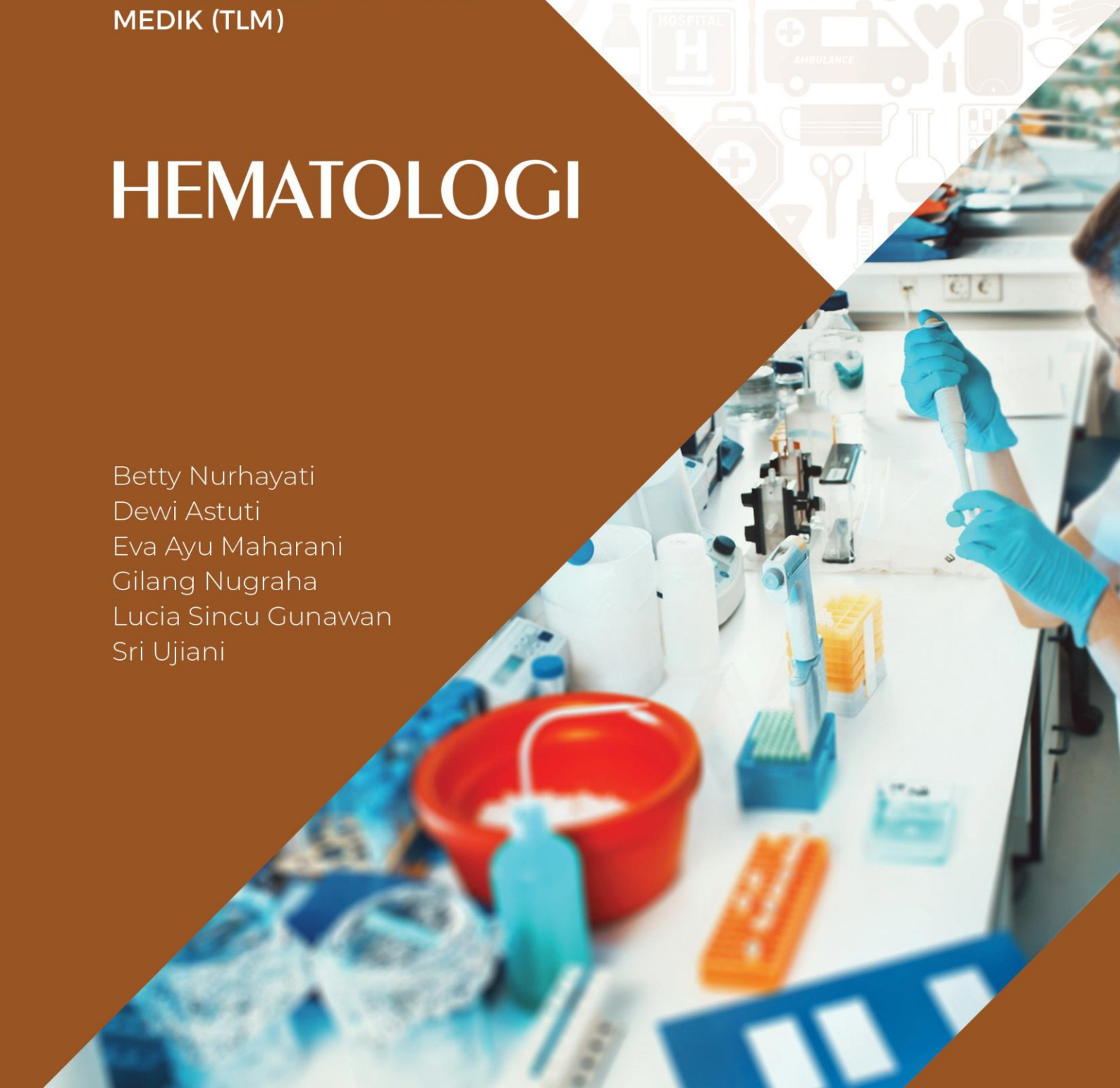
KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2022

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK (TLM)

HEMATOLOGI



Betty Nurhayati
Dewi Astuti
Eva Ayu Maharani
Gilang Nugraha
Lucia Sincu Gunawan
Sri Ujiani

KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2022

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK (TLM)

HEMATOLOGI

Betty Nurhayati
Dewi Astuti
Eva Ayu Maharani
Gilang Nugraha
Lucia Sincu Gunawan
Sri Ujiani

Hak Cipta dan Hak Penerbitan dilindungi Undang-undang

Cetakan pertama, Desember 2021

Penulis :
1. **Dr. Betty Nurhayati, M.Si.**
2. **Dewi Astuti, AMAK., S.Si., M.Biomed**
3. **Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed**
4. **Gilang Nugraha, S.Si., M.Si**
5. **dr. Lucia Sincu Gunawan, M.Kes**
6. **Sri Ujiani, S.Pd., M. Biomed**

Pengembang Desain Instruksional : Dra. Dina Mustafa, M.Sc

Desain oleh Tim P2M2 :
Kover & Ilustrasi : Bangun Asmo Darmanto, S.Des.
Tata Letak : Nono Suwarno

Jumlah Halaman : 405

DAFTAR ISI

Halaman

TINAJAUAN BAHAN AJAR

BAB 1: DASAR-DASAR HEMATOLOGI **1**

Topik 1.

Darah 3

Latihan 10

Ringkasan..... 10

Tes 1..... 11

Topik 2.

Eritrosit 14

Latihan 22

Ringkasan..... 23

Tes 2..... 23

Topik 3.

Hemoglobin 26

Latihan 33

Ringkasan..... 34

Tes 3..... 34

Topik 4.

Leukosit 37

Latihan 52

Ringkasan..... 53

Tes 4..... 53

Topik 5.

Trombosit..... 56

Latihan 61

Ringkasan..... 61

Tes 5..... 62

KUNCI JAWABAN TES 65
GLOSARIUM 66
DAFTAR PUSTAKA 67

BAB 2: PRA-ANALITIK PEMERIKSAAN HEMATOLOGI 69

Topik 1.
Persiapan Pasien untuk Pemeriksaan Hematologi 74
Latihan 85
Ringkasan..... 85
Tes 1..... 86

Topik 2.
Pengambilan Spesimen 89
Latihan 127
Ringkasan..... 127
Tes 2..... 128

Topik 3.
Pengambilan Spesimen 131
Latihan 138
Ringkasan..... 138
Tes 3..... 139

Topik 4.
Penanganan Spesimen Pra Analitik..... 141
Latihan 149
Ringkasan..... 149
Tes 4..... 150

KUNCI JAWABAN TES 153
GLOSARIUM 154
DAFTAR PUSTAKA 155

BAB 3: PEMERIKSAAN HEMATOLOGI RUTIN **159**

Topik 1.
Pemeriksaan Hemoglobin 162
Latihan 172
Ringkasan..... 173
Tes 1..... 173

Topik 2.
Pemeriksaan Hematokrit 176
Latihan 183
Ringkasan..... 184
Tes 2..... 185

Topik 3.
Pemeriksaan Hitung Jumlah Lekosit 187
Latihan 194
Ringkasan..... 194
Tes 3..... 195

Topik 4.
Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit 198
Latihan 202
Ringkasan..... 203
Tes 4..... 204

Topik 5.
Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit 206
Latihan 212
Ringkasan..... 212
Tes 5..... 213

Topik 6.
Pemeriksaan Hitung Jenis Lekosit 216
Latihan 228
Ringkasan..... 229

Tes 5..... 229
KUNCI JAWABAN TES 232
GLOSARIUM 234
DAFTAR PUSTAKA 235

BAB 4: PEMERIKSAAN HEMATOLOGI ATAS INDIKASI 237

Topik 1.
Pemeriksaan Laju Endap Darah 239
Latihan 244
Ringkasan..... 244
Tes 1..... 244

Topik 2.
Pemeriksaan Indeks Eritrosit 247
Latihan 251
Ringkasan..... 252
Tes 2..... 252

Topik 3.
Pemeriksaan Hitung Jumlah Retikulosit 255
Latihan 260
Ringkasan..... 260
Tes 3..... 261

Topik 4.
Pemeriksaan Resistensi Osmotik/Fragilitas Osmotik 263
Latihan 267
Ringkasan..... 268
Tes 4..... 269

Topik 5.
Pemeriksaan Hitung Jumlah Eosinofil 272
Latihan 276
Ringkasan..... 276
Tes 5..... 277

KUNCI JAWABAN TES 279
GLOSARIUM 280
DAFTAR PUSTAKA 281

BAB 5: HEMATOLOGY ANALYZER 283

Topik 1.
Teknologi dan Prinsip Analisis 284
Latihan 293
Ringkasan..... 294
Tes 1..... 294

Topik 2.
Parameter Pemeriksaan 297
Latihan 307
Ringkasan..... 308
Tes 2..... 308

Topik 3.
Hasil Pemeriksaan 311
Latihan 320
Ringkasan..... 320
Tes 3..... 321

Topik 4.
Status Error atau Flagging..... 324
Latihan 330

Ringkasan..... 330
Tes 4..... 331

KUNCI JAWABAN TES 334
GLOSARIUM 336
DAFTAR PUSTAKA 337

BAB 6: PASCA-ANALITIK PEMERIKSAAN HEMATOLOGI 339

Topik 1.
Pelaporan Hasil Pemeriksaan 341
Latihan 347
Ringkasan..... 348
Tes 1..... 349

Topik 2.
Verifikasi Hasil Pemeriksaan 351
Latihan 357
Ringkasan..... 357
Tes 2..... 358

Topik 3.
Penyimpanan Spesimen 361
Latihan 365
Ringkasan..... 365
Tes 3..... 366

Topik 4.
Penanganan Limbah 369
Latihan 374
Ringkasan..... 374
Tes 4..... 375

KUNCI JAWABAN TES 378
GLOSARIUM 379
DAFTAR PUSTAKA 380

BIOGRAFI PENULIS 382

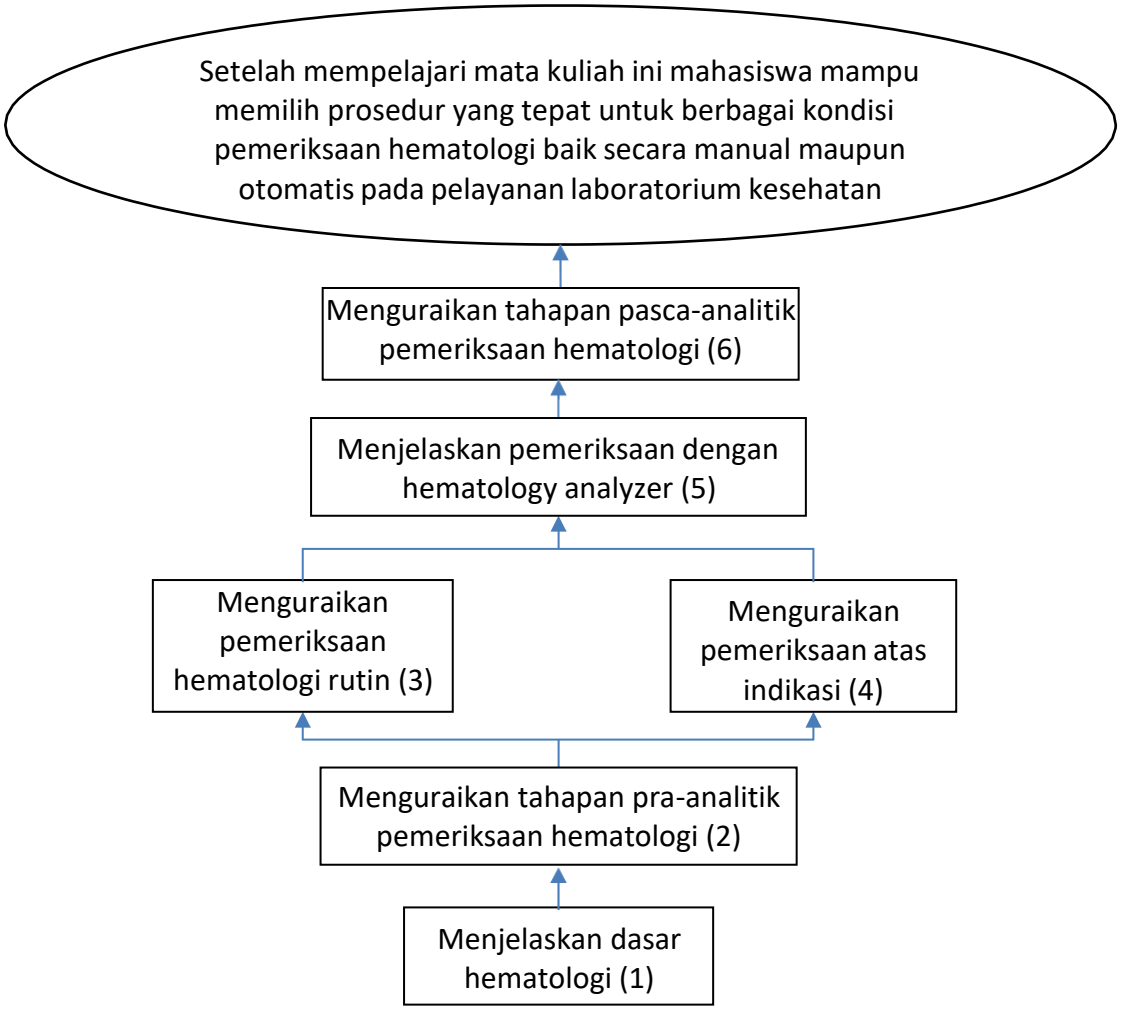
TINJAUAN BAHAN AJAR

Materi bahan ajar ini ini membahas tentang pemeriksaan hematologi secara manual dan otomatis. Topik bahasan meliputi dasar hematologi, pra-analitik pemeriksaan hematologi, pemeriksaan hematologi rutin, pemeriksaan hematologi atas indikasi, pemeriksaan dengan *hematology analyzer,* dan pasca-analitik pemeriksaan hematologi. Sebelum melakukan berbagai macam pemeriksaan, akan diperkuat dengan pengetahuan tentang darah dan komponennya.

Setelah mempelajari bahan ajar ini, Anda akan mampu memilih prosedur yang tepat untuk berbagai kondisi pemeriksaan hematologi baik secara manual maupun otomatis pada pelayanan laboratorium kesehatan. Secara lebih rinci Anda akan mampu:

1. menjelaskan dasar hematologi;
2. menguraikan tahapan pra-analitik pemeriksaan hematologi;
3. menguraikan pemeriksaan hematologi rutin;
4. menguraikan pemeriksaan hematologi atas indikasi;
5. menjelaskan pemeriksaan dengan *hematology analyzer;* dan
6. menguraikan tahapan pasca-analitik pemeriksaan hematologi

Peta kompetensi pemeriksaan hematologi adalah sebagai berikut.


Setelah mempelajari mata kuliah ini mahasiswa mampu memilih prosedur yang tepat untuk berbagai kondisi pemeriksaan hematologi baik secara manual maupun otomatis pada pelayanan laboratorium kesehatan
Menguraikan tahapan pasca-analitik pemeriksaan hematologi (6)
Menjelaskan pemeriksaan dengan hematology analyzer (5)
Menguraikan pemeriksaan hematologi rutin (3)
Menguraikan pemeriksaan atas indikasi (4)
Menguraikan tahapan pra-analitik pemeriksaan hematologi (2)
Menjelaskan dasar hematologi (1)

Bab 1
DASAR-DASAR HEMATOLOGI

Sri Ujiani, S.Pd., M. Biomed

Pendahuluan

Hematologi, berasal dari kata Hema (latin) dan Logos (latin). Hema diartikan sebagai darah dan logos diartikan sebagai ilmu, sehingga hematologi diartikan sebagai disiplin ilmu yang mempelajari tentang darah, temasuk perkembangan dan penyakit darah. Hematologi merupakan ilmu kedokteran yang penting (esensial). Konsep dasar hematologi diterapkan pada diagnosis medis dan pengobatan berbagai gangguan atau penyakit yang berhubungan dengan darah dan sumsum tulang.

Pada Bab 1 ini akan dibahas tentang dasar-dasar hematologi yang meliputi darah beserta komponen-komponen di dalamnya, struktur darah, fungsi komponen sel darah, komponen plasma yang berhubungan dengan sifat dan fungsi darah. Dengan mempelajari materi ini, Anda akan mampu menjelaskan berbagai hal penting yang berhubungan dengan darah. Secara rinci, setelah mempelajari Bab 1 ini, Anda akan mampu menjelaskan tentang dasar-dasar hematologi, yang meliputi: darah dan komponen-komponennya, yaitu eritrosit. leukosit. hemoglobin dan rombosit. Bab 1 ini membahas lima topik utama yaitu:

1. Darah
2. Eritrosit
3. Hemoglobin
4. Leukosit
5. Trombosit

Uraian pada Bab 1 ini merupakan dasar untuk memahami bab berikutnya, sehingga harus difahami terlebih dahulu sebelum mempelajari bab-bab selanjutnya. Untuk memudahkan mempelaajri bab ini, ada beberapa cara yang dilakukan, yaitu sebagai berikut.

1. Membaca bagian pendahuluan terlebih dahulu dan memahami capaian pembelajaran yang dirancang.
2. Membaca keseluruhan topik-topik yang ada di bab ini secara seksama dan memahaminya.
3. Bab 1 ini dilengkapi dengan gambar untuk mempermudah ilustrasi dan pemahaman.

4. Membaca rangkuman sebagai garis besar materi pada masing-masing topik.
5. Mengerjakan latihan dan tes pada setiap topik pada bab ini, tanpa melihat kunci jawaban yang ada, dan mencocokkan dengan jawaban yang dipilih, selanjutnya dihitung jumlah jawaban yang benar sebagai evaluasi tingkat pemahaman Anda.

Topik 1
Darah

Darah merupakan jaringan yang berbentuk cairan yang terdiri dari plasma darah (merupakan bagian yang cair), dan korpuskuli (sel-sel darah). Darah termasuk cairan ekstraselluler, yang ada di dalam pembuluh-pembuluh darah (intravaskuler). Sistem pembuluh darah arteri membawa darah dari jantung ke organ-organ atau jaringan-jaringan tubuh, sedangkan pembuluh darah vena membawa darah dari organ-organ ke jantung. Di dalam tubuh darah mempunyai fungsi utama sebagai alat transportasi. Lebih jauh lagi setiap komponen yang ada di dalam darah juga mempunyai fungsi spesifik bagi tubuh.

A. PENGERTIAN DARAH

Darah merupakan salah satu cairan tubuh yang terdapat di dalam pembuluh darah (intravaskuler) yang mempunyai banyak fungsi. Jumlah darah dalam tubuh bervariasi, tergantung dari berat badan seseorang (7 sampai 8% dari berat badan). Setiap orang rata-rata mempunyai kira-kira 70 mL darah setiap kilogram berat badan, atau kira-kira 3,5 L untuk orang dengan berat badan 50 kg. Faktor lain yang menentukan banyaknya darah adalah pembuluh darah, pekerjaan, keadaan jantung, dan usia.

Darah adalah salah satu cairan tubuh yang berwarna merah dan kental. Kedua sifat utama ini, yaitu warna merah dan kental, yang membedakan darah dari cairan tubuh lain. Kekentalan atau viskositas darah adalah 1,7 kali air. Kekentalan ini disebabkan oleh banyaknya senyawa dengan berat molekul yang berbeda, dari yang kecil sampai yang besar seperti protein; bahan organik antara lain NPN (Non Protein Nitrogen); bahan inorganik antara lain kalsium, magnesium, kalium, natrium, klorida, kobalt, besi, yodium, tembaga, zink, mangan, fosfat, sulfat yang terlarut di dalam darah. Sedangkan warna merah pada darah disebabkan oleh senyawa berwarna merah yang terdapat dalam sel-sel darah merah yang tersuspensi dalam darah yang disebut hemoglobin. Darah bersifat alkalin dengan pH pada kisaran 7,35-7,45.

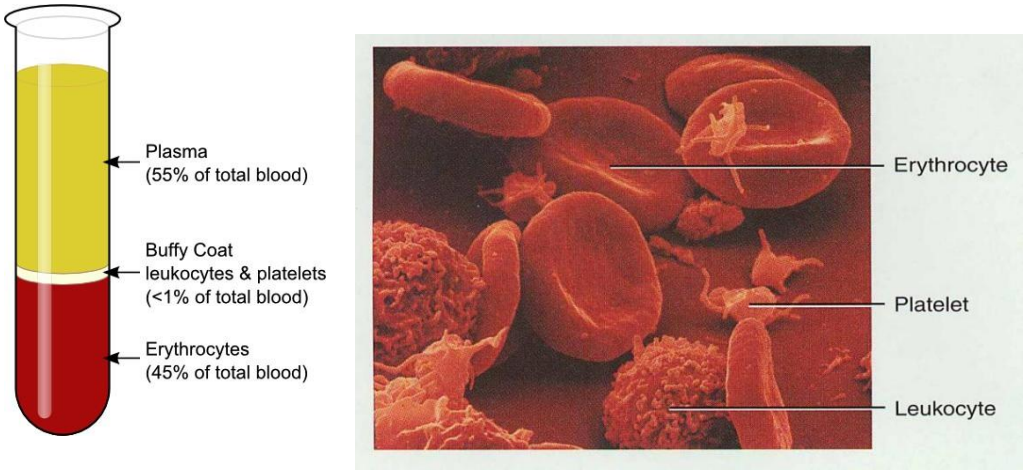
Darah merupakan komponen esensial mahluk hidup, mulai dari hewan hingga manusia. Darah selalu berada dalam pembuluh darah sehingga dapat menjalankan fungsinya. Fungsi-fungsi darah adalah sebagai berikut:

1. yang paling penting adalah fungsi yang menyangkut pernafasan, dalam hal ini darah mengangkut oksigen dari paru-paru menuju jaringan-jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan-jaringan menuju paru-paru untuk dikeluarkan;

2. fungsi yang menyangkut nutrisi, dimana darah mengangkut zat-zat makanan yang direabsorbsi dari usus halus atau dibuat dalam tubuh menuju sel-sel yang menggunakannya atau menyimpannya;
3. fungsi yang menyangkut ekskresi, dalam hal ini darah mengangkut hasil metabolisme yang tidak diperlukan bagi tubuh untuk dikeluarkan;
4. fungsi yang menyangkut kekebalan tubuh (sistem imunitas tubuh), dimana darah mengangkut sel leukosit, antibodi, dan substansi protektif lainnya;
5. fungsi yang menyangkut korelasi hormonal, dalam hal ini darah mengangkut hormon dari tempat produksinya menuju organ sasaran;
6. fungsi yang berhubungan dengan keseimbangan air di dalam tubuh, dimana darah mengatur keseimbangan air dalam tubuh dari satu organ ke organ lainnya dan ke alat-alat pembuangan misalnya ginjal dan paru-paru;
7. fungsi yang berhubungan dengan pengaturan suhu, dimana darah berperan menyediakan sejumlah panas, darah mengalir dengan cepat dan mendistribusikan panas tersebut sehingga panas tubuh akan merata;
8. fungsi yang berhubungan dengan pengaturan tekanan osmotik;
9. fungsi yang berhubungan dengan keseimbangan asam;
10. fungsi yang berhubungan dengan keseimbangan elektrolit; dan
11. fungsi yang berhubungan dengan pengaturan tekanan darah.

B. KOMPONEN DARAH DAN FUNGSI SPESIFIK

Sebanyak 50 sampai 60 persen darah terdiri atas cairan, dan sisanya berupa sel-sel darah (Gambar 1.1). Komponen cairan darah disebut plasma, yang mengandung 90 persen air, dan 10 persen sisanya berupa bahan-bahan yang terlarut seperti ion-ion logam, glukosa, asam amino, hormon, dan berbagai protein. Serum pada dasarnya sama dengan plasma, tetapi tidak mengandung fibrinogen (yang merupakan faktor yang berperan pada koagulasi atau pembekuan darah). Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) yang terdiri dari beberapa jenis, dan trombosit (platelet).



A B

Gambar 1.1

Darah. (A) Komponen Darah. (B) Jenis Sel Darah

1. Plasma Darah

Plasma darah termasuk dalam kesatuan cairan ekstraseluler, dengan volume kira-kira 5 persen dari berat badan. Komposisi plasma darah terdiri dari air sebanyak 91-93%, protein sebanyak 6%, bahan-bahan organik dan inorganik termasuk enzim, hormon, vitamin, pigmen sebanyak 7-9%. Protein utama dalam plasma adalah albumin, protein lain adalah globulin *(immunoglobulin)* dan fibrinogen (protein pembekuan darah).

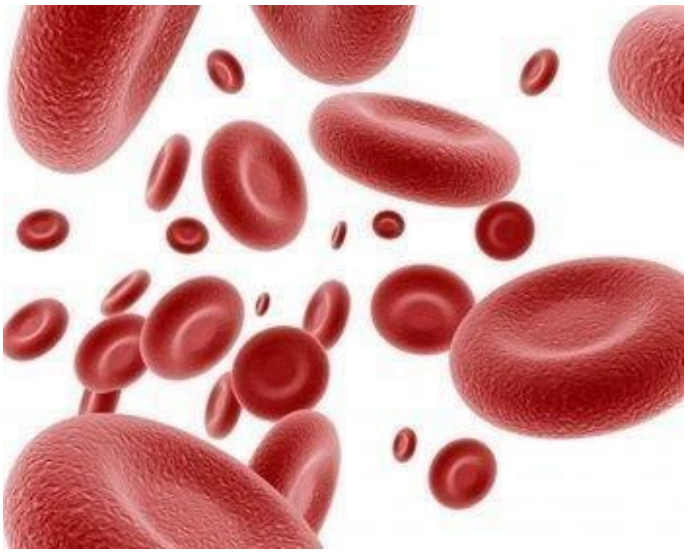
Fungsi plasma darah di dalam tubuh sebagai alat transportasi bahan-bahan metabolik, sisa-sisa metabolik, dan hormon. Plasma darah juga berfungsi mengatur distribusi panas tubuh, keseimbangan asam dan basa, serta keseimbangan osmotik.

Secara lebih spesifik fungsi protein plasma di dalam tubuh, masing-masing adalah sebagai berikut: albumin (57%) berfungsi menjaga tekanan osmotik koloid; globulin (40%) yang terdiri dari globulin α1, α2, ß, dan γ dengan fungsi sebagai sistem kekebalan tubuh serta mempertahankan tekanan osmotic, dan fibrinogen (3%) yang mengandung faktor-faktor koagulasi, sehingga berperan dalam proses pembekuan darah.

2. Sel-sel Darah

Butir-butir darah *(blood corpuscles*) terdiri dari komponen-komponen berikut.

a. Eritrosit (sel darah merah/SDM) atau Red Blood Cell (RBC)

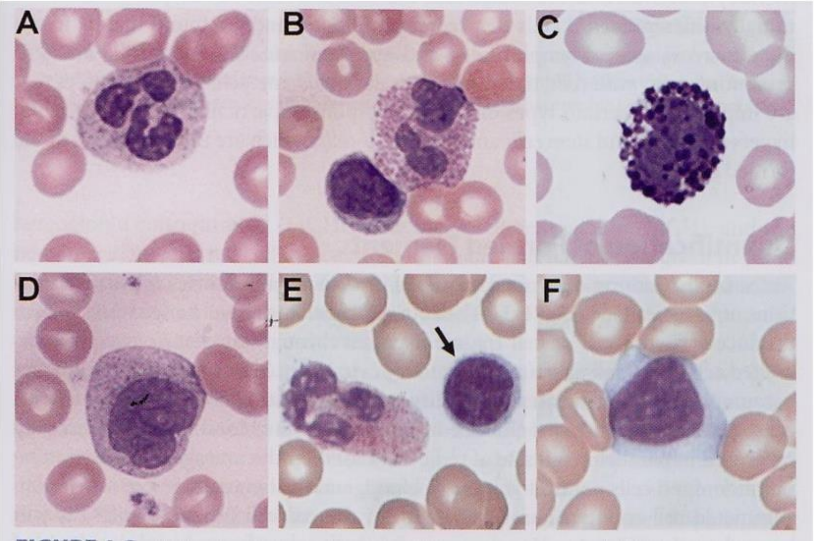


Gambar 1.2
Morfologi Eritrosit

Sel Eritrosit (Gambar 1.2) merupakan komponen padat yang terbanyak di dalam darah. Bentuk sel eritrosit adalah seperti cakram bikonkaf (*biconcave disk*), tidak memiliki inti, cekung pada kedua sisinya,memiliki diameter kira-kira 7,8 mikrometer, mempunyai ketebalan pada bagian yang paling tebal 2,5 mikrometer, dan pada bagian tengah 1 mikrometer atau kurang. Sitoplasma/cairan pada sel eritrosit kaya akan oksigen (O_2) yang dibawa oleh hemoglobin, yaitu protein pembawa oksigen. Jumlah sel darah merah kira-kira 3,5 sampai dengan 5 juta per milimeter kubik darah pada rerata orang dewasa, dan berumur 120 hari.

