah leukosit yang sangat tinggi, atau eritrosit yang mengandung hemoglobin C atau hemoglobin S. Jika ditemui spesimen lipemik, encerkan plasma lipemik dengan volume yang sama dengan saline 0,85%, campur spesimen, dan uji ulang spesimen. Dalam kasus jumlah leukosit yang sangat tinggi, spesimen akan menghasilkan larutan hemoglobin yang keruh dan ini dapat disentrifugasi, sehingga dihasilkan supernatan yang jernih yang dapat ditransfer ke kuvet lalu dibaca pada spektrofotometer. Jika terjadi kesalahan akibat hemoglobin C atau S, spesimen darah dapat diencerkan 1:2 dengan air destilasi dengan hasil akhir dikalikan dengan 2.
- Pengukuran hematokrit dapat menghasilkan hasil yang terlalu rendah karena tabung vakum antikoagulan EDTA yang tidak terisi cukup sehingga menyebabkan penyusutan eritrosit.
- Faktor patologis seperti aglutinasi eritrosit pada penyakit aglutinin dingin atau paraproteinemia mengakibatkan MCV terlalu tinggi. Hiperglikemia berat (glukosa kurang dari 600 mg/dL) dapat menyebabkan pembengkakan osmotik eritrosit sehingga MCV menjadi terlalu tinggi. Leukositosis juga dapat meningkatkan nilai MCV.
- Pengukuran MCH dapat meningkat pada kondisi hiperlipidemia karena peningkatan kekeruhan pada plasma, sehingga akan secara keliru meningkatkan kadar hemoglobin. Sentrifugasi spesimen darah untuk menghilangkan kekeruhan diikuti dengan pengukuran hemoglobin secara manual memungkinkan koreksi nilai MCH ini.
- MCHC dipengaruhi oleh faktor-faktor yang memengaruhi pengukuran hematokrit seperti *plasma trapping* atau keberadaan eritrosit abnormal atau hemoglobin akibat hiperlipidemia atau leukositosis. Pada kasus aglutinasi akibat suhu ruangan karena penyakit aglutinin dingin, MCV akan terbaca tinggi dan eritrosit akan terbaca rendah. Kedua pengukuran yang tidak akurat ini akan mengakibatkan peningkatan MCHC. Untuk mengoreksi kesalahan ini, spesimen darah harus

dipanaskan hingga 37°C dan pengukuran harus diulang. Sumber kesalahan lain dalam menghitung MCHC termasuk peningkatan kadar hemoglobin melalui pengukuran fotometri akibat adanya lipemia. Hemolisis juga dapat mempengaruhi MCHC. Kecuali untuk sferositosis herediter dan beberapa kasus penyakit sel sabit homozigot atau hemoglobin C, nilai MCHC tidak akan melebihi 37 g/dL. Nilai ini mendekati nilai kelarutan untuk hemoglobin. Peningkatan lebih lanjut dalam Hb dapat menyebabkan kristalisasi (Bain et al., 2017; Turgeon, 2018; Rodak & Carr, 2012; Sysmex Corporation, 2017).

3. Jaminan mutu pemeriksaan

- Pengukuran 3 (tiga) bahan kontrol *CBC Analyzer* atau *Hematology Analyzer* yaitu *low*, *normal* dan *high* setiap hari sebelum pemeriksaan spesimen dilakukan, lalu hasil bahan kontrol dievaluasi berkala setiap bulan menggunakan aturan *Westgard Multirule*.
- Rutin melakukan kalibrasi dan perawatan sesuai aturan dari prosedusen alat.
- Petugas bekerja dengan profesional dan mengutamakan ketepatan atau keakuratan dalam proses pra analitik.
- Memahami prosedur *troubleshooting* jika ditemukan kesalahan pada hasil pemeriksaan.

H. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:

Langkah Kerja	:
Hasil	: Data pasien
	Nama :
	Umur :
	Jenis Kelamin :
<u>Hasil Hematology Analyzer</u>	
	Hemoglobin :
	Hematokrit :
	Eritrosit :
	MCV :
	MCH :
	MCHC :
<u>Hasil Penilaian Mikroskopis SADT</u>	
Tuliskan gambaran morfologi eritrosit yang ditemukan baik normal dan atau abnormal	
Kesimpulan	:



Pembimbing Yogyakarta, Praktikan 20...

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Lakukan preparasi spesimen untuk pemeriksaan menggunakan *CBC Analyzer* atau *Hematology Analyzer* dan lakukan pembuatan sediaan apus darah tepi.
2. Lakukan pemeriksaan spesimen menggunakan *CBC Analyzer* atau *Hematology Analyzer* dan interpretasikan hasil pemeriksaan didapatkan.
3. Lakukan pembuatan sediaan apus darah tepi dan amati morfologi eritrosit.

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang ATLM menerima spesimen darah dalam tabung vakum K₃EDTA untuk diperiksa menggunakan *Hematology Analyzer*. Saat hasil *Hematology Analyzer* keluar, ATLM tersebut menemukan hasil indeks eritrosit yang harus dikonfirmasi dengan sediaan apus darah tepi. Kesimpulan yang didapat ialah gambaran eritrosit hipokrom mikrositik. Apa yang mendasari ATLM mengambil kesimpulan tersebut?
 - a. Apusan darah terlihat pucat
 - b. Nilai MCV dan MCHC rendah
 - c. Indeks eritrosit nilainya normal
 - d. Ditemukan eritrosit berukuran besar
 - e. Efek antikoagulan yang digunakan tidak tepat
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah lengkap menggunakan *Hematology Analyzer*. Sesaat ingin mengisapkan spesimen ke *spesimen probe* alat, terlihat volume spesimen darah kurang dari 1 ml di dalam tabung vakum K₃EDTA berukuran 3 ml dan pemeriksaan lainnya juga belum dilakukan. Apa tindakan paling tepat yang harus dilakukan ATLM pada kasus tersebut?
 - a. Melaporkan kepada teman sejawat
 - b. Melanjutkan pengukuran spesimen
 - c. Meminta pengambilan ulang spesimen darah

- d. Mengganti pemeriksaan dengan metode manual
 - e. Memindahkan spesimen ke dalam tabung vakum lainnya
3. Seorang pasien pria berumur 42 tahun datang ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan darah lengkap dengan menggunakan *Hematology Analyzer*. Surat rujukan dari dokter menuliskan diagnosa pasien adalah suspek anemia. Setelah dilakukan pemeriksaan, diperoleh hasil sebagai berikut:

Hemoglobin : 8,0 g/dL

Hematokrit : 20 %

Eritrosit : $4,0 \times 10^6/\mu\text{L}$

Leukosit : $12,0 \times 10^3/\mu\text{L}$

Trombosit : $185 \times 10^3/\mu\text{L}$

Berapa nilai MCV pada spesimen darah tersebut?

- a. 50 fL
 - b. 10 fL
 - c. 20 fL
 - d. 40 fL
 - e. 25 fL
4. Seorang pasien pria berumur 42 tahun datang ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan darah lengkap dengan menggunakan *Hematology Analyzer*. Surat rujukan dari dokter menuliskan diagnosa pasien adalah suspek anemia. Setelah dilakukan pemeriksaan, diperoleh hasil sebagai berikut:

Hemoglobin : 8,0 g/dL

Hematokrit : 20 %

Eritrosit : $4,0 \times 10^6/\mu\text{L}$

Leukosit : $12,0 \times 10^3/\mu\text{L}$

Trombosit : $185 \times 10^3/\mu\text{L}$

Berapa nilai MCH pada spesimen darah tersebut?

- a. 50 pg
- b. 10 pg
- c. 20 pg
- d. 40 pg
- e. 25 pg

5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hemoglobin pada spesimen darah pasien perempuan berumur 52 tahun. Spesimen cukup lama didiamkan dan terlihat plasma lipemik. Apa tindakan tepat yang harus dilakukan ATLM terhadap kasus tersebut?
 - a. Mencatat hasil pemeriksaan
 - b. Melanjutkan pemeriksaan terhadap spesimen tersebut
 - c. Mengonfirmasi hasil dengan sediaan apus darah tepi
 - d. Melakukan pengenceran dengan saline 0,85% dan analisis ulang
 - e. Membuat supernatan dengan cara disentrifugasi lalu ukur kembali

Kunci Jawaban :

1. B
2. C
3. A
4. C
5. D

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

Unit Kompetensi yang Dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Skor Maksimal
1	Memberi identitas pada spesimen	10
2	Menghomogenkan spesimen dengan antikoagulan EDTA	5
3	Menyiapkan alat dan bahan	10
4	Preparasi spesimen untuk pemeriksaan menggunakan <i>CBC Analyzer</i> atau <i>Hematology Analyzer</i>	10
5	Pengukuran spesimen menggunakan <i>CBC Analyzer</i> atau <i>Hematology Analyzer</i>	10
6	Menuliskan hasil pemeriksaan dari <i>CBC Analyzer</i> atau <i>Hematology Analyzer</i>	5
7	Melakukan interpretasi hasil dari <i>CBC Analyzer</i> atau <i>Hematology Analyzer</i>	10
8	Melakukan pembuatan sediaan apus darah tepi dan pewarnaan sediaan apus darah tepi	15
9	Melakukan pengamatan morfologi eritrosit secara mikroskopis	10
10	Menuliskan hasil pemeriksaan mikroskopis dan	10

	interpretasi hasil	
11	Merapikan kembali alat yang telah digunakan, melakukan tindakan K3 dan melakukan pekerjaan secara teliti dan sistematis	5
Jumlah		100



RINGKASAN

Anemia secara garis besar dikelompokkan menjadi 2 (dua) yaitu anemia berdasarkan morfologi eritrosit yang terdiri dari anemia makrositik, anemia normositik normokromik dan anemia mikrositik hipokromik, dan anemia berdasarkan etiologi (penyebab) yang dikelompokkan dalam 3 (tiga) kategori yaitu produksi eritrosit terganggu, destruksi/penghancuran eritrosit yang berlebihan atau penurunan masa hidup eritrosit dan kehilangan darah yang berlebihan secara spontan. Dalam menentukan jenis-jenis anemia, parameter pemeriksaan laboratorium yang umum dilakukan terlebih dahulu adalah hemoglobin, hematokrit, eritrosit dan indeks eritrosit menggunakan instrumen *Complete Blood Count Analyzer* (CBC Analyzer) atau *Hematology Analyzer* (HA) dengan prinsip impedansi listrik atau hamburan cahaya optik (*flow cytometry*) dengan tingkat kemajuan dan kompleksitas yang bervariasi. Sediaan apus darah tepi hingga saat ini tetap menjadi andalan untuk menilai morfologi eritrosit atau apabila ditemukan hasil pemeriksaan CBC Analyzer atau HA yang mencurigakan, maka perlu dikonfirmasi menggunakan sediaan apus darah tepi.



DAFTAR PUSTAKA

- Bain, B. J., Bates, I., & Laffan, M. A. (2017). *Dacie and Lewis Practical Haematology*. In *Elsevier* (Twelfth). ELSEVIER.
- Rodak, B. F., & Carr, J. H. (2012). *Clinical Hematology Atlas* (Fourth). Elsevier Inc.
- Sysmex Corporation. (2017). *Intructions for Use : Automated Hematology Analyzer XP-300*. In *Sysmex Cooperation* (Issue November). Sysmex Cooperation. <http://www.philips.com/ms>
- Turgeon, M. L. (2018). *Clinical Hematology Theory and Practice* (6th ed.). Wolters Kluwer.
- Wick, M., Pinggera, W., & Lehmann, P. (2011). *Clinical Aspects and Laboratory Iron Metabolism, Anemias. Concepts in the anemias of malignancies and renal and rheumatoid disease* (6th ed.).
- Williams, L. (2009). *Wintrobe 's Clinical Hematology 12th Edition*. LWW.

BAB XVIII

INDEKS ERITROSIT



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan Indeks Eritrosit
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan Indeks Eritrosit
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan Indeks Eritrosit



PENDAHULUAN

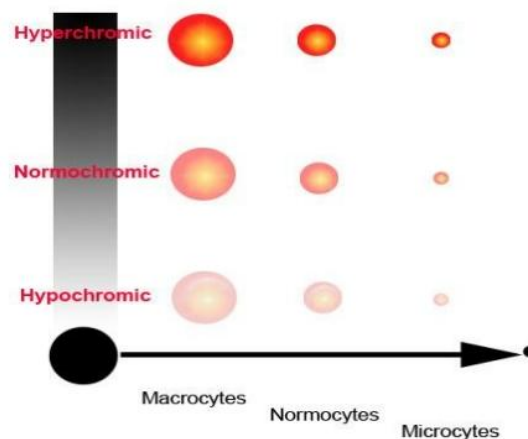
Indeks Eritrosit terdiri dari volume sel rata-rata ($MCV = \text{Mean Corpuscular Volume}$), hemoglobin sel rata-rata ($MCH = \text{Mean Corpuscular Hemoglobin}$), dan konsentrasi hemoglobin sel rata-rata ($MCHC = \text{Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration}$), pemeriksaan ini dihitung untuk menentukan rata-rata volume dan kandungan hemoglobin serta konsentrasi warna merah sel darah dalam sampel. Selain berfungsi sebagai pemeriksaan control kualitas, indeks eritrosit dapat digunakan untuk klasifikasi awal anemia. (Keohane et al., 2016).