Fungsi sel eritrosit adalah mengangkut oksigen (O_2) dari paru-paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida (CO_2) dari jaringan ke paru-paru untuk dibuang melalui proses respirasi (pernafasan). Pada proses pengangkutan oksigen, sel eritrosit tidak keluar dari pembuluh darah, dan selama hidupnya eritrosit ini berada di dalam pembuluh darah.

b. Leukosit (sel darah putih/SDP) atau White Blood Cell (WBC)



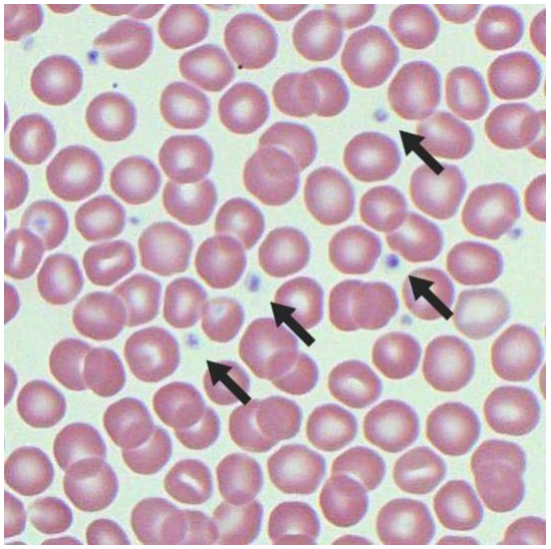
Gambar 1.3 Morfologi Leukosit

(A) Neutrofil segmen, (B) Eosinofil, (C) Basofil, (D) Monosit, (E) Limfosit. (F) Limfosit Atipik

Leukosit (Gambar 1.3) merupakan sel yang berinti. Sel leukosit dikelompokkan ke dalam dua jenis yaitu sel leukosit yang memiliki granula pada sitoplasmanya, dinamakan kelompok *sel granulosit*, dan yang tidak memiliki granula pada sitoplasmanya dinamakan kelompok *sel agranulosit*. Jenis sel leukosit pada kelompok granulosit meliputi sel eosinofil, sel basofil, sel netrofil baik netrofil batang (stab) maupun netrofil segmen. Sedangkan jenis sel leukosit pada kelompok agranulosit meliputi sel limfosit dan sel monosit. Pada darah tepi jumlah terbanyak adalah sel netrofil, dan yang paling sedikit adalah sel basofil. Sel monosit memiliki ukuran terbesar, sedangkan sel limfosit memiliki ukuran terkecil.

Netrofil berfungsi melindungi tubuh terhadap infeksi akut, melawan masuknya antigen yang berukuran kecil seperti bakteri atau jamur, dengan cara menfagositosis benda asing tersebut (mikrofagositosis). Monosit berfungsi memfagositosis benda asing yang berukuran besar, terdapat banyak di jaringan sebagai makrofag. Eosinofil berperan pada respon imun kronis seperti infeksi cacing, asma, dan reaksi alergi. Limfosit merupakan komponen sistem imun adaptif, yang akan memproduksi antibodi bila ada antigen yang masuk ke dalam tubuh. Jumlah sel leukosit di dalam darah dalam keadaan normal adalah 4000 sampai 11.000 per milimeter kubik darah.

c. Trombosit (Butir Pembeku) atau Platelet



Gambar 1.4
Morfologi Trombosit

Trombosit berbentuk bulat kecil dengan ukuran diameter 2 sampai 4 mikrometer dan tidak memiliki inti. Trombosit dibentuk di dalam sumsum tulang yang berasal dari sel megakariosit yang merupakan sel yang sangat besar dalam sumsum tulang. Trombosit terbentuk dari granula-granula pada sitoplasma megakariosit. Bila sel megakariosit sudah matang, sel sitoplasma akan pecah dan granula-granula keluar dari sel dan akan melepaskan diri untuk masuk ke dalam darah menjadi sel trombosit. Jumlah sel Trombosit dalam darah adalah antara 150.000 - 400.000 butir per mikroliter darah.

Trombosit merupakan sel yang sangat aktif. Masa aktifnya dalam darah adalah adalah 5 - 9 hari. Trombosit yang tua atau mati diambil dari sistem peredaran darah, terutama oleh makrofag jaringan. Lebih dari separuh trombosit diambil oleh makrofag dalam limpa, pada waktu darah melewati organ tersebut.

Trombosit berfungsi membantu dalam proses pembekuan darah. Ketika pembuluh darah pecah, trombosit berkumpul di daerah luka dan membantu menutup kebocoran dengan membentuk sumbat trombosit (*platelet plug*).

C. HEMATOPOIESIS

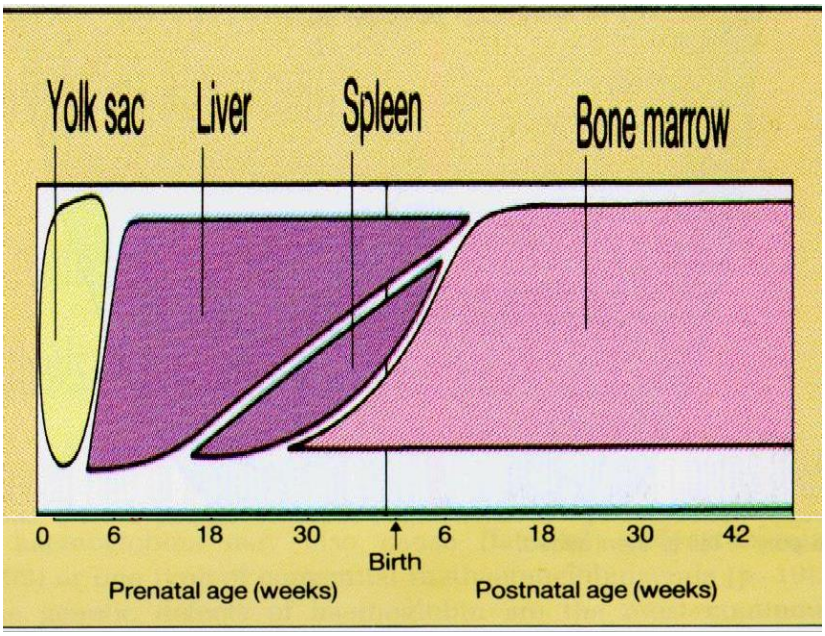
Hematopoiesis merupakan proses pembentukkan sel-sel darah dengan tahapan produksi dan diferensiasi, perkembangan, serta pematangan (*mature*) dari semua sel darah. Sumsum tulang dapat menghasilkan tiga milyar sel eritrosit, satu setengah milyar sel leukosit, dan dua setengah milyar sel trombosit, per hari per kg berat badan.

Organ-organ yang berperan dalam proses hematopoiesis mulai dari masa janin sampai dewasa adalah *yolk sac*, hati, dan limpa (Gambar 1.5). Pada usia 2 minggu sampai 2 bulan janin di dalam kandungan, pembentukkan sel-sel darah terjadi di dalam *yolk sac*, periode ini dinamakan periode mesoblastik. Pada periode ini sel-sel darah masih primitif, bentuknya masih sama untuk semua sel-sel darah.

Eritropoiesis paling banyak terjadi di *yolk sac*, dimana pada periode ini dihasilkan eritroblast primitif dan hemoglobin embrionik (seperti Gower 1 dan Gower 2). Hemoglobin ini terbentuk sebagai tetramer dengan 2 rantai alfa dikombinasikan dengan rantai epsilon atau rantai zeta. Hemoglobin ini tidak berkembang menjadi dewasa, dan tidak berperan dalam transport oksigen.

Saat janin berusia 2 sampai 7 bulan di dalam kandungan, pembentukkan sel-sel darah terjadi di dalam hati, limpa, timus dan kelenjar getah bening, periode ini dinamakan periode hepatik. Pada periode ini sel-sel darah sudah mengalami differensiasi dan menjadi sel spesifik. Leukosit dan megakariosit mulai muncul dalam jumlah kecil. Hati berfungsi sebagai organ utama penghasil sel eritroid, dan menghasilkan hemoglobin fetus (HbF) yang terdiri dari rantai alfa dan rantai gamma.

Usia 7 bulan sampai dengan kelahiran, sumsum tulang merupakan organ utama pada proses hematopoiesis, yang akan berlanjut sampai dewasa, periode ini dinamakan periode mieloid. Pada periode ini terbentuk hemoglobin dewasa (HbA) yang terdiri dari 2 rantai alfa dan 2 rantai beta. HbA akan lengkap terbentuk pada 3 sampai 6 bulan setelah kelahiran.



Gambar 1.5
Hematopoiesis Sebelum dan Setelah Kelahiran

Hematopoiesis pada sumsum tulang disebut hematopoiesis intramedular, dan yang di luar sumsum tulang disebut hematopoiesis ekstramedular yang terjadi di hati dan limpa. Hati dan limpa berperan utama dalam proses hematopoiesis pada masa janin, tetapi jika diperlukan dapat berperan pada hematopoiesis di kehidupan dewasa, misalnya pada saat terjadi infiltrasi sel leukemia atau tumor, yang dapat mengurangi kemampuan sumsum tulang pada proses hematopoiesis, maka hati dan limpa akan berperan sebagai organ primer untuk proses hematopoiesis (hematopoiesis ekstramedular). Jika hematopoiesis ekstramedular ini berlangsung terus, maka hati dan limpa dapat membesar dan kondisi ini dikenal dengan hepatosplenomegali, yang secara fisik akan terlihat adanya pembengkakan dan penonjolan di daerah perut kiri atas. Hepatosplenomegali menjadi indikator kemungkinan terjadinya kelainan hematologi.

Latihan

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

1) Jelaskan yang anda pahami tentang darah beserta komponen-komponen yang ada di dalam darah!
2) Buatlah tabel perbandingan komposisi komponen-komponen yang ada di dalam darah!
3) Jelaskan fungsi masing-masing komponen darah!
4) Jelaskan apa yang dimaksut dengan proses hematopoiesis!
5) Jelaskan fase-fase yang dilalui pada proses hematopoiesis!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi tentang pengertian darah.
2) Pelajari kembali materi tentang komponen-komponen darah dan komposisinya.
3) Pelajari kembali materi tentang fungsi darah dan komponen-komponennya.
4) Pelajari kembali materi tentang pengertian hematopoiesis.
5) Pelajari kembali materi tentang proses hematopoiesis.

Ringkasan

Darah merupakan salah satu cairan tubuh yang terdapat di dalam pembuluh darah (intravaskuler) yang mempunyai banyak fungsi. Jumlah darah dalam tubuh bervariasi, tergantung dari berat badan seseorang (7 sampai 8% dari berat badan). Viskositas

(kekentalan) darah 1,7 X air, dengan pH 7,35 - 7,45. Komponen-komponen darah terdiri dari plasma darah dan sel-sel darah. Komposisi plasma darah 55%, sel leukosit dan sel trombosit 1%, sel eritrosit 45%. Masing-masing komponen darah mempunyai fungsi spesifik.

Pembentukkan sel-sel darah (hematopoiesis) sudah berlangsung sejak janin dalam kandungan dengan melalui 3 periode, yaitu periode mesoblastik (janin usia 2 minggu sampai 2 bulan), yaitu pada organ *yolk sac*; periode hepatik (sejak janin berusia 2 bulan sampai 7 bulan) pada organ hati, limpa, timus, kelenjar getah bening; dan periode myloid (sejak janin usia 7 bulan) pada sumsum tulang.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Plasma darah mempunyai peranan penting di dalam tubuh, dimana di dalam plasma akan terkandung protein plasma. Salah satu protein plasma yang penting adalah albumin. Apakah peranan Albumin tersebut?
   A. Sebagai antibodi dalam melawan masuknya antigen
   B. Mengatur tekanan koloid osmotik
   C. Merupakan faktor koagulasi dalam proses pembekuan darah
   D. Mengatur keseimbangan asam basa
   E. Mengatur suhu di dalam tubuh

2) Komponen-komponen yang ada di dalam darah meliputi plasma, sel eritrosit, sel leukosit dan sel trombosit. Sel eritrosit mempunyai peranan penting dalam transport oksigen dan karbondiokisda. Berapakah kandungan sel tersebut di dalam darah?
   A. 55 %
   B. 45 %
   C. 44 %
   D. 1 %
   E. 3 %

3) Jenis sel leukosit terdiri dari netrofil stab, netrofil segmen, limfosit, eosinofil, monosit, dan basofil. Masing-masing jenis sel leukosit tersebut mempunyai fungsi spesifik, salah satunya berperan sebagai fagositosis pada jaringan. Jenis sel leukosit apakah yang melakukan fungsi tersebut?
   A. Monosit
   B. Limfosit

C. Eosinofil
D. Netrofil
E. Basofil

4) Proses hematopoiesis akan melalui 3 periode, yaitu periode mesoblastik, periode hepatic, dan periode mieloid. Periode mesoblatik berlangsung pada saat janin di dalam kandungan berusia 2 minggu sampai 2 bulan. Organ apa yang berperan pada periode tersebut?
A. Hati
B. Sumsum tulang
C. Limpa
D. Yolk sac
E. Timus

5) Protein yang ada di dalam plasma darah meliputi albumin, globulin, dan fibrinogen. Protein plasma tersebut mempunyai peranan penting di dalam tubuh, salah satunya berperan dalam proses pembekuan darah. Protein plasma apakah yang berperan dalam proses tersebut?
A. Albumin
B. Gamma globulin
C. Fibrinogen
D. Beta globulin
E. Alfa globulin

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

90	-	100%	=	baik sekali
80	-	89%	=	baik
70	-	79%	=	cukup
	<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Eritrosit

Eritrosit merupakan sel darah yang tidak berinti, mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasmanya mengandung hemoglobin yang tersusun dari zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat dan mengangkut oksigen.

Eritrosit berjumlah paling banyak dibandingkan sel-sel darah yang lain. Pada satu mililiter darah, terdapat kira-kira 4,5 sampai 6 juta sel eritrosit. Sel eritrosit ini yang menyebabkan darah berwarna merah. Parameter untuk mengukur keadaan eritrosit biasanya dilakukan dengan mengukur kadar hemoglobin di dalam darah.

A. PENGERTIAN ERITROSIT

Sel eritrosit adalah sel darah yang tidak berinti bentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya dan berdiameter kira- kira 7 sampai 8 mikrometer dan dengan ketebalan, pada bagian yang paling tebal, 2,5 mikrometer dan pada bagian tengah 1 mikrometer atau kurang. Fungsi utama dari sel eritrosit adalah mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru-paru.

Jumlah sel eritrosit kira-kira 4,5 juta sampai 6 juta per milimeter kubik darah pada orang dewasa dan berumur 120 hari. Keseimbangan tetap dipertahankan antara kehilangan dan penggantian sel darah tiap hari. Pembentukan eritrosit (eritropoiesis) dirangsang oleh hormon glikoprotein, yaitu eritroprotein, yang diproduksi ginjal. Produksi eritroprotein dipengaruhi oleh hipoksia jaringan yang disebabkan oleh perubahan oksigen, berkurangnya kadar oksigen darah arteri, dan berkurangnya konsentrasi hemoglobin.

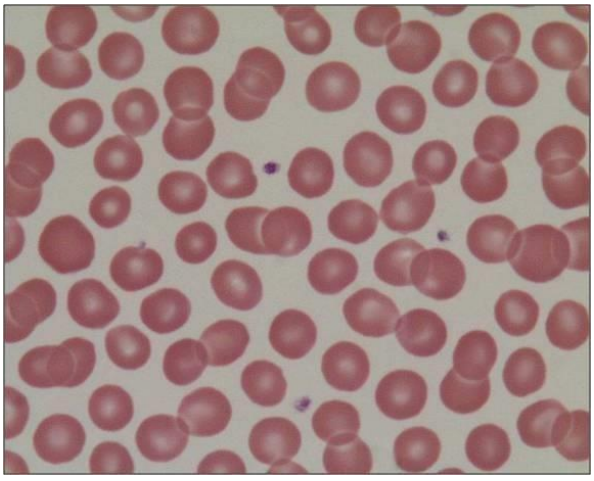
Eritroprotein merangsang sel induk untuk memulai proliferasi dan pematangan eritrosit. Pematangan eritrosit tergantung pada jumlah zat-zat makanan yang cukup. Pigmen merah yang membawa oksigen dalam sel darah adalah hemoglobin, dan terdapat sekitar 300 molekul hemoglobin dalam eritrosit.

Hemoglobin memiliki daya ikat terhadap oksigen dan membentuk oksihemoglobin di dalam eritrosit selanjutnya dibawa dari paru-paru ke jaringan. Sintesis hemoglobin terjadi pada sumsum tulang melalui semua stadium pematangan. Sel darah merah memasuki sirkulasi sebagai retikulosit dari sumsum tulang. Retikulosit adalah stadium terakhir dari perkembangan sel darah merah yang belum matang dan mengandung jala yang terdiri dari serat-serat retikular. Sejumlah kecil hemoglobin masih dihasilkan selama 24 sampai 48 jam pematangan, retikulum kemudian larut dan menjadi sel darah merah yang matang

Pada saat eritrosit menua, sel ini menjadi lebih kaku dan lebih rapuh yang akhirnya pecah. Hemoglobin difagositosis terutama di limfa, hati dan sumsum tulang, kemudian direduksi menjadi globin dan hem. Globin masuk kembali ke dalam sumber asam amino. Besi dibebaskan dari hem dan sebagian besar diangkut oleh protein plasma transferin ke sumsum tulang untuk pembentukan eritrosit baru. Sisa besi disimpan di dalam hati dan jaringan tubuh lain dalam bentuk feritin dan hemosiderin, simpanan ini akan digunakan lagi di kemudian hari. Perubahan eritrosit menimbulkan dua keadaan yang berbeda. Jika jumlah eritrosit rendah akan menimbulkan anemia, dan sebaliknya, jika eritrosit tinggi dapat terjadi polisitemia.

B. MORFOLOGI ERITROSIT

Eritrosit di dalam darah berbentuk bikonkaf, berdiameter 7 sampai 8 mikron. Bentuk bikonkaf ini menyebabkan eritrosit bersifat fleksibel sehingga dapat melewati lumen pembuluh darah yang sangat kecil. Jika dilihat di bawah mikroskop akan tampak bulat, berwarna merah, dan di bagian tengahnya tampak lebih pucat, disebut central pallor dengan diameter kira-kira sepertiga dari keseluruhan diameter eritrosit.



Gambar 1.6
Morfologi Eritrosit pada Sediaan Apus Darah Tepi

Estimasi ukuran eritrosit dapat dilakukan dengan menghitung volume eritrosit rata-rata (*mean corpuscular volume,* MCV) yang merupakan hasil perhitungan dari hematokrit dibagi dengan jumlah eritrosit yang satuannya femtoliter (fL), dengan nilai normal 80 - 100 fL. Bila MCV kurang dari 80 fL berarti eritrosit berukuran kecil dan kondisi tersebut dinamakan mikrositik, dan bila lebih dari 100 fL berarti eritrosit berukuran besar dan kondisi tersebut dinamakan makrositik. Umur eritrosit di dalam darah adalah 120 hari, setiap hari 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru.

C. ERITROPOIESIS

Eritropoiesis adalah proses pembentukan atau produksi sel darah merah (eritrosit), yang merupakan proses diferensiasi dari sel induk hematopoietik menjadi eritrosit yang matang. Untuk mengefektifkan kapasitas fungsional, prekursor eritrosit mempunyai organel yang menghasilkan banyak hemoglobin, hingga mencapai sekitar 95% dari protein sel total. Pigmen heme pada hemoglobin akan melakukan pengangkutan oksigen ke jaringan dan mengambil karbondioksida dari jaringan. Zat-zat yang berperan dalam produksi hemoglobin dalam eritrosit adalah asam amino (protein), besi, vitamin B12, vitamin B6, asam folat, dan mineral (Co dan Ni). Eritrosit orang dewasa dalam sehari diproduksi sebanyak lebih dari 200 milyar, dan membutuhkan lebih dari 20 mg elemen besi. Sebagian besar besi ini berasal dari eritrosit tua yang lisis oleh makrofag, hanya 1 sampai 2 mg berasal dari penyerapan oleh usus. Eritropoiesis abnormal merupakan akibat dari defisiensi salah satu zat yang diperlukan, yang dapat menyebabkan anemia.

D. ERITROPOIETIN

Eritropoietin merupakan suatu hormon glikoprotein dengan berat molekul 46.000 yang diproduksi oleh ginjal, dengan tempat sintesisnya kemungkinan di sel-sel peritubular ginjal. Organ luar ginjal (ekstrarenal) seperti hati juga memproduksi hormon eritropoietin. Sekitar 10 sampai 15 persen produksi eritropoietin terjadi di hati, yang merupakan sumber utama eritropoietin pada janin. Eritropoietin akan merangsang eritropoiesis dan dapat melewati sawar plasenta antara ibu dan janin. Eritropoietin adalah hematopoietik pertama faktor pertumbuhan manusia untuk diidentifikasi. Gen untuk eritropoietin adalah terletak pada kromosom 7. Kadar eritropoietin dalam darah berbanding terbalik dengan oksigenasi jaringan. Kadar eritropoietin daapt meningkat hingga 20.000 mU/mL sebagai respons terhadap anemia atau hipoksemia arteri. Eritropoietin dapat dideteksi dalam plasma (konsentrasi normal hingga 20 mU/mL). Jumlah eritrosit di dalam tubuh terus menerus disesuaikan dengan batas optimal untuk fungsinya sebagai pembawa oksigen.

Hipoksia jaringan yang mengakibatkan penurunan kandungan oksigen di dalam jaringan, menghasilkan peningkatan produksi eritropoietin. Pesan dari mekanisme penginderaan dimediasi oleh eritropoietin, dimodulasi oleh kardiovaskular dan faktor ginjal, dan membentuk tautan kunci dalam loop umpan balik yang mengontrol produksi eritrosit. Aktivitas eritropoietin menyebabkan jumlah eritrosit yang mengandung hemoglobin meningkat, sehingga kapasitas pembawa oksigen darah meningkat, dan tingkat normal oksigen dalam jaringan dapat dipulihkan.

Tahun 1985, gen eritropoietin dikloning dan diekspresikan. Hal ini menyebabkan pengembangan rekombinan eritropoietin manusia (monoklonal), yang mengurangi ketergantungan pada transfusi dan meningkatkan hemoglobin pra operasi pada pasien yang tubuhnya tidak dapat merespon kebutuhan untuk memproduksi eritropoietin. Baru-baru ini, pengamatan menunjukkan bahwa agen perangsang eritropoiesis mungkin berhubungan dengan efek samping yang serius pada pasien dengan keganasan. Eritropoietin memiliki efek dominan pada sel eritroid yang terikat, unit pembentuk koloni-eritroid (CFU-E), mempromosikan proliferasi dan diferensiasi menjadi eritroblas.

Eritropoietin mencegah sel eritroid apoptosis. Pembelahan sel yang menyertai eritroid terminal diferensiasi halus dikendalikan oleh regulator siklus sel. Gangguan pada pembelahan terminal ini menyebabkan sel eritroid apoptosis. Dalam pematangan retikulosit, degradasi yang diatur organel internal melibatkan lipoksigenase, sedangkan kelangsungan hidup membutuhkan protein antiapoptosis Bcl-x. Hormon androgen dan hormon tiroid juga dapat merangsang eritropoiesis. Eritropoietin juga berinteraksi dengan interleukin-3, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM CSF), interleukin-1, dan thrombocytopoiesis-stimulating faktor untuk mempromosikan produksi megakariosit.

Eritropoietin manusia rekombinan dihasilkan dari sel mamalia dan awalnya digunakan pada pasien yang diobati dengan dialisis yang menderita anemia karena gagal ginjal kronis. Selain kemungkinan penggunaan dalam pengobatan berbagai jenis anemia, eritropoietin manusia rekombinan mungkin berguna dalam berbagai aplikasi klinis.

E. PERKEMBANGAN DAN PEMATANGAN ERITROSIT

Perkembangan dan pematangan eritrosit berlangsung secara bertahap. Setelah sel induk berdiferensiasi ke dalam jalur eritroid, tahapan sel paling muda untuk menjadi retikulosit muda berlangsung selama 4 sampai 5 hari, sedangkan tahapan pematangan retikulosit dalam sumsum tulang rata-rata 2,5 hari. Kemudian retikulosit muda masuk dalam peredaran darah, sebanyak 0,5 sampai 1,5 persen jumlah retikulosit akan matang menjadi eritrosit dalam 1 hari, menggantikan eritrosit tua yang telah lisis. Selanjutnya sumsum tulang akan mengeluarkan retikulosit dalam jumlah yang sama pula, sehingga dalam keadaan normal jumlah eritrosit dalam darah akan konstan.

F. TAHAPAN PERKEMBANGAN ERITROSIT

Semua jalur sel hematopoietik berasal dari satu sel induk yang sama yang bersifat pluripotensial. Sel induk akan mengalami pematangan, berdiferensiasi menjadi sel induk miloid yang bersifat multipotensial, kemudian membentuk *colony forming unit granulocyte-*

erythrocyte-monocyte-megakaryocyte (CFU-GEMM) tergantung dari adanya faktor pertumbuhan spesifik. Pada eritropoiesis, CFU-GEMM berubah menjadi *burst forming unit erythrocyte* (CFU-E) yang merupakan sel mula pada seri eritrosit. Tahap selanjutnya dalam diferensiasi adalah pembentukkan *colony forming unit erythrocyte* (CFU-E).

CFU-E secara aktif berkembang biak, menghasilkan koloni eritroid hingga 100 sel. Proses ini berlangsung di bawah pengaruh eritropoietin, CFU-E mengalami tahapan pembelahan dan pematangan sel, yang akhirnya menjadi eritrosit dewasa. Tahap akhir CFU-E diidentifikasi sebagai eritroblast. Ketika sel-sel berdiferensiasi menjadi jalur eritroid, eritrosit menjadi sel matang *(mature)* yang tidak berinti.

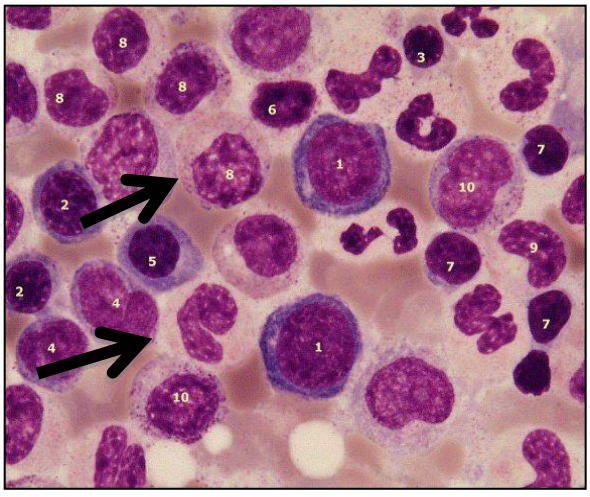
Ada dua proses yang berperan utama dalam proses pembentukan eritrosit, yaitu:

1. Pembentukkan DNA dalam inti sel, pada sel muda eritrosit.
2. Pembentukkan hemoglobin dalam plasma eritrosit.

Berikut ini akan diuraikan mengenai jenis-jenis sel eritrosit dalam proses maturasi.

1. *Rubriblast*. Rubriblast atau pronormoblast memiliki diameter sekitar 12 sampai 19 µm. Perbandingan antara inti : sitoplasma (N : C) adalah 4 : 1. Bentuk nukleus besar, bulat, mengandung 0 - 2 nukleolus, biasanya berwarna gelap, dan memiliki kromatin halus. Sitoplasma berwarna biru khas (basofilik) dengan pewarnaan Wright dan tidak bergranula. Warna biru khas mencerminkan aktivitas RNA yang diperlukan untuk menghasilkan protein yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin.

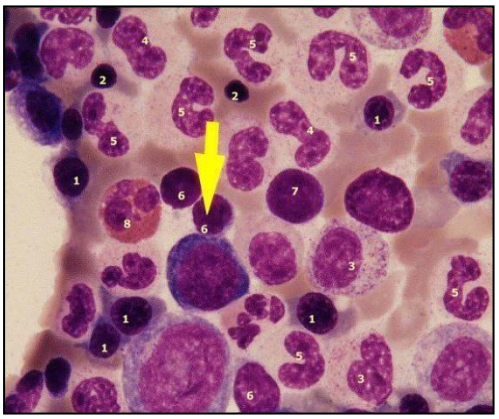
   Morfologi proeritroblas memiliki ukuran 15 - 25 µm. Bentuk bulat, kadang-kadang oval. Warna sitoplasma biru tua dengan halo disekitar inti. Granularitas tidak ada. Bentuk inti bulat. Tipe kromatin butir kasar. Rasio inti/sitoplasma tinggi. Nukleous hampir tidak terlihat, relatif besar. Distribusi di darah tidak ada dan jumlahnya di sumsum tulang < 5%.



Gambar 1.7 Morfologi Rubriblast dengan Pewarnaan May Grunwald Giemsa (MGG) dan Perbesaran 1000 Kali

2. *Prorubrisit.* Tahap kedua, prorubrisit atau normoblast basofilik, sel, memiliki diameter 12 sampai 17 µm dan hanya sedikit lebih kecil dari rubriblast. Rasio N : C tetap tinggi (4 : 1); namun tahap ini menunjukkan peningkatan kematangan morfologi. Kromatin inti menjadi lebih kasar. Nukleoli biasanya tidak terlihat lagi. Sitoplasma lebih basofilik dengan pewarnaan Wright, warna merah muda menunjukkan sel mulai mensintesis hemoglobin.

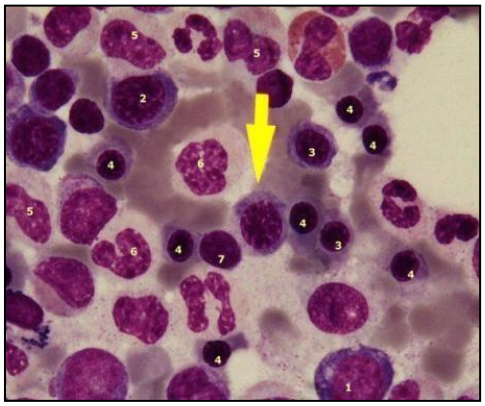
   Morfologi Prorubrist memiliki kromatin mulai memperlihatkan tanda-tanda maturasi dan sitoplasma tidak mengandung halo perinuklear yang nyata. Ukuran 13 - 18 µm. Bentuk bulat kadang berubah bentuk. Warna sitoplasma biru tua. Granularitas tidak ada. Bentuk inti bulat. Tipe kromatin gelap, awal kondensasi. Rasio inti/sitoplasma tinggi. Nukleous tidak terlihat. Distribusi di darah tidak ada, di sumsum tulang 1 - 7%.



Gambar 1.8
Morfologi Prorubrisit degan Pewarnaan
MGG dan Perbesaran 1000 Kali

3. *Rubrisit.* Hemoglobin muncul pertama kali pada tahap maturasi ketiga, yaitu rubrisit atau normoblas polikromatik. Pada tahap ini, ukuran sel menurun menjadi 11 sampai 15 µm, lebih kecil dari tahap prorubrisit. Pematangan lebih lanjut juga ditunjukkan oleh penurunan N : C rasio 1 : 1. Kromatin menjadi semakin padat. Sitoplasma pada tahap ini menunjukkan jumlah yang bervariasi dari warna merah muda bercampur biru; nampak juga abu-abu muda.

   Morfologi Rubrist memiliki ukuran 10 - 15 µm. Bentuk bulat dan kadang-kadang berubah bentuk. Warna sitoplasma abu-abu. Granularitas tidak ada. Bentuk inti bulat. Tipe kromatin gelap, kondensasi tegas. Rasio inti/sitoplasma sedang. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi di darah tidak ada, di sumsum tulang 2 - 18%.

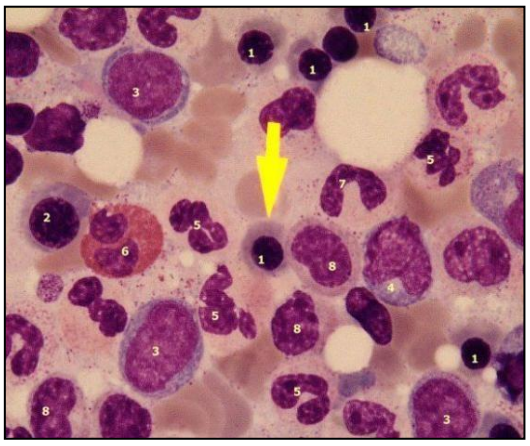


Gambar 1.9

Morfologi Rubrisit dengan Pewarnaan
MGG dan Pembesaran 1000 kali

4. *Metarubrisit.* Rubrisit matang menjadi metarubrisit atau normoblas ortokromik (normoblast piknotik). Sel keseluruhan menjadi lebih kecil (8 sampai 12 µm). Pola kromatin terkondensasi pada tahap pematangan ini dan dapat digambarkan sebagai piknotik (padat atau padat). Pada periode selanjutnya dari tahap ini, inti akan dikeluarkan dari sel. Sitoplasma pada metarubrisit dicirikan oleh asidofilik (merah muda kemerahan), yang menunjukkan adanya hemoglobin dalam jumlah banyak.

   Morfologi metarubrisit memiliki ukuran 8 - 12 µm. Bentuk bulat dan sering berubah bentuk. Warna sitoplasma merah jambu atau sama dengan eritrosit. Granularitas tidak ada. Bentuk inti bulat. Tipe kromatin kondensasi gelap dan pekat. Rasio inti/sitoplasma rendah. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi di darah tidak terlihat, dan di sumsum tulang 5 - 15%.

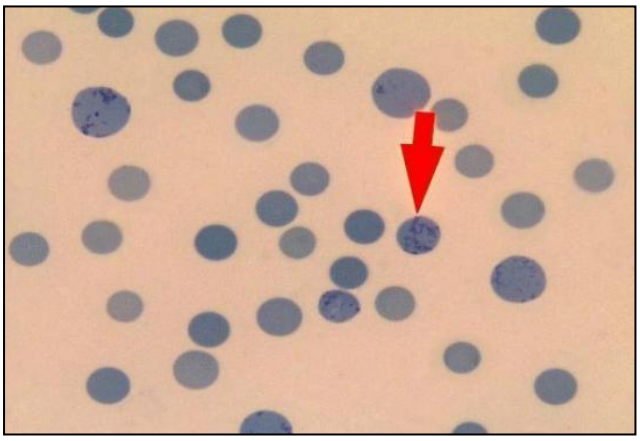


Gambar 1.10

Morfologi Metarubrisit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

5. *Retikulosit.* Tahap retikulosit adalah tahap pematangan berikutnya. Bagian tahap ini terjadi di sumsum tulang, dan tahap selanjutnya berlangsung dalam darah yang bersirkulasi. Sel ini menunjukkan karakteristik retikuler yang disebabkan oleh sisa RNA jika diwarnai dengan pewarnaan supravital, seperti *new methylen blue*. Pada pewarnaan Wright, retikulosit muda dengan jumlah residu RNA tinggi tampak berwarna biru, yang disebut sebagai polikromatofilia. Diameter sel berkisar antara 7 sampai 10 µm. Sel ini tidak berinti.

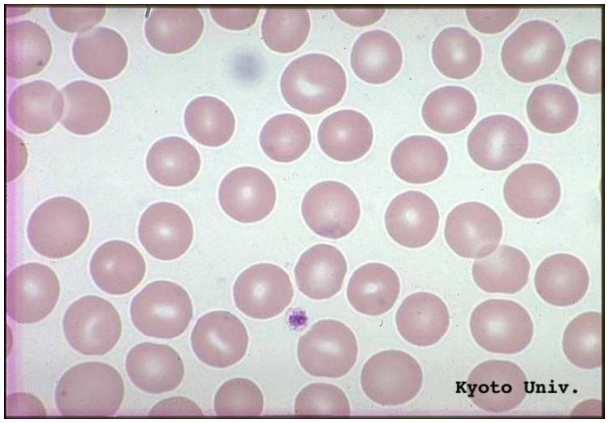
   Morfologi retikulosit memiliki granula halus (sisa zat-zat ribonukleat). Ukuran 8 - 12 µm. Bentuk bulat. Warna sitoplasma pucat. Granularitas berbentuk granula tunggal atau multipel pekat lembayung. Bentuk inti tidak ada. Distribusi dalam darah < 2% dari jumlah erirosit.



Gambar 1.11

Morfologi Retikulosit dengan Pewarnaan Supravital dan Perbesaran 1000 Kali

f. *Eritrosit Dewasa.* Setelah tahap retikulosit, terbentuk eritrosit matang *(mature)*. Sel ini memiliki diameter rata-rata 6 sampai 8 µm. Umur eritrosit dapat ditentukan dengan menggunakan kromium radioaktif ($_{51}Cr$). Umur eritrosit yang memendek bisa terjadi pada anemia hemolitik. Morfologi erirosit berbentuk bikonkaf, di tengah terdapat halo yang tidak melebihi 1/3 diameter eritrosit dan tidak berinti.



Gambar 1.12
Morfologi Retikulosit

G. PERANAN PIRUVAT KINASE DAN GLUKOSA 6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD)

Bila semua unsur yang diperlukan untuk proses eritropoiesis (yaitu eritropoietin, vitamin B12, asam folat, dan Fe) terdapat dalam jumlah yang cukup, maka proses eritropoiesis mulai dari pronormoblast sampai normoblast polikromatofil memerlukan waktu 2 sampai 4 hari. Selanjutnya, proses perubahan retikulosit menjadi eritrosit memerlukan waktu 2 sampai 3 hari. Dengan demikian keseluruhan eritropoiesis dalam keadaan normal memerlukan waktu 5 sampai 9 hari. Bila diberikan obat antianemik yang cukup pada penderita anemia defisiensi, dalam 3 sampai 6 hari akan terlihat kenaikan jumlah retikulosit. Hal ini digunakan sebagai patokan dalam memantau ada tidaknya respon pada terapi anemia. Diperlukan beberapa enzim dalam kadar yang cukup agar eritrosit dapat bertahan dalam bentuk aktif selama 120 hari. Ada dua enzim yang berperan penting, yaitu piruvat kinase dan glukosa 6-fosfat dehidrogenase (G6PD). Kekurangan enzim ini menyebabkan eritrosit tidak dapat bertahan lama dan umur eritrosit kurang dari 120 hari.

Latihan

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

1) Jelaskan apa yang anda pahami tentang sel eritrosit !
2) Jelaskan tentang morfologi sel eritrosit yang dilengkapi dengan gambar !
3) Jelaskan apa yang anda pahami tentang eritropoiesis!
4) Jelaskan faktor-faktor yang berperan dalam proses eritropoiesis !
5) Jelaskan urutan perkembangan dan pematangan sel eritorisit di dalam tubuh!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi tentang pengertian sel eritrosit.
2) Pelajari kembali materi tentang morfologi sel eritrosit..
3) Pelajari kembali materi tentang eritropoeisis.
4) Pelajari kembali materi tentang faktor-faktor yang berperan dalam proses eritropoeisis

Ringkasan

Eritrosit adalah adalah sel darah yang tidak berinti bentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya, dan berdiameter kira-kira 7 sampai 8 mikrometer dan dengan ketebalan pada bagian yang paling tebal 2,5 mikrometer dan pada bagian tengah 1 mikrometer atau kurang. Umur eritrosit di dalam darah adalah 120 hari, setiap hari 1% dari jumlah eritrosit mati dan digantikan dengan eritrosit yang baru.

Fungsi utama dari sel eritrosit adalah mengangkut oksigen dari paru-paru ke Jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru-paru. Eritropoiesis adalah proses pembentukkan/produksi sel darah merah (eritrosit), yang merupakan proses diferensiasi dari sel induk hematopoietik menjadi eritrosit yang matang. Eritropoietin merupakan suatu hormon glikoprotein dengan berat molekul 46.000 yang diproduksi oleh ginjal, yang akan merangsang proses eritropoiesis. Ada dua proses yang berperan utama dalam proses pembentukkan eritrosit, yaitu Pembentukkan DNA dalam inti sel, pada sel muda eritrosit dan pembentukkan hemoglobin dalam plasma eritrosit.

Tahapan perkembangan sel eritrosit dari sel termuda sampai sel matang meliputi: pronormoblast, normoblast basofil, normoblast polikromatofil, normoblast piknotik, retikulosit, dan eritrosit Setiap tahapan perkembangan sel eritrosit memilki ciri sel yang spesifik.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Eritrosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya, dan berdiameter kira-kira 7 sampai 8 mikrometer. Berapakah umur sel itu di dalam darah?
   A. 100 hari
   B. 110 hari
   C. 120 hari

D. 130 hari
E. 140 hari

2) Eritrosit adalah merupakan sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram bikonkaf, cekung pada kedua sisinya dan berdiameter kira-kira 7 sampai 8 mikrometer. Apakah fungsi sel eritrosit tersebut?
   A. Berperan dalam transport oksigen dan karbondioksida
   B. Berperan dalam proses pembekuan darah
   C. Berperan dalam sistem pertahanan tubuh
   D. Berperan mengatur tekanan koloid osmotik
   E. Berperan dalam proses fagositosis

3) Eritropoiesis adalah proses pembentukkan/produksi sel darah merah (eritrosit), yang merupakan proses diferensiasi dari sel induk hematopoietik menjadi eritrosit yang matang. Hormon apakah yang berperan dalam proses eritropoiesis tersebut?
   A. Leukopoietin
   B. Eritropoietin
   C. Trombopoietin
   D. Glukagon
   E. Adrenalin

4) Salah satu tahapan perkembangan sel eritrosit adalah pembentukan sel dengan ciri-ciri sebagai berikut: mengandung granula halus (sisa zat-zat ribonukleat), dengan ukuran: 8-12 µm, bentuk bulat, warna sitoplasma pucat, granula tunggal atau multipel pekat, lembayung. Bentuk inti tidak ada. Distribusi dalam darah kurang dari 2% dari jumlah eritrosit. Sel apakah yang dimaksut dengan ciri tersebut?
   A. Pronormoblast
   B. Normoblast basofil
   C. Normoblast polikromatofil
   D. Normoblast piknotik
   E. Retikulosit

5) Pada tahapan perkembangan sel eritrosit nampak sel dengan ciri hemoglobin muncul pertama kali pada tahap ini, ukuran sel menurun menjadi 11 sampai 15 µm, kromatin menjadi semakin padat. Sitoplasma pada tahap ini menunjukkan jumlah yang bervariasi dari warna merah muda bercampur biru; nampak abu-abu muda. Apakah nama sel yang dimaksud?

A. Pronormoblast
B. Normoblast basofil
C. Normoblast polikromatofil
D. Normoblast piknotik
E. Retikulosit

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	- 100%	=	baik sekali
	80	- 89%	=	baik
	70	- 79%	=	cukup
		< 70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 3
Hemoglobin

Fungsi utama sel darah merah (eritrosit) adalah mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan dan mengangkut karbondioksida dari jaringan ke paru-paru untuk diekskresikan. Pertukaran gas ini dapat terjadi karena eritrosit mengandung protein khusus, yaitu hemoglobin (Hb). Kandungan molekul hemaoglobin pada eritrosit berjumlah sekitar 640 juta molekul hemoglobin, dan setiap molekul hemoglobin dewasa (HbA) terdiri dari 2 rantai polipeptida alfa dan 2 rantai polipeptida beta, masing-masing dengan gugus heme nya sendiri. Selain jenis hemoglobin tersebut darah orang dewasa juga mengandung dua hemoglobin lain yaitu HbF dan HbA_2.. Pada embrio dan janin pada berbagai stadium banyak mengandung hemoglobin Gower 1, Gower 2 Portland dan HbF dengan komposisi yang berbeda tergantung masa kehamilan.

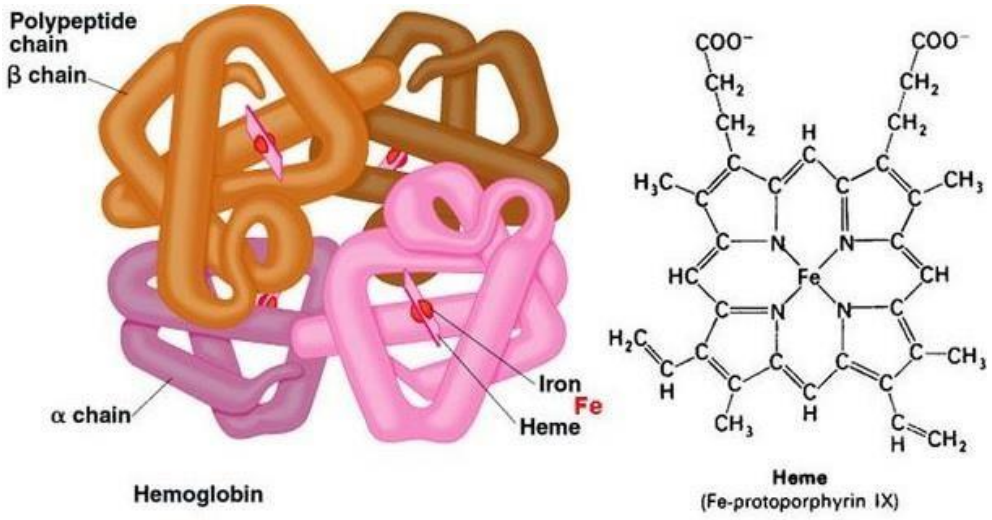
A. PENGERTIAN HEMOGLOBIN

Hemoglobin (Hb) merupakan zat protein yang terdapat dalam sel darah merah, eritrosit, yang memberi warna merah pada darah, dan merupakan pengangkut oksigen dan karbondioksida utama dalam tubuh. Hemoglobin pertama kali diidentifikasi pada tahun 1862 oleh Felix Seyler sebagai protein pernafasan. Dia menemukan karakteristik spektrum warna dari hemoglobin dan membuktikan bahwa ini adalah zat pewarna yang sebenarnya dari darah. Setelah penemuan ini, dimulai penelitian pada reaksi hemoglobin dengan oksigen. Hasilnya diketahui hemoglobin dan oksigen bereaksi dengan baik dan dapat ditunjukkan dengan kurva disosiasi oksigen.

Hemoglobin terdiri dari dua bagian utama yaitu heme dan globin. Setiap molekul hemoglobin memiliki 4 gugus heme identik yang melekat pada 4 rantai globin. Keempat rantai globin merupakan rantai polipeptida yang terdiri dari 2 rantai alfa dan 2 rantai beta. Hemoglobin juga memiliki 4 molekul nitrogen protoporphyrin IX, dan 4 atom besi dalam bentuk ferro yang berpasangan dengan protoporphyrin IX untuk membentuk 4 molekul heme.

B. STRUKTUR HEMOGLOBIN

Setiap organ utama dalam tubuh manusia tergantung pada oksigenasi untuk pertumbuhan dan fungsinya, dan ini di bawah pengaruh hemoglobin. Molekul hemoglobin terdiri dari dua struktur utama, yaitu heme dan globin, serta struktur tambahan (Gambar 1.13).



Gambar 1.13

Struktur hemoglobin

1. Heme

Struktur heme terdiri dari 4 atom besi dalam bentuk ferro (Fe^{2+}) yang dikelilingi oleh cincin protoporfirin IX, karena zat besi dalam bentuk ferri (Fe^{3+}) tidak dapat mengikat oksigen. Protoporfirin IX adalah produk akhir dalam sintesis heme, dan merupakan hasil interaksi antara suksinil koenzim A dengan asam delta-aminolevulinat di dalam mitokondria eritrosit berinti, melalui pembentukkan produk antara yaitu porfobilinogen, uroporfirinogen, dan coproporfirin. Besi bergabung dengan protoporfirin membentuk heme molekul lengkap.

2. Globin

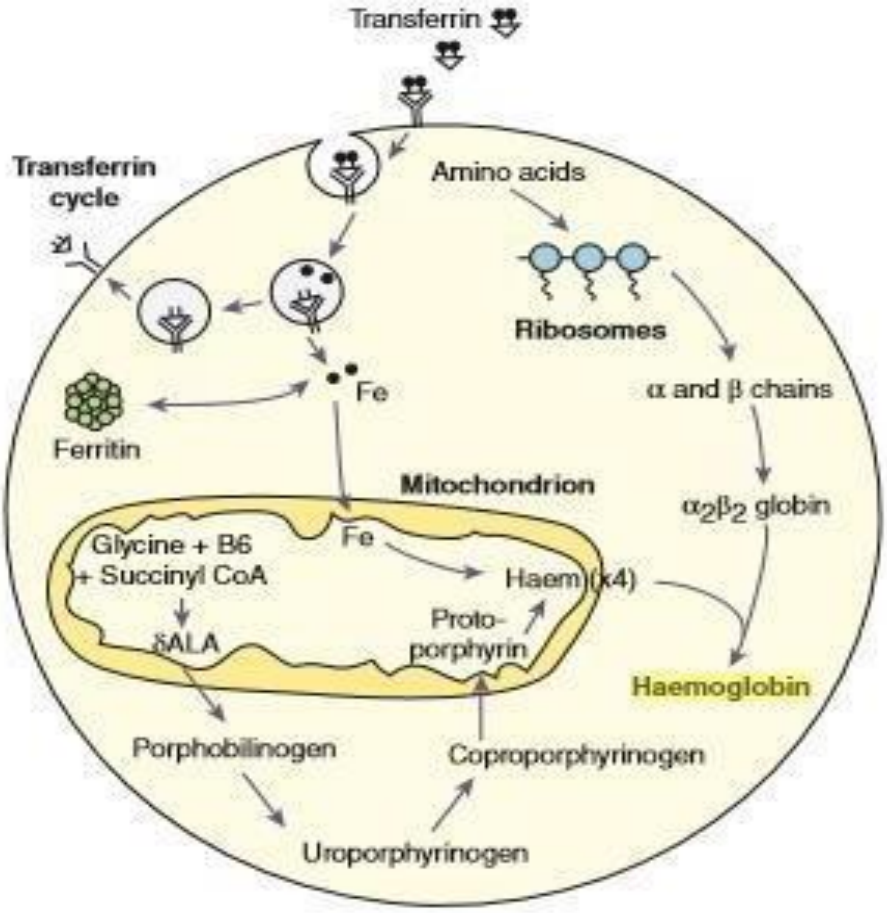
Globin merupakan asam amino, yang dihubungkan bersama untuk membentuk rantai polipeptida. Hemoglobin dewasa (HbA) terdiri dari rantai alfa dan rantai beta. Rantai alfa memiliki 141 asam amino, sedangkan rantai beta memiliki 146 asam amino. Heme dan globin dihubungkan dengan ikatan kimia dalam membentuk hemoglobin.

3. Struktur Tambahan

Struktur tambahan yang mendukung molekul hemoglobin adalah 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG), suatu zat yang dihasilkan dari jalur glikolisis yang anaerob. Struktur tambahan ini berhubungan erat dengan afinitas oksigen dari hemoglobin.

C. SINTESIS HEMOGLOBIN

Hemoglobin sebagian besar disintesis selama proses pematangan eritrositik. Sekitar 65% sitoplasma hemoglobin disintesis sebelum nukleus diekstrusi, dan 35% sisanya disintesis di retikulosit awal. Komponen utama hemoglobin adalah heme dan globin.



Gambar 1.14

Proses sintesis hemoglobin

Pembentukan Heme dari Porfirin. Sintesis heme terjadi di sebagian besar sel tubuh kecuali untuk eritrosit dewasa. Dari semua jaringan tubuh, sumsum tulang merah dan hati adalah produsen heme yang paling dominan (porfirin). Sintesis heme adalah proses kompleks yang melibatkan beberapa langkah enzimatik. Prosesnya dimulai di mitokondria dengan kondensasi suksinil-KoA dan glisin untuk membentuk asam 5-aminolevulinat. Serangkaian tahapan dalam sitoplasma menghasilkan *coproporphyrinogen* III, yang masuk kembali ke mitokondria. Pada tahap akhir enzimatik, besi diikatkan ke dalam struktur cincin protoporfirin IX untuk menghasilkan heme.

Aktivitas awal dalam sintesis porfirin sebelum pembentukan heme, dimulai ketika suksinil koenzim A (CoA) bereaksi dengan glisin. Senyawa antara, asam adipat, terbentuk dari kondensasi ini dan mudah didekarboksilasi menjadi asam delta-aminolevulinat (ALA). Reaksi kondensasi awal ini terjadi di mitokondria dan membutuhkan vitamin B6. Langkah selanjutnya yang paling penting dalam reaksi ini adalah konversi menjadi delta-ALA, yang dikatalisis oleh enzim ALA sintetase. Aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh eritropoietin dan adanya kofaktor

pyridoxal phosphate (vitamin B6). Setelah pembentukan delta-ALA di mitokondria, reaksi sintesis berlanjut di sitoplasma. Dua molekul ALA membentuk monopirol porfobilinogen (PBG). Reaksi ini dikatalisis oleh enzim ALA melalui reaksi dehidrasi. Empat molekul PBG menjadi tetrapirol siklik untuk membentuk uroporfirinogen I atau III. Isomer tipe III diubah, melalui koproporfirinogen III dan protoporfirinogen, menjadi protoporfirin.

Langkah terakhir, yang dilakukan di mitokondria, melibatkan pembentukan protoporfirin dan penggabungan besi untuk membentuk heme. Empat dari enam posisi ordinat besi (Fe^{2+}) dikhelat (kombinasi logam dengan molekul organik yang membentuk struktur seperti cincin) menjadi protoporfirin oleh enzim heme sintetase ferrochelatase. Langkah ini melengkapi pembentukan heme, senyawa berwarna yang terdiri dari empat cincin pirol yang dihubungkan oleh ikatan metana menjadi struktur tetrapirol yang lebih besar.

Struktur dan Sintesis Globin. Baik struktur maupun produksi globin dalam molekul hemoglobin berada di bawah kendali genetik. Urutan spesifik asam amino diatur oleh kode triplet basa DNA yang diturunkan secara genetik. Tahapan sintesis polipeptida merupakan fungsi dari rangkaian di mana kode DNA ditranskripsi menjadi *messenger ribonucleic acid* (mRNA).

Setiap kromosom 16 memiliki dua gen alfa globin yang sejajar satu dengan lainnya pada kromosom, dan identik. Setiap sel memiliki dua kromosom 16, jadi total empat gen alfa globin ada di setiap sel. Masing-masing dari empat gen menghasilkan sekitar satu seperempat dari rantai alfa globin yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin. Gen embrionik yang diekspresikan secara sementara yang menggantikan untuk alpha di awal perkembangan, adalah zeta yang juga ada di kromosom alfa globin.

Gen-gen dalam kromosom beta globin disusun secara berurutan. Urutan gen tersebut adalah epsilon, gamma, delta, dan beta. Ada dua salinan gen gamma pada setiap kromosom 11, yang lainnya ada dalam salinan tunggal. Setiap sel memiliki dua gen beta globin, satu di masing-masing dari dua kromosom 11 di dalam sel. Kedua gen beta globin ini mengekspresikan protein globin dalam jumlah yang persis sama dengan empat gen alfa globin. Produksi rantai polipeptida globin, seperti protein tubuh lainnya, terjadi pada ribosom. Rantai alfa polipeptida bersatu dengan salah satu dari tiga rantai lainnya membentuk α dimer dan akhirnya menjadi tetramer. Hemoglobin dewasa normal (hemoglobin A), terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai beta.

D. JENIS HEMOGLOBIN

Ada tiga jenis hemoglobin yang disintesis, yaitu hemoglobin embrio, hemoglobin janin, dan hemoglobin dewasa. Masing-masing jenis hemoglobin memiliki pengaturan khusus pada rantai globin, dan setiap rantai globin berada di bawah pengaruh kromosom tertentu.

1. Hemoglobin Embrionik

Hemoglobin embrionik adalah hemoglobin primitif yang terbentuk oleh eritrosit yang belum matang di dalam *yolk sac*. Hemoglobin ini termasuk tipe Gower I, Gower II, dan Portland. Hemoglobin ini ditemukan dalam embrio manusia dan bertahan sampai kira-kira 12 minggu kehamilan. Pada hemoglobin ini, rantai zeta analog dengan rantai alfa hemoglobin janin dan dewasa, dan dapat bergabung dengan epsilon atau rantai gamma untuk membentuk berbagai jenis hemoglobin embrionik. Rantai epsilon analog dengan gamma, beta, dan rantai delta.

2. Hemoglobin Janin

Hemoglobin janin (hemoglobin F/HbF) adalah variasi hemoglobin yang dominan pada janin dan bayi baru lahir. Tipe hemoglobin Ini memiliki dua rantai alfa dan dua rantai gamma. Rantai gamma memiliki 146 asam amino, seperti halnya rantai beta. Namun, rantai gamma berbeda dari rantai beta. Ada dua jenis rantai gamma, dengan perbedaan hanya pada satu asam amino. Baik alanin atau glisin terdapat pada posisi asam amino 136.

Hemoglobin janin muncul pada minggu kelima kehamilan dan menetap selama beberapa bulan setelah lahir. Tipe hemoglobin ini berhubungan dengan eritropoiesis hepatik. Meskipun eritropoiesis pada sumsum tulang dimulai bulan keempat kehamilan, sumsum tulang bukan sebagai organ hematopoietik primer setelah 18 sampai 24 minggu kehamilan. Secara bertahap, hemoglobin A menggantikan hemoglobin F dalam eritrosit yang bersirkulasi sampai tingkat dewasa normal. Proses ini terjadi sampai hemoglobin dewasa normal mendominasi, biasanya pada sekitar usia 6 bulan, meskipun sedikit peningkatan dapat bertahan selama 2 tahun. Dalam kasus abnormal, retensi hemoglobin F hingga dewasa (15% sampai 30% dari total hemoglobin) dirujuk sebagai persistensi herediter hemoglobin janin.

3. Hemoglobin Terglikosilasi (Hemoglobin A1)

Hemoglobin A1 adalah sebuah subfraksi dari hemoglobin A normal. Subfraksi ini dapat disebut hemoglobin glikosilasi dan termasuk fraksi hemoglobin terpisah A1a, A1b, dan A1c. Jenis hemoglobin ini terbentuk selama pematangan eritrosit. Karena protein rentan terhadap modifikasi setelah disintesis oleh ribosom, modifikasi ini mengambil bentuk hemoglobin glikosilasi pada orang hiperglikemik.

Pembentukan hemoglobin glikosilasi adalah proses yang lambat dan ireversibel yang bergantung pada konsentrasi glukosa dalam tubuh. Akibatnya, konsentrasi hemoglobin glikosilasi secara akurat mencerminkan kadar glukosa darah pasien selama minggu-minggu sebelumnya, dan baru-baru ini digunakan untuk memantau pengendalian diabetes. Hemoglobin terglikosilasi adalah hemoglobin yang stabil dan secara struktural sama dengan hemoglobin A kecuali penambahan gugus karbohidrat pada valin terminal rantai beta.

Konsentrasi hemoglobin A1 adalah 3% sampai 6% pada orang normal dan 6% hingga 12% pada orang yang bergantung pada insulin dan penderita diabetes yang tidak tergantung insulin.

4. Hemoglobin A2

Meskipun hemoglobin dewasa didominasi dari varietas A, (95% hingga 97%), jenis A2 juga ditemukan dalam jumlah kecil (2% hingga 3%). Hemoglobin A terdiri dari dua alfa dan dua rantai polipeptida beta, dan hemoglobin A2 terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai delta. Rantai delta berbeda dari rantai beta dari 146 asam amino. Sintesis rantai delta terlambat dimulai selama perkembangan janin, dan tingkat A2 meningkat selama tahun pertama kehidupan sampai tingkat dewasa. Rantai delta pada hemoglobin A2 disintesis hanya 1/40 dari rantai beta. Oleh karena itu, konsentrasi hemoglobin A2 pada orang dewasa normal rata-rata 2,5% dari hemoglobin totalnya.

E. BENTUK VARIAN HEMOGLOBIN NORMAL

Karboksihemoglobin, sulfhemoglobin, dan methemoglobin dikenal sebagai bentuk varian dari hemoglobin normal. Tidak seperti hemoglobin abnormal dengan penataan ulang struktural permanen dari molekul hemoglobin, perbedaan varian ini dengan hemoglobin normal adalah ditandai hanya oleh molekul yang menggantikan oksigen.