1. MCV (*Mean Corpuscular Volume*)

MCV atau VER adalah volume Eritrosit rata-rata yang dinyatakan dalam femtoliter (fL), atau 10^{-15} L, dengan rumus perhitungan :

$$MCV = \frac{PCV (\%) \times 10}{\text{Jumlah Eritrosit (juta}/\mu\text{L})}$$

Nilai normal untuk MCV adalah 80 - 100 fL. sel darah merah dengan MCV kurang dari 80 fL bersifat mikrositik; mereka yang memiliki MCV lebih dari 100 fL bersifat makrositik (Keohane et al., 2016).



Gambar 18.1 Perbandingan Ukuran dan Warna Eritrosit
(Sumber : The McGill Physiology Virtual Laboratory, 2024)

Penurunan MCV terjadi pada pasien anemia mikrositik, defisiensi besi, artritis reumatoid, thalasemia, anamia sel sabit, hemoglobin C, keracunan timah dan radiasi. Peningkatan MCV terjadi pada pasien anemia aplastik, anemia hemolitik, anemia penyakit hati kronik, efek obat vitamin B12, anti convulsan dan anti metabolik (Gandasoebrata, 2013).

2. MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*)

MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*) atau HER (Hemoglobin Eritrosit Rata-rata) adalah jumlah hemoglobin per eritrosit yang dinyatakan dengan satuan pikogram (pg) atau 10^{-12} g. Indeks ini menentukan warna eritrosit, dengan rumus perhitungannya :

$$\text{MCH} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 10}{\text{Jumah Eritrosit (juta/}\mu\text{L)}}$$

Nilai Normal MCH adalah 26 - 32 pg, MCH ini umumnya tidak dipertimbangkan dalam klasifikasi anemia (Keohane et al., 2016).

3. MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

MCHC atau KHER (Konsentrasi Hemoglobin Eritrosit Rata-rata) adalah konsentrasi rata-rata hemoglobin di masing-masing sel darah merah individu. Satuan yang digunakan adalah gram per desiliter, dengan rumus perhitungan :

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 100}{\text{PCV(\%)}}$$

Warna sel darah merah normokromik berkisar antara 32-36 g/dL, hipokromik kurang dari 32 g/dL, dan hiperkromik lebih besar dari 36 g/dL. Sel darah merah hipokromik terjadi pada thalassemia, kekurangan zat besi, dan kondisi lain. Istilah hiperkromik adalah istilah sebuah sel yang tidak mengandung lebih dari 36 g/dL hemoglobin, namun bentuknya mungkin menjadi bulat, yang membuat sel tampak penuh. MCHC antara 36 dan 38 g/dL harus diperiksa untuk sferosit. MCHC yang lebih besar dari 38 g/dL harus diselidiki untuk mengetahui adanya kesalahan nilai hemoglobin. Penyebab lain untuk MCHC yang meningkat secara nyata dapat disebabkan oleh adanya aglutinin dingin. Menginkubasi spesimen pada suhu 37°C untuk 15 menit sebelum analisis biasanya menghasilkan hasil yang akurat. (Keohane et al., 2016).

Indeks MCHC mengukur konsentrasi HB rata-rata dalam eritrosit, Indeks ini dipengaruhi oleh ukuran eritrosit. Pada eritrosit yang berukuran kecil dengan molekul Hb yang normal, nilai MCHC bisa menjadi tinggi. Nilai MCHC menurun pada anemia defisiensi besi, anemia hipokromik mikrositik, thalassemia. Nilai MCHC meningkat pada sferositosis (Dosen TLM, 2019). Perhitungan Indeks Eritrosit, sebaiknya tetap dilakukan konfirmasi dengan sediaan apus darah tepi (SADT). Apabila morfologi eritrosit pada sediaan apus darah tepi tidak sesuai dengan nilai eritrosit rata-rata, perlu mengulangi pemeriksaan atau melakukan pemeriksaan ulang hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit (Gandasoebrata, 2013).

Red Cell Distribution Width (RDW):

RDW (*Red Cell Distribution Width*) atau *Lebar Distribusi Sel Merah* digunakan untuk mengevaluasi variasi ukuran antara sel darah merah, dan variasi ini disebut anisocytosis. Anisocytosis adalah istilah yang diberikan ketika RDW meningkat, dan variasi ukuran yang besar antara sel darah merah dapat dilihat pada apusan darah. RDW dapat ditingkatkan dalam beberapa situasi, seperti anemia defisiensi besi, Anemia megaloblastik, talasemia, penyakit hati. Nilai Normal RDW : 11.5-14.5%.

RDW Tinggi: Menunjukkan adanya variasi ukuran sel darah merah yang besar (anisositosis). Ini sering terlihat pada anemia defisiensi besi, anemia pernisiiosa, dan

anemia hemolitik. RDW Normal: Biasanya ditemukan pada anemia kronis atau kondisi di mana ukuran sel darah merah seragam.



PRAKTIKUM

A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

Menentukan nilai Indeks Eritrosit dalam darah melalui pemeriksaan haemoglobin, jumlah eritrosit dan hematokrit.

2. Metode

Pemeriksaan Hemoglobin (metode Sianmethemoglobin), Jumlah Eritrosit (metode Mikroskopis) dan Hematokrit (PCV) (metode Mikrohematokrit)

3. Prinsip dan cara Kerja pemeriksaan Manual (Keohane et al., 2016) :

a. Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin :

Dalam metode cyanmethemoglobin, darah diencerkan dalam suatu larutan basa Drabkin dari kalium ferricyanide, potasium sianida, natrium bikarbonat, dan surfaktan. Hemoglobin dioksidasi menjadi methemoglobin oleh potassium ferricyanide, $K_3Fe(CN)_6$. Kalium sianida (KCN) kemudian mengubah methemoglobin menjadi sianmethemoglobin. Absorbansi sianmethemoglobin pada 546 nm adalah berbanding lurus dengan konsentrasi hemoglobin. Sulfhemoglobin tidak diubah menjadi sianmethemoglobin; Tidak mungkin diukur dengan metode ini.

b. Jumlah Eritrosit Metode Mikroskopis

Dengan penambahan larutan isotonis, maka darah akan menjadi encer dan sel lain selain eritrosit akan lisis.

c. Hematokrit Metode Mikrohematokrit

Darah dimasukkan ke dalam pipa kapiler mikrohematokrit hingga $\frac{3}{4}$ volume pipa kapiler. Kemudian, darah disentrifuse dalam waktu dan kecepatan tertentu. Nilai hematokrit (Ht)/ *packed cell volume* (PCV) dibaca dari skala lapisan atas endapan sel eritrosit terhadap skala volume keseluruhan darah menggunakan mikrohematokrit reader, dan dilaporkan dengan persentase (%).

4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel

Darah vena dengan antikoagulan EDTA atau darah kapiler yang langsung. Sampel yang hemolisis dan terdapat bekuan tidak dapat digunakan dalam pemeriksaan ini.

5. Alat dan bahan

a. Hemoglobin

- 1) Spektrofotometer/Fotometer
- 2) Tabung reaksi
- 3) Mikropipet 20 μ l
- 4) Dispenser / Mikropipet 1000 μ l
- 5) Larutan Drabkin

$K_3Fe(CN)_6$ 200 mg, fungsi : mengubah hemoglobin menjadi methemoglobin

KCN 50 mg, fungsi : mengubah methemoglobin menjadi sianmethemoglobin (hemoglobin sianida, HiCN)

KH_2PO_4 1 mg, fungsi : sebagai buffer

Non ionic detergent, fungsi : mempercepat lisis eritrosit dan mengurangi kekeruhan HiCN yang terjadi

Akuades 1.000 ml

6) Larutan Sianmethemoglobin standar

b. Jumlah Eritrosit

- 1) Hemositometer
- 2) Mikropipet 10 μ l, 1000 μ l
- 3) Mikroskop
- 4) Tabung reaksi kecil (volume 5-10 ml)
- 5) Rak tabung reaksi
- 6) Kaps Alkoholi
- 7) Larutan Hayem :

Sodium Chloride 0,5 gr, Fungsi: Larutan Isotonis

Sodium Sulfate 2,5 gr, Fungsi: Buffer

Sublimat 0,25 gr, Fungsi: melisiskan sel selain eritrosit

Akuades 100 ml.

c. Hematokrit metode Mikrohematokrit

- 1) Pipa kapiler/tabung mikrohematokrit. Pipa ini mempunyai Panjang 75 ± 0.5 mm dan diameter 1.1 – 1.2 mm. Pipa kapiler dengan garis berwarna biru tidak mengandung antikoagulan dan digunakan untuk darah EDTA. Pipa kapiler dengan garis warna merah mengandung antikoagulan heparin, dan digunakan untuk darah kapiler.

- 2) Malam/*clay/creatoseal* untuk menutup ujung pipa kapiler
- 3) Sentrifuge mikrohematokrit
- 4) Alat pembaca Hematokrit, mikrohematokrit *reader (reading device)*

B. Analitik

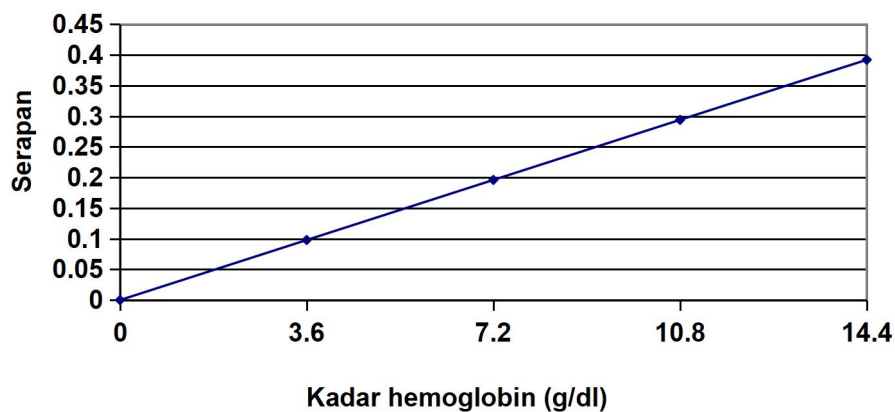
1. Prosedur kerja

a. Hemoglobin

- 1) Pembuatan Kurva standar Hemoglobin
 - a) Hitung kadar Hb dalam larutan standar yang akan digunakan sesuai dengan pengenceran kadar Hb dikalikan 251
 - b) Larutan standar HiCN yang dipilih dengan kadar 55 – 85 mg/dl, misalnya digunakan larutan standar HiCN 57,2 mg/dl, larutan ini sesuai dengan kadar Hb $5020/20 \times 57,2 \text{ mg/dl} = 14,4 \text{ gr/dl}$.
 - c) Buat pengenceran 0, 25%, 50%, 75% dan 100%. Dari larutan standar HiCN dengan larutan Drabkin.
 - d) Tiap pengenceran dibaca serapannya (A) pada panjang gelombang 546 nm dengan blanko larutan Drabkin.
 - e) Gambarkan titik-titik sebagai data yang diperoleh dengan kadar Hb pada absis dan nilai serapan larutan ordinat, setelah titik-titik dihubungkan akan diperoleh satu garis lurus.
 - f) Hitung faktor kurva ini dengan cara membagi seluruh kadar Hb larutan standar dengan seluruh nilai serapan dari larutan yang diperoleh :

Tabung No.	Pengenceran (%)	Kadar (gr/ml)	Lar. Standar (ml)	Lar. Drabkin (ml)	Serapan
1	0	0	-	2,0	0
2	25	3,6	0,5	1,5	0,098
3	50	7,2	1,0	1,0	0,196
4	75	10,8	1,5	0,5	0,294
5	100	14,4	2,0	-	0,392
Jumlah		3,6			0,980

Kurva standar Hb sianmethemoglobin



2) Penentuan Kadar Hemoglobin

- Masukkan larutan Drabkin ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing 5 ml.
- Pipet 20 μ l darah EDTA, masukan ke larutan Drabkin tabung reaksi no. 2
- Biarkan pada suhu kamar selama 10 menit untuk memberikan kesempatan darah membentuk sianmethemoglobin.
- Alat fotometer diset dulu dengan larutan Drabkin (tabung 1)
- Lalu tabung 2 dibaca pada panjang gelombang 546 nm.

b. Jumlah Eritrosit

1) Pengenceran dengan pipet Thoma eritrosit

- Darah diisap dengan pipet Thoma eritrosit sampai angka 1 (pengenceran 100 kali).
- Diisap larutan Hayem sampai angka 101
- Dikocok perlahan selama 3 menit.
- Dibuang tiga tetes pertama lalu masukkan ke dalam bilik hitung.
- Dibiarkan selama 3 menit pada suhu kamar.
- Diletakkan bilik hitung di bawah mikroskop. Hitung jumlah sel menggunakan lensa obyektif 10 x.
- Hitung dalam 5 kotak besar (80 kotak kecil/80 kotak III).