Karboksihemoglobin. Keracunan karbon monoksida adalah jenis keracunan yang tidak disengaja yang paling umum di Amerika Serikat. Karbon monoksida, dan produk sampingan berbahaya dari pembakaran hidrokarbon yang tidak sempurna, dihasilkan dalam jumlah beracun dari bahan bakar fosil. Karbon monoksida sangat beracun di ruang yang tidak berventilasi. Gas yang stabil pada suhu fisiologis, karbon monoksida berdifusi dengan cepat melintasi membran kapiler alveolar dan mengikat erat hemoglobin dan hemoprotein lainnya (misalnya, mioglobin dan sitokrom oksidase).

Hemoglobin memiliki kapasitas untuk bergabung dengan karbon monoksida dalam proporsi yang sama seperti dengan oksigen, tetapi afinitas molekul hemoglobin untuk karbon monoksida 210 kali lebih besar. Afinitas yang meningkat ini menghasilkan *pengikatan karbon monoksida ke hemoglobin untuk membentuk karboksihemoglobin*, bahkan pada konsentrasi karbon monoksida sangat rendah. Molekul tersebut membentuk senyawa yang sangat stabil, yang membuat hemoglobin tidak berfungsi dalam transportasi oksigen. Karboksihemoglobin menggantikan oksigen dan menyebabkan hipoksia jaringan.

Kadar karboksihemoglobin normal adalah 1% hingga 3% sebagai hasil produksi karbon monoksida endogen oleh katabolisme heme dan paparan karbon monoksida lingkungan tingkat rendah. Kadar yang sedikit meningkat dapat ditemukan pada orang yang merokok, yaitu rata-rata 5% per pak merokok per hari. Peningkatan kadar kronis dapat dikaitkan dengan

peningkatan produksi eritrosit. Kadar saturasi karboksihemoglobin 20% sampai 30% menghasilkan gejala pusing, mual, sakit kepala, dan kelemahan otot. Keracunan akut, yang dimulai pada kadar 15% hingga 20%, akan menghasilkan saturasi lebih dari 40%, yang dapat menyebabkan hilangnya kesadaran secara tiba-tiba dan kematian yang cepat. Pengobatan keracunan karbon monoksida adalah oksigen tambahan, yang mempercepat disosiasi karbon monoksida dari hemoprotein yang berhubungan langsung dengan tekanan parsial oksigen.

Sulfhemoglobin. Varian hemoglobin ini mengandung belerang. Secara in vitro dengan adanya oksigen, hemoglobin bereaksi dengan hidrogen sulfida untuk membentuk turunan kehijauan yang disebut sulfhemoglobin. Pembentukan varian ini menghasilkan perubahan yang tidak dapat diubah di rantai polipeptida pada molekul hemoglobin karena stres oksidan, dan perubahan lebih lanjut dapat mengakibatkan denaturasi dan pengendapan hemoglobin sebagai badan Heinz.

Sulfhemoglobin tidak dapat mengangkut oksigen, tetapi dapat bergabung dengan karbon monoksida untuk membentuk karboksisulfhemoglobin. Sulfhemoglobin dapat dibentuk oleh reaksi pengoksidasi tertentu obat-obatan seperti phenacetin dan sulfonamides pada hemoglobin, dalam kasus pengobatan bakteremia yang disebabkan oleh *Clostridium welchii* dan sianosis enterogen. Konsentrasi sulfhemoglobin in vivo biasanya kurang dari 1% dan jarang melebihi 10% dari hemoglobin total pasien. Konsentrasi yang meningkat mengakibatkan sianosis, yang biasanya tidak menunjukkan gejala.

Methemoglobin. Methemoglobin adalah varian hemoglobin, dengan besi yang tidak mampu bergabung dengan oksigen. Hal ini dapat mengakibatkan cacat metabolisme atau mungkin terjadi struktur molekul hemoglobin abnormal karena pewarisan sifat dominan autosomal. Perubahan ditentukan secara genetik dalam komposisi asam amino baik dari rantai alfa atau beta globulin, yang menghasilkan molekul hemoglobin, dan cenderung meningkat ke arah oksidasi dan penurunan kerentanan methemoglobin yang terbentuk untuk direduksi kembali menjadi hemoglobin. Berbagai bentuk genetik perubahan yang disebut sebagai gangguan methemoglobin biasanya menghasilkan sianosis asimtomatik.

Biasanya sejumlah 2% methemoglobin terbentuk setiap hari. Pada konsentrasi ini hemoglobin abnormal tidak berbahaya karena penurunan kemampuan eritrosit untuk membawa oksigen tidak signifikan. Konsentrasi methemoglobin yang lebih tinggi biasanya dihindari karena adanya pereduksi sistem.

Sianosis berkembang jika kadar methemoglobin melebihi 10%, dan hipoksia berkembang jika kadarnya melebihi 60%. Selain alasan genetik, peningkatan produksi methemoglobin dapat dihasilkan dari kondisi lingkungan seperti, paparan obat-obatan tertentu dan bahan kimia oksidan. Satu kali saja agen penyebab dihilangkan, maka methemoglobin menghilang dengan cepat. Bayi lebih rentan terhadap produksi methemoglobin karena hemoglobin F lebih mudah diubah menjadi methemoglobin. Selain itu,

eritrosit bayi kekurangan enzim pereduksi yang dibutuhkan. Jumlah senyawa nitrit yang tinggi dalam makanan, air, atau obat-obatan dapat menyebabkan peningkatan kadar methemoglobin pada bayi.

F. FUNGSI HEMOGLOBIN

Transportasi oksigen adalah fungsi utama molekul hemoglobin. Selain itu struktur hemoglobin dapat menarik karbondioksida dari jaringan, serta menjaga darah pada pH yang seimbang. Satu molekul hemoglobin dapat mengikat satu molekul oksigen di lingkungan yang kaya oksigen, yaitu di alveoli paru-paru. Hemoglobin memiliki afinitas yang tinggi terhadap oksigen di paru-paru, karena pada jaringan kapiler di paru-paru terjadi proses difusi oksigen yang cepat. Sebagai molekul transit (deoksihemoglobin) pada sirkulasi darah, molekul hemoglobin mampu mentransport oksigen dan membongkar/memberikan oksigen ke jaringan di daerah yang afinitas oksigennya rendah. Pada proses ini terjadi perubahan molekul yang dipengaruhi oleh 2,3-DPG, yang berada di pusat molekul.

Pengikatan dan pelepasan oksigen dari molekul hemoglobin ditentukan oleh kurva disosiasi oksigen. Pada kurva disosiasi, dapat terjadi “pergeseran ke kanan” atau “pergeseran ke kiri”. Ketika kurva bergeser ke kanan, hemoglobin memiliki afinitas yang lebih sedikit terhadap oksigen dan lebih cenderung untuk melepaskan oksigen ke jaringan.

Latihan

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

1) Jelaskan apa yang anda pahami tentang hemoglobin (Hb) !
2) Jelaskan struktur dari hemoglobin (Hb)!
3) Jelaskan mekanisme sintesis hemoglobin (Hb)!
4) Jelaskan jenis-jenis dari hemoglobin (Hb)!
5) Jelaskan bentuk varian hemoglobin (Hb) norma !

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi tentang pengertian Hemoglobin (Hb).
2) Pelajari kembali materi tentang struktur hemoglobin (Hb).
3) Pelajari kembali materi tentang sintesis hemoglobin (Hb).
4) Pelajari kembali materi tentang jenis-jenis hemoglobin (Hb).
5) Pelajari kembali materi tentang bentuk varian hemoglobin (Hb).

Ringkasan

Hemoglobin (Hb) merupakan zat protein yang terdapat dalam sel darah merah (eritrosit) yang memberi warna merah pada darah, dan merupakan pengangkut oksigen dan karbondioksida utama dalam tubuh. Hemoglobin terdiri dari dua bagian utama yaitu heme dan globin. Setiap molekul hemoglobin memiliki 4 gugus heme identik yang melekat pada 4 rantai globin. Struktur hemoglobin terdiri dari struktur heme yang mengandung 4 atom besi dalam bentuk ferro (Fe^{2+}) yang dikelilingi oleh cincin protoporfirin IX, dan globin yang merupakan asam amino yang dihubungkan bersama untuk membentuk rantai polipeptida, serta struktur tambahan yaitu 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG), yaitu suatu zat yang dihasilkan dari jalur glikolisis yang anaerob.

Ada tiga jenis hemoglobin yang disintesis, yaitu hemoglobin embrio, hemoglobin janin, dan hemoglobin dewasa. Masing-masing jenis hemoglobin memiliki pengaturan khusus pada rantai globin, dan setiap rantai globin berada di bawah pengaruh kromosom tertentu. Bentuk varian dari hemoglobin normal meliputi Karboksihemoglobin, sulfhemoglobin, dan methemoglobin, yang ditandai hanya oleh molekul yang menggantikan oksigen. Fungsi hemoglobin yang utama adalah sebagai pengangkut oksigen, selain itu juga menarik karbondioksida dari jaringan, dan menjaga darah pada pH yang seimbang.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Ada tiga jenis hemoglobin yang disintesis, yaitu hemoglobin embrio, hemoglobin janin, dan hemoglobin dewasa. Contohnya hemoglobin tipe Gower I, Gower II, dan Portland. Termasuk jenis hemoglobin apakah tipe hemoglobin tersebut?
   A. Hemoglobin janin
   B. Hemoglobin F
   C. Hemoglobin embrionik
   D. Hemoglobin terglikosilasi
   E. Hemoglobin dewasa

2) Bentuk varian dari hemoglobin normal antara lain berupa hemoglobin yang mengikat molekul dengan membentuk senyawa yang sangat stabil, yang membuat hemoglobin tidak berfungsi dalam transportasi oksigen, dan dapat menyebabkan hipoksia jaringan. Varian Hb normal apakah yang dimaksud?

A. Karboksihemoglobin
B. Sulfhemoglobin
C. Methemoglobin
D. Sianhemoglobin
E. Sianmethemoglobin

3) Ada jenis hemoglobin yang stabil dan secara struktural sama dengan hemoglobin A, kecuali ada penambahan gugus karbohidrat pada terminal rantai beta valin. Termasuk jenis hemoglobin apakah tipe hemoglobin tersebut?
A. Hemoglobin janin
B. Hemoglobin F
C. Hemoglobin embrionik
D. Hemoglobin terglikosilasi
E. Hemoglobin dewasa

4) Struktur hemoglobin terdiri dari struktur utama dan struktur tambahan. Struktur utama adalah heme dan globin yang dapat disintesis dari besi dan asam amino. Struktur tambahan adalah suatu zat yang dihasilkan dari jalur glikolisis yang anaerob. Apakah zat yang dimaksud?
A. Cincin protoporfirin
B. Gamma globin
C. Beta globin
D. Alfa globin
E. 2,3-DPG

5) Salah satu jenis hemoglobin ada yang digunakan untuk memantau pengendalian diabetes karena konsentrasi hemoglobin ini secara akurat mencerminkan kadar glukosa darah pasien selama minggu-minggu sebelumnya. Hemoglobin apakah yang dimaksud?
A. Hb F
B. Hb A
C. Hb A1
D. Hb tipe Gower 1
E. Hb tipe Gower 2

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 4
Leukosit

Leukosit dapat dibagi menjadi dua kelompok besar berdasarkan fungsinya, yaitu fagosit dan imunosit. Fagosit mencakup neutrofil, eosinofil, basofil, dan monosit. Sedangkan imunosit mencakup limfosit. Berdasarkan formologinya leukosit dibagi menjadi dua, yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit mencakup tiga jenis sel leukosit yaitu neutrofil, eosinofil, basofil. Agranulosit mencakup monosit dan limfosit.

Leukosit dalam sirkulasi perifer, secara morfologis dan fungsional, normalnya terdiri dari tiga jenis populasi tersendiri, yaitu granulosit, limfosit, dan monosit. Karakteristik morfologis nukleus dan sitoplasma sel-sel ini menentukan kategori spesifik dan tingkat pematangannya. Leukosit berada dalam sirkulasi darah untuk melintas saja menuju ke lokasi lain, karena leukosit tidak mempunyai fungsi di dalam pembuluh darah.

A. PENGERTIAN SEL LEUKOSIT

Beberapa jenis leukosit atau sel darah putih terdapat di dalam darah. Leukosit pada umumnya dibagi menjadi granulosit, yang mempunyai granula khas, dan agranulosit yang tidak mempunyai granula khas. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit. Meskipun leukosit merupakan sel darah, tetapi fungsinya lebih banyak dilakukan di dalam jaringan. Leukosit di dalam darah hanya bersifat sementara mengikuti aliran darah ke seluruh tubuh. Apabila terjadi peradangan di jaringan tubuh, leukosit akan bermigrasi menuju jaringan yang mengalami peradangan dengan menembus dinding pembuluh darah (kapiler).

Secara umum, leukosit memiliki ukuran lebih besar dari eritrosit, tidak berwarna, dan dapat melakukan pergerakan dengan adanya kaki semu *(pseudopodia),* masa hidup 13 sampai 20 hari. Jumlah leukosit paling sedikit di dalam tubuh sekitar 4000 sampai 11.000 per milimeter kubik darah.

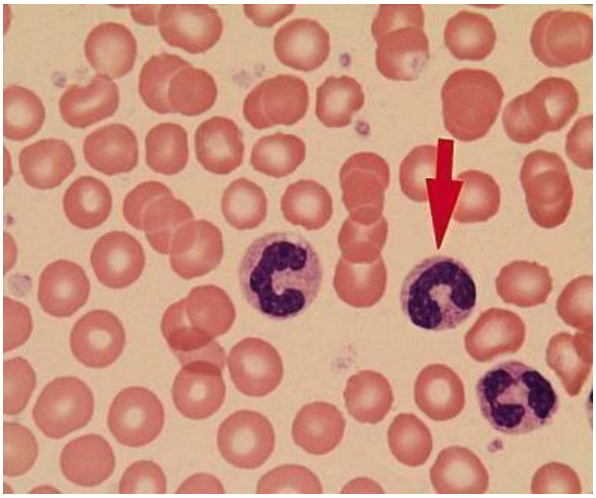
B. MORFOLOGI DAN FUNGSI SEL LEUKOSIT

Di dalam sitoplasma sel leukosit, ada kelompok sel leukosit yang memiliki butir-butir yang disebut granula. Granula ini berasal dari lisosom, dan kelompok sel leukosit yang bergranula ini disebut granulosit. Selain itu, ada juga kelompok sel leukosit yang tidak bergranula dan disebut agranulosit. Kelompok granulosit mencakup neutrofil, eosinofil, dan basofil, sedangkan kelompok agranulosit mencakup monosit dan limfosit.

1. Neutrofil

Neutrofil adalah jenis sel leukosit yang paling banyak di antara jenis-jenis sel leukosit. Ada dua jenis neutrofil yaitu neutrofil stab (batang) dan neutrofil segmen. Neutrofil stab mempunyai inti berbentuk tapal kuda. Neutrofil stab (neutrofil batang) merupakan bentuk muda dari neutrofil segmen, seiring dengan proses pematangan, bentuk inti akan bersegmen, dan menjadi neutrofil segmen. Jumlah neutrofil stab di dalam darah sekitar 1 sampai 5 persen dari keseluruhan sel leukosit.

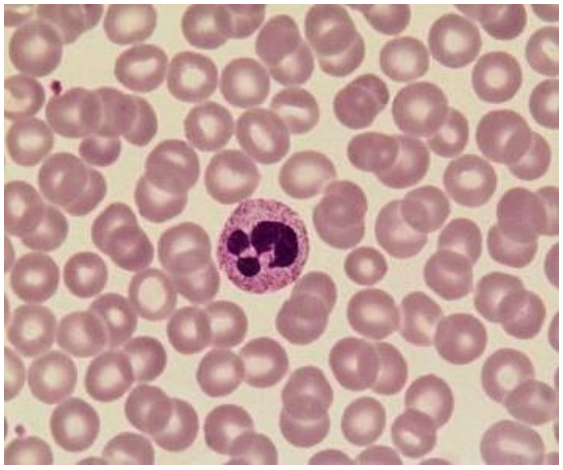
Morfologi neutrofil stab (neutrofil batang) memiliki ukuran sel 14 - 20 µm. Bentuk sel oval atau bulat. Warna sitoplasma pink. Granularitas sedikit azurofilik neutrofilik. Bentuk inti lonjong, semicircular. Tipe kromatin padat azurofilik neutrofilik. Ratio inti/sitoplasma rendah atau sangat rendah. Nukleoulus tak terlihat. Keberadaan di dalam darah < 5%, dan di dalam sumsum tulang 5 - 20%.



Gambar 1.15
Morfologi neutrofil stab

Neutrofil segmen sering disebut juga neutrofil polimorfonuklear. Disebut demikian karena inti selnya terdiri dari beberapa segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam dan dihubungkan dengan benang kromatin. Jumlah lobus pada neutrofil segmen sebanyak 3 sampai 6 lobus, dan bila lebih dari 6 lobus disebut neutrofil hipersegmen. Granula pada sitoplasma nampak tipis dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah neutrofil segmen di dalam darah sekitar 50 sampai 70 persen dari keseluruhan sel leukosit.

Morfologi neutrofil segmen memiliki ukuran sel 14 - 20 µm. Bentuk sel oval atau bulat. Warna sitoplasma pink. Granuaritas sedikit azurofilik neutrofilik. Bentuk inti nerlobus (normal kurang dari 5 lobus). Nukleolus tak terlihat. Keberadaan di dalam darah 40 - 75 %, dan di dalam sumsum tulang 5 - 20% (Gambar 1.16).



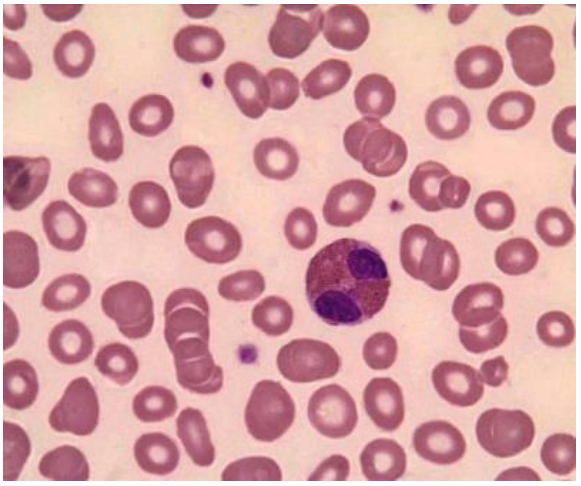
Gambar 1.16
Morfologi Neutrofil Segmen

Fungsi utama neutrofil adalah sebagai fagositosis benda-benda asing yang berukuran kecil (mikrofag), misalnya bakteri. Neutrofil merupakan bentuk pertahanan tubuh yang utama untuk melawan bakteri. Neutrofil berada di dalam darah sekitar 6 sampai 10 jam dan dapat hidup di dalam jaringan ekstravaskuler selama 1 sampai 4 hari. Bila sudah bermigrasi ke dalam jaringan ekstravaskuler, neutrofil tidak dapat kembali ke dalam darah. Pada keadaan stres atau infeksi, jumlah neutrofil di sepanjang permukaan endotel pembuluh darah (*marginating pool*) dapat dengan cepat berubah.

2. Eosinofil

Sitoplasma pada eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah orange (*eosinofilik*) yang tampak jelas pada sediaan apus darah tepi. Inti sel eosinofil bersegmen, biasanya memiliki dua lobus, mirip dengan neutrofil segmen, dengan ukuran sel mencapai 16 µm.

Morfologi eosinofil memiliki ukuran sel 15 - 25 µm. Bentuk inti lobulated, semisirkular. Tipe kromatin padat. Ratio inti/sitoplasma rendah atau sangat rendah. Nukleolus tidak tampak. Keberadaan di dalam darah sejumlah 2 - 4%, dan di dalam sumsum tulang < 2% (Gambar 1.17).



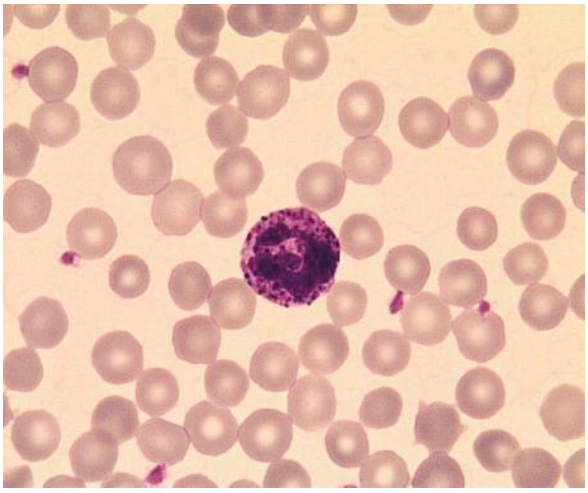
Gambar 1.17
Morfologi eosinofil

Fungsi eosinofil juga sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terutama terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Eosinofil merupakan fagosit paling lemah yang dapat berkumpul di dalam jaringan membentuk reaksi antigen antibody. Karena kemampuan eosinofil untuk memfagositosis kompleks antigen antibodi, menyebabkan eosinofil dapat meningkat pada reaksi alergi. Selain itu eosinofil dapat meningkat pada infeksi cacing, pembuangan fibrin pada masa peradangan, dan masuknya protein asing (antigen). Masa hidup eosinofil 8 sampai 12 jam. Jumlah eosinofil di dalam darah 2 sampai 4 persen dari keseluruhan sel leukosit.

3. Basofil

Sitoplasma pada basofil mengandung granula kasar bersifat basofilik berwarna ungu atau biru tua, dan sering menutupi inti. Inti basofil bersegmen. Ukuran basofil sekitar 14 µm. Basofil merupakan jenis sel leukosit yang paling sedikit jumlahnya, yaitu sekitar 0 sampai 1 persen dari keseluruhan sel leukosit. Granula pada basofil mengandung heparin yang berfungsi sebagai antikoagulan di dalam darah, histamin, dan substansi anafilaksis (bradikinin dan serotonin).

Basofil berperan dalam reaksi hipersensitivitas yang berhubungan dengan imunoglobulin E (IgE). Morfologi basofil memiliki ukuran sel 12 - 18 µm. Bentuk sel bulat atau oval. Warna sitoplasma merah jambu, ditutupi granula dan nukleus. Granularitas basofilik gelap, ukuran bervariasi. Jumlah bervariasi. Bentuk inti berbentuk oval pada basofil muda dan berbentuk lobular pada basofil dewasa. Tipe kromatin padat, pucat. Ratio inti/sitoplasma rendah atau sangat rendah. Nukleolus tidak tampak. Keberadaan dalam darah < 1%. dan di dalam sumsum tulang < 1% (Gambar 1.18).



Gambar 1.18
Morfologi Basofil

4. Limfosit

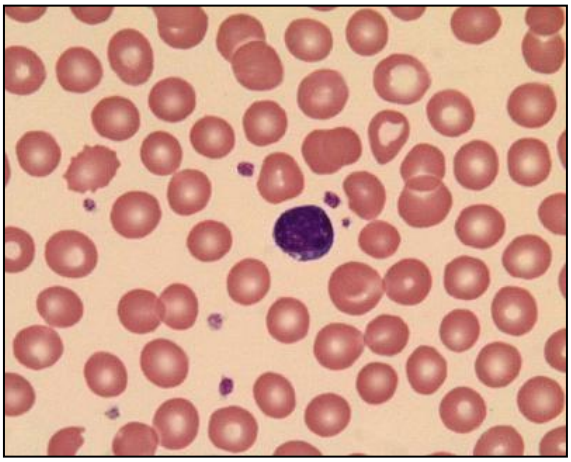
Limfosit merupakan jenis leukosit yang jumlahnya terbanyak kedua dari keseluruhan leukosit setelah neutrofil, yaitu sekitar 20 sampai 40 persen dari total leukosit. Jumlah limfosit pada anak-anak relatif lebih banyak dibandingkan pada orang dewasa. Jumlah limfosit akan meningkat pada infeksi virus.

Ada beberapa jenis limfosit berdasarkan ukurannya, yaitu:

a. *resting lymphocyte*, berukuran 7 sampai 10 µm (limfosit kecil), hampir sama dengan ukuran eritrosit, dengan inti sel berbentuk bulat atau oval; dan
b. *reactive (atypical) lymphocyte*, berukuran paling besar. Jumlahnya meningkat bila ada infeksi seperti mononukleosis. *Large granular lymphocyte*, berukuran lebih besar dibandingkan dengan limfosit kecil mengandung granula kasar azurofilik. Limfosit ini berperan sebagai sel natural killer (NK) pada sistem imunitas tubuh.

Berdasarkan fungsinya, limfosit dibagi atas limfosit sel B dan limfosit sel T yang berkaitan dengan sistem imunitas humoral, dan berkembang di sumsum tulang. Selain berada di dalam darah, sel ini juga dapat ditemukan di dalam limfonodus, limpa, dan organ lainnya. Bila ada antigen, limfosit sel B akan menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi.

Morfologi limfosit memiliki ukuran 10 - 15 µm. Bentuk bulat, kadang-kadang oval. Warna sitoplasma biru. Granularitas tidak ada. Bentuk inti bulat atau agak oval. Tipe kromatin homogen padat. Rasio inti/sitoplasma tinggi atau sangat tinggi. Nukleolus hamper tidak terlihat, kadang-kadang ada terlihat satu nukleolus kecil. Distribusi di dalam darah 25 - 40%, dan di dalam sumsum tulang 5 - 20% (Gambar 1.19).



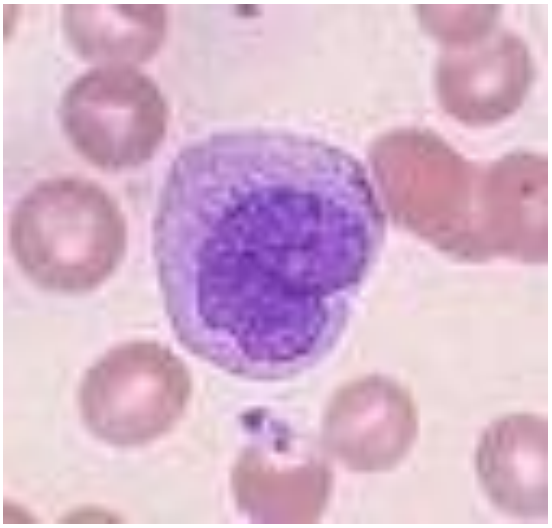
Gambar 1.19
Morfologi Limfosit

Limfosit B dan limfosit T tidak dapat dibedakan dalam pewarnaan Giemsa, karena keduanya memiliki morfologi yang sama dengan bentuk bulat, berukuran sekitar 12 µm, nukleus padat hampir menutupi seluruh sel sehingga sitoplasma sedikit dan tidak bergranula. Jumlahnya di dalam darah 25 sampai dengan 35 persen dari keseluruhan sel leukosit.

5. Monosit

Monosit merupakan jenis sel leukosit yang mempunyai ukuran paling besar, yaitu sekitar 18 µm, memiliki inti padat dan melipat seperti ginjal atau bulat seperti telur, dengan sitoplasma tidak mengandung granula, dan masa hidup 20 sampai 40 jam di dalam darah. Monosit yang masuk ke jaringan akan *mature* (matang) menjadi makrofag. Sel ini berfungsi sebagai fagosit mikroorganisme, khususnya jamur dan bakteri, serta benda asing lainnya, dan juga berperan dalam reaksi imun. Makrofag masa hidupnya mencapai bulanan sampai tahunan. Jumlah monosit sekitar 3 sampai 8 persen dari keseluruhan sel leukosit di dalam darah.

Morfologi monosit memiliki ukuran 12 - 16 µm, dan tidak ditemukan dalam sumsum tulang. Ratio inti/sitoplasma sama besar. Anak inti tidak ada. Inti memiliki kromatin padat dan terdapat lekukan. Sitoplasma tidak bergranula (Gambar 1.20).



Gambar 1.20
Morfologi monosit

C. LEUKOPOIESIS

Leukopoiesis adalah proses menghasil elemen-elemen seluler darah. Elemen seluler darah secara umum dihasilkan dari sel hematopoietik multipotensial. Sel progenitor ini mengalami pembelahan mitosis. Pematangan sel progenitor selanjutnya menghasilkan elemen seluler utama yang bersirkulasi di dalam darah yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit. Berdasarkan fungsinya, leukosit dapat dibagi menjadi seri granulositik, monositik, dan limfoid.

1. Seri Granulositik (Menghasilkan Neutrofil, Eosinofil, dan Basofil)

Granulopoiesis menghasilkan neutrofil, eosinofil, dan basofil. Faktor yang mengatur komitmen sel progenitor hematopoietik seorang manusia ke garis sel tertentu, seperti jenis sel granulositik, dan fungsinya dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan hematopoietik, interleukin, dan lingkungan mikro. Sel yang berkomitmen untuk berdiferensiasi sebagai granulosit telah dikloning secara *in vitro* dan telah menghasilkan campuran granulosit dan sel makrofag. Pertumbuhan lebih lanjut dari sel ini tergantung pada faktor perangsang koloni (CSF) dan interleukin. Kehadiran CSF yang berbeda mendukung interleukin, dan lingkungan mikro mendukung perkembangan diferensial sel progenitor baik seri granulositik (myeloid) atau seri makrofag-monositik.

2. Seri Monositik

Sel-sel dari sistem fagosit mononuklear meliputi: monosit dan makrofag. Makrofag memiliki berbagai nama, antara lain histiosit di jaringan ikat, sel Kupffer di sinusoid hati, osteoklas di tulang, dan sel mikroglial di sistem saraf. Nama sel berubah sesuai lokasi sel.

Namun, makrofag matang didistribusikan ke seluruh tubuh. Sel-sel ini, bersama dengan sel-sel retikuler dari limpa, timus, dan jaringan limfoid, secara kolektif disebut sebagai fagosit mononuklear.

D. PERKEMBANGAN DAN PEMATANGAN SERI GRANULOSITIK (NEUTROFIL, EOSINOFIL, DAN BASOFIL)

Perkembangan, distribusi, dan penghancuran neutrofil, eosinofil, dan basofil secara kolektif disebut sebagai kinetika granulositik. Neutrofil, basofil, dan eosinofil masing-masing dimulai sebagai sel multipotensial di sumsum tulang. Sepanjang proses diferensiasi normal, multiplikasi, dan pematangan, sel-sel ini tetap berada di tulang sumsum. Setelah berkembang menjadi *band/pita* atau terbentuk segmentasi, sel-sel dewasa masuk ke dalam sirkulasi darah.

Ketika sel progenitor unit pembentuk koloni-granulosit-eritrosit-megakariosit (CFU-GEMM) berdiferensiasi menjadi sel progenitor unit pembentuk koloni-granulosit-makrofag (CFU-GM), garis sel berkomitmen untuk berkembang menjadi mieloblas. Perkembangan maturasi dari mieloblas melalui tahap mielosit dan pembelahan mitosis terjadi di tempat yang disebut kompartemen proliferatif sumsum tulang.

Mieloblas adalah sel pertama yang dapat diidentifikasi dalam deret granulositik. Mieloblas membentuk sekitar 1% dari total sel sumsum tulang berinti. Tahap ini berlangsung kurang lebih 15 jam. Tahap selanjutnya, promielosit, yang merupakan sekitar 3% dari sumsum tulang berinti sel. Tahap ini berlangsung sekitar 24 jam. Mielosit adalah tahap pematangan berikutnya, dengan sekitar 12% dari sel-sel proliferatif yang ada pada tahap ini. Tahap dari mielosit ke metamielosit berlangsung rata-rata 4,3 hari. Setelah tahap proliferasi, granulosit memasuki tahap maturasi. Metamielosit dan bentuk pita matang menjadi granulosit tersegmentasi dalam kompartemen sumsum tulang. Proporsi relatif dari sel-sel ini masing-masing sekitar 45%, 35%, dan 20%. Di dalam sumsum tulang, neutrofil akan ada selama 4 hingga 8 hari. Fase pematangan neutrofil, selama 7 sampai 10 hari. Eosinofil tetap selama sekitar 2,5 hari, dan basofil sekitar 12 jam.

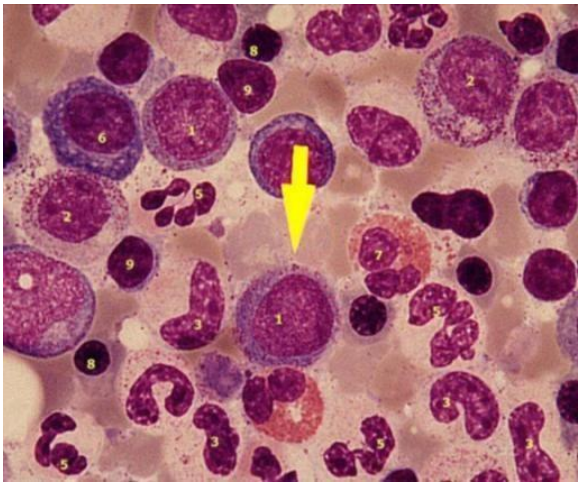
Urutan pematangan leukosit adalah sebagai berikut.

1. Mieloblas/Myeloblast

Urutan pematangan leukosit, prekursor granulositik paling awal yang dapat diidentifikasi secara morfologis adalah myeloblast. Sel ini memiliki diameter 10 sampai 18 µm. Kromatin inti sangat halus retikuler, dengan satu sampai lima nukleolus berwarna terang. Sitoplasma berwarna basofilik yang tidak memiliki granula.

Morfologi mieloblas yaitu memiliki ukuran 15 - 25 µm. Bentuk sel oval kadang-kadang bulat. Warna sitoplasma biru, tanpa halo perinuklear jelas atau dengan halo perinuklear melebar. Granulatitas sitoplasma nongranular atau sedikit granula azurofilik. Bentuk inti

biasanya oval, kadang-kadang tidak teratur dan jarang bulat. Tipe kromatin halus, dengan tampilan retikular, rasio inti/sitoplasma tinggi atau relatf tinggi. Nukleolus tampak, ukuran sedang atau besar 1 sampai 4, lebih terang dari kromatin. Distribusi dalam darah tidak ada, dan dalam sumsum tulang < 5%.



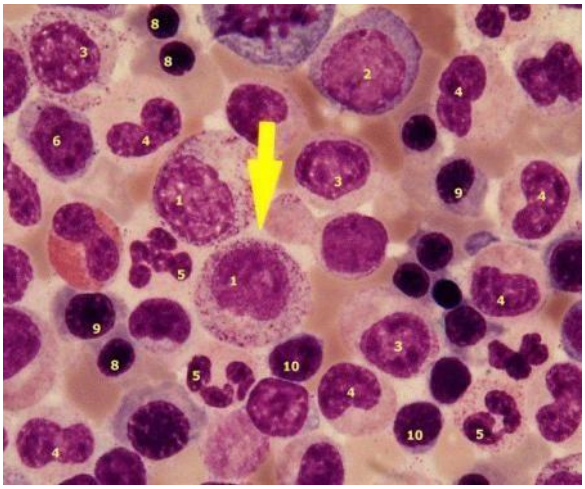
Gambar 1.21

Morfologi myeloblast dengan Pewarnaan May Grunwald-Giemsa (MGG)
dan perbesaran 1000 kali

2. Promielosit

Promielosit merupakan tahap pematangan kedua yang terlihat pada granulosit. Promielosit lebih besar dari tahap blast, dengan diameter rata-rata 14 sampai 20 µm. Rasio N: C lebih rendah di promielosit daripada di mieloblas. Kromatin inti lebih kasar daripada mieloblas, dan ada nukleolus. Sitoplasma berwarna biru keabu-abuan pucat.

Morfologi promielosit memiliki ukuran 15 - 30 µm. Bentuk sel oval atau bulat. Warna sitoplasma biru muda, dengan halo jelas. Granuatitas pekat azurofilik banyak. Bentuk inti oval. Tipe kromatin pada awal kondensasi, rasio inti/sitoplasma sedang, rendah, atau sangat rendah. Nukleolus tampak, ukuran sedang atau besar, lebih terang dari kromatin, berjumlah 1 sampai 2, kadang-kadang tidak terlihat. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang < 5% (Gambar 1.22).



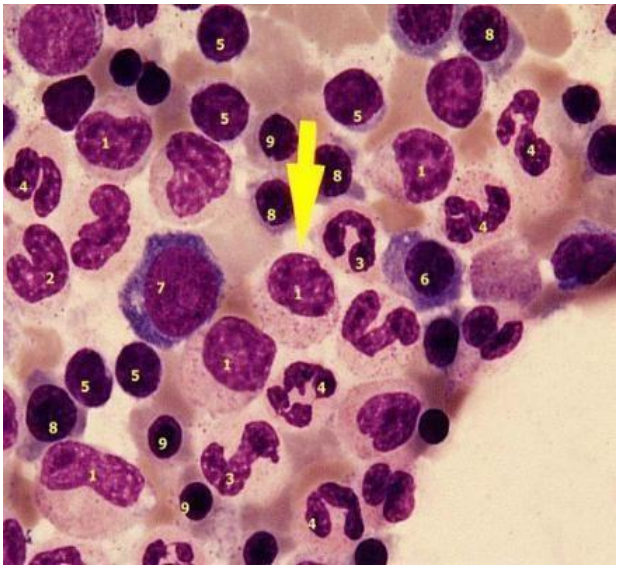
Gambar 1.22

Morfologi Promielosit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

3. Mielosit

Mielosit adalah tahap pematangan ketiga. Ciri khas sel ini dapat dikenali dari granulasi sitoplasma sekunder atau spesifik. Jenis sel yang berdiferensiasi menjadi neutrofil, eosinofil, dan basofil dikenali pada tahap ini. Neutrofilik butiran halus dan warna biru-merah muda dengan Wright. Granula eosinofilik lebih besar dari butiran neutrofilik. Butiran ini berbentuk bulat atau oval berwarna orange dan memiliki tekstur seperti kaca atau semiopak. Butiran basofilik memiliki warna biru tua kehitaman dan penampakan padat. Mielosit memiliki diameter rata-rata 12 hingga 18 µm. NS Rasio N : C terus menurun. Nukleus memiliki lebih banyak penampilan oval dari pada tahap sebelumnya, nukleolus tidak lama terlihat, dan kromatin jauh lebih menggumpal daripada tahap-tahap sebelumnya.

Morfologi mielosit memiliki ukuran 15 - 25 µm. Bentuk sel oval atau bulat. Warna sitoplasma biru muda atau merah jambu, dengan halo terlihat. Granuatitas banyak, azurofilik pekat, dan granulasi netrofil. Bentuk inti oval atau berbentuk ginjal. Tipe kromatin memadat sebagian. Ratio inti/sitoplasma rendah, atau sangat rendah. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang 5 - 20% (Gambar 1.23).



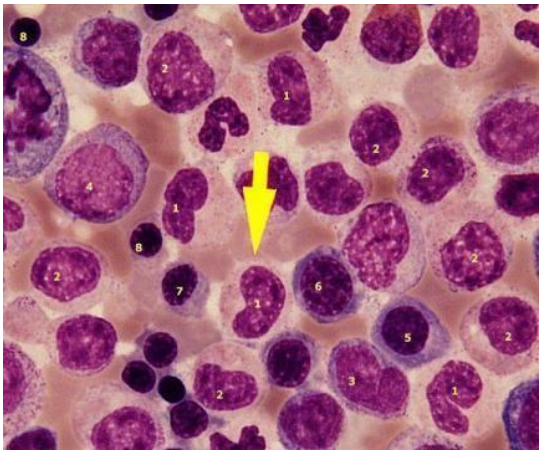
Gambar 1.23

Morfologi Mielosit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

4. Metamielosit

Metamielosit adalah tahap maturasi keempat. Fitur yang paling khas adalah bahwa nukleus mulai mengambil bentuk menjorok atau seperti kacang merah, yang akan terus memanjang saat sel matang melalui fase ini. Kromatin terus menjadi lebih kental atau mengelompok. Warna granulasi spesifik berlanjut menjadi ciri pembeda utama.

Morfologi metamielosit memiliki ukuran 14 - 20 µm. Bentuk sel oval atau bulat. Warna sitoplasma pink. Granuatitas sedikit azurofilik dan neutrofil, berbeda dalam jumlah. Bentuk inti lonjong, semisirkular. Tipe kromatin padat. Ratio inti/sitoplasma rendah, atau sangat rendah. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang 10 - 25%.



Gambar 1.24

Morfologi Metamielosit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

5. Bentuk Dewasa

Dua tahap granulosit dalam sirkulasi: bentuk pita dan bentuk tersegmentasi. NS bentuk pita memiliki inti memanjang yang khas. Neutrofil yang matang dan tersegmentasi memiliki karakteristik inti multilobus. Lobus yang terpisah dilekatkan satu sama lain oleh filamen seperti benang. Inti basofil mungkin sulit dilihat karena biasanya tertutup oleh butiran-butiran besar yang gelap. Bentuk pita neutrofil, eosinofil, dan basofil pada tahap akhir pematangan, neutrofil tersegmentasi, eosinofil, dan basofil merupakan bentuk sel yang biasanya ditemukan dalam darah yang bersirkulasi.

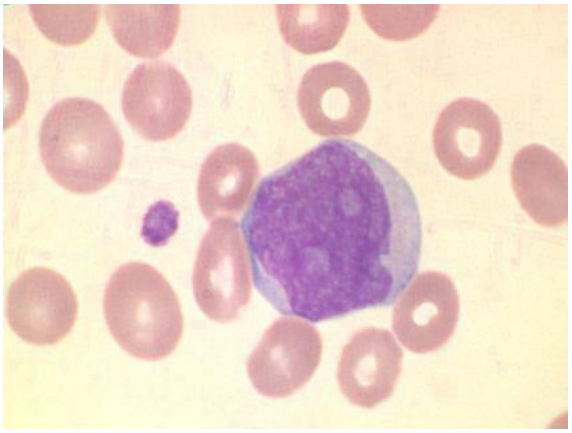
E. PERKEMBANGAN DAN PEMATANGAN SERI MONOSITIK

Sel-sel sistem makrofag terbentuk dari sel-sel progenitor di sumsum tulang. Sel-sel ini berasal dari CFU-GM, yang dapat berdiferensiasi menjadi unit pembentuk koloni megakariosit (CFU-M) dan berkembang menjadi monosit atau makrofag atau unit pembentuk koloni granulosit (CFU-G) dan berkembang menjadi neutrofil tersegmentasi. Sel monosit dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan hematopoietik untuk berubah menjadi makrofag dalam jaringan. Secara fungsional, monosit dan makrofag memiliki peran utama sebagai fagositosis, disamping memiliki fungsi sekretori.

Berbeda dengan leukosit granulositik, promonosit akan mengalami dua atau tiga pembelahan mitosis dalam waktu sekitar 2 sampai 2,5 hari. Monosit dilepaskan ke sirkulasi darah dalam waktu 12 hingga 24 jam setelah prekursornya menyelesaikan pembelahan mitosis terakhir mereka. Rasio sel-sel yang bersirkulasi dengan sel-sel yang termarginasi adalah 1 : 3,5. Monosit diperkirakan memiliki waktu paruh sirkulasi sekitar 8,5 jam. Rentang hidup monosit jaringan adalah bervariasi. Namun, sel-sel di daerah non-inflamasi telah terbukti hidup selama berbulan-bulan hingga bertahun-tahun.

Karakteristik Morfologis. Identifikasi morfologi monosit lebih sulit daripada neutrofilik, eosinofilik, atau granulosit basofilik. Morfologi monoblas, promonosit (monosit muda), dan monosit sangat bervariasi. Seri monositik memang memiliki pola kromatin inti yang khas. Kromatin menggumpal, meskipun gumpalannya lebih kecil dan lebih banyak memanjang daripada di neutrofil. Pola ini dapat digambarkan seperti renda. Bentuk nukleus monosit bulat atau oval, tetapi sering berbelit-belit atau bengkok. Monosit matur terlihat terbesar pada darah tepi. Penampakan garis sitoplasma yang tidak teratur. Penyimpangan sitoplasma ini dapat mencakup: pseudopoda. Vakuola juga sering teramati. Secara klasik, sitoplasma berwarna biru keabu-abuan, dengan granulasi halus menyerupai ground glass.

Morfologi monoblas memiliki ukuran 12 - 20 µm. Monoblas tidak ditemukan dalam darah, tetapi ditemukan dalam sumsum tulang. Monoblas merupakan prekursor dari monosit. Ratio inti/sitoplasma 3 : 1 atau 4 : 1. Anak inti 1 - 4 buah. Inti memiliki kromatin halus dan terdapat lekukan. Sitoplasma tidak bergranula dan berwarna sedikit basofil.



Gambar 1.24
Morfologi Monoblas dengan Pewarnaan MGG

F. PERKEMBANGAN DAN PEMATANGAN SEL LIMFOSIT

Selain aktivitas granulosit, monosit, dan makrofag, limfosit dan sel plasma bekerja sama dalam pertahanan tubuh melawan penyakit melalui pengenalan antigen dan produksi antibodi. Pada masa embrio, limfosit berasal dari sel pluripotensial, sel-sel prekursor dari *yolk sac* dan hati. Selama masa janin dan sepanjang siklus hidup, sumsum tulang menjadi satu-satunya sebagai sel hematopoietik.

Perkembangan sel di bawah pengaruh faktor pertumbuhan hematopoietik interleukin-1 (IL-1) dan IL-6, selanjutnya berdiferensiasi menjadi sel induk limfoid. Perkembangan seluler dari prekursor limfoid dan proliferasi terjadi saat sel melakukan perjalanan ke lingkungan mikro tertentu. Faktor pertumbuhan hematopoietik mempunyai peran penting dalam diferensiasi menjadi jalur sel pra-B atau protimosit. Sebagian besar berdiferensiasi menjadi limfosit T atau limfosit B. Sel plasma adalah sel B yang berdiferensiasi.

Jaringan Limfoid Primer. Baik sumsum tulang maupun timus diklasifikasikan sebagai jaringan limfoid primer atau sentral dan aktif dalam limfopoiesis. Sel induk yang bermigrasi ke timus berproliferasi dan berdiferensiasi di bawah pengaruh sitokin spesifik. Sel-sel ini memperoleh *thymus-dependent* karakteristik untuk menjadi imunokompeten (mampu berfungsi dalam respon imun) limfosit T.

Jaringan Limfoid Sekunder. Jaringan limfoid sekunder meliputi kelenjar getah bening, limpa, dan bercak Peyer di usus. Proliferasi limfosit T dan B di jaringan limfoid sekunder atau perifer terutama bergantung pada stimulasi antigenik.

Limfosit T atau sel T terletak di:

1. daerah *perifollicular* dan *paracortical* dari kelenjar getah bening;
2. tali meduler kelenjar getah bening;
3. daerah periarteriolar limpa; dan
4. saluran toraks dari sistem peredaran darah

Limfosit B atau sel B berkembang biak dan mengisi situs-situs berikut:

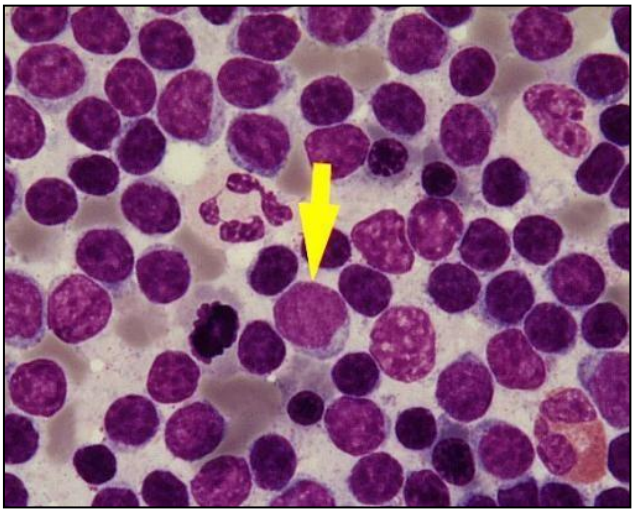
1. area folikular dan meduler (pusat germinal) kelenjar getah bening;
2. folikel primer dan pulpa merah limpa;
3. daerah folikel jaringan limfoid terkait usus (GALT); dan
4. tali meduler kelenjar getah bening

Tahapan perkembangan limfosit adalah: limfoblas, prolimfosit, dan limfosit *mature*. Secara normal, hanya limfosit dewasa yang ditemukan dalam darah tepi. Sel dewasa dapat diklasifikasikan sebagai besar atau kecil. Meskipun sel T dan B tidak dapat dibedakan dengan pewarnaan Romanowsky, sebagian besar limfosit kecil adalah sel T dan sebagian besar limfosit adalah sel B.

1. Limfoblas

Limfoblas adalah sel yang pertama secara morfologis yang diidentifikasi dari seri pematangan limfositik di sumsum tulang. Ukuran sekitar 15 hingga 20 µm, dengan rasio nukleus-sitoplasma (N : C) 4 : 1. Bentuk inti adalah bulat atau oval. Satu atau dua nukleolus mungkin ada. Pola kromatinnya halus. Sejumlah kecil sitoplasma berwarna biru. Tidak ada granula.

Morfologi limfoblas memiliki ukuran 12 - 18 µm. Bentuk bulat kadang-kadang oval. Warna sitoplasma biru. Granuatitas tidak ada. Bentuk inti bulat. Tipe kromatin homogen. Ratio inti/sitoplasma tinggi. Nukleolus terlihat, dengan ukuran kecil atau sedang, lebih terang daripada kromatin 1 sampai 2. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang < 1%.



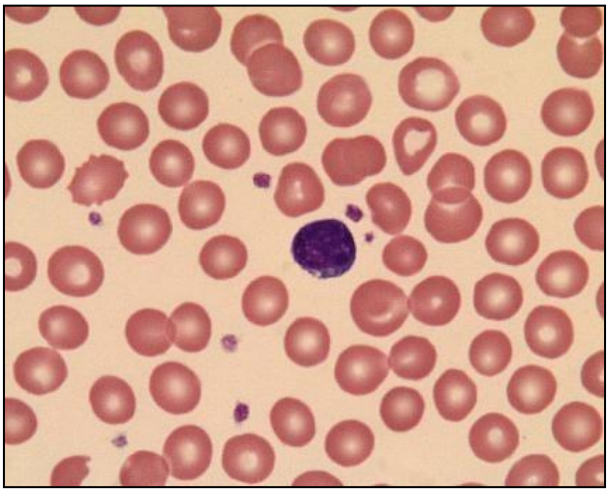
Gambar 1.25
Morfologi dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

2. Prolimfosit

Tahap kedua dalam perkembangan maturasi limfosit adalah prolimfosit sel ini berada di sumsum tulang, timus, dan jaringan limfoid sekunder. Ukuran 15 sampai 18 µm. Rasio N : C berkisar dari 4 : 1 hingga 3 : 1. Bentuk inti biasanya oval atau sedikit menjorok. Jumlah nukleolus bervariasi dari tidak ada sampai satu. Pola kromatin sedikit padat. Jumlah kecil dari sitoplasma berwarna biru sedang dengan tepi tipis berwarna biru gelap. Beberapa butiran azurofilik mungkin ada.

3. Limfosit Dewasa

Limfosit dewasa memiliki berbagai ukuran dari besar (17 hingga 20 mm) pada sel yang lebih muda hingga kecil (6 hingga 9 mm) pada sel yang lebih tua. Rasio N : C berkisar dari 2 : 1 pada sel yang lebih muda hingga 4 : 1 hingga 3 : 1 pada sel yang lebih tua. Nukleus berbentuk bulat atau oval dan mungkin memiliki lekukan (celah). Nukleolus tidak terlihat. Pola kromatin padat dan tampak menggumpal. Sitoplasma berwarna biru langit terang dan sangat sedikit. Beberapa butiran azurofilik mungkin ada.



Gambar 1.26
Morfologi dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

Latihan

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

1) Jelaskan apa yang anda pahami tentang sel leukosit!
2) Buatlah tabel perbandingan morfologi dan ciri-ciri dari jenis-jenis sel leukosit!
3) Jelaskan fungsi masing-masing jenis sel leukosit!
4) Jelaskan proses perkembangan dan pematangan dari sel leukosit seri granulositik!
5) Jelaskan proses perkembangan dan pematangan dari sel leukosit seri monositik!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi tentang pengertian sel leukosit.
2) Pelajari kembali materi tentang jenis-jenis sel leukosit.
3) Pelajari kembali materi tentang fungsi sel leukosit .
4) Pelajari kembali materi tentang leukopoeisis .tentang Materi Metabolisme Sel.

Ringkasan

Beberapa jenis leukosit atau sel darah putih terdapat di dalam darah. Leukosit pada umumnya dibagi menjadi granulosit, yang mempunyai granula khas, dan agranulosit yang tidak mempunyai granula khas. Granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit.

Setiap jenis sel leukosit mempunyai morfologi yang spesifik, dan mempunyai fungsi masing-masing. Semua jenis sel leukosit akan berfungsi setelah keluar dari darah dan masuk ke dalam jaringan tertentu. Tahapan perkembangan dan pematangan seri granulositik meliputi mieloblas, promielosit, mielosit, metamielosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil. Tahapan perkembangan dan pematangan seri monositik meliputi monoblas, promonosit, dan monosit. Tahapan perkembangan dan pematangan seri limfositik meliputi limfoblas, prolimfosit, dan limfosit.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Fungsi sel leukosit di dalam tubuh adalah melindungi tubuh terhadap masuknya antigen, salah satunya dengan cara memfagositosis benda-benda asing yang berukuran kecil (mikrofag), misalnya bakteri. Jenis sel leukosit manakah yang mempunyai fungsi tersebut?
   A. Monosit
   B. Limfosit
   C. Neutrofil
   D. Eosinofil
   E. Basofil

2) Jenis sel leukosit di dalam darah ada beberapa macam, dengan ciri yang khas masing-masing, salah satunya adalah mempunyai ukuran paling besar sekitar 18 µm, inti padat dan melipat seperti ginjal atau bulat seperti telur, sitoplasma tidak mengandung granula. Jenis sel leukosit apakah yang mempunyai ciri tersebut?
   A. Monosit
   B. Limfosit
   C. Neutrofil
   D. Eosinofil
   E. Basofil

3) Karena kemampuannya untuk memfagositosis kompleks antigen antibodi, menyebabkan jenis sel leukosit ini dapat meningkat pada reaksi alergi. Sel apakah yang dimaksud?
   A. Monosit
   B. Limfosit
   C. Neutrofil
   D. Eosinofil
   E. Basofil

4) Secara garis besar sel leukosit dikelompokkan menjadi dua yaitu granulosit dan agranulosit. Kelompok agranulosit merupakan kelompok sel leukosit yang tidak bergranula pada sitoplasmanya. Berikut ini sel manakah yang masuk kelompok agranulosit?
   A. Neutrofil stab
   B. Neutrofil segmen
   C. Eosinofil
   D. Limfosit
   E. Basofil

5) Pada seri granulosit, sel ini dalam urutan pematangan merupakan prekursor granulositik paling awal yang dapat diidentifikasi secara morfologis, sel ini memiliki diameter 10 sampai 18 µm. Kromatin inti sangat halus retikuler, dengan satu sampai lima nukleolus berwarna terang. Sitoplasma berwarna basofilik yang tidak memiliki granula. Apakah nama sel yang tersebut?
   A. Mielosit
   B. Metamielosit
   C. Promielosit
   D. Mieloblas
   E. Neutrofil

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 5
Trombosit

Trombosit merupakan hasil fragmentasi dari sitoplasma sel megakariosit, suatu sel muda besar yang ada di sumsum tulang. Megakariosit matang ditandai oleh proses replikasi endomiotik inti dan makin besarnya volume plasma, sehingga sitoplasma menjadi granular dan terjadi pelepasan trombosit. Setiap megakariosit mampu menghasilkan 3000 sampai 4000 trombosit. Mulai dari diferensiasi *stemcell* sampai dihasilkan trombosit memerlukan waktu sekitar 10 hari. Umur trombosit di dalam darah perifer 7 sampai 10 hari.

Produksi trombosit di bawah kontrol zat humoral yang dikenal sebagai trombopoietin. Sifat dan tempat pembentukkan trombopoietin belum diketahui, kadarnya meningkat pada pasien trombositopenia. Produksi trombosit dapat ditingkatkan dengan menaikkan jumlah megakariosit dan volume rata-rata (mean volume) atau unit nuklear dari populasi megakariosit total.

A. PENGERTIAN SEL TROMBOSIT

Trombosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1 sampai 4 µm, memiliki volume 7 sampai 8 fL. Trombosit dapat dibagi dalam 3 daerah (zona), yaitu zona daerah tepi berperan dalam fungsi adhesi dan agregasi, zona "sol gel" berfungsi menunjang struktur dan mekanisme interaksi trombosit, serta zona organel berperan dalam pengeluaran isi trombosit. Trombosit berada dalam darah perifer setelah diproduksi dari sitoplasma sel megakariosit. Sel megakariosit merupakan sel terbesar dalam sumsum tulang.

Fungsi utama trombosit adalah dalam pembentukkan sumbat trombosit (*platelet plug*) sebagai respons hemostatik normal terhadap luka vaskuler, melalui reaksi adhesi, pelepasan, agregasi, dan fusi, serta aktifitas prokoagulannya. Jumlah trombosit normal menurut Deacie yaitu 150 sampai 400 X 10^3/µL. Bila menggunakan metode Rees Ecker, nilai trombosit normal 140 sampai 340 X 10^3/µL.

Tepat di bawah membran sel adalah serangkaian filamen submembran dan mikrotubulus yang membentuk sel sitoskeleton. Selain menyediakan struktur untuk mempertahankan bentuk diskoid yang bersirkulasi dari sel, sitoskeleton juga mempertahankan posisi organel. Sebuah sistem mikro sekunder berfungsi pada organisasi internal dan sekresi produk pembekuan darah, seperti fibrinogen. Rangkaian mikrofilia berinteraksi dengan sistem tubular padat dalam menyerap kalsium, yang awalnya menyebabkan sentralisasi organel internal. Filamen subseluler dan sitoplasma ini membentuk sistem kontraktil (zona sol gel) dari trombosit.

Terdapat tiga tipe granula yang berbeda yang berhubungan dengan hemostasis yang terdapat pada platelet matur. Granula ini adalah granula alfa, granula padat atau delta, dan lisosom. Granula alfa jumlahnya terbanyak dan mengandung *heparin-neutralizing platelet factor 4* (PF 4), beta-globulin trombosit, faktor pertumbuhan yang diturunkan dari platelet, fibrinogen platelet, fibronektin, faktor von Willebrand (vWF), dan trombospondin.

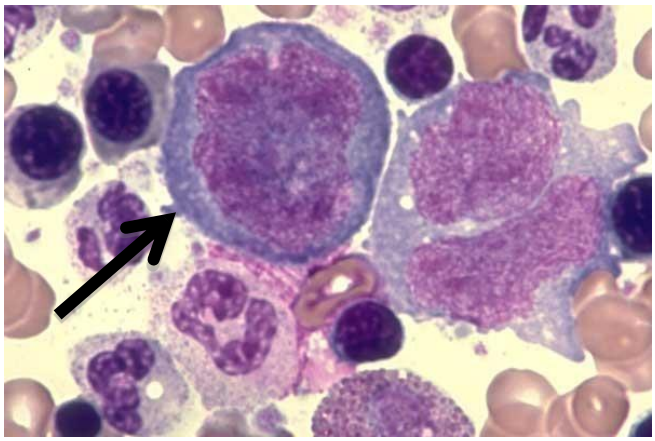
Granula padat (delta), mengandung serotonin, adenosin difosfat (ADP), adenosin trifosfat (ATP), dan kalsium. Lisosom, dan dinamai jenis granula ketiga, yang menyimpan enzim hidrolase. Sekresi dari granula dilepaskan ke dalam sistem kanalikular terbuka. Konstituen sitoplasma lainnya mengandung sejumlah besar protein kontraktil, termasuk actomyosin (thrombosthenin), miosin, dan filamin. Sitoplasma trombosit mengandung glikogen dan enzim dari jalur glikolitik dan heksosa. Energi untuk aktivitas metabolisme dan kontraksi seluler adalah berasal dari metabolisme aerobik di mitokondria dan glikolisis anaerobik yang memanfaatkan simpanan glikogen.