2) Pengenceran dalam tabung

- a) Pipet larutan Hayem sebanyak 2000 µl ke dalam tabung reaksi (lalu buang 10 µl) kemudian tambahkan 10 µl darah EDTA, campur sampai homogen.
- b) Dibiarkan selama 3 menit pada suhu kamar, kemudian isi bilik hitung
- c) Diletakkan bilik hitung di bawah mikroskop. Hitung jumlah sel menggunakan lensa obyektif 10 x.
- d) Dihitung jumlah sel pada 5 kotak II atau 80 kotak III.

$$\text{Koreksi volume kotak II} = 1/5 \times 1/5 \times 1/10 \text{ mm}^3$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume 5 kotak II} &= 5 \times (1/5 \times 1/5 \times 1/10) \\ &= 5 \times 1/250 \text{ mm}^3 = 1/50 \end{aligned}$$

$$\text{Koreksi volume kotak III} = 1/20 \times 1/20 \times 1/10 = 1/4000$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume 80 kotak III} &= 80 \times (1/20 \times 1/20 \times 1/10) \\ &= 80/4000 \text{ mm}^3 = 1/50 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah sel} = N \quad \text{Pengenceran} = 200 \times$$

c. Hematokrit metode Mikrohematokrit

- 1) Jika sampel yang digunakan adalah darah EDTA, tabung mikrokapiler yang digunakan adalah yang tidak dilapisi antikoagulan ditandai dengan garis warna biru. Volume darah yang diisi kurang lebih $\frac{3}{4}$ volume pipa kapiler. Jika yang digunakan adalah darah kapiler, tabung mikrokapiler yang digunakan adalah yang mengandung antikoagulan heparin yang ditandai dengan garis berwarna merah.
- 2) Masukkan darah ke dalam tabung mikrokapiler
- 3) Salah satu ujung masing-masing mikrokapiler ditutup dengan menggunakan malam/*clay/creatoseal*
- 4) Tempatkan pipa kapiler pada sentrifuge khusus mikrohematokrit. Pastikan mikrokapiler berada pada posisi yang sesuai yaitu bersebrangan, dan ujung yang tertutup malam/*clay/creatoseal* berada di sisi luar sentrifuge menghadap ke pusat sentrifuge.
- 5) Disentrifuge pada kecepatan 11.000 – 16.000 rps selama 5 menit.
- 6) Nilai mikrohematokrit dibaca dengan mikrohematokrit reader. Pada saat pembacaan, pastikan batas antara malam/*clay/creatoseal* dengan sel eritrosit

berada di skala 0 dan tinggi plasma bagian atas berada di skala 100, kemudian dibaca skala endapan eritrosit.

- 7) Hasil yang didapat dari kedua hematokrit harus memiliki selisih $\pm 2\%$. Jika tidak, lakukan pemeriksaan ulang.

C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

a. Hemoglobin

Kadar Hb dapat dibaca pada kurva standar atau dihitung dengan menggunakan faktor (F)

$$= 36/0,980 = 36,8 \quad \text{Kadar Hb} = A (\text{serapan}) \times F (\text{faktor})$$

b. Jumlah Eritrosit

Perhitungan :

Dalam 5 kotak II terdapat N sel artinya dalam $50/1 \text{ mm}^3$ terdapat N sel.

Jadi dalam 1 mm^3 terdapat $= N \times V \times P$

$$= N \times 50/1 \times 200$$

$$= N \times 10.000$$

c. Hematokrit metode Mikrohematokrit

Untuk pelaporan hasil, sebagai contoh, nilai hematokrit (a) 48%. Hal ini menunjukkan bahwa dari 100% volume atau bagian darah, 48% nya merupakan volume atau bagian sel eritrosit, sedangkan 52% nya merupakan volume atau bagian plasma. Kemudian nilai hematokrit (b) 42% yang artinya, 42% merupakan volume atau bagian sel eritrosit, sedangkan 58% nya merupakan bagian plasma

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

a. Hemoglobin

- 1) Jumlah WBC yang tinggi (lebih besar dari $20 \times 10^9/\text{L}$) atau jumlah platelet yang tinggi (lebih besar dari $700 \times 10^9/\text{L}$) dapat menyebabkan kekeruhan dan hasil yang sangat tinggi. Dalam hal ini, larutan sampel reagen dapat disentrifugasi dan supernatan diukur.
- 2) Lipemia juga dapat menyebabkan kekeruhan dan hasil yang salah, dapat dikoreksi dengan menambahkan $0,01 \mu\text{l}$ plasma pasien ke dalam 5 mL reagen siamethemoglobin dan gunakan ini larutan sebagai blanko reagen.
- 3) Sel yang mengandung Hb S dan Hb C mungkin resisten terhadap hemolisis sehingga menyebabkan kekeruhan; ini dapat diperbaiki dengan

membuat pengenceran 1:2 dengan air suling (1 bagian sampel yang diencerkan ditambah 1 bagian air) dan mengalikan hasil dari kurva standar dengan 2.

- 4) Globulin yang tidak normal, seperti yang ditemukan pada pasien penderita myeloma sel plasma atau makroglobulinemia Waldenström, dapat mengendap di dalam reagen. Jika ini terjadi, tambahkan 0,1 g kalium karbonat ke pereaksi siamethemoglobin.
- 5) Karena reagen hemoglobin mengandung sianida, maka demikian sangat beracun dan harus digunakan dengan hati-hati larutan sampel reagen tidak boleh dibuang ke bak cuci.

b. Jumlah Eritrosit

- 1) Pencampuran darah dan pengencer yang tidak homogen
- 2) Sebaran eritrosit yang tidak merata dalam bilik hitung
- 3) Kotoran di dalam pipet, hemacytometer, atau cairan pengencer mungkin menyebabkan penghitungan menjadi tidak akurat.

c. Hematokrit

- 1) Darah tidak boleh mengandung bekuan darah dan tidak boleh hemolisis.
- 2) Penggunaan antikoagulan berlebihan mengakibatkan eritrosit mengerut sehingga nilai hematokrit akan lebih rendah dari sebenarnya.
- 3) Penutupan ujung pipa kapiler dengan malam yang tidak benar sehingga sampel darah dapat keluar selama proses sentrifugasi.
- 4) Kecepatan dan waktu sentrifugasi yang tidak sesuai sehingga darah tidak mengendap sempurna.
- 5) Pemakaian mikrohematokrit sentrifus dalam waktu yang lama mengakibatkan alat menjadi panas sehingga dapat mengakibatkan hemolisis.
- 6) Pembacaan skala nilai hematokrit yang tidak sesuai, dengan menyertakan lapisan *buffy coat* sebagai nilai hematokrit ataupun salah dalam melihat dan membaca skala.
- 7) Jumlah eritrosit juga memengaruhi nilai hematokrit, jika jumlah eritrosit mengalami peningkatan (polisitemia), nilai hematokrit akan meningkat. Sebaliknya jika jumlah eritrosit berkurang (anemia), nilai hematokrit akan menurun.

3. Jaminan mutu pemeriksaan

Pemeriksaan kadar haemoglobin, jumlah eritrosit dan Hematokrit harus dilakukan dua kali pemeriksaan (duplo) dengan tujuan koreksi teknik pengerjaan. Pada pemeriksaan hematokrit jika terjadi selisih lebih dari 2%, maka pemeriksaan harus diulang.

D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil	:
Kadar Hemoglobin	:

Nilai PCV /Hematokrit : Jumlah Eritrosit : Perhitungan : MCV : MCH : MCHC :	
Kesimpulan :	

.....,

Pembimbing

Praktikan

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi diatas, kerjakanlah latihan berikut ini :

1. Lakukan pemeriksaan kadar haemoglobin
2. Lakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
3. Lakukan pemeriksaan hematokrit metode mikrohematokrit

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang Ibu hamil dengan kehamilan trimester ketiga datang ke laboratorium klinik atas permintaan dokter untuk pemeriksaan indeks eritrosit. Gambaran klinis pasien menunjukkan gejala anemia. Hasil pemeriksaan nilai indeks eritrosit dihitung secara manual menggunakan hasil pemeriksaan laboratorium : hemoglobin 8 g/dl, hematokrit 25%, dan jumlah eritrosit 3.000.000/ μ l. Berapakah nilai *Mean Corpuscular Volume* (MCV) ibu hamil tersebut?
 - A. 10 fL
 - B. 12 fL
 - C. 37,5 fL
 - D. 26,7fL
 - E. 83 fL
2. Seorang ATLM sedang melakukan pemeriksaan darah lengkap pada pasien yang diduga anemia. Hasil pemeriksaan diantaranya didapatkan hemoglobin 9 g/dl, hematokrit 30%, dan jumlah eritrosit 3.500.000/ μ l. Kalkulasi nilai MCV, MCH, dan MCHC dilakukan secara manual karena *hematology analyzer* masih dalam perawatan.
Berapakah nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) pasien tersebut?
 - A. 10 pg
 - B. 25,7 pg
 - C. 11,7 pg
 - D. 38,9 pg

E. 85,7 pg

3. Seorang ATLM diminta melakukan perhitungan indeks eritrosit pada pasien yang didiagnosa menderita anemia defisiensi besi dan mendapatkan hasil sebagai berikut: MCV : 68 fl , MCH : 24 pikogram, MCHC : 29 % Apa gambaran khas yang terlihat dalam sediaan apus darah?
 - A. Normositik Normokrom
 - B. Makrositik Normokrom
 - C. Mikrositik Normokrom
 - D. Mikrositik Hipokhrom
 - E. Mikrositik Normokrom
4. Seorang ATLM diminta melakukan perhitungan indeks eritrosit pada pasien yang didiagnosa menderita anemia megaloblastik dan mendapatkan hasil sebagai berikut: MCV : 105 fl , MCH : 29 pikogram, MCHC : 29 % Apa gambaran khas yang terlihat dalam sediaan apus darah?
 - A. Normositik Normokrom
 - B. Makrositik Normokrom
 - C. Mikrositik Normokrom
 - D. Makrositik Hipokrom
 - E. Mikrositik Normokrom
5. Seorang ATLM sedang melakukan pemeriksaan laboratorium dari seorang pasien yang diduga anemia. Hasil pemeriksaan diantaranya adalah sebagai berikut: hemoglobin 10 g/dl, hematokrit 27%, dan jumlah eritrosit 3.500.000/ μ l. Kalkulasi nilai MCV, MCH, dan MCHC dilakukan secara manual. Berapakah nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) pasien tersebut?
 - A. 2,7%
 - B. 3,7%
 - C. 27%
 - D. 37%
 - E. 30,7%

Kunci Jawaban :

1. E
2. B
3. D
4. B
5. D

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

No	Unit kompetensi yang dinilai	Skor Maksimal
1	Mengetahui prinsip pemeriksaan haemoglobin, jumlah eritrosit, hematokrit	10
2	Mengetahui prosedur kerja pemeriksaan haemoglobin, jumlah eritrosit, hematokrit	10
3	Menyiapkan alat dan bahan	10
4	Menyiapkan spesimen darah	10
5	Melakukan pemeriksaan haemoglobin	10
6	Melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit	10
7	Melakukan pemeriksaan hematokrit	10
8	Menuliskan interpretasi hasil dan validasi hasil pemeriksaan.	10
9	Melakukan pekerjaan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP)	10
10	Membuang limbah dan merapikan meja kerja	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Indeks eritrosit adalah serangkaian pengukuran yang memberikan informasi tentang karakteristik dan kualitas sel darah merah dalam darah. Pemeriksaan ini sangat penting untuk mendiagnosis dan mengelola berbagai kondisi hematologi, terutama anemia. Berikut adalah uraian tentang masing-masing indeks eritrosit: 1) *Mean Corpuscular Volume* (MCV) mengukur volume rata-rata sel darah merah, 2) *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH): mengukur rata-rata jumlah hemoglobin dalam satu sel darah merah, 3) *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC): mengukur konsentrasi rata-rata hemoglobin dalam satu volume sel darah merah. Pemeriksaan indeks eritrosit biasanya dilakukan sebagai bagian dari tes darah lengkap (*Complete Blood Count* atau CBC). Hasil indeks eritrosit membantu dokter dalam:

- a. Mendiagnosis jenis anemia (misalnya, anemia defisiensi besi, anemia megaloblastik, atau anemia hemolitik).
- b. Menentukan penyebab anemia dan merencanakan pengobatan yang tepat.
- c. Memantau respon terhadap terapi, seperti suplementasi zat besi atau vitamin.
- d. Mengidentifikasi gangguan darah lainnya atau kondisi medis yang mempengaruhi produksi atau kualitas sel darah merah.