Trombosit adalah sel berenergi sangat tinggi dengan tingkat metabolisme 10 kali lipat dari eritrosit. Berdasarkan ketersediaan energi dan endogen konstituen, trombosit secara efektif dilengkapi untuk memenuhi peran melindungi tubuh terhadap trauma vaskular. Kinetika trombosit, waktu hidup, dan kadar normal megakariosit rata-rata menghasilkan sekitar 1.000 hingga 2.000 trombosit. Waktu transit di sumsum tulang, atau periode pematangan megakariosit, adalah sekitar 5 hari. Trombosit awalnya memasuki limpa, di mana mereka tinggal selama 2 hari. Setelah periode ini, trombosit terdapat baik dalam sirkulasi darah atau kolam limpa aktif. Sekitar dua pertiga dari jumlah total trombosit berada dalam sirkulasi sistemik, sedangkan sisanya sepertiga ada sebagai kumpulan trombosit di limpa yang bebas pertukaran dengan sirkulasi umum. Masa hidup trombosit matang adalah 9,0 hari ± 1 hari. Pada akhir masa hidupnya, trombosit difagosit oleh hati dan limpa dan sistem jaringan fagosit mononuklear lainnya.

B. PERKEMBANGAN SERI MEGAKARIOSITIK

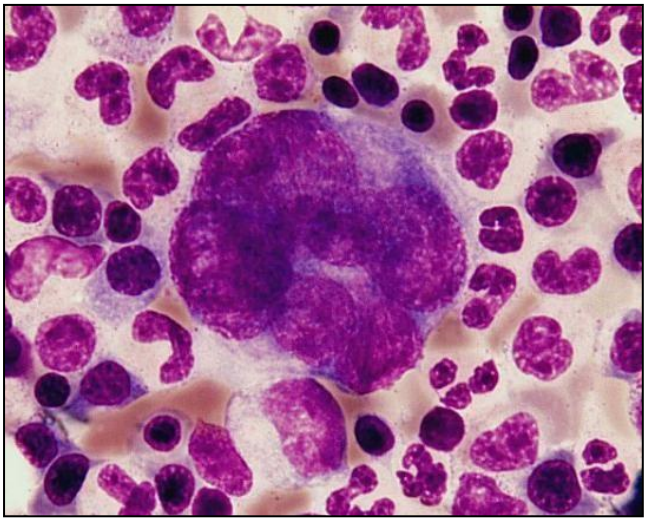
Megakariosit sumsum tulang berasal dari sel induk pluripotensial. Urutan perkembangan dari megakariosit menjadi trombosit diperkirakan berkembang dari proliferasi progenitor ke poliploidisasi, yaitu endoreduplikasi nuklear, dan akhirnya maturasi sitoplasma dan pembentukan trombosit. Megakariositopoiesis berlangsung awalnya melalui fase pembelahan mitosis sel progenitor, diikuti oleh endoreduplikasi nuklear. Endoreduplikasi adalah proses di mana bahan kromosom (DNA) dan peristiwa mitosis lain terjadi tanpa pembelahan berikutnya pada membran sitoplasma menjadi sel anak yang identik.

Pematangan megakariosit dari imatur, meliputi megakarioblas, promegakariosit, megakariosit, dan trombosit. Morfologi megakarioblas memiliki bentuk inti besar tidak teratur dan tidak membelah. Sitoplasma agranular (Gambar 1.27).



Gambar 1.27
Morfologi Megakarioblas

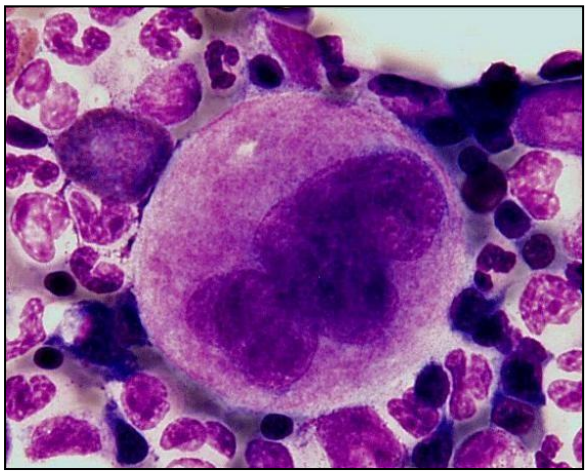
Morfologi promegakariosit memiliki ukuran 30 - 70 µm. Bentuk oval. Warna sitoplasma biru dengan bintik merah jambu, kadang-kadang sitoplasma berisi vakuola besar. Granuatitas mulai tampak halus, granulasi merah jambu. Bentuk inti tidak teratur, berlobus. Tipe kromatin padat. Ratio inti/sitoplasma rendah. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang < 0,5% (Gambar 1.28).



Gambar 1.28
Morfologi Promegakariosit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

Tahap akhir perkembangan megakariosit adalah megakariosit yang dapat diidentifikasi secara morfologis. Sel ini mudah dikenali di sumsum karena ukurannya besar dan inti berlobus. Megakariosit adalah sel terbesar yang terdapat di sumsum tulang, yaitu berukuran hingga 160 µm. Perbandingan/rasio inti-sitoplasma (N : C) adalah 1 : 12. Nukleolus tidak lagi terlihat. Ciri khas megakariosit adalah multilobular. Lobus megakariosit yang matang sepenuhnya melepaskan trombosit dari sitoplasma setelah selesai dari pematangan.

Morfologi megakariosit memiliki ukuran kurang dari 100 µm. Bentuk oval kadang-kadang bulat. Warna sitoplasma merah jambu. Granuatitas merah jambu muda. Bentuk inti multilobuler tidak teratur. Tipe kromatin padat. Ratio inti/sitoplasma rendah atau sangat rendah. Nukleolus tidak terlihat. Distribusi dalam darah tidak ada, dan di dalam sumsum tulang < 0,5% (Gambar 1.29).



Gambar 1.29
Morfologi Megakariosit dengan Pewarnaan MGG dan Perbesaran 1000 kali

Trombopoietin adalah hormon yang merangsang produksi dan pematangan megakariosit, yang selanjutnya akan menghasilkan trombosit. Trombopoietin dihasilkan dari beberapa aktivitas sitokin yaitu ritropoietin, IL-3, dan faktor perangsang koloni granulosit-makrofag (GM-CSF). Zat-zat ini mampu meningkatkan ukuran megakariosit, stadium maturasi, dan ploidi.

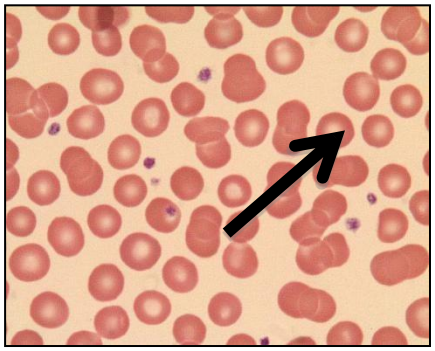
C. PERKEMBANGAN TROMBOSIT

Asal mula trombosit adalah dari *burst forming unit-megakaryocyte* (BFU-M) dan *colony forming unit-megakaryocyte* (CFU-M). BFU-M adalah sel progenitor paling primitif pada garis

keturunan megakariosit. Beberapa sel megakariosit imatur transisional mampu melakukan pembelahan seluler, tetapi sebagian besar tidak berproliferasi saat aktif mengalami endomitosis.

Pembentukan trombosit dimulai dengan munculnya warna merah muda di sitoplasma basofilik megakariosit dan peningkatan granularitas. Trombosit memiliki diameter rata-rata 2 hingga 4 µm. Trombosit tidak memiliki nukleus. Sitoplasma biru muda, dengan granula halus berwarna merah-ungu yang tersebar merata. Trombosit bersirkulasi di aliran darah yang mengalir melalui pembuluh darah yang dilapisi sel endotel tanpa berinteraksi dengan trombosit lain atau dengan dinding pembuluh darah.

Morfologi trombosit memiliki ukuran kurang dari 1-4 µm. Bentuk bulat atau oval. Warna sitoplasma biru. Granulatitas dengan granul ungu halus mengisi bagian tengah trombosit. Pinggir tipis tanpa granula pada bagian tepi sel. Granula sedikit atau tidak ada dalam trombosit merupakan suatu anomalimorfologis. Inti tidak ada (Gambar 1.30).



Gambar 1.30
Morfologi trombosit

Trombosit adalah sel yang sangat sensitif dan merespons stimulasi minimal dengan membentuk pseudopodia. Stimulasi yang kuat menyebabkan trombosit menjadi lengket tanpa kehilangan bentuk diskoidnya. Perubahan bentuk menjadi tidak teratur dengan pseudopodia berduri dapat terjadi dengan rangsangan tambahan. Perubahan dalam bentuk seluler ini dipicu oleh peningkatan kadar kalsium sitoplasmik. Perubahan bentuk ini disertai dengan kontraksi seluler internal yang dapat menyebabkan pelepasan banyak organel.

D. FUNGSI TROMBOSIT

Setelah kerusakan pada endotel pembuluh darah, serangkaian peristiwa terjadi, termasuk adhesi pada pembuluh darah yang terluka, perubahan bentuk, agregasi, dan sekresi. Setiap perubahan struktural dan fungsional disertai dengan serangkaian reaksi biokimia yang

terjadi selama proses aktivasi trombosit. Membran plasma trombosit adalah fokus interaksi antara lingkungan ekstraseluler dan intraseluler. Agen yang menyebabkan aktivasi trombosit bervariasi, termasuk nukleotida (ADP), lipid (tromboksan, A2, faktor pengaktif trombosit), protein struktural (kolagen), dan enzim proteolitik (trombin).

Salah satu aktivitas berbeda yang terkait dengan aktivitas trombosit dalam menanggapi kerusakan vaskular adalah pemeliharaan berkelanjutan keutuhan vaskular oleh adhesi trombosit ke endotelium yang rusak. Selain itu, trombosit menyebar, menjadi aktif, dan membentuk agregat besar, dan membentuk sumbat trombosit (platelet plug). Pembentukan sumbat trombosit awalnya menghentikan pendarahan. Perlekatan dan agregasi trombosit di tempat-tempat kerusakan pembuluh darah memungkinkan pelepasan molekul yang terlibat dalam hemostasis dan penyembuhan luka dan menyediakan membran permukaan untuk perakitan enzim koagulasi yang mengarah ke pembentukan fibrin.

Latihan

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

1) Jelaskan apa yang anda pahami tentang sel trombosit!
2) Jelaskan bagaimana proses perkembangan seri megakariositik!
3) Jelaskan perkembangan dari sel trombosit!
4) Jelaskan fungsi dari sel trombosit di dalam tubuh!
5) Jelaskan apa yang dimaksut trombopoetin!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi tentang pengertian sel trombosit.
2) Pelajari kembali materi tentang perkembangan seri megakariositik.
3) Pelajari kembali materi tentang perkembangan trombosit .
4) Pelajari kembali materi tentang fungsi sel trombosit .
5) Pelajari kembali materi tentang trombopoesis

Ringkasan

Trombosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1 sampai 4 µm, memiliki volume 7 sampai 8 fL. Trombosit dapat dibagi dalam 3 daerah (zona), yaitu zona daerah tepi berperan dalam fungsi adhesi dan agregasi, zona “sol gel” berfungsi

menunjang struktur dan mekanisme interaksi trombosit, serta zona organel berperan dalam pengeluaran isi trombosit.

Trombosit berada dalam darah perifer setelah diproduksi dari sitoplasma sel megakariosit. Sel megakariosit merupakan sel terbesar dalam sumsum tulang.

Fungsi utama trombosit adalah dalam pembentukkan sumbat trombosit (*platelet plug*) sebagai respons hemostatik normal terhadap luka vaskuler, melalui reaksi adhesi, pelepasan, agregasi, dan fusi, serta aktifitas prokoagulannya.

Tahapan perkembangan dan pematangan trombosit meliputi megakarioblas, promegakariosit, megakariosit, dan trombosit.

Tes 5

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

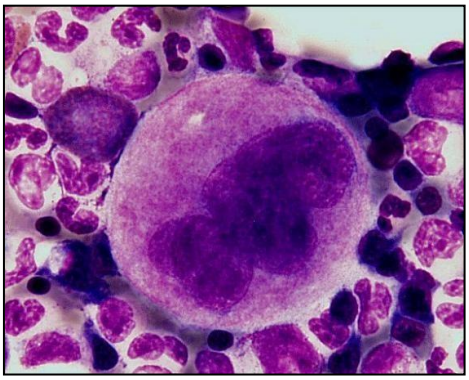
1) Ada tiga tipe granula yang berbeda yang berhubungan dengan hemostasis terdapat pada platelet matur. Salah satunya adalah granula yang mengandung *heparin-neutralizing platelet factor 4* (PF 4), beta-globulin trombosit, faktor pertumbuhan yang diturunkan dari platelet, fibrinogen platelet, fibronektin, faktor von Willebrand (vWF), dan trombospondin. Granula apakah yang dimaksud?
   A. Granula Alfa
   B. Granula Beta
   C. Granula Delta
   D. Granula Gamma
   E. Lisosom

2) Trombosit berada dalam darah perifer setelah diproduksi dari sitoplasma sel terbesar dalam sumsum tulang. Sel apakah yang dimaksud?
   A. Megakarioblas
   B. Promegakariosit
   C. Megakariosit
   D. Megalosit
   E. Monosit

3) Trombosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1 sampai 4 µm, memiliki volume 7 sampai 8 fL. Apakah fungsi utama sel tersebut?
   A. Berperan dalam sistem pertahanan tubuh
   B. Berperan dalam transportasi oksigen

C. Berperan dalam transportasi karbondioksida
D. Berperan dalam proses hemostasis.
E. Berperan dalam keseimbangan cairan (homeostasis)

4) Gambar berikut ini adalah salah satu sel yang ada pada tahapan perkembangan sel trombosit. Apakah nama sel tersebut?



A. Megakarioblas
B. Promegakariosit
C. Megakariosit
D. Megalosit
E. Monosit

5) Ada tiga tipe granula yang berbeda, yang berhubungan dengan hemostasis, yang terdapat pada platelet matur. Salah satunya adalah granula yang mengandung serotonin, adenosin difosfat (ADP), adenosin trifosfat (ATP), dan kalsium. Granula apakah yang dimaksud?

A. Granula Alfa
B. Granula Beta
C. Granula Delta
D. Granula Gamma
E. Lisosom

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

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

Tes 2

1) C
2) A
3) B
4) E
5) C

Tes 3

1) C
2) A
3) D
4) E
5) C

Tes 4

1) C
2) A
3) D
4) D
5) D

Tes 5

1) A
2) C
3) D
4) C
5) C

Glosarium

Adhesi : Menempelnya trombosit dengan permukaan asing.

Agranulosit : Tidak memiliki granula.

Agregasi : Menempelnya trombosit dengan trombosit lain.

Bikonkaf : Bentuk piringan dan cekung di bagian tengah.

Fagosit : Sel yang mampu melakukan fagositosis.

Fagositosis : Proses sel menelan partikel.

Gen : Materi genetik pembawa sifat.

Granula : Partikel kecil berbentuk butiran halus pada sitoplasma sel.

Hipoksia : Rendahnya kadar oksigen dalam sel atau jaringan tubuh.

Imunosit : Sel yang mampu membentuk kekebalan tubuh humoral.

Korpuskuli : Komponen yang terdiri dari berbagai sel darah.

Daftar Pustaka

Decie and Lewis. 2011. *Practical Hematology. Eleventh Edition*. Churchill - Livingstone: Elsevier

Devie Rosa Anamisa. 2015. "Rancang Bangun Metode OTSU Untuk Deteksi Hemoglobin". *Jurnal S@CIES Volume x, Nomor x, April 2015, hal 106-110*

Gilang Nugraha. 2017. *Panduan Pemeriksaan Hematologi Dasar*. Edisi 2. Trans Info Media, Jakarta

Guyton, Arthur C. and Hall, John E. 2006. *Medical Physiology*. Eleventh Edition. Philadhelpia: Elsevier Saunders,

Hoffbrand, A.V. and Pettit, J.E. 1987. *Kapita Selekta Haematologi. Edisi ke 2.* Jakarta: EGC

Hughes, N.C., Jones, S.N., Wickramasinghe. 1995. *Catatan Kuliah Hematologi. Edisi 5.* Jakarta: EGC

Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta: Alfamedia.

Rukman Kiswari, 2014. *Hematologi dan Transfusi*. Jakarta: Erlangga,

Siswanto. 2017. *Darah dan Cairan Tubuh*. Denpasar: Universitas Udayana

Turgeon, Mary Louise. 2012. Clinical Hematology: Theory and Procedures. Fifth Edition. Boston: Wolters Kluwer

Bab 2

PRA-ANALITIK PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

Dr. Betty Nurhayati, M.Si.

Pendahuluan

Laboratorium medik merupakan laboratorium yang melayani pemeriksaan biologi, mikrobiologi, imunologi, kimia, imunohematologi, hematologi, biofisika, sitologi, patologi, genetika atau pemeriksaan lain dari materi yang berasal dari tubuhmanusia. Tujuan pemerikasaan di laboratorium medik adalah untuk memperoleh informasi guna melakukan diagnosis, pengelolaan, pencegahan dan pengobatan penyakit, ataupun penilaian kesehatan manusia. Periksaan laboratorium medik juga dapat menyediakan pelayanan konsultasi yang mencakup semua aspek pemeriksaan laboratorium termasuk interpretasi hasil dan saran pemeriksaan lanjutan (BSN, 2018).

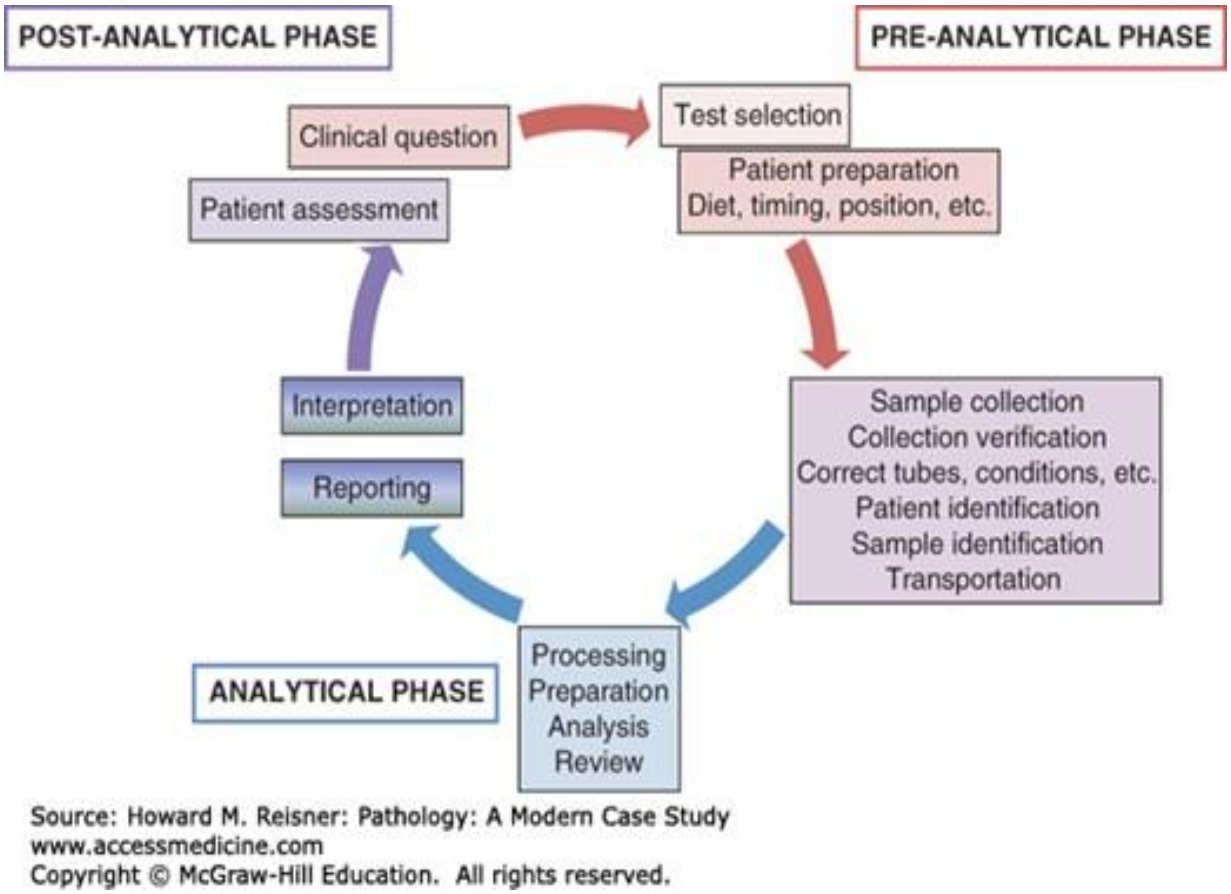
Peran laboratorium medik yang semakin dominan dalam pengambilan keputusan klinis dan penekanan pada pengendalian biaya, menyebabkan evaluasi yang berkesinambungan dan terarah terhadap efektivitas, dan peningkatan hasil klinis. Pemeriksaan laboratorium memainkan peran yang sangat penting dalam mendiagnosis, memantau, dan mengevaluasi hasil pemeriksaan Kesehatan pasien. Evaluasi kinerja laboratorium berbasis bukti sangat penting untuk memastikan bahwa pasien menerima perawatan yang aman, efisien, dan efektif (Plebani, et.al., 2017).

Hematologi adalah ilmu yang mempelajari tentang sel darah dan koagulasi. Pemeriksaan hematologi mencakup analisis terhadap konsentrasi, struktur, dan fungsi sel dalam darah; prekusornya dalam sumsum tulang; konstituen kimiawi dalam plasma atau serum yang terkait dengan struktur dan fungsi sel darah; serta fungsi trombosit dan protein yang terlibat dalam koagulasi darah (KK Hematologi PDS Patklin, 2016).

Pemeriksaan laboratorium pada umumnya meliputi tiga tahap yang membentuk suatu proses pemeriksaan total (*Total Testing Process*/TTP) yang meliputi: fase pra analitik, fase analitik dan fase pasca analitik (De la Salle, 2019). Fase pra analitik diartikan sebagai suatu proses yang dimulai secara berurutan dari permintaan pemeriksaan oleh klinisi,persiapan dan identifikasi pasien, pengambilan spesimen primer, transportasi ke dan di dalam laboratorium, dan berakhir saat dimulainya tahap analitik (BSN, 2017).

Fase analitik pemeriksaan laboratorium merujuk pada pelaksanaan pemeriksaan spesimen sesuai formulir permintaan pemeriksaan laboratorium. Fase ini juga mencakup pemeliharaan dan kalibrasi peralatan serta instrumen laboratorium yang berkaitan dengan pemeriksaan dan pelaksanaan kendali mutu. Kegiatan pengendalian mutu ini bertujuan untuk memvalidasi reagen/kit pemeriksaan, proses pemeriksaan, dan pelatihan personel yang melakukan pemeriksaan spesimen (Lieseke dan Zeibig, 2018).

Fase pasca analitik merupakan suatu proses tahapan setelah tahapanalitik dilakukan. Tujuan fase pasca analitik antara lain untuk tinjauan hasil, retensi, penyimpanan bahan klinis, pembuangan spesimen dan limbah, serta penyusunan, pengeluaran, pelaporan dan pengarsipan hasil pemeriksaan (BSN, 2017). Ilustrasi proses pengujian total (*Total Testing Process*/ TTP) disajikan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1

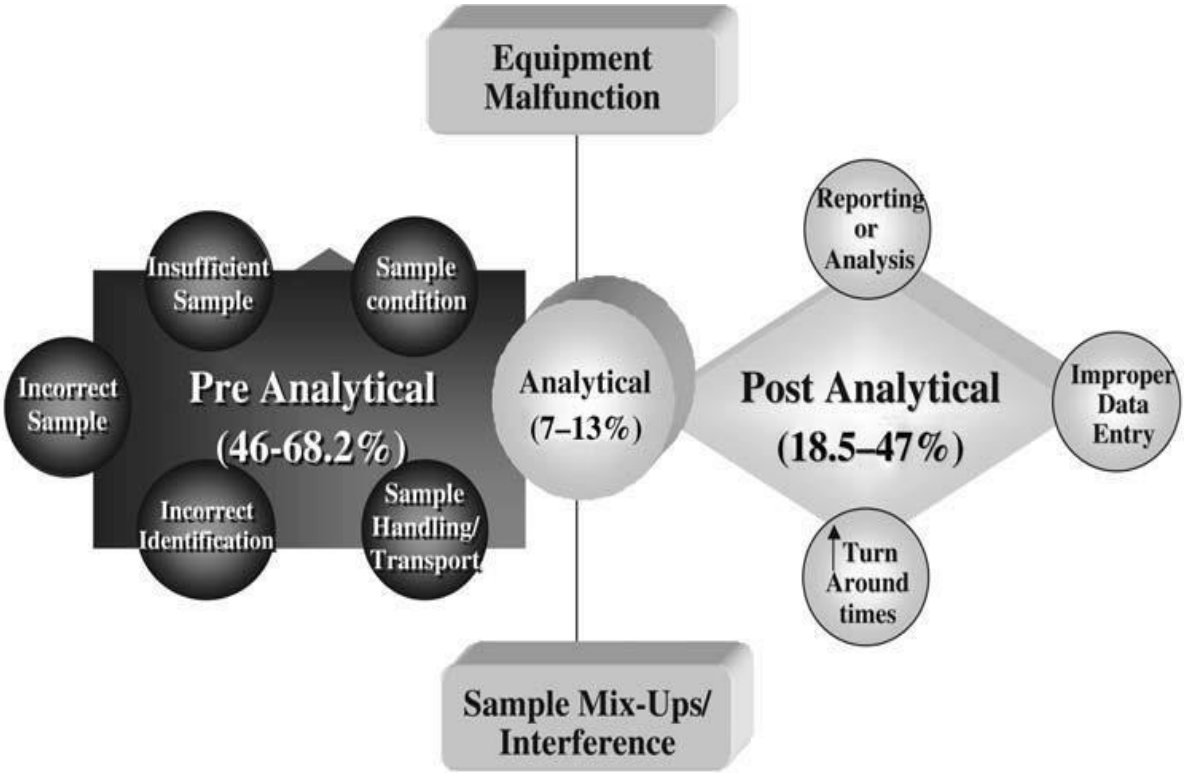
Proses pemeriksaan total di laboratorium medik

Pada Bab 2 ini pembahasan akan difokuskan tentang pra analitik pemeriksaan Hematologi, sedangkan pembahasan terkait fase analitik dan pasca analitik pemeriksaan Hematologi akan diuraikan pada bab berikutnya dari buku ajar ini.

Berdasarkan siklus pemeriksaan laboratorium medik, pra analitik merupakan ringkasan proses pemeriksaan pasien untuk memastikan status sampel atau spesimen pasien terhadap suatu standar atau kriteria. Pra analitik merupakan persyaratan teknis yang wajib dipenuhi oleh organisasi laboratorium medis di dalam operasi bisnisnya. Pra analitik pasien atau *user* (mengganti istilah pelanggan di dalam laboratorium medis) memastikan informasi yang dibutuhkan sebelum pemeriksaan harus jelas dikonfirmasi dan dapat dipertanggung jawabkan (BSN, 2017).

Tahapan ini secara berurutan dimulai dari permintaan pemeriksaan oleh klinisi, persiapan dan identifikasi pasien, pengambilan spesimen primer, penampungan, penyimpanan dan transportasi spesimen ke luar dan di dalam laboratorium, dan berakhir saat dimulainya tahap analitik (Widyatmojo, dkk., 2018; BSN, 2017; KK Hematologi PDS Patklin, 2016).

Proses yang dilakukan pada tahap pra-analitik dapat menyumbangkan frekuensi kesalahan terbesar pertama dibandingkan dengan tahap analitik dan pasca analitik. Persentasi kesalahan yang mungkin terjadi pada tahap pra analitik antara 46-68,2%, tahap analitik antara 7-13% dan tahap pasca-analitik antara 18-47% (Plebani, 2006). Beberapa kemajuan teknologi, informatika, dan ilmu komputer yang diperkenalkan pada fase pra-analisis berpotensi menurunkan risiko kesalahan. Dengan demikian sangat penting untuk melaksanakan kegiatan pada fase pra-analitik ini dengan baik dan benar untuk menghindari kesalahan fatal. Proses pemantauan pada fase pra analitik harus terus ditingkatkan untuk memastikan keselamatan pasien dan mengurangi kemungkinan kesalahan terkait pemeriksaan laboratorium (Plebani, 2017). Ilustrasi kontribusi kesalahan pada tahapan kerja di laboratorium disajikan pada Gambar 2.2.