EVALUASI

- Gandasoebrata, R. 2013. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat.
- Nugraha, G. 2021. Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi dasar Edisi 2.
Jakarta : Trans Info Media
- The McGill Physiology Virtual Laboratory, (2024)
https://www.medicine.mcgill.ca/physio/vlab/bloodlab/mcv-mchc_n.htm
- Keohane, E.M, Smith L.J & Walenga J.M, (2016), Rodak's Hematology, Clinical Principles and Applications, Fifth Edition, Elsevier Saunders
- Dosen TLM, 2019, Hematologi, Jakarta : Penerbit EGC

BAB XIX

PEMERIKSAAN DARAH MENGGUNAKAN ALAT *HEMATOLOGY ANALYZER*



TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa dapat mengetahui parameter-parameter pemeriksaan darah menggunakan alat *Hematology Analyzer*
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan darah menggunakan alat *Hematology Analyzer*
3. Mahasiswa mampu mencatat hasil pemeriksaan dan memberikan interpretasi terhadap hasil yang dikeluarkan oleh alat *Hematology Analyzer*



PENDAHULUAN

Pemeriksaan Darah Menggunakan Alat *Hematology Analyzer*

Hitung sel darah lengkap atau *complete blood count* (CBC) untuk eritrosit, leukosit dan trombosit di laboratorium saat ini banyak menggunakan instrumen hematologi otomatis modern. Berbagai instrumen hematologi yang ditawarkan di pasaran berbeda tergantung pada pertimbangan berikut (Wick et al., 2011) :

1. Tingkat otomatisasi. Sistem yang digunakan oleh instrumen ini terbagi menjadi *Hematology Analyzer* semi-otomatis, otomatis, hingga full otomatis dengan metode-metode yang berbeda pada *pretreatment* spesimen dan pengiriman spesimen.
2. Standarisasi dan jaminan mutu.
3. Jumlah parameter yang diuji.

Penggunaan instrumen otomatis membutuhkan biaya yang tinggi, tetapi memungkinkan pekerjaan di laboratorium menjadi lebih cepat dengan jumlah petugas laboratorium yang sedikit. Teknik-teknik otomatis juga lebih presisi, meskipun akurasi bergantung pada kalibrasi yang benar dan penggunaan bahan kimia reaktan yang biasanya

spesifik untuk analisis tertentu. Banyak laboratorium sekarang menggunakan teknik otomatis, akan tetapi teknik manual tertentu juga masih diperlukan sebagai metode referensi untuk standarisasi. Selain itu, metode manual juga mungkin diperlukan untuk menangani spesimen yang memiliki karakteristik yang tidak biasa yang memberikan hasil yang tidak sesuai dengan analisis dari instrumen otomatis (Wick et al., 2011).

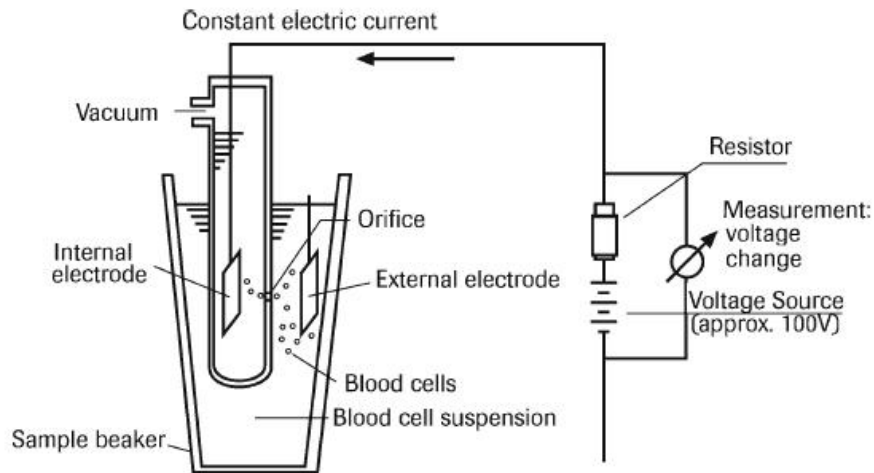
Secara umum, hitung sel darah lengkap terdiri dari pengukuran spesifik terhadap hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, jumlah leukosit, jumlah trombosit, jenis leukosit, dan evaluasi sediaan apus darah tepi sebagai informasi dasar. Parameter-parameter ini penting untuk evaluasi awal dan *follow-up* terhadap kondisi pasien. Darah lengkap atau *whole blood* dengan antikoagulan EDTA digunakan sebagai spesimen dalam instrumen hematologi otomatis. Adapun parameter-parameter yang diukur menurut Wick et al. (2011) antara lain :

1. Hemoglobin (Hb)
2. Hematokrit (Hct)
3. Jumlah eritrosit (*red blood cell-RBC count*)
4. Indeks eritrosit
 - a) *Mean corpuscular volume* (MCV)
 - b) *Mean corpuscular hemoglobin* (MCH)
 - c) *Mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC)
 - d) *Red cell distribution width* (RDW)
5. Retikulosit
 - a) *Mean cell volume reticulocytes* (MCVr)
 - b) *Mean cell hemoglobin concentration reticulocytes* (CHCMr)
 - c) *Hemoglobin content reticulocyte* (CHr)
6. Jumlah leukosit (*white blood cell-WBC count*)
7. Jenis leukosit
 - a) *3-part differential* : limfosit, monosit dan mix (granulosit)
 - b) *5-part differential* : limfosit, monosit, neutrofil, basofil, eosinofil
8. Jumlah trombosit (*platelet-PLT count*)
9. Indeks Trombosit
 - a) *Plateletcrit* (PCT)
 - b) *Platelet distribution width* (PDW)
 - c) *Mean platelet volume* (MPV)

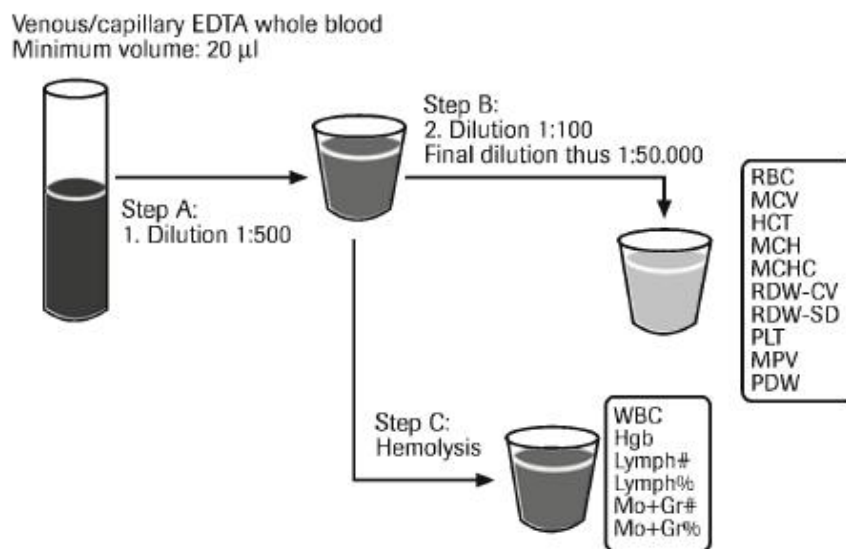
Instrumen *Hematology Analyzer* yang disediakan oleh produsen untuk menghitung sel darah lengkap secara garis besar terbagi menjadi 2 (dua) prinsip dasar dalam pengoperasiannya yaitu impedansi listrik (resistansi) dan *optical scatter* atau *light scattering* (hamburan sinar optik). Impedansi listrik atau resistansi arus searah (*direct current*; DC) bertegangan rendah merupakan metodologi yang paling umum digunakan. Resistansi arus radiofrekuensi (RF), atau arus bolak-balik, adalah metode modifikasi yang kadang-kadang digunakan bersamaan dengan impedansi listrik DC. Prinsip hamburan cahaya optik atau *optical scatter* dapat menggunakan sinar laser maupun sinar non-laser dan ini merupakan instrumen yang sering digunakan dalam bidang hematologi saat ini (Wick et al., 2011 dan Bain et al., 2017).

Cara kerja prinsip impedansi listrik yaitu darah diencerkan dalam larutan elektrolit (buffer). Laju aliran spesimen yang telah diencerkan ini dikendalikan oleh *mercury siphon* (seperti pada instrumen *Coulter*). Hal ini menghasilkan sejumlah volume terukur dari spesimen yang selanjutnya akan melewati suatu tabung apertur dengan dimensi tertentu (misalnya, dimensi : 100 μ m dan panjang : 70 μ m). Adanya sumber listrik konstan dimana arus searah (DC) dipertahankan pada dua elektroda, satu di dalam wadah spesimen atau ruang sekitar tabung apertur dan yang lainnya di dalam tabung apertur itu sendiri. Ketika sel-sel darah melewati apertur, sel-sel ini menggeser sebagian dari cairan penghantar dan meningkatkan resistansi listrik. Hal ini menghasilkan perubahan potensial listrik antar dua elektroda. Tingginya pulsa listrik yang dihasilkan dari perubahan tersebut menunjukkan volume sel yang melewati apertur. Pulsa-pulsa ini dapat ditampilkan pada layar osiloskop. Pulsa-pulsa tersebut kemudian diteruskan ke sirkuit *threshold* yang dilengkapi dengan diskriminator amplitudo yang dapat memilih tinggi pulsa minimal yang akan dihitung. Tinggi pulsa tersebut digunakan untuk menentukan volume sel-sel darah (Bain et al., 2017).

Prinsip pengukuran untuk penghitungan partikel oleh instrumen *Hematology Analyzer* diilustrasikan pada **Gambar 1** yang memungkinkan penghitungan sel eritrosit, leukosit, dan trombosit. Dikarenakan konsentrasi yang berbeda di dalam darah, maka sel-sel ini harus dihitung dalam dua pengenceran (dilusi) berbeda (**Gambar 2**). Pada dilusi pertama, leukosit dihitung setelah eritrosit telah dipecah oleh agen pelisis. Pada dilusi kedua, eritrosit dan trombosit dapat dihitung dikarenakan ukuran dari kedua sel ini berbeda, sehingga eritrosit dan trombosit dapat dibedakan satu sama lain oleh ambang pulsa listrik yang dikenal sebagai **diskriminator** (Wick et al., 2011).