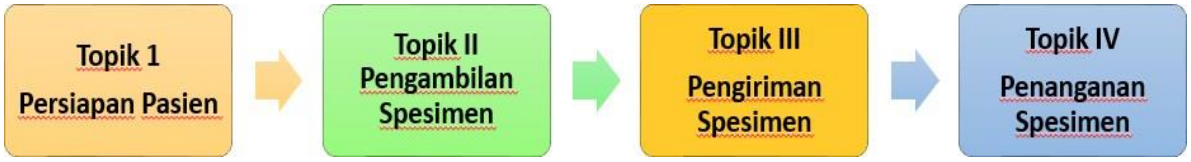
Gambar 2.2

Jenis dan Tingkat Kesalahan Dalam Tiga Tahap Proses Pemeriksaan Laboratorium (Plebani, 2006)

Bab 2 akan membahas berbagai macam tahapan pada pra-analitik pemeriksaan Hematologi serta kegiatan atau proses yang dilakukan pada tahap ini. Pelaksana kegiatan yang mempunyai kewenangan pada tahap ini adalah ahli teknologi laboratorium medis (ATLM), yaitu setiap orang yang telah lulus Pendidikan Teknologi Laboratorium Medika atau Analis Kesehatan atau Analis Medis dan memiliki kompetensi melakukan analisis terhadap cairan dan jaringan tubuh manusia untuk menghasilkan informasi tentang kesehatan perseorangan dan masyarakat sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Kewenangan ATLM dalam menyelenggarakan atau menjalankan praktik di bidang pelayanan kesehatan di Laboratorium pada Fasilitas Pelayanan Kesehatan (Fasyankes) pada tahap pra analitik yaitu mempersiapkan pasien untuk pemeriksaan di laboratorium dan melakukan pengambilan, pengiriman atau transportasi serta penanganan spesimen darah serta penanganan cairan dan jaringan tubuh lainnya (PMK No. 42, 2015).

Berdasarkan hal tersebut pada Bab 2 ini akan dibahas empat (4) topik utama sebagai berikut.



Gambar 2.3
Kegiatan utama tahapan pra analitik

Setelah mempelajari Bab 2, Anda akan mampu menguraikan tahapan pra-analitik pada pemeriksaan hematologi. Secara rinci, Anda akan mampu:

1. menguraikan persiapan pasien untuk pemeriksaan hematologi;
2. menjelaskan pengambilan spesimen untuk pemeriksaan hematologi;
3. menjelaskan pengiriman atau transportasi spesimen untuk pemeriksaan hematologi; dan
4. menjelaskan penanganan spesimen untuk pemeriksaan hematologi

Bab 2 ini akan mudah Anda pelajari dapat jika Anda sudah memahami Bab 1 yang menguraikan tentang Dasar Hematologi yang merupakan konsep dasar untuk membantu pemahaman tentang kegiatan pra analitik. Langkah yang dapat ditempuh agar mudah memahami isi bab ini adalah sebagai berikut:

1. bacalah dengan cermat bagian pendahuluan dan fahami kompetensi yang akan dicapai;
2. bacalah topik-topik pada bab ini secara berurutan, karena masing-masing topik saling berkaitan;
3. bab ini dilengkapi dengan gambar dan tabel sebagai ilustrasi untuk mempermudah pemahaman;
4. bacalah rangkuman untuk memahami garis besar materi pada masing-masing topik;
5. kerjakan latihan pada setiap topik setelah mempelajarinya, jangan membaca jawabannya sebelum selesai mencoba setiap latihan, cari jawaban dengan membaca kembali materi yang relevan;
6. jawablah setiap butir tes tanpa melihat kunci jawaban terlebih dahulu, tetapi dengan membaca materi kembali; dan
7. cocokkan jawaban Anda pada setiap tes dengan kunci jawaban, dan menghitung jumlah jawaban benar untuk mengevaluasi perolehan kemampuan Anda terhadap kompetensi di setiap topik.

Topik 1
Persiapan Pasien untuk Pemeriksaan Hematologi

Dalam buku ajar ini, batasan operasional pemeriksaan hematologi akan dibatasi hanya pada tahap pra analitik untuk pemeriksaan hematologi.

Hasil pemeriksaan laboratorium hematologi banyak diminta oleh dokter untuk membantu menegakkan diagnosis, menunjang diagnosis, dan membuat diagnosis banding. Dalam pemeriksaan fungsi fisiologis dan gangguan darah, perlu ditetapkan metodologi yang tepat dan akurat, sehingga pemeriksaan tidak memberikan informasi yangf salah disebabkan kesalahan teknis.

Seperti dijelaskan sebelumnya pada pengantar Bab II bahwa pada umumnya pemeriksaan di laboratorium termasuk di laboratorium hematologi, meliputi tiga kegiatan utama yaitu tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Tahap pra analitik meliputi semua langkah atau kegiatan sebelum spesimen dapat dianalisis, yang akan diuraikan berikut ini.

Sebagian besar kesalahan pemeriksaan laboratorium, yaitu antara 36-68,2% terjadi pada tahap pra analitik. Kesalahan pra analitik terbanyak, antara lain, pengisian tabung sampel yang kurang sesuai, penampung atau antikoagulan yang tidak sesuai, dan kesalahan pemilihan pemeriksaan (Plebani, 2015). Ilustrasi sumber kesalahan yang paling sering terjadi pada langkah pra-pra analitik dan pra-analitik disajikan pada Gambar 2.4.

Gambar 2.4

Sumber Kesalahan yang Paling Sering Terjadi pada Tahap Pra-Pra Analitik dan Pra-Analitik di Laboratorium Medik (Sumber: Plebani, 2015)

Secara umum untuk menghindari terjadinya kesalahan pra analitik perlu diketahui faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan, terutama adalah persiapan pasien. Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam mempersiapkan pasien sebelum tahap pengambilan spesimen adalah informasi kepada pasien, informasi formulir permintaan, serta variabel fisiologis pada pasien.

A. INFORMASI KEPADA PASIEN

Hal yang harus diperhatikan pada persiapan pasien adalah memberikan informasi kepada pasien. Petugas laboratorium menyampaikan informasi seputar persyaratan pemeriksaan laboratorium kepada pengguna jasa laboratorium terkait spesimen yang akan diambil dari tubuhnya. Terdapat prosedur tertulis terkait hal ini sehingga laboratorium dapat memastikan dan memberikan jaminan bahwa spesimen dari pasien hanya digunakan untuk pemeriksaan dan bukan untuk yang tidak terkait di dalam pemeriksaan (Badan Standardisasi Nasional, 2017).

Laboratorium harus mempunyai informasi yang tersedia bagi pasien dan pengguna jasa laboratorium. Informasi harus mencakup hal-hal berikut.

1. Lokasi Laboratorium

Berdasarkan Permenkes RI No. 411/Menkes/Per/III/2010 pasal 7, menyatakan bahwa laboratorium klinik harus memasang papan nama yang memuat nama, klasifikasi, alamat, dan nomor izin sesuai ketentuan yang berlaku. Selanjutnya pada pasal 11 menyatakan bahwa laboratorium klinik harus memenuhi persyaratan lokasi, bangunan, prasarana, peralatan, kemampuan pemeriksaan spesimen klinik, dan ketenagaan sesuai dengan klasifikasinya. Pada pasal 12, ayat 1 menyatakan bahwa persyaratan lokasi, sebagaimana dimaksud dalam pasal 11, harus memenuhi ketentuan mengenai kesehatan lingkungan dan tata ruang; dan pada ayat 2: menyatkan ketentuan mengenai kesehatan lingkungan sebagaimana dimaksud pada ayat 1), yang mencakup upaya pemantauan lingkungan, upaya pengelolaan lingkungan, dan/atau analisis dampak lingkungan sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan; selanjutnya pada ayat 3: menjelaskan ketentuan mengenai tata ruang sebagaimana dimaksud pada ayat 1, sesuai dengan peruntukan lokasi yang diatur dalam rencana tata ruang wilayah kabupaten/kota, rencana tata ruang kawasan perkotaan, dan/atau rencana tata bangunan dan lingkungan.

2. Jenis Layanan Klinik yang Tersedia di Laboratorium Termasuk Pemeriksaan yang Dirujuk ke Laboratorium Lain

Layanan laboratorium klinik sesuai dengan jenis dan klasifikasinya, terbagi sebagai berikut.

Berdasarkan jenis pelayanannya laboratorium klinik terbagi menjadi 2, yaitu sebagai berikut.

a. Laboratorium Klinik Umum. Ini adalah laboratorium yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik bidang hematologi, kimia klinik, mikrobiologi klinik, parasitologi klinik dan imunologi klinik.
b. Laboratorium Klinik Khusus. Laboratorium jenis ini yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik pada 1 (satu) bidang pemeriksaan khusus dengan kemampuan tertentu.

Selanjutnya, kalsifikasi dari masing-masing jenis laboratorium, adalah sebagai berikut

a. Laboratorium Klinik Umum diklasifikasikan menjadi:
    1) Laboratorium Klinik Umum Pratama. Ini adalah laboratorium yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik dengan kemampuan pemeriksaan terbatas dengan teknik sederhana.
    2) Laboratorium Klinik Umum Madya. Laboratorium yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik dengan kemampuan pemeriksaan tingkat laboratorium klinik umum pratama dan pemeriksaan imunologi dengan teknik sederhana.
    3) Laboratorium Klinik Umum Utama. Laboratorium yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik dengan kemampuan pemeriksaan lebih lengkap dari laboratorium klinik umum madya dengan teknik automatik.

b. Laboratorium Khusus terdiri dari:
    1) Laboratorium Mikrobiologi Klinik, yang melaksanakan pemeriksaan mikroskopis, biakan, identifikasi bakteri, jamur, virus, dan uji kepekaan.
    2) Laboratorium Parasitologi Klinik, yang melaksanakan identifikasi atau stadium parasit baik secara mikroskopis dengan atau tanpa pulasan, biakan, atau imunoesai.
    3) Laboratorium Patologi Anatomik, yang melaksanakan pembuatan preparat histopatologi, pulasan khusus sederhana, pembuatan preparat sitologi, dan pembuatan preparat dengan teknik potong beku.

3. Jam Operasional Laboratorium

Laboratorium klinik dapat diselenggarakan oleh pemerintah, pemerintah daerah, atau swasta. Laboratorium klinik yang diselenggarakan oleh pemerintah atau pemerintah daerah harus berbentuk unit pelaksana teknis di bidang kesehatan, instansi pemerintah, atau Lembaga teknis daerah. Laboratorium klinik yang diselenggarakan oleh swasta harus

berbadan hukum. Jam operasional laboratorium disesuaikan dengan perizinan untuk mendirikan dan menyelenggarakan klinik pada pasal 21, 22 dan 23 Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 028/Menkes/PER/1/2011 tentang klinik.

4. Pemeriksaan yang Tersedia di Laboratorium

Ini termasuk, apabila sesuai, informasi mengenai persyaratan spesimen, volume spesimen primer, persyaratan khusus seperti waktu penyelesaian pemeriksaan, rentang acuan biologis dan nilai keputusan klinis. Laboratorium harus mempunyai dokumen terkait pemeriksaan yang tersedia, persyaratan spesimen (jenis spesimen, wadah/tabung spesimen, wadah/tabung pengiriman spesimen, instruksi pengambilan spesimen, dan informasi tambahan, seperti volume spesimen primer, volume minimum spesimen, suhu pengiriman spesimen dan persyaratan khusus masing-masing pemeriksaan (Sumber: Mayo Clinic Laboratories, 2021).

5. Instruksi Untuk Melengkapi Formulir Permintaan

Instruksi untuk melengkapi formulir permintaan meliputi hal-hal berikut.

a. Informasi Pasien

1) Informasi pasien harus diisi dengan lengkap dan mencakup nama lengkap Pasien, tanggal lahir (bulan/hari/tahun), jenis kelamin, tanggal pengambilan spesimen (bulan/hari/tahun), dan jenis spesimen. Personil pengirim juga dapat memberikan nomor identifikasi rumah sakit atau pasien dan kode.
2) Bagian Informasi Dokter Perujuk diperlukan dan harus memiliki nomor identitas dan tanda tangan untuk dokter. Harus menyertakan nomor telepon dan email di mana dokter dapat dihubungi jika ada pertanyaan. Email adalah rute pilihan untuk semua korespondensi. Semua informasi yang termasuk dalam bagian dokter yang merujuk pada permintaan pengiriman akan menjadi sumber utama untuk mengirim laporan dan korespondensi dan akan disimpan untuk penggunaan di masa mendatang.
3) Informasi penagihan harus diisi secara lengkap agar pengujian dapat dilanjutkan, termasuk nama fasilitas, nomor telepon, email dan/atau faks. Informasi ini perlu disertakan dengan setiap permintaan, karena informasi penagihan dapat berubah berdasarkan departemen klinis atau kebutuhan tertentu pasien. Jika pemeriksaan akan dibayar sendiri oleh pasien, informasi penagihan dapat ditunjukkan di bagian penagihan.
4) Fasilitas/dokter juga dapat menyediakan dua kontak tambahan untuk dapat menerima laporan hasil pemeriksaan pasien. Fasilitas/dokter harus memberikan nama kontak serta faks atau email atau keduanya untuk distribusi laporan yang

diinginkan. Semua informasi yang diberikan akan disimpan untuk laporan di masa yang akan dating.

b. Informed Consent

c. Formulir Informasi Klinis. Formulir informasi klinis dan pencantuman riwayat obat/ perawatan pasien akan memberikan informasi yang lebih baik untuk data tinjauan klinis

d. Pemeriksaan STAT/Cito/Segera. Formulir pemeriksaan Cito disertakan dalam paket permintaan apabila pemeriksaan yang dipercepat diinginkan. Formulir ini digunakan untuk pemeriksaan yang harus ditangani saat itu juga, karena penundaan pemeriksaan dapat mengancamkeselamatan jiwa pasien. Jika dokter tidak menginginkan pemeriksaan yang dipercepat, jangan mengirimkan formulir ini. Formulir Cito yang tidak lengkap dapat mengakibatkan pengujian tertunda. Pengujian Cito harus ditunjukkan pada pengiriman awal spesimen, dan tidak boleh ditambahkan selama proses pemeriksaan.

e. Informasi Lain.
   1) Instruksi untuk persiapan pasien
   2) Instruksi untuk spesimen yang dikumpulkan oleh pasien
   3) Instruksi untuk pengiriman spesimen termasuk kebutuhan penanganan khusus.
   4) Persyaratan persetujuan pasien (misalnya persetujuan untuk memberikan informasi klinis dan riwayat keluarga kepada tenaga profesional kesehatan yang relevan jika diperlukan rujukan).
   5) Kriteria penerimaan dan penolakan spesimen oleh laboratorium.
   6) Daftar faktor yang diketahui dapat mempengaruhi kinerja pemeriksaan atau interpretasi hasil secara bermakna.
   7) Ketersediaan konsultasi klinis untuk pemilihan pemeriksaan dan interpretasi hasil pemeriksaan.
   8) Kebijakan laboratorium tentang perlindungan informasi pribadi
   9) Prosedur penyampaian keluhan terhadap laboratorium (Badan Standardisasi Nasional, 2017).

B. INFORMASI FORMULIR PERMINTAAN

Pemeriksaan laboratorium dimulai dengan adanya formulir permintaan pemeriksaan laboratorium untuk pengambilan spesimen. Setiap individu yang terlibat pada proses ini harus memahami pentingnya data awal yang digunakan untuk permintaan pemeriksaan (Lieseke dan Zeibig, 2018).

Informasi pada wadah spesimen yang menyertainya harus sama persis dengan identifikasi pasien pada formulir permintaan pemeriksaan. Informasi yang dibutuhkan oleh dokter untuk membantu dalam memesan pemeriksaan laboratorium harus dimasukkan dalam database online atau buku pegangan yang dicetak (Turgeon, 2018).

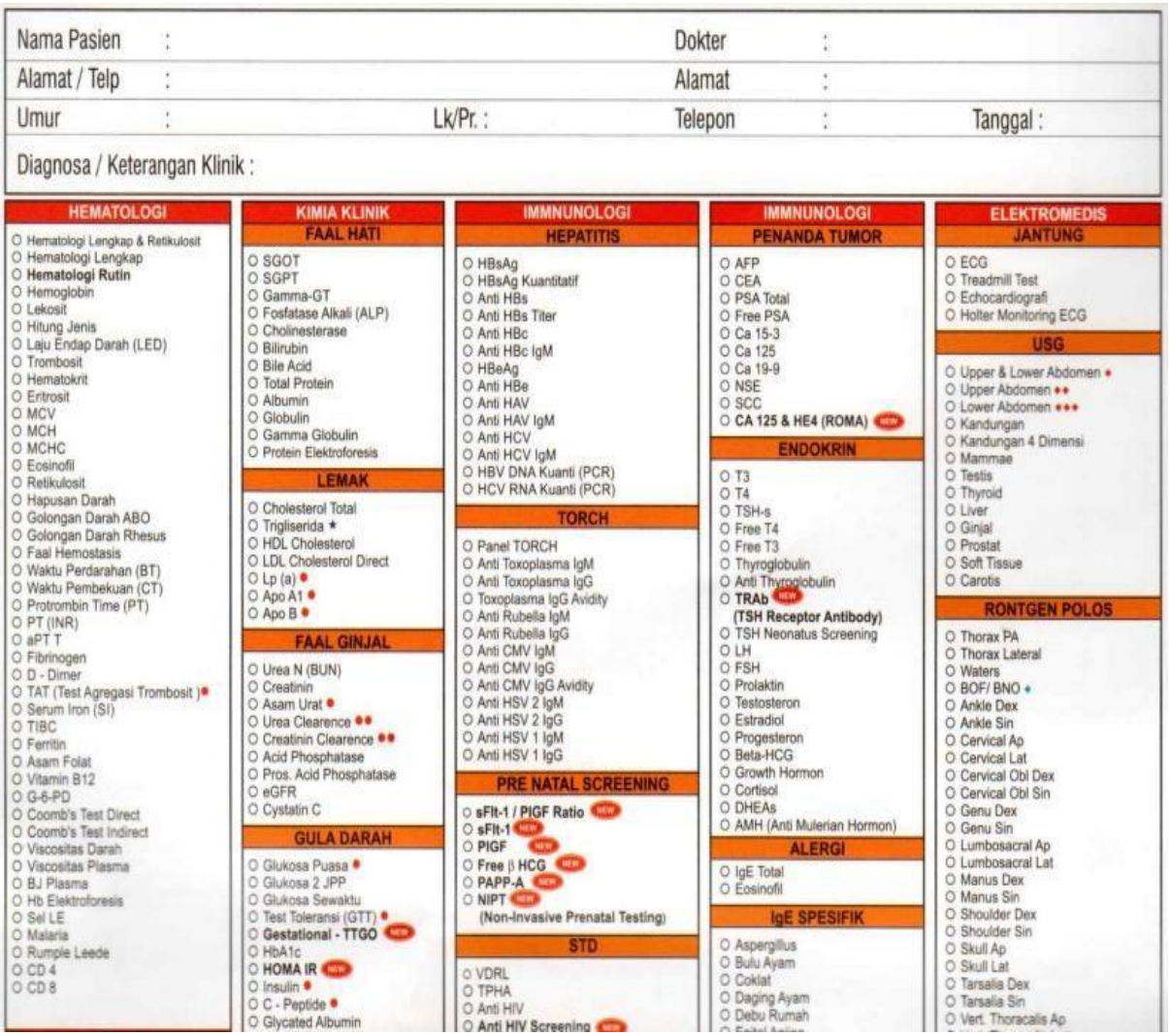
Formulir permintaan atau formulir elektronik yang sepadan berdasarkan SNI ISO 15189:2012, harus mencantumkan, namun tidak terbatas pada, hal berikut.

1. Identitas pasien, termasuk jenis kelamin, tanggal lahir dan alamat/ rincian kontak dari pasien, dan identitas unik. Catatan: Identitas unik termasuk identitas alfabet dan/ ataunumerik seperti nomor rekam medis rumah sakit, atau nomor asuransi kesehatan.
2. Nama atau identitas unik lainnya dari dokter, penyedia layanan kesehatan, atau orang lain yang secara hukum berwenang untuk meminta pemeriksaan atau menggunakan informasi medik, dilengkapi dengan alamat tujuan laporan dan rincian kontak
3. Jenis sampel primer dan, bila relevan, tempat anatomi dari bahan berasal.
4. Pemeriksaan yang diminta
5. Informasi klinik yang relevan dengan pasien dan permintaan pemeriksaannya, yang ditujukan untuk kinerja pemeriksaan dan interpretasi hasil (Catatan: Informasi yang dibutuhkan untuk kinerja pemeriksaan dan interpretasi hasil dapat mencakup asal usul pasien, riwayat keluarga, riwayat perjalanan dan paparan, penyakit menular, serta informasi klinis yang relevan lainnya).
6. Tanggal, dan bila relevan, waktu pengambilan sampel primer.
7. Tanggal dan waktu penerimaan sampel.

Ada hal-hal yang perlu diperhatikan, yaitu sebagai berikut.

1. Format permintaan (misalnya elektronik atau kertas) dan cara permintaan dikomunikasikan kepada laboratorium sebaiknya didiskusikan dengan pengguna layanan laboratorium.
2. Laboratorium harus memiliki prosedur terdokumentasi untuk permintaan pemeriksaan secara lisan yang mencakup memberikan konfirmasi melalui formulir permintaan atau formulir elektronik yang sepadan dalam waktu yang ditentukan.
3. Laboratorium harus bersedia untuk bekerjasama dengan pengguna laboratorium atau perwakilannya untuk mengklarifikasi permintaan pengguna jasa laboratorium.

Contoh formulir permintaan pemeriksaan laboratorium ada pada Gambar 2.5.



Nama Pasien : Dokter :
Alamat / Telp : Alamat :
Umur : Lk/Pr. : Telepon : Tanggal :
Diagnosa / Keterangan Klinik :

HEMATOLOGI
- Hematologi Lengkap & Retikulosit
- Hematologi Lengkap
- **Hematologi Rutin**
- Hemoglobin
- Lekosit
- Hitung Jenis
- Laju Endap Darah (LED)
- Trombosit
- Hematokrit
- Eritrosit
- MCV
- MCH
- MCHC
- Eosinofil
- Retikulosit
- Hapusan Darah
- Golongan Darah ABO
- Golongan Darah Rhesus
- Faal Hemostasis
- Waktu Perdarahan (BT)
- Waktu Pembekuan (CT)
- Protrombin Time (PT)
- PT (INR)
- aPT T
- Fibrinogen
- D - Dimer
- TAT (Test Agregasi Trombosit)
- Serum Iron (SI)
- TIBC
- Ferritin
- Asam Folat
- Vitamin B12
- G-6-PD
- Coomb's Test Direct
- Coomb's Test Indirect
- Viscositas Darah
- Viscositas Plasma
- BJ Plasma
- Hb Elektroforesis
- Sel LE
- Malaria
- Rumple Leede
- CD 4
- CD 8

KIMIA KLINIK

FAAL HATI
- SGOT
- SGPT
- Gamma-GT
- Fosfatase Alkali (ALP)
- Cholinesterase
- Bilirubin
- Bile Acid
- Total Protein
- Albumin
- Globulin
- Gamma Globulin
- Protein Elektroforesis

LEMAK
- Cholesterol Total
- Trigliserida ★
- HDL Cholesterol
- LDL Cholesterol Direct
- Lp (a) ●
- Apo A1 ●
- Apo B ●

FAAL GINJAL
- Urea N (BUN)
- Creatinin
- Asam Urat ●
- Urea Clearence ●●
- Creatinin Clearence ●●
- Acid Phosphatase
- Pros. Acid Phosphatase
- eGFR
- Cystatin C

GULA DARAH
- Glukosa Puasa ●
- Glukosa 2 JPP
- Glukosa Sewaktu
- Test Toleransi (GTT) ●
- **Gestational - TTGO** NEW
- HbA1c
- **HOMA IR** NEW
- Insulin ●
- C - Peptide ●
- Glycated Albumin

IMMUNOLOGI

HEPATITIS
- HBsAg
- HBsAg Kuantitatif
- Anti HBs
- Anti HBs Titer
- Anti HBc
- Anti HBc IgM
- HBeAg
- Anti HBe
- Anti HAV
- Anti HAV IgM
- Anti HCV
- Anti HCV IgM
- HBV DNA Kuanti (PCR)
- HCV RNA Kuanti (PCR)

TORCH
- Panel TORCH
- Anti Toxoplasma IgM
- Anti Toxoplasma IgG
- Toxoplasma IgG Avidity
- Anti Rubella IgM
- Anti Rubella IgG
- Anti CMV IgM
- Anti CMV IgG
- Anti CMV IgG Avidity
- Anti HSV 2 IgM
- Anti HSV 2 IgG
- Anti HSV 1 IgM
- Anti HSV 1 IgG

PRE NATAL SCREENING
- **sFlt-1 / PlGF Ratio** NEW
- **sFlt-1** NEW
- **PlGF** NEW
- **Free β HCG** NEW
- **PAPP-A** NEW
- **NIPT** NEW
  (Non-Invasive Prenatal Testing)

STD
- VDRL
- TPHA
- Anti HIV
- **Anti HIV Screening** NEW

IMMUNOLOGI

PENANDA TUMOR
- AFP
- CEA
- PSA Total
- Free PSA
- Ca 15-3
- Ca 125
- Ca 19-9
- NSE
- SCC
- **CA 125 & HE4 (ROMA)** NEW

ENDOKRIN
- T3
- T4
- TSH-s
- Free T4
- Free T3
- Thyroglobulin
- Anti Thyroglobulin
- **TRAb** NEW
  (TSH Receptor Antibody)
- TSH Neonatus Screening
- LH
- FSH
- Prolaktin
- Testosteron
- Estradiol
- Progesteron
- Beta-HCG
- Growth Hormon
- Cortisol
- DHEAs
- AMH (Anti Mulerian Hormon)

ALERGI
- IgE Total
- Eosinofil

IgE SPESIFIK
- Aspergillus
- Bulu Ayam
- Coklat
- Daging Ayam
- Debu Rumah

ELEKTROMEDIS

JANTUNG
- ECG
- Treadmill Test
- Echocardiografi
- Holter Monitoring ECG

USG
- Upper & Lower Abdomen ●
- Upper Abdomen ●●
- Lower Abdomen ●●●
- Kandungan
- Kandungan 4 Dimensi
- Mammae
- Testis
- Thyroid
- Liver
- Ginjal
- Prostat
- Soft Tissue
- Carotis

RONTGEN POLOS
- Thorax PA
- Thorax Lateral
- Waters
- BOF/ BNO ●
- Ankle Dex
- Ankle Sin
- Cervical Ap
- Cervical Lat
- Cervical Obl Dex
- Cervical Obl Sin
- Genu Dex
- Genu Sin
- Lumbosacral Ap
- Lumbosacral Lat
- Manus Dex
- Manus Sin
- Shoulder Dex
- Shoulder Sin
- Skull Ap
- Skull Lat
- Tarsalia Dex
- Tarsalia Sin
- Vert. Thoracalis Ap

Gambar 2.5
Contoh Formulir Permintaan Pemeriksaan Laboratorium

C. VARIABEL FISIOLOGIS PASIEN

Dalam mempersiapkan pasien untuk pengambilan spesimen, perawatan harus dilakukan untuk meminimalkan faktor fisiologis yang berhubungan dengan kegiatan yang mungkin mempengaruhi hasil uji laboratorium (Kiswari, 2016). Komposisi spesimen dipengaruhi oleh beberapa variabel pasien (Patel, 2019). Beberapa variabel fisiologis pasien yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan adalah sebagai berikut.

1. Umur

Nilai untuk beberapa komponen darah bervariasi tergantung pada umur pasien. Sebagai contoh, eritrosit dan leukosit biasanya lebih tinggi pada bayi baru lahir dibandingkan pada orang dewasa, seperti disajikan pada Tabel 2.1 dan Tabel 2.2 berikut ini (Narayanan, 2003).

Tabel 2.1

Perkembangan interval referensi kadar Hb, jumlah eritrosit dan MCV dari bayi baru lahir hingga dewasa (Narayanan, 2003)

Umur	Hb (mmol/L)	Jumlah eritrosit ($x\ 10^{12}$/L)	MCV(fL)
1-3 hari	115	5,3	108
2 minggu	103	4,9	105
2 bulan	72	4,0	96
2-6 tahun	78	4,6	81
6-12 tahun	84	4,6	86
12-18 tahun			
Laki-laki	90	4,9	88
Perempuan	86	4,6	90
Catatan	fL= femtoliter		

Tabel 2.2

Perkembangan interval referensi dari nilai baru lahir hingga dewasa untuk jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit (Narayanan,2003)

Umur	Jumlah leukosit ($x\ 10^9$ /L)	Neutrofil ($x\ 10^9$/L)	Limfosit ($x\ 10^9$/L)
12 jam	22,8	15,5	5,5
24 jam	18,9	11,5	5,8
1 minggu	12,2	5,5	5,0
6 bulan	11,9	3,8	7,3
2 tahun	10,6	3,5	6,3
6 tahun	8,5	4,3	3,5
21 tahun	7,4	4,4	2,5

2. Ketinggian

Hasil pengujian untuk beberapa analit darah menunjukkan variasi hasil yang signifikan pada orang yang tinggal pada ketinggian yang lebih tinggi dibandingkan dengan permukaan laut. Ketinggian 1.400 m berpengaruh terhadap peningkatan kadar Hemoglobin (Hb) dan hematokrit hingga 8%. Latihan olahraga di ketinggian tersebut dapat memiliki efek yang sama (Kiswari, 2014; Narayanan, 2003).

Kadar oksigen yang lebih rendah di tempat yang lebih tinggi menyebabkan tubuh memproduksi sel darah merah lebih banyak untuk memenuhi kebutuhan oksigen tubuh. Efek hipoksia pada ketinggian menyebabkan peningkatan eritropoietin. Salah satu fungsi eritrosit adalah membawa oksigen. Semakin tinggi tempat tinggal, maka semakin besar pula peningkatan jumlah eritrosit juga peningkatan hemoglobin dan hematokrit (Kiswari, 2014; Narayanan, 2003).