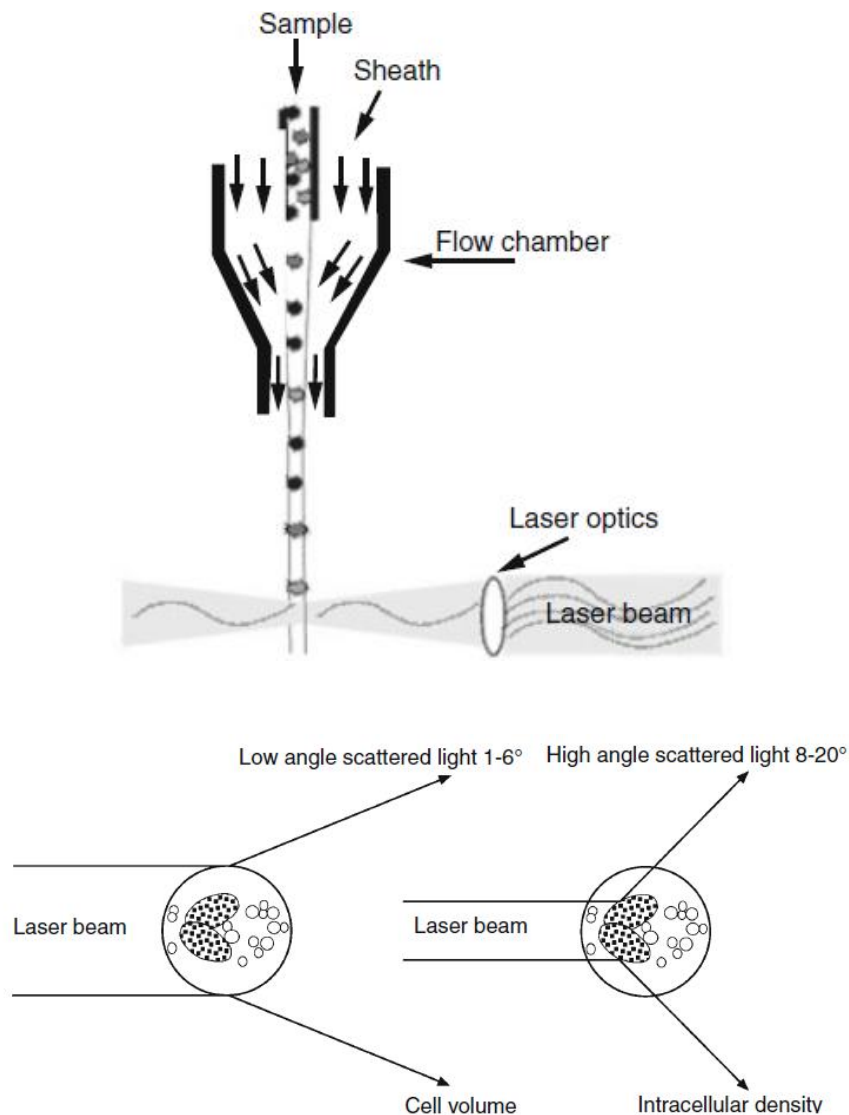
Gambar 19.1 Diagram skematis instrumen *Hematology Analyzer* dengan prinsip impedansi listrik (Sumber Wick et al., 2011)



Gambar 19.2 Persiapan spesimen untuk instrumen semi otomatis (panel hitung darah) (Wick et al., 2011)

Sel-sel darah seperti eritrosit, leukosit dan trombosit dapat dihitung menggunakan detektor elektro-optik yang menjadi dasar prinsip hamburan cahaya optik atau *optical scatter*. Suspensi sel yang telah diencerkan mengalir melalui sebuah celah apertur sehingga sel-sel bergerak satu per satu tepat di depan sumber cahaya. Cahaya yang terlewati oleh sel-sel tadi akan tersebar dan cahaya yang tersebar ini kemudian dideteksi oleh sebuah fotomultiplier atau fotodioda, yang mengubahnya menjadi impuls listrik lalu diakumulasikan dan dihitung. Jumlah cahaya yang tersebar sebanding dengan luas permukaan dan terhitung sebagai volume sel sehingga tinggi pulsa listrik dapat digunakan untuk memperkirakan volume sel. Sinar laser koheren berintensitas tinggi yang digunakan dalam instrumen saat ini memiliki kualitas optik

yang lebih unggul dibandingkan dengan cahaya tungsten non-koheren dari instrumen-instrumen sebelumnya. Aliran yang terbungkus memungkinkan sel-sel mengalir dalam arus aksial dengan diameter tidak jauh lebih besar dari sel-sel darah dimana cahaya dapat difokuskan secara tepat pada aliran sel ini (Wick et al., 2011 dan Bain et al., 2017). Prinsip pengukuran volume sel dan densitas intrasel dengan prinsip *flow cytometry* dapat dilihat pada **Gambar 3.**



Gambar 19.3 Prinsip hamburan cahaya optik atau *flow cytometry* (Wick et al., 2011)

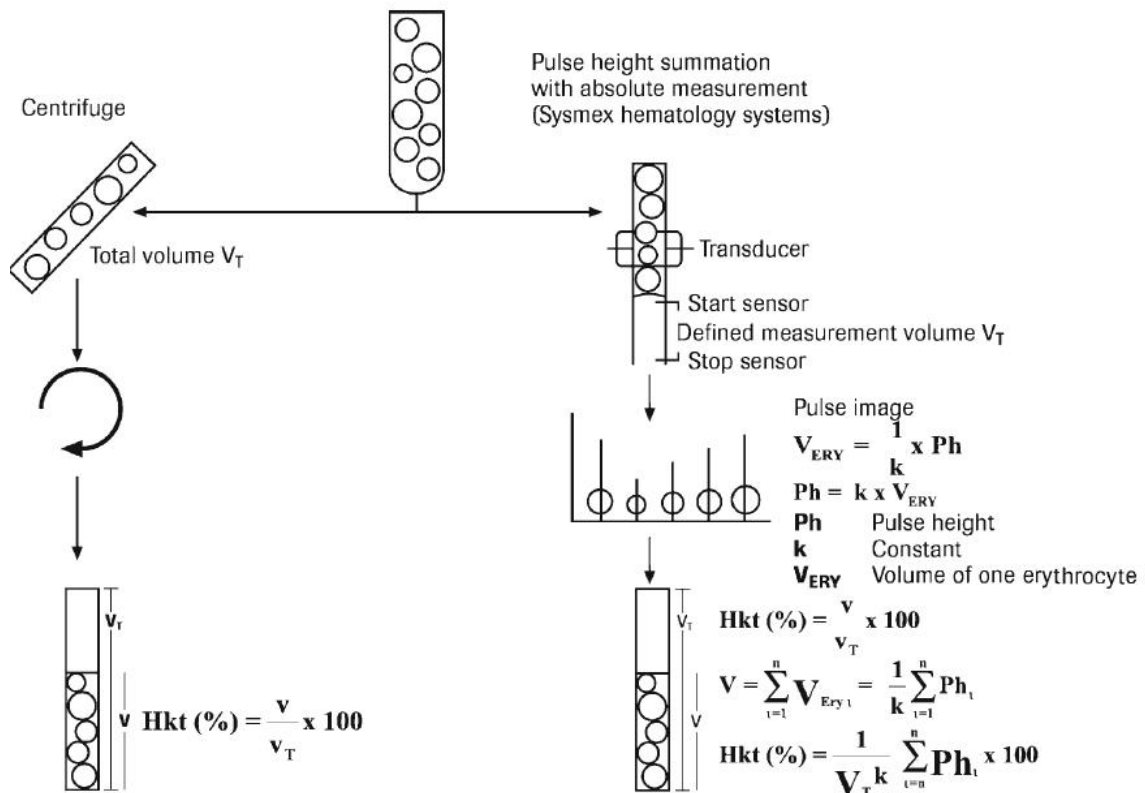
Hemoglobin

Hemoglobin dalam darah terdiri dari sekelompok derivat hemoglobin antara lain deoksihemoglobin (HHb), oksihemoglobin (O_2Hb), karboksihemoglobin ($COHb$), hemoglobin (Hi), atau methemoglobin (MetHb). Derivat hemoglobin ini adalah hemoglobin yang hadir dalam bentuk terikat pada sel, dianalisis sebagai total hemoglobin (Hb) dalam darah lengkap.

Namun, hemoglobin bebas, yaitu hemoglobin yang dilepaskan dari eritrosit dianalisis di dalam plasma. Pengukuran kadar hemoglobin menggunakan *Hematology Analyzer* berdasarkan prinsip fotometrik. Pengukuran dapat dilakukan bersamaan dengan pengenceran leukosit, dimana hemoglobin yang dilepaskan akibat lisisnya eritrosit diubah menjadi derivat yang stabil dan diukur secara fotometrik, atau dapat juga dengan pengenceran terpisah menggunakan agen pelisis yang secara khusus dirancang untuk menentukan kadar hemoglobin. Prosedur kedua memiliki keunggulan dimana agen pelisis yang digunakan dapat dioptimalkan untuk pengukuran hemoglobin, sehingga tidak perlu memperhitungkan sensitivitas leukosit dan rasio pengenceran untuk menentukan kadar hemoglobin. Saluran hemoglobin yang terpisah dengan agen pelisis hemoglobin dapat meminimalkan gangguan atau kesalahan akibat konsentrasi leukosit tinggi dibandingkan dengan metode fotometrik dimana proses pengukuran hemoglobin tergabung dengan penghitungan WBC (*white blood cell*) (Wick et al., 2011).

Hematokrit

Sel-sel yang melewati lubang pengukuran akan menghasilkan pulsa listrik yang sebanding dengan volume sel-sel tersebut. Hematokrit diperoleh dengan menjumlahkan tiap pulsa-pulsa listrik yang berada di antara pemisah atas dan bawah. Hasilnya kemudian dikalikan dengan faktor konstan yang memperhitungkan rasio pengenceran. Hematokrit mewakili persentase volume eritrosit terhadap volume total spesimen darah. **Gambar 4** menunjukkan perbandingan skematis antara penjumlahan dari ketinggian pulsa listrik (metode yang digunakan oleh banyak instrumen hematologi) dengan pengukuran hematokrit secara sentrifugal (Wick et al., 2011).



Gambar 19.4 Skema penentuan hematokrit menggunakan total tinggi pulsa listrik (Sumber Wick et al., 2011)

Jumlah Eritrosit, Leukosit, Trombosit dan Retikulosit

Prinsip impedansi listrik dilakukan dengan cara darah EDTA diencerkan bersama larutan elektrolit sesuai volume yang telah ditentukan, lalu campuran ini ditempatkan dalam ruang transduser yang terhubung dengan larutan elektrolit tambahan melalui lubang kecil (50–100 mm). Arus listrik konstan dipasang pada dua elektroda di kedua sisi lubang. Suspensi sel ditarik melalui lubang pengukuran dengan menggunakan metode vakum. Ketika sebuah sel melewati lubang, sel-sel itu akan berperan sebagai penghantar non-konduktor sehingga menyebabkan resistansi meningkat. Berdasarkan hukum Ohm, pulsa listrik yang terbentuk sebanding dengan volume sel. Pada sistem yang menggunakan pengukuran absolut (jumlah sel per volume), volume penghitungan ditentukan dengan bantuan manometer. Sistem yang menggunakan prinsip pengukuran relatif menentukan jumlah sel per unit waktu. Dalam hal ini, tingkat penghitungan kemudian harus dikonversi menjadi jumlah sel per volume dengan bantuan larutan kalibrasi (Wick et al., 2011).

Pengukuran menggunakan prinsip *flow cytometry* atau *optical scatter* terjadi jika pulsa listrik yang berasal dari sebaran/hamburan cahaya dideteksi oleh tabung fotomultiplier dari

flow cytometry yang diproses oleh serangkaian amplifier linier dan logaritmik. Amplifier logaritmik paling sering digunakan untuk mengukur fluoresensi di dalam sel. Jenis amplifier ini dapat memperluas skala dari sinyal lemah lalu memadatkannya menjadi sinyal fluoresensi yang kuat atau spesifik. Cahaya yang tersebar dievaluasi pada sudut yang berbeda-beda, sehingga memungkinkan penentuan karakteristik dari sel atau partikel yang berbeda. Karakteristik sebaran cahaya sangat dipengaruhi oleh panjang gelombang cahaya dan ukuran sel atau partikel, sebagai contoh *low-angle scattered light* akan menggambarkan ukuran sel, sedangkan *right angle scattered light* (*orthogonal* dan *side scatter*) menggambarkan struktur intraseluler dari sel (Wick et al., 2011)

Dalam menganalisis retikulosit, sel-sel akan diberi label dengan zat warna fluoresens yang secara khusus akan mewarnai asam nukleat dari tiap-tiap sel retikulosit. Dikarenakan komposisi asam nukleat retikulosit akan berkurang selama proses maturasi hingga retikulosit berubah menjadi eritrosit matang, maka fluoresensi yang dipancarkan oleh masing-masing retikulosit dapat digunakan untuk membedakan retikulosit berdasarkan maturasinya (Wick et al., 2011).

Indeks Eritrosit

Hematology Analyzer menghitung indeks eritrosit berdasarkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Berikut perhitungan yang diterapkan oleh *Hematology Analyzer* untuk menghitung parameter indeks eritrosit menurut Bain et al. (2017) dan Wick et al. (2011) sebagai berikut :

1. *Mean Corpuscular Volume (MCV)* dihitung dari jumlah eritrosit dan hematokrit dengan rumus berikut :

$$MCV(fL) = \frac{HCT (\%)}{RBC (x10^6/\mu l)} \times 10$$

2. *Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)* dihitung dari jumlah eritrosit dan hemoglobin dengan rumus berikut :

$$MCH(pg) = \frac{HGB (g/dL)}{RBC (x10^6/\mu l)} \times 10$$

3. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)* dihitung dari hematokrit dan hemoglobin dengan rumus berikut :

$$MCHC(g/dL) = \frac{HGB (g/dL)}{HCT (\%)} \times 100$$

4. RDW-SD dan RDW-CV

RDW (*red cell distribution width*) menunjukkan variasi ukuran eritrosit yang setara dengan derajat anisositosis pada pemeriksaan mikroskopis. Nilai RDW berasal dari pengukuran histogram eritrosit yang dinyatakan dalam RDW-SD (satuan fL) atau RDW-CV (%). RDW-SD adalah pengukuran lebar kurva distribusi eritrosit dalam femtoliter (fL). Lebar kurva distribusi diukur pada titik yang berada 20% di atas garis dasar. Dikarenakan RDW-SD adalah pengukuran sebenarnya, maka RDW-SD tidak dipengaruhi oleh MCV dan lebih akurat mencerminkan varian ukuran eritrosit (Bain et al., 2017 dan Turgeon, 2018). RDW-CV didapatkan dari hasil perhitungan dengan rumus berikut :

$$RDW - CV = \frac{1 SD}{MCV} \times 100$$

MCVr, CHCMr dan CHr

MCVr adalah rata-rata volume retikulosit dan CHCMr adalah rata-rata konsentrasi hemoglobin retikulosit yang diperoleh dari hasil pengukuran menggunakan prinsip *optical scatter* sel demi sel. Retikulosit adalah sel darah merah yang belum matang dengan masa hidup hanya 1 hingga 2 hari. Ketika zat besi pertama kali dilepaskan dari sumsum tulang, pengukuran kandungan hemoglobin dapat memberikan gambaran jumlah zat besi yang tersedia untuk eritropoiesis. Kandungan hemoglobin yang kurang dari normal pada retikulosit memberikan indikasi pasokan zat besi yang tidak mencukupi dibandingkan dengan kebutuhan. Jumlah hemoglobin dalam retikulosit ini juga sesuai dengan jumlah hemoglobin dalam sel darah merah matang. CHr adalah hasil perhitungan dari nilai MCVr x CHCMr (Wick et al., 2011).

Jenis-jenis Leukosit

Jenis-jenis leukosit diukur sesuai dengan kecanggihan dari instrumen yang dimiliki. Terdapat 2 (dua) jenis instrumen *Hematology Analyzer* yang dapat mengukur jenis-jenis leukosit yaitu *3-part differential* : limfosit, monosit dan mix (granulosit) *5-part differential* : limfosit, monosit, neutrofil, basofil, eosinofil (Wick et al., 2011).

Jumlah sel, ukuran, struktur sel, bentuk, dan reflektifitas ditentukan oleh analisis data hamburan cahaya pada prinsip *optical scatter* dimana laser ditempatkan pada beberapa sudut antara lain *forward low-angle light scatter* (2-3°) yang berhubungan dengan ukuran atau volume sel, *forward high-angle scatter* (5-15°) berkaitan dengan kompleksitas internal atau

indeks bias komponen seluler dan *orthogonal light scatter* (90°) atau *side scatter* merupakan kombinasi dari pemantulan dan pembiasan dan ini berkaitan dengan komponen internal. Oleh karena itu, penggunaan sinar laser ini dapat membantu membedakan jenis-jenis leukosit seperti limfosit, monosit, neutrofil, basofil dan eosinofil tergantung spesifikasi instrumen yang digunakan (Turgeon, 2018).

Instrumen *Hematology Analyzer* dengan prinsip impedansi listrik biasanya dikombinasikan dengan *radiofrequency* (RF) dimana dinding sel bertindak sebagai konduktor ketika terkena arus frekuensi tinggi, sehingga saat arus melewati sel, perubahan yang terukur akan terdeteksi. Kepadatan interior sel atau volume inti berbanding lurus dengan ukuran pulsa atau perubahan resistansi RF. Rasio inti terhadap sitoplasma, kepadatan inti, dan granulasi sitoplasma juga dapat diukur dengan RF (Wick et al., 2011).

PDW, PCT dan MPV

Nilai PDW menunjukkan variasi ukuran trombosi. Nilai PDW berasal dari pengukuran histogram trombosit dimana PDW diukur berdasarkan lebar distribusi pada tingkat frekuensi 20% dengan puncak histogram trombosit yang diambil adalah 100%. PCT atau *plateletcrit* adalah rasio volume trombosit dibandingkan dengan volume darah utuh yang prinsip pengukurannya sama seperti pengukuran HCT atau *hematocrit*, sedangkan MPV didapatkan dari rumus berikut (Turgeon, 2018 dan Sysmex Corporation, 2017) :

$$MPV(fL) = \frac{PCT (\%)}{PLT (x10^3/\mu l)} \times 10.000$$



PRAKTIKUM

I. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan :

Dapat melakukan pemeriksaan darah menggunakan *Hematology Analyzer* mulai tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik.

2. Metode

Otomatis atau semi-otomatis menggunakan *Hematology Analyzer*.

3. Prinsip

Impedansi Listrik (Sysmex XP-300)

Darah EDTA diencerkan bersama larutan elektrolit sesuai volume yang telah ditentukan, lalu campuran ini ditempatkan dalam ruang transduser yang terhubung dengan larutan elektrolit tambahan melalui lubang kecil (50–100 μm). Arus listrik konstan dipasang pada dua elektroda di kedua sisi lubang. Suspensi sel ditarik melalui lubang pengukuran dengan menggunakan metode vakum. Ketika sebuah sel melewati lubang, sel-sel itu akan berperan sebagai penghantar non-konduktor sehingga menyebabkan resistansi meningkat. Pulsa-pulsa tersebut kemudian diteruskan ke sirkuit *threshold* yang dilengkapi dengan diskriminator amplitudo yang dapat memilih tinggi pulsa minimal yang akan dihitung. Tinggi pulsa tersebut digunakan untuk menentukan volume sel-sel darah (Wick et al., 2011).

Flow Cytometry (Sysmex XN-1000)

Prinsip-prinsip hamburan cahaya optik (*light scattering*), eksitasi cahaya, dan emisi cahaya dari molekul fluorokrom untuk menghasilkan data multi-parameter spesifik dari partikel (misalnya, inti sel) dan sel yang terkandung di dalam darah serta cairan tubuh lainnya yang diterapkan dalam *flow cytometry*. Spesimen disuntikkan ke pusat aliran pembungkus. Sel atau partikel difokuskan secara hidrodinamik sebelum menyusuri sinar laser yang diarahkan secara optimal. Aliran yang digabungkan tersebut kemudian dikurangi diameternya, sehingga memaksa sel masuk ke tengah aliran. Dengan demikian, sinar laser akan terhalangi oleh satu sel pada satu waktu. Setiap partikel atau sel yang mengalir melalui sinar laser akan menyebarkan cahaya dengan cara tertentu dan bahan kimia fluoresen yang terdapat dalam partikel atau yang

melekat pada partikel tersebut terangsang untuk mengeluarkan cahaya pada frekuensi yang lebih rendah daripada sumber cahaya. Kombinasi antara cahaya yang tersebar dan fluoresen selanjutnya ditangkap oleh detektor dan dengan menganalisis fluktuasi kecerahan di setiap detektor (satu untuk setiap puncak emisi fluoresen) maka kemudian dimungkinkan untuk mendapatkan berbagai jenis informasi tentang struktur fisik dan kimia dari setiap sel atau partikel masing-masing (Wick et al., 2011).

4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat spesimen : spesimen darah vena K₂EDTA atau K₃EDTA yang tidak mengandung bekuan dan tidak hemolisis.
5. Alat dan bahan *Hematology Analyzer* Sysmex XP-300 antara lain :
 - a) Alat semi-otomatis *Hematology Analyzer* (Sysmex XP-300)
 - b) Tabung vakum tutup ungu (berisi antikoagulan K₂EDTA atau K₃EDTA)
 - c) Kit reagen alat semi-otomatis *Hematology Analyzer* (Sysmex XP-300) terdiri dari :
 - 1) *Cellpack*, berisi *sodium chloride* 6,38 g/L, *boric acid* 1,0 g/L, *sodium tetraborate* 0,2 g/L dan K₂EDTA 0,2 g/L. *Cellpack* merupakan diluen yang digunakan untuk mengencerkan spesimen yang akan dianalisis lalu selanjutnya digunakan untuk mengukur jumlah RBC (*red blood cell*), jumlah WBC (*white blood cell*), kadar hemoglobin, dan jumlah trombosit.
 - 2) *Cellclean*, berisi *sodium hypochloride* (konsentrasi 5,0%). *Cellclean* berfungsi sebagai deterjen alkali kuat yang digunakan untuk menghilangkan reagen lisis, sisa-sisa seluler, dan protein dari darah yang tertinggal dalam sistem hidrolik instrumen *Hematology Analyzer*.
 - 3) *Stromatolyser*, berisi *ammonium salts* 8,5 g/L dan *sodium chloride* 0,6 g/L. *Stromatolyser* adalah reagen yang berfungsi melisiskan RBC sehingga penentuan jumlah WBC menjadi akurat, analisis distribusi ukuran tri-modal WBC, dan pengukuran kadar hemoglobin.
 - 4) *Eightcheck-3WP* (*high*, *normal*, dan *low*) adalah bahan kontrol berupa darah yang digunakan untuk menguji presisi dan akurasi instrumen *Hematology Analyzer*.
6. Spesimen darah vena K₂EDTA atau K₃EDTA

J. Analitik

1. Prosedur kerja

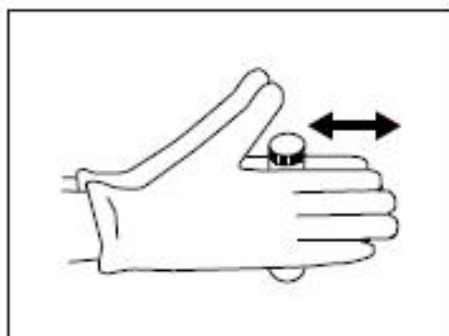
a) Semi-otomatis *Hematology Analyzer* Sysmex XP-300

1) Menyalakan alat

- a) Tekan tombol power “ON” pada bagian belakang alat.
- b) Setelah tombol power “ON” ditekan, logo Sysmex akan muncul dan operasi *startup* akan dilakukan. Kemudian layar utama akan muncul. Operasi “Analysis” dilakukan pada layar utama. Ketika tombol [Menu] pada layar utama ditekan, layar “Menu” akan muncul.
- c) Menu untuk memilih fungsi yang diperlukan akan tampil pada layar “Menu”.

2) Persiapan dan Pengukuran Bahan Kontrol

- a) Keluarkan vial bahan kontrol dari lemari es dan biarkan mencapai suhu ruangan (18-30°C) selama 15 menit sebelum digunakan.
- b) Letakkan vial di antara telapak tangan dan gulung ke depan dan belakang sebanyak 10 kali (lihat ilustrasi).



- c) Bolak-balik vial dan putar sebanyak 10 kali lagi.
- d) Ulangi langkah (2) dan (3) sebanyak 8 kali atau selama total 2 menit. Periksa bagian bawah vial dan pastikan pencampuran yang menyeluruh dengan memastikan tidak ada pelet/endapan sel yang menempel di bagian bawah vial sebelum melakukan analisis. Jika masih ada pelet/endapan sel, ulangi langkah (3).
- e) Analisis spesimen darah kontrol dengan cara yang sama seperti spesimen darah utuh pasien, sesuai dengan prosedur yang sudah ditentukan.
- f) Lap bagian ulir tutup dan vial dengan tisu bersih bebas serat sebelum menutup kembali tutup vial. Tutup vial dengan rapat.
- g) Simpan pada suhu 2-8°C dalam posisi tegak. Bahan kontrol tahan hingga 7 hari setelah dibuka.

3) Analisis Spesimen

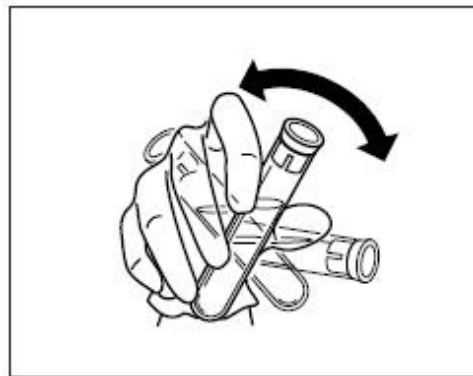
- a) Setelah tombol power “ON” ditekan, maka layar LCD akan menyala. Versi program akan ditampilkan secara singkat.
- b) Setelah proses “*self-check*”, “*auto rinse*”, dan “*background check*” selesai, layar utama akan muncul.
- c) Pada layar utama akan menampilkan dua mode yaitu mode WB (*whole blood*) dan PD (*pre-diluted*). Instrumen akan otomatis berada dalam mode *whole blood* segera setelah power “ON” utama dihidupkan karena mode *default* adalah mode *whole blood*. Untuk beralih ke mode analisis yang berbeda, ikuti langkah-langkah berikut:
 - Pastikan tampilan status menunjukkan “*Ready*”.
 - Tekan tombol [WB].
- d) Tekan “*Sample ID*” untuk memasukkan identitas spesimen yang akan dianalisis. *Sample ID* spesimen dapat dimasukkan dengan 2 (dua) metode berikut:
 - Memasukkan melalui dialog tombol numerik, atau
 - Memasukkan melalui pemindai *barcode* portabel
- e) Tekan tombol (➡) yang terletak di sebelah kanan kolom tampilan [Operator] pada layar utama. Dialog pemilihan “operator ID” akan muncul. Isi menggunakan nama dengan huruf alfabet atau numerik.