3. Dehidrasi

Dehidrasi atau penurunan cairan tubuh yang terjadi, misalnya, akibat muntah terus-menerus atau diare, dapat menyebabkan hemokonsentrasi yaitu suatu kondisi di mana komponen darah yang tidak dapat dengan mudah meninggalkan aliran darah, menjadi terkonsentrasi pada volume plasma yang lebih kecil. Komponen darah yang terpengaruh, antara lain, eritrosit, enzim, besi (Fe), kalsium (Ca), natrium (Na) dan faktor koagulasi. Akibatnya hasil pemeriksaan spesimen dari pasien yang mengalami dehidrasi berpotensi menyebabkan hasil yang tidak akurat. Di samping itu, seringkali terjadi mengempisnya vena, akibat dehidrasi, yang akan menyulitkan untuk mendapatkan spesimen darah dari pasien tersebut (Kiswari, 2014).

4. Makanan

Dua jam setelah makan 800 kalori akan meningkatkan volume plasma sehingga didapatkan pemeriksaan hematologi yang hasilnya dapat lebih rendah dari sebenarnya (KK Hematologi PDS PatKlin, 2016).

5. Terapi Obat

Beberapa obat dapat mengubah fungsi fisiologis, menyebabkan perubahan konsentrasi analit darah tertentu (Kiswari, 2014). Obat dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi. Pemakaian kortikosteroid dapat menurunkan jumlah eosinophil, meningkatkan jumlah netrofil segmen, dan menurunkan jumlah limfosit. Setelah penyuntikan adrenalin dapat terjadi peningkatan jumlah leukosit dan trombosit.

Obat-obat yang diberikan baik secara oral maupun cara lainnya akan menyebabkan terjadinya respon tubuh terhadap obat tersebut. Di samping itu pemberian obat secara intramuskular akan menimbulkan jejas pada otot sehingga mengakibatkan enzim yang dikandung oleh sel otot masuk ke dalam darah, yang selanjutnya akan mempengaruhi hasil pemeriksaan antara lain pemeriksaan *Creatin kinase* (CK) dan *Lactic dehydrogenase* (LDH). Obat-obat yang sering digunakan dan dapat mempengaruhi pemeriksaan dapat dilihat pada Tabel 2. 3 (PMK No.43, 2013).

Tabel 2.3

Daftar obat dan pemeriksaan yang dipengaruhi

Jenis obat	Pemeriksaan yang dipengaruhi
Pil KB (Hormon)	LED, Kadar hormon
Morfin	Enzim hati (GOT, GPT)
Phenobarbital	GGT
Efedrin	Amphetamine dan metamphetamine
Asetosal	Uji hemostasis
Vitamin C	Analisis kimia urin
Obat antidiabetika	Glukosa darah, Glukosa urin
Kortikosteroid	Hitung eosinofil, Tes toleransi glukosa

6. Aktivitas Fisik

Aktivitas fisik dapat menyebabkan terjadinya pemindahan cairan tubuh antara kompartemen di dalam pembuluh darah dan interstitial, kehilangan cairan karena berkeringat dan perubahan kadar hormon. Akibatnya akan terdapat perbedaan yang besar antara kadar gula darah di arteri dan di vena serta terjadi perubahan konsentrasi gas darah, kadar asam urat, kreatinin, aktivitas CK, AST, LDH, LED, Hb, hitung sel darah dan produksi urin (PMK No.43, 2013).

Latihan berat dapat menyebabkan penurunan jumlah eritrosit dan peningkatan hemoglobin plasma. Latihan lama dapat menyebabkan netrofilia, sedangkan latihan berat lama dapat menyebabkan leukositosis dengan netrofilia, limfopenia dan eosinopenia (KK Hematologi PDS PatKlin, 2016).

7. Jenis Kelamin

Berbagai kadar dan aktivitas zat dipengaruhi oleh jenis kelamin. Jenis kelamin seorang pasien dapat mempengaruhi konsentrasi sejumlah komponen darah. Sebagian besar perbedaan yang jelas hanya setelah kematangan seksual dan ditunjukkan dengan nilai normal

yang berbeda untuk laki-laki dan perempuan. Misalnya, jumlah eritrosit, hematokrit dan nilai Hb sedikit lebih rendah pada perempuan jika dibandingkan dengan laki-laki (Kiswari, 2014; Narayanan, 2003).

8. Merokok

Sejumlah komponen darah dipengaruhi oleh rokok. Merokok jangka panjang berdampak pada konstituen hematologi dalam darah, karena asap rokok mengandung karbon monoksida, yang memiliki afinitas jauh lebih besar terhadap hemoglobin daripada oksigen, kadar karbon monoksida dalam darah meningkat. Terdapat peningkatan jumlah hemoglobin, jumlah lekosit, dan jumlah eritrosit. MCV juga meningkat karena sel darah merah menjadi lebih besar. Perokok sehat jangka panjang yang merokok 1 (satu) bungkus sehari selama 1 (satu) tahun terbukti memiliki jumlah lekosit sekitar 1000 sel/µL ($1x10^9$), lebih tinggi jika dibandingkan dengan bukan perokok yang sehat (Kiswari 2014; Narayanan, 2003).

9. Kehamilan

Kehamilan menyebabkan perubahan fisiologis dalam banyak sistem tubuh. Pada wanita hamil terjadi hemodilusi yang mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium. Akibatnya hasil pemeriksaan laboratorium harus dibandingkan dengan referensi untuk populasi kehamilan. Contoh, peningkatan cairan tubuh yang normal selama kehamilan dapat menyebabkan penurunan relatif pada jumlah eritrosit (Kiswari, 2014).

Pemeriksaan laboratorium selama kehamilan, persalinan dan nifas merupakan salah satu komponen penting dalam pemeriksaan antenatal dan identifikasi risiko komplikasi kehamilan, persalinan, dan nifas. Perlu diingat, bahwa nilai rujukan laboratorium pada wanita yang tidak hamil berbeda dengan nilai rujukan laboratorium wanita hamil. Hal ini disebabkan karena adanya perubahan anatomi, fisiologi dan biokimia ibu hamil, sebagai adaptasi terhadap kehamilannya. Perubahan inilah yang harus dipahami oleh petugas kesehatan dalam memberikan pelayanan kesehatan sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.4 (PMK No. 25, 2015).

Tabel 2.4

Hasil Pemeriksaan Laboratorium pada Ibu Hamil

Parameter Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan pada Ibu Hamil
1. Hematologi	
a. Volume darah	Bertambah 40-45% pada akhir kehamilan. Pertambahan dimulai trimester I dan semakin bertambah pada trimester II, pada trimester III berkurang
b. Hemoglobin	Menurun 8,33-12,5% akibat hemodilusi
c. Hematokrit	Menurun 3-5% akibat hemodilusi
d. Eritrosit	Menurun 15-40%
e. Leukosit	Meningkat menjadi 5.000-16.000/mL
f. Trombosit	Menurun sebanyak 0-46,7% dari batas bawah normal (150.000/ µL). Jika terjadi penurunan > 46,7% diklasifikasikan sebagai ITP.
2. Fungsi Reparasi	Hiperventilasi dan respirasi alkalosis
3. Fungsi Ginjal	
a. Kreatinin serum	Menurun 30%
b. Urea serum	Menurun 30%-40%

Latihan

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

1) Jelaskan tentang tahapan pemeriksaan laoratorium yang berpotensi menimbulkan kesalahan paling besar di laboratorium klinik!
2) Jelaskan tentang jenis data atau dokumen yang diperlukan untuk instruksi kelengkapian formulir permintaan laboratorium!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam menjawab soal-soal Latihan 1 tersebut, silahkan dipelajari kembali bagian berikut pada Bab II ini.

1) Pengantar tentang pra-analitik pemeriksaan hematologi
2) Informasi Kepada Pasien

Ringkasan

Laboratorium hematologi sebagai bagian dari laboratorium medik mempunyai peran yang semakin dominan dalam pengambilan keputusan klinis. Selanjutnya penekanan pada pengendalian biaya menyebabkan evaluasi yang berkesinambungan dan terarah terhadap efektivitas dan peningkatan hasil klinis. Pemeriksaan laboratorium hematologi memainkan peran yang sangat penting dalam mendiagnosis, memantau, dan mengevaluasi hasil pasien, evaluasi kinerja laboratorium berbasis bukti sangat penting untuk memastikan bahwa pasien menerima perawatan yang aman, efisien, dan efektif (Plebani, et.al., 2017).

Pemeriksaan laboratorium hematologi seperti pada umumnya pemeriksaan laboratorium meliputi tiga tahap yang membentuk suatu proses pengujian total (*Total Testing Process*/TTP) yang meliputi: fase pra analitik, fase analitik dan fase pasca analitik (De la Salle, 2019).

Pra analitik merupakan persyaratan teknis yang wajib dipenuhi oleh organisasi laboratorium medis di dalam operasi bisnisnya. Tahap pra analitik merupakan tahap yang sangat penting karena merupakan tahap yang menentukan untuk memperoleh spesimen yang berkualitas untuk ditindaklanjuti pada tahap berikutnya. Sampai saat ini tahap pra analitik menyumbang kesalahan pemeriksaan laboratorium antara 36-68,2%. Salah satu tahap pra analitik adalah persiapan pasien yang bertujuan untuk mempersiapkan pasien agar dapat mengendalikan dan meminimalkan kesalahan-kesalahan yang berpotensi pada tahap ini.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada persiapan pasien, antara lain, tentang informasi kepada pasien, informasi formulir permintaan, dan variabel fisiologis pasien yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium hematologi. Informasi kepada pasien diharapkan pasien memperoleh informasi terkait aspek-aspek yang ada di laboratorium untuk diketahui dan difahami oleh pasien sehingga pasien merasa siap pada saat akan melakukan pemeriksaan di laboratorium. Informasi formulir permintaan pemeriksaan laboratorium merupakan komponen yang penting yang perlu disosialisasikan kepada pihak terkait agar komponen-komponen atau data yang diperlukan pada formulir permintaan tersebut diisi dengan jelas, teliti, dan lengkap sehingga dapat meminimalkan kesalahan-kesalahan yang tidak diharapkan. Variabel fisiologis pasien penting diketahui dan dipahami agar pihak manajemen laboratorium dapat mengantisipasi dan membuat kebijakan yang dapat membantu meminimalkan adanya potensi kesalahan pada kondisi-kondisi tersebut.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) menerima formulir permintaan pemeriksaan laboratorium dari pasien perempuan, usia 45 tahun. Pemeriksaan yang diminta adalah darah lengkap dan profil lipid. Pasien diidentifikasi, selanjutnya diverifikasi. Pasien terakhir makan malam Pkl. 22.00 WIB dan pengambilan spesimen dilakukan pkl. 07.00 WIB.
   Apakah kesalahan pada tahap praanalitik pada kasus tersebut?
   A. Ketidaksesuaian permintaan pemeriksaan
   B. Ketidaksesuaian jenis penampung specimen
   C. Misidentifikasi identitas pasien
   D. Ketidaksesuaian waktu pengambilan spesimen
   E. Ketidaksesuaian input permintaan pemeriksaan

2) Seorang ATLM yang sedang bertugas di laboratorium suatu Rumah Sakit diminta mengambil spesimen di ruang rawat inap. Formulir permintaan pemeriksaan laboratorium ditulis dengan kode STAT/Cito. Pemeriksaan yang diminta darah lengkap. Apakah tindakan yang paling tepat dilakukan oleh ATLM pada kasus tersebut?
   A. Merujuk spesimen ke laboratorium lain
   B. Mengirim spesimen sesegera mungkin ke laboratorium
   C. Mengirim spesimen menunggu spesimen pasien lainnya terkumpul
   D. Menyimpan spesimen pada suhu refrigerator
   E. Menunggu kurir yang sedang bertugas di luar tempat kerja.

3) Seorang ATLM menerima formulir permintaan pemeriksaan dari pendamping pasien. Pasien seorang anak perempuan, usia 8 tahun. Petugas tersebut mengecek informasi klinik pasien yang tercantum suspek talasemia.
   Apakah jenis informasi yang diperlukan pada kasus tersebut?
   A. Riwayat keluarga pasien
   B. Waktu pengambilan spesimen
   C. Waktu pengiriman spesimen
   D. Jenis kelamin pasien
   E. Area pengambilan specimen

4) Seorang ATLM menerima formulir permintaan dari pasien perempuan, usia 35 tahun yang sedang hamil 6 bulan. Pemeriksaan yang diminta adalah darah lengkap.
Apakah hasil pemeriksaan yang berpotensi terjadi peningkatan pada kasus tersebut?

A. Kadar hemoglobin
B. Jumlah eritrosit
C. Jumlah lekosit
D. Jumlah trombosit
E. Nilai hematokrit

5) Seorang ATLM menerima formulir permintaan dari pasien perempuan, usia 18 tahun. Informasi klinik pasien diare dan muntah-muntah. Pemeriksaan yang diminta darah lengkap.

Apakah pemeriksaan yang terpengaruh pada kasus tersebut?

A. Hitung jenis lekosit
B. Jumlah eritrosit
C. Jumlah lekosit
D. Jumlah trombosit
E. MPV (*Mean Platelet Volume*)

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	- 100%	=	baik sekali
	80	- 89%	=	baik
	70	- 79%	=	cukup
		< 70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Pengambilan Spesimen

Laboratorium harus memiliki prosedur terdokumentasi untuk pengambilan dan penanganan spesimen primer yang tepat. Prosedur terdokumentasi harus tersedia untuk personel yang bertanggung jawab dalam pengambilan spesimen primer baik staf laboratorium maupun bukan karyawan laboratorium.

Semua tindakan di laboratorium yang dilakukan pada pasien memerlukan persetujuan pasien. Untuk sebagian prosedur laboratorium rutin, persetujuan dapat disimpulkan bila pasien sendiri datang ke laboratorium dengan formulir permintaan dan dengan sukarela untuk menjalani prosedur pengambilam sampel yang biasa dilakukan, misalnya pengambilan darah vena. Pasien yang dirawat di rumah sakit sebaiknya diberikan kesempatan untuk menolak.

Prosedur khusus, termasuk prosedur yang lebih invasif, atau prosedur dengan peningkatan risiko komplikasi, membutuhkan penjelasan yang lebih rinci dan, dalam beberapa kasus, memerlukan persetujuan tertulis. Dalam situasi darurat, dimana persetujuan tidak dimungkinkan, maka tindakan dapat dilakukan tanpa persetujuan selama untuk kepentingan terbaik pasien. Laboratorium sebaiknya menyediakan ruang privasi yang layak selama proses pengambilan sampel dan sesuai dengan informasi terhadap permintaan dan pengambilan sampel primer.

Instruksi kegiatan pengambilan sampel berdasarkan petunjuk laboratorium untuk kegiatan pengambilan sampel berdasarkan SNI ISO 15189: 2012 adalah harus mencakup hal-hal berikut.

1. Penentuan identitas pasien dari siapa sampel primer tersebut diambil.
2. Verifikasi bahwa pasien memenuhi persyaratan pra analitik (misalnya puasa, status pengobatan (waktu terakhir minum obat atau berhenti).
3. Pengambilan spesimen antar waktu atau waktu yang telah ditentukan, dan lain-lain. Pada umumnya pengambilan spesimen dilakukan pada pagi hari, terutama untuk pemeriksaan hematologi, kimia klinik dan imunologi karena pada umumnya nilai normal ditetapkan pada keadaan basal. Namun ada beberapa pemeriksaan yang waktu pengambilan spesimennya harus disesuaikan dengan perjalanan penyakit dan fluktuasi harian.
4. Instruksi untuk pengambilan sampel primer darah dan non darah, disertai penjelasan dari wadah sampel primer dan bahan tambahan yang diperlukan.

5. Bila sampel primer diambil sebagai bagian dari praktek klinis, informasi dan instruksi mengenai wadah sampel primer, bahan tambahan yang diperlukan, setiap proses yang diperlukan, dan kondisi transportasi sampel harus ditetapkan dan dikomunikasikan kepada staf klinis terkait.
6. Tersedia instruksi pelabelan sampel primer yang menunjukkan kaitan yang jelas dengan pasien yang diambil sampelnya.
7. Ada rekaman identitas orang yang mengambil sampel primer dan tanggal pengambilan dan bila diperlukan rekaman waktu pengambilan.
8. Ada Instruksi mengenai kondisi penyimpanan yang sesuai sebelum sampel dikirim ke laboratorium,
9. Ada prosedur pembuangan yang aman dari bahan yang digunakan dalam pengambilan sampel.

A. PENENTUAN IDENTITAS PASIEN

1. Identifikasi pasien

Identifikasi pasien adalah suatu sistem identifikasi kepada pasien untuk membedakan antara pasien satu dengan pasien yang lain, sehingga memperlancar atau mempermudah dalam pemberian pelayanan kepada pasien. Ketepatan identifikasi pasien menjadi hal yang penting, bahkan berhubungan langsung dengan keselamatan pasien. Mengidentifikasi pasien dengan benar merupakan sasaran yang pertama dari 6 (enam) Sasaran Keselamatan Pasien (Permenkes No.11 Tahun 2017).

2. Maksud dan Tujuan

Tujuan dilakukan identifikasi pasien adalah untuk memastikan ketepatan pasien yang akan menerima layanan atau tindakan, serta untuk menyelaraskan layanan atau tindakan yang dibutuhkan oleh pasien. Kesalahan karena keliru-pasien sebenarnya pernah terjadi di semua aspek diagnosis dan pengobatan. Keadaan yang dapat mengarahkan terjadinya *error*/kesalahan dalam mengidentifikasi pasien, adalah pasien yang dalam keadaan terbius/tersedasi, mengalami disorientasi, atau tidak sadar sepenuhnya; mungkin bertukar tempat tidur, kamar, lokasi di dalam fasilitas pelayanan kesehatan; mungkin mengalami disabilitas sensori; atau akibat situasi lain (Permenkes No.11 Tahun 2017). Tujuan ganda dari sasaran ini adalah, pertama: untuk dengan cara yang dapat dipercaya/*reliable* mengidentifikasi pasien sebagai individu yang dimaksudkan untuk mendapatkan pelayanan atau pengobatan; dan kedua: untuk mencocokkan pelayanan atau pengobatan terhadap individu tersebut (Permenkes No.11 Tahun 2017).

3. Kebijakan dan Prosedur

Kebijakan dan/atau prosedur yang secara kolaboratif harus dikembangkan untuk memperbaiki proses identifikasi, khususnya proses yang digunakan untuk mengidentifikasi pasien ketika pemberian darah atau produk darah, pengambilan darah atau produk darah dan spesimen lain untuk pemeriksaan klinis; atau memberikan pengobatan atau tindakan lain. Kebijakan dan/atau prosedur memerlukan sedikitnya dua cara untuk mengidentifikasi seorang pasien, yaitu sebagai berikut:

a. nama pasien, dengan dua nama pasien;
b. nomor identifikasi menggunakan nomor rekam medis;
c. tanggal lahir; atau
d. gelang (identitas pasien) dengan *bar-code*, atau cara lain.
   Catatan: nomor kamar atau lokasi pasien tidak dapat digunakan untuk identifikasi (Permenkes No.11 Tahun 2017).

Kebijakan dan/atau prosedur juga menjelaskan penggunaan dua pengidentifikasi/penanda yang berbeda pada lokasi yang berbeda di fasilitas pelayanan kesehatan, seperti di pelayanan ambulatori atau pelayanan rawat jalan yang lain, unit gawat darurat, atau kamar operasi. Identifikasi terhadap pasien koma yang tanpa identitas, juga termasuk. Suatu proses kolaboratif digunakan untuk mengembangkan kebijakan dan/atau prosedur untuk memastikan telah mengatur semua situasi yang memungkinkan untuk diidentifikasi (Permenkes No.11 Tahun 2017).

a. Gelang Pasien. Pasangkan gelang identifikasi pada pergelangan tangan pasien yang dominan (sesuai dengan kondisi). Petugas akan memastikan gelang terpasang dengan baik dan nyaman untuk pasien. Jika gelang tidak bisa dipasang di pergelangan tangan pasien, dapat kenakan pada pergelangan kaki (Permenkes No.11 Tahun 2017).
b. Warna Gelang. Gelang warna merah muda untuk pasien dengan jenis kelamin perempuan, biru untuk pasien dengan jenis kelamin laki-laki, merah untuk pasien dengan alergi obat, kuning untuk pasien dengan risiko jatuh, dan ungu untuk pasien yang menolak tindakan resusitasi (*Do Not Rescucitation*) (Permenkes No.11 Tahun 2017).

4. Kegiatan Identikasi Pasien

Kegiatan pada identifikasi pasien adalah sebagai berikut.

a. Pasien diidentifikasi menggunakan dua identitas pasien, tidak boleh menggunakan nomor kamar atau lokasi pasien.
b. Pasien diidentifikasi sebelum pemberian obat, darah, atau produk darah.
c. Pasien diidentifikasi sebelum mengambil darah dan spesimen lain untuk pemeriksaan klinis. Pasien diidentifikasi sebelum pemberian pengobatan dan tindakan/prosedur.

d. Diberlakukan kebijakan dan prosedur mengarahkan pelaksanaan identifikasi yang konsisten pada semua situasi dan lokasi.

Beberapa hal penting pada identifikasi pasien yang dapat berakibat fatal adalah pada saat: memberikan obat, darah, atau produk darah, mengambil darah dan spesimen lain untuk pengujian klinis, sebelum memberikan perawatan dan prosedur. Untuk bayi; identifikasi juga dilakukan sebelum mentransfer dari kamar bayi ke kamar ibu (Permenkes No.11 Tahun 2017).

5. Identitas Pasien yang Dapat Diterima

Identitas pasien yang dapat diterima, antara lain, meliputi hal-hal berikut.

a. Nama. Sebaiknya ATLM meminta pasien untuk menyebutkan Namanya. Jangan bertanyakepada pasien: “Apakah Anda Ny. Smith?” karena banyak pasien mungkin mengatakan “ya” tanpa benar-benar mendengar atau memahami apa yang ditanyakan. Pasien diminta untuk menyebutkan nama lengkapnya.
b. Tanggal lahir. Pasien juga harus menyebutkan tanggal lahirnya. Ada kemungkinan terdapat dua pasien dengan nama depan dan belakang yang sama, tetapi tidak mungkin memiliki tanggal lahir yang sama.
c. Nomor Jaminan sosial atau identitas pasien. Penggunaan nomor jaminan sosial tidak lagi direkomendasikan pada banyak kasus, kecuali pada mereka yang mendapatkan perawatan di fasilitas pelayanan kesehatan pemerintah.
d. Identifikasi melalui surat ijin mengemudi atau identitas lain yang ada foto pasien. Untuk spesimen resmi atau yang terkait dengan pekerjaan, identitas foto dibutuhkan untuk identifikasi definitif. Cara ini merupakan cara identifikasi yang dapat diterima pada segala situasi tetapi tidak selalu diperlukan. Pada banyak klinik, identitas foto merupakan bagian dari rekam medik permanen pasien.
e. Pada rumah sakit atau tatanan lain dengan kondisi pasien yang mungkin tidak dapat berbicara dengan petugas pengambil spesimen, identitas pasien tetap harus dipastikan sebelum spesimen diambil. Jangan pernah menggunakan nama yang tertulis atau tercetak di atas tempat tidur pasien.Jika pasien memiliki gelang yang telah terpasang di pergelangan tangan, gelang identitas ini dapat digunakan apabila pasien tidak dapat memastikan identitasnya secara verbal.

B. VERIFIKASI PERSIAPAN PASIEN

Verifikasi persiapan pasien yang dimaksud adalah untuk memastikan bahwa pasien memenuhi persyaratan pra analitik, antara lain, hal-hal berikut.

1. Puasa. Saat memberikan penjelasan kepada pasien tentang cara persiapan uji yang akan dilakukan, penting bagi petugas laboratorium untuk mengetahui kapan spesimen harus diambil dan perhitungan dari kapan terakhir kali pasien makan.
2. Status pengobatan. Perhitungan waktu setelah pasien terakhir minum obat atau berhenti, dan berapa lama pasien harus beristirahat sebelum pasien diambil darahnya,
3. Pengambilan sampel antar waktu atau waktu yang telah ditentukan, dan lain- ain (SNI ISO 15189:2012).

Beberapa studi telah mengungkapkan bahwa kesalahan dalam identifikasi pasien pada tahap pra analitik merupakan kesalahan serius yang dapat menyebabkan risiko tinggi terhadap pasien. Keakuratan dalam proses verifikasi identifikasi pasien merupakan tahap paling penting untuk meningkatkan keselamatan pasien (De La Sale, 2019).

C. VARIABEL PENGAMBILAN SPESIMEN

Pengambilan spesimen yang tepat merupakan komponen penting pada pemeriksaan laboratorium sebagai bagian dari pra analitik (Lieseke dan Zeibig, 2018). Di antara variabel fase pra analitik yang dapat dikontrol, pengumpulan spesimen merupakan tahap yang paling kritis (Mayomedical Laboratories, 2008). Dalam pembahasan ini berfokus pada pengambilan darah dari pasien. Terdapat beberapa variabel pada tahap ini yang mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium yang dapat berpotensi menyebabkan kesalahan pada hasil pemeriksaan laboratorium. Variabael-variabel itu, antara lain, adalah posisi saat pengambilan darah, ritme sirkardian, waktu pengambilan spesimen, tourniquet, jenis spesimen, penampung dan antikoagulan, puasa, dan lain-lain (Patel, 2019; Mayo Medical Laboratories, 2008).

1. Posisi

Posisi tubuh sebelum dan selama pengumpulan darah dapat mempengaruhi komposisi spesimen. Dari posisi berbaring ke posisi duduk atau berdiri tegak menyebabkan pengaliran darah ke jaringan dan penurunan volume plasma pada orang dewasa hingga 10%. Akibatnya konsentrasi komponen protein darah atau yang terkait dengan protein seperti aldosterone, bilirubin, sel darah, kalsium, kolesterol, zat besi, protein, dan renin menjadi meningkat.

Jumlah eritrosit pada pasien yang telah berdiri sekitar 15 menit akan lebih tinggi daripada jumlah eritrosit basal pada pasien tersebut (Kiswari, 2014). Oleh karena itu apabila spesimen darah akan diambil dari pasien dalam posisi duduk, seperti halnya pada pasien rawat jalan, postur duduk harus distandarisasi dengan menginstruksikan kepada pasien untuk tetap duduk selama 15 menit sebelum pengambilan spesimen (Narayanan, 2000).

2. Ritme Sirkardian

Pada tubuh manusia terjadi perbedaan kadar zat-zat tertentu dalam tubuh dari waktu ke waktu yang disebut dengan variasi *circadian rhytme.* Jumlah lekosit lebih tinggi di malam hari jika dibandingkan dengan jumlah di pagi hari. Peningkatan ini terutama disebabkan oleh peningkatan limfosit T yang bersirkulasi, terutama sel T helper CD4+ yang kadarnya lebih tinggi pada malam hari dibandingkan dengan pada pagi hari.

Berbeda dengan ritme kortisol plasma dengan nilai tertinggi di pagi hari dan nilai terendah di tengah malam. Jumlah limfosit yang bersirkulasi mencapai puncaknya pada pukul 07.00 pagi, mencapai nilai terendah pada siang hari (12:00), mulai meningkat pada sore hari, dan mencapai nilai tertinggi saat tidur. Jumlah eosinofil menunjukkan variasi diurnal, jumlahnya akan lebih rendah pada malam sampai pagi hari dibandingkan pada siang atau sore hari.

Kadar besi serum yang diambil pada pagi hari akan lebih tinggi daripada sore hari (KK Hematologi PDS PatKlin, 2016; Dale et al, 2002). Kalium, pada pagi hari lebih tinggi daripada siang hari (Narayanan, 2003).

3. Waktu Pengumpulan Spesimen

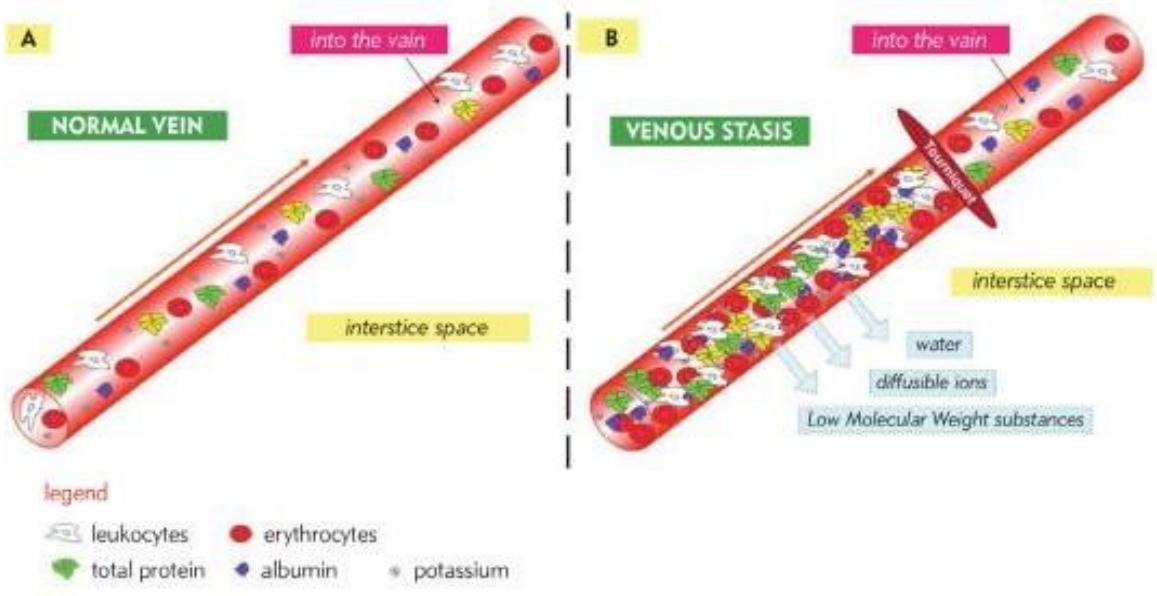
Kadang-kadang spesimen harus dikumpulkan pada waktu tertentu. Kegagalan untuk mengikuti jadwal yang direncanakan dapat menyebabkan hasil yang keliru dan salah tafsir terhadap