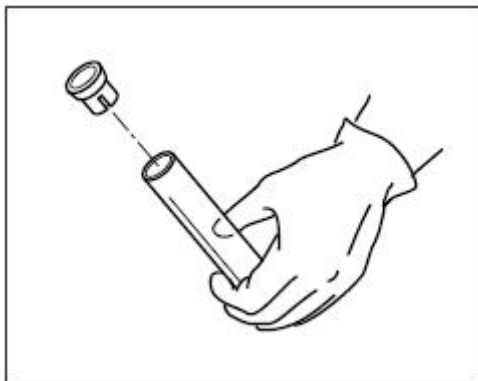
- f) Pastikan tulisan [Ready] tampil pada indikator status instrumen bagian atas area *display* dan mode analisis diatur ke mode *whole blood*.



- g) Homogenkan spesimen dengan baik dengan cara membolak-balik tabung spesimen seperti berikut :



- h) Lepas penutup tabung spesimen dengan hati-hati.

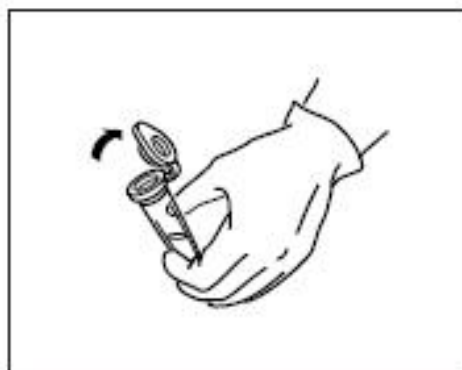
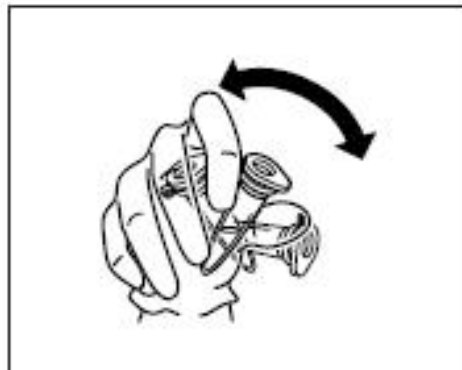


- i) Apabila menggunakan mode PD (*pre-diluted*), maka sebelum spesimen dianalisis, spesimen terlebih dahulu harus diencerkan dengan cara :
- Bersihkan wadah seperti labu Erlenmeyer, gelas ukur, atau lainnya dengan menggunakan CELLPACK dan hilangkan segala kotoran.
 - Dengan menggunakan spuit atau pipet, ambil CELLPACK ke dalam wadah yang telah dibersihkan tadi.

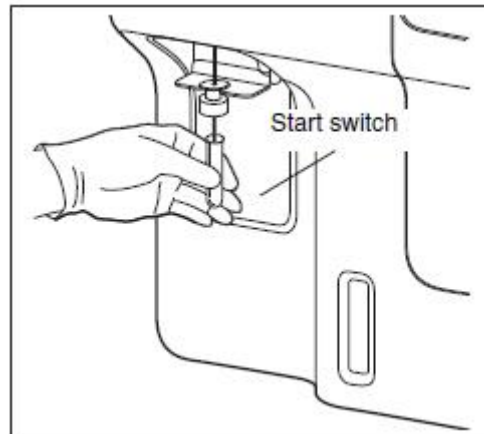
- Gunakam mikropipet (500 μL) untuk memipet 500 μL CELLPACK, lalu tuangkan ke dalam tabung mikro.
- Pipet 20 μL spesimen darah, lalu tuangkan ke dalam tabung mikro.
- Pasang penutup tabung dan homogenkan hingga merata.

Untuk proses pengoperasian :

- Pastikan bahwa tulisan [Ready] tampil pada indikator status instrumen bagian atas area *display* dan mode analisis diatur ke mode PD.
- Homogenkan spesimen dengan baik dengan membolak-balik tabung mikro.
- Lepaskan penutupnya sambil berhati-hati agar tidak ada percikan darah.



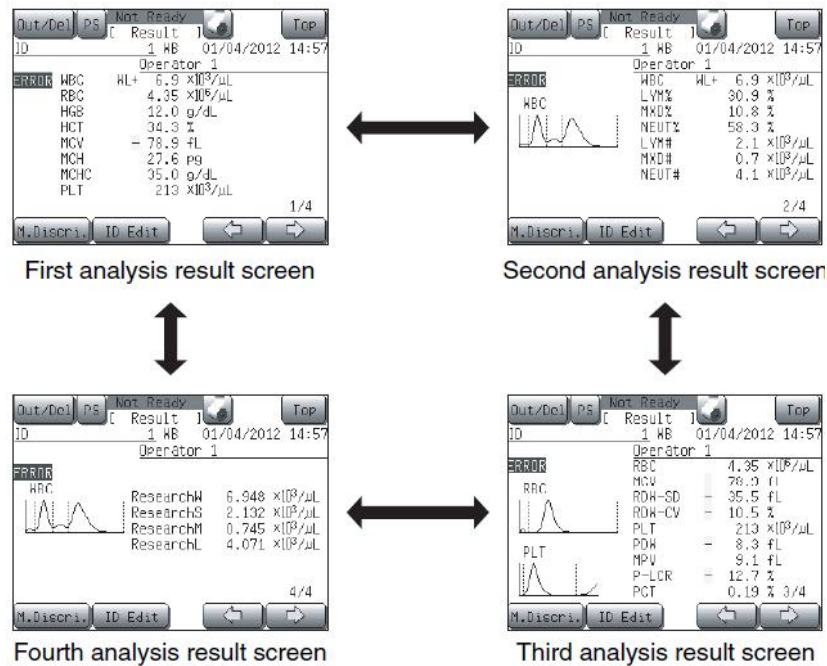
- j) Letakkan tabung spesimen ke *sample probe*, lalu tekan *start switch* berwarna hijau pada bagian belakang *sample probe*.



- k) Selanjutnya proses analisis spesimen otomatis dimulai, tampilan status menunjukkan [*Aspirating*]. Apabila terdengar bunyi “*Beep*” sebanyak dua kali, maka tabung spesimen dapat dilepas dari *sample probe*. Ketika pengaspirasian spesimen selesai, tampilan status [*Aspirating*] akan berubah menjadi [*Running*].



- l) Hasil analisis untuk semua parameter hematologi ditampilkan sekitar 60 detik setelah proses analisis dimulai.



4) Mematikan Instrumen

- d) Klik *Shutdown*.
- e) Masukkan *cell clean* melalui *sample probe* dan tekan *start switch*.
- f) Setelah semua proses selesai tekan tombol power “OFF”.

(Sysmex Cooperation, 2017)

2. Nilai Normal (Bain et al., 2017 dan Wick et al., 2011) :

- Hemoglobin
 - Laki-laki : 13,0-17,0 g/dL
 - Perempuan : 12,0-15,0 g/dL
- Eritrosit
 - Laki-laki : 4,5-5,5 juta/ μ L
 - Perempuan : 3,8-4,8 juta/ μ L
- Hematokrit
 - Laki-laki : 40-50%
 - Perempuan : 36-46%
- MCV : 83-101 fL
- MCH : 27-32 pg
- MCHC : 31,5-34,5 g/dL
- RDW CV : 11,6-14,0%
- Retikulosit : 0,5-2,5%

- MCVr : 85.9-99.3 fL
- CHCMr : 27,1-30,6 g/dL
- CHr : 28–35 pg per retikulosit
- Leukosit : 4.000-10.000/ μ L
- Neutrofil : 40-80%
- Limfosit : 20-40%
- Monosit : 2-10%
- Eosinofil : 1-6%
- Basofil : <1-2%
- Trombosit : 150.000-410.000/ μ L
- PCT : 0,22-0,24%
- PDW : 8,3-56,6%
- MPV : 7,2-11,7 fL

K. Post analitik

4. Pelaporan hasil

Hasil *print out* yang keluar dari instrumen *Hematology Analyzer* ditulis kembali dengan jelas pada laporan praktikum sesuai dengan satuan masing-masing parameter seperti berikut :

Hemoglobin	: g/dL
Eritrosit	: juta/ μ L
Hematokrit	: %
MCV	: fL
MCH	: pg
MCHC	: g/dL
RDW CV	: %
Retikulosit	: %
MCVr	: fL
CHCMr	: g/dL
CHr	: pg/retikulosit
Leukosit	: / μ L
Neutrofil	: %
Limfosit	: %

Monosit	: %
Eosinofil	: %
Basofil	: %
Trombosit	: / μ L
PCT	: %
PDW	: %
MPV	: fL

(Wick et al., 2011)

5. Sumber kesalahan pemeriksaan

- Rasio antara darah dan antikoagulan tidak tepat. Rasio yang tepat antara darah dan antikoagulan EDTA adalah 1 ml darah : 1 mg EDTA.
- Hemolisis pada spesimen yang digunakan.
- Adanya aglutinasi atau gumpalan pada spesimen selama proses pra analitik.
- Homogenisasi kurang tepat. Homogenisasi yang benar harus dilakukan 8-10 kali dengan cara dibolak-balik secara perlahan.
- Reagensia dan bahan kontrol yang sudah kadaluarsa. Bahan kontrol hematologi umumnya berupa liofilisat yang harus dipreparasi dengan penambahan aquadest. Bahan kontrol ini memiliki masa yang pendek jika sudah diencerkan yaitu selama 2 minggu.
- *Human error*.
- Sumber kesalahan dalam pengukuran hemoglobin dapat berasal dari kondisi spesimen. Kadar hemoglobin dapat secara salah meningkat akibat lipemia (plasma keruh), jumlah leukosit yang sangat tinggi, atau eritrosit yang mengandung hemoglobin C atau hemoglobin S. Jika ditemui spesimen lipemik, encerkan plasma lipemik dengan volume yang sama dengan saline 0,85%, campur spesimen, dan uji ulang spesimen. Dalam kasus jumlah leukosit yang sangat tinggi, spesimen akan menghasilkan larutan hemoglobin yang keruh dan ini dapat disentrifugasi, sehingga dihasilkan supernatan yang jernih yang dapat ditransfer ke kuvet lalu dibaca pada spektrofotometer. Jika terjadi kesalahan akibat hemoglobin C atau S, spesimen darah dapat diencerkan 1:2 dengan air destilasi dengan hasil akhir dikalikan dengan 2.

- Pengukuran hematokrit dapat menghasilkan hasil yang terlalu rendah karena tabung vakum antikoagulan EDTA yang tidak terisi cukup sehingga menyebabkan penyusutan eritrosit.
- Faktor patologis seperti aglutinasi eritrosit pada penyakit aglutinin dingin atau paraproteinemia mengakibatkan MCV terlalu tinggi. Hiperglikemia berat (glukosa kurang dari 600 mg/dL) dapat menyebabkan pembengkakan osmotik eritrosit sehingga MCV menjadi terlalu tinggi. Leukositosis juga dapat meningkatkan nilai MCV.
- Pengukuran MCH dapat meningkat pada kondisi hiperlipidemia karena peningkatan kekeruhan pada plasma, sehingga akan secara keliru meningkatkan kadar hemoglobin. Sentrifugasi spesimen darah untuk menghilangkan kekeruhan diikuti dengan pengukuran hemoglobin secara manual memungkinkan koreksi nilai MCH ini.
- MCHC dipengaruhi oleh faktor-faktor yang memengaruhi pengukuran hematokrit seperti *plasma trapping* atau keberadaan eritrosit abnormal atau hemoglobin akibat hiperlipidemia atau leukositosis. Pada kasus aglutinasi akibat suhu ruangan karena penyakit aglutinin dingin, MCV akan terbaca tinggi dan eritrosit akan terbaca rendah. Kedua pengukuran yang tidak akurat ini akan mengakibatkan peningkatan MCHC. Untuk mengoreksi kesalahan ini, spesimen darah harus dipanaskan hingga 37°C dan pengukuran harus diulang. Sumber kesalahan lain dalam menghitung MCHC termasuk peningkatan kadar hemoglobin melalui pengukuran fotometri akibat adanya lipemia. Hemolisis juga dapat mempengaruhi MCHC. Kecuali untuk sferositosis hereditas dan beberapa kasus penyakit sel sabit homozigot atau hemoglobin C, nilai MCHC tidak akan melebihi 37 g/dL. Nilai ini mendekati nilai kelarutan untuk hemoglobin. Peningkatan lebih lanjut dalam Hb dapat menyebabkan kristalisasi (Bain et al., 2017; Turgeon, 2018; Rodak & Carr, 2012; Sysmex Corporation, 2017).

6. Jaminan mutu pemeriksaan (Turgeon, 2018 dan Sysmex Corporation, 2017)

- Pengukuran 3 (tiga) bahan kontrol *Hematology Analyzer* yaitu *low*, *normal* dan *high* setiap hari sebelum pemeriksaan spesimen dilakukan, lalu hasil

bahan kontrol dievaluasi berkala setiap bulan menggunakan aturan *Westgard Multirule*.

- Melakukan kalibrasi dan perawatan secara berkala sesuai aturan produsen alat.
- Petugas bekerja dengan profesional dan mengutamakan ketepatan atau keakuratan dalam tahap pra analitik.
- Memahami prosedur *troubleshooting* jika ditemukan kesalahan pada hasil pemeriksaan.

L. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:



Hasil	:	Data pasien
		Nama :
		Umur :
		Jenis Kelamin :
Hasil Hematology Analyzer		
		Hemoglobin : g/dL
		Eritrosit : juta/ μ L
		Hematokrit : %
		MCV : fL
		MCH : pg
		MCHC : g/dL
		RDW CV : %
		Retikulosit : %
		Leukosit : / μ L
		Neutrofil : %
		Limfosit : %
		Monosit : %
		Eosinofil : %
		Basofil : %
		Trombosit : / μ L
		PCT : %
		PDW : %
		MPV : fL
Kesimpulan	:	

Pembimbing Yogyakarta, Praktikan 20...

() ()



EVALUASI

Bentuk Evaluasi :

A. Tugas

Untuk dapat memahami pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut ini :

4. Lakukan preparasi spesimen untuk pemeriksaan darah menggunakan *Hematology Analyzer*.
5. Lakukan pemeriksaan spesimen menggunakan *Hematology Analyzer*.
6. Tuliskan hasil pemeriksaan *Hematology Analyzer* dan interpretasikan hasil pemeriksaan tersebut.

B. Tes

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Seorang ATLM menerima spesimen darah dari ruang flebotomi untuk dilakukan pemeriksaan darah lengkap menggunakan *Hematology Analyzer*. Spesimen darah dalam tabung vakum EDTA dihomogenkan perlahan dengan cara dibolak-balik sebanyak 8-10 kali sebelum diisapkan pada *sample probe* alat. Sesaat dilakukannya homogenisasi, tampak adanya sedikit gumpalan pada salah satu spesimen. Apa yang menyebabkan terjadinya kasus tersebut?
 - a. Volume spesimen terlalu sedikit
 - b. Salah menggunakan tabung vakum
 - c. Rasio antikoagulan terlalu banyak dibanding darah
 - d. Proses homogenisasi dari ruang flebotomi tidak benar
 - e. Spesimen terlalu lama dikirimkan ke ruang pemeriksaan
2. Seorang ATLM menerima spesimen darah dari ruang flebotomi untuk dilakukan pemeriksaan darah lengkap menggunakan *Hematology Analyzer*. Spesimen darah dalam tabung vakum EDTA selalu dihomogenkan perlahan dengan cara dibolak-balik sebanyak 8-10 kali sebelum diisapkan pada *sample probe* alat. Sesaat dilakukannya homogenisasi, tampak volume darah dari salah satu spesimen pasien

- melebihi tanda batas maksimal tabung vakum 3 ml. Apa tindakan tepat yang harus dilakukan ATLM pada kasus tersebut?
- Melanjutkan proses analisa
 - Mengurangi volume spesimen
 - Menunda rangkaian pemeriksaan
 - Meminta ulang spesimen darah dengan rasio yang tepat
 - Memindahkan spesimen ke dalam tabung vakum yang baru
3. Seorang mahasiswa TLM sedang Praktik Lapangan di sebuah laboratorium rumah sakit. Ia mendapatkan tugas untuk melakukan flebotomi pada seorang pasien perempuan berusia 18 tahun dengan parameter pemeriksaan yang diminta oleh dokter adalah darah lengkap yang dianalisa menggunakan *Hematology Analyzer*. Apa tabung vakum yang tepat yang harus digunakan oleh ATLM tersebut?
- Tabung vakum merah (*plain*)
 - Tabung vakum kuning berisi *clot activator*
 - Tabung vakum biru berisi sodium sitrat 3,2%
 - Tabung vakum ungu berisi antikoagulan EDTA
 - Tabung vakum hijau berisi antikoagulan heparin
4. Seorang ATLM di ruang laboratorium hematologi diminta oleh Kepala Instalasi untuk melakukan pembacaan bahan kontrol *Hematology Analyzer*, dikarenakan hasil yang dikeluarkan oleh instrumen tersebut meragukan. Rencana pengukuran dilakukan pada tanggal 26 Januari 2023. Pada botol bahan kontrol tertera ED 24 Januari 2023. Apa tindakan awal yang tepat yang harus dilakukan ATLM pada kasus tersebut?
- Melanjutkan pengukuran
 - Menulis catatan sebagai laporan
 - Melaporkan ke penanggungjawab laboratorium
 - Berkomunikasi dengan distributor bahan habis pakai
 - Membuat bahan kontrol dengan kumpulan darah segar
5. Seorang ATLM sedang mengerjakan pemeriksaan darah lengkap pada 60 spesimen yang telah dimasukkan ke dalam tabung vakum K₃EDTA dengan volume sama yaitu 3 ml. Spesimen segera dianalisa menggunakan *Hematology Analyzer*. Saat proses pengerjaan, ATLM tersebut langsung mengisapkan spesimen ke *sample probe* instrumen tersebut. Apa kesalahan yang terjadi pada kasus tersebut?

- a. Homogenisasi belum dilakukan
- a. Waktu pengukuran terlalu lama
- b. Spesimen tidak dapat diukur oleh alat
- c. Volume darah yang diisap masih kurang
- d. Tabung vakum yang digunakan tidak tepat

Kunci Jawaban :

- 6. D
- 7. D
- 8. D
- 9. C
- 10. A

C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

Unit Kompetensi yang Dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Skor Maksimal
1	Mendapatkan informasi (pasien/formulir pemeriksaan)	10
2	Memberi identitas pada spesimen	10
3	Menyiapkan alat dan bahan	10
4	Preparasi spesimen untuk pemeriksaan menggunakan <i>Hematology Analyzer</i>	10
5	Pengukuran spesimen menggunakan <i>Hematology Analyzer</i>	15
6	Menuliskan hasil pemeriksaan	15
7	Melakukan interpretasi dan verifikasi hasil	20
8	Merapikan kembali alat yang telah digunakan, melakukan tindakan K3 dan melakukan pekerjaan secara teliti dan sistematis	10
Jumlah		100



RINGKASAN

Hitung sel darah lengkap terdiri dari pengukuran spesifik terhadap hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, jumlah leukosit, jumlah trombosit, jenis leukosit, dan evaluasi sediaan apus darah tepi sebagai informasi dasar. Parameter-parameter ini penting untuk evaluasi awal dan *follow-up* terhadap kondisi pasien. Darah lengkap atau *whole blood* dengan antikoagulan EDTA digunakan sebagai spesimen dalam instrumen hematologi otomatis. Berbagai instrumen hematologi yang ditawarkan di pasaran berbeda tergantung pada tingkat otomatisasi (semi-otomatis, otomatis dan full otomatis), standarisasi dan jaminan mutu serta jumlah parameter yang diuji. Parameter hematologi yang diuji antara lain hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), jumlah eritrosit (*red blood cell-RBC count*), indeks eritrosit (MCV, MCH dan MCHC), retikulosit (MCVr, CHCMr dan CHr), jumlah leukosit (*white blood cell-WBC count*), jenis leukosit (*3-part differential* dan *5-part differential*), jumlah trombosit (*platelet-PLT count*) dan indeks trombosit (PCT, PDW dan MPV). Terdapat 2 (dua) prinsip dasar yang diterapkan pada instrumen *Hematology Analyzer* yaitu impedansi listrik (resistansi) dan *optical scatter* atau *light scattering* (hamburan sinar optik).



DAFTAR PUSTAKA

- Bain, B. J., Bates, I., & Laffan, M. A. (2017). *Dacie and Lewis Practical Haematology*. In *Elsevier* (Twelfth). ELSEVIER.
- Sysmex Corporation. (2017). *Intructions for Use : Automated Hematology Analyzer XP-300*. In *Sysmex Cooperation* (Issue November). Sysmex Cooperation.
<http://www.philips.com/ms>
- Turgeon, M. L. (2018). *Clinical Hematology Theory and Practice* (6th ed.). Wolters Kluwer.
- Wick, M., Pinggera, W., & Lehmann, P. (2011). *Clinical Aspects and Laboratory Iron Metabolism, Anemias. Concepts in the anemias of malignancies and renal and rheumatoid disease* (6th ed.).

BIODATA PENULIS



Tuty Yuniarty S.Si., M.Kes lahir di Kendari, pada 6 Juni 1978. Menyelesaikan Pendidikan D-III Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Makassar, S1 Analis Medis dan Kimia Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung, S2 Kesehatan di Universitas Indonesia Timur Sampai saat ini penulis sebagai Dosen di Prodi Teknologi Laboratorium Medis (D3) Poltekkes Kemenkes Kendari.

Email : thutyuniarty@gmail.com



Tri Dyah Astuti, S.ST., M.Kes lahir di Karanganyar, 27 Februari 1989. Jenjang pendidikan penulis meliputi D4 Analis Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta dan S2 Magister Kedokteran Keluarga, Pendidikan Profesi Kesehatan di Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.

Email : tridyah@unisayogya.ac.id



Siska Zafrida lahir pada tahun 1995 di Pekanbaru, Riau. Telah menyelesaikan; Pendidikan Diploma (D-III) pada Program Studi Analis Kesehatan di Universitas Abdurrah, Pekanbaru (2018); Pendidikan Diploma (D IV) pada program studi Teknologi Laboratorium Medik di Universitas Muhammadiyah Semarang (2019); Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Laboratorium Medik di Universitas Semarang (2021). Saat ini sedang tercatat sebagai Dosen Tetap di Akademi Kesehatan John Paul Pekanbaru. Penulis telah memiliki beberapa artikel, baik yang diterbitkan pada jurnal nasional-internasional, maupun dalam buku referensi. Penulis dapat dihubungi melalui email: Siskazafrida@akjp2.ac.id



Ardiya Garini, SKM., M.Kes., lahir di Tulus Ayu – OKU Timur, 17 November 1980. Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta, S1 Kesehatan Masyarakat STIK Bina Husada Palembang, dan S2 Biomedik di Universitas Sriwijaya Palembang.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Palembang.

Email : ardiyagarini@poltekkespalembang.ac.id



Ranti Dwi Astriani, S.ST, M.Biomed lahir di Bandung, 20 April 1987. Jenjang pendidikan penulis meliputi DIII Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung, DIV Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung dan S2 Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Banten.

Email : ranti.dwi@poltekkesbanten.ac.id



Rinny Ardina, S.ST., M.Si lahir di Tapin, 06 September 1990. Jenjang pendidikan penulis meliputi D III Analis Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, D IV Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Banjarmasin dan S2 Biologi (peminatan Biomedik) di Universitas Jenderal Soedirman.

Saat ini penulis merupakan dosen di Program Studi D III Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya.

Email : rinnyardina@umpr.ac.id



Titik Sundari, S.KM., M.Si lahir di Blitar, 18 Februari 1957. Jenjang pendidikan penulis meliputi Akademi Analis Medis Universitas Airlangga Surabaya, S1 Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya dan S2 Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga Surabaya. Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 dan D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo (UMAHA).

Email : titik.sundari57@gmail.com



Dr. Betty Nurhayati, M.Si lahir di Bandung, 27 Juni 1966. Jenjang pendidikan penulis meliputi SMAK Depkes Bandung, S1 Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi, S2 Jurusan Bioteknologi SITH ITB, dan S3 Sekolah Farmasi ITB.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D4 Teknologi Laboratorium Medik Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Bandung

Email : betty.nurhayati4@gmail.com



Hieronymus Rayi Prasetya, S.S.T., M.Si lahir di Yogyakarta, 30 September 1988. Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, D4 Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, dan S2 Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto. Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medis STIKES Guna Bangsa Yogyakarta.

Email : rayi.prasetya@gmail.com



Dr. Arina Novilla, S.Pd, M.Si lahir di Tasikmalaya, pada 1 November 1973. Menyelesaikan Pendidikan D-III Analis Kesehatan di Pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan (PAM-AK) Departemen Kesehatan Bandung, S1 di Fakultas Ilmu dan Keguruan Jurusan Biologi Universitas Siliwangi Tasikmalaya, S2 di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB Bandung serta S3 di Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta Sampai saat ini penulis sebagai Dosen di Prodi Teknologi Laboratorium Medis (D3) Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi. Email : arina.novilla@lecture.unjani.ac.id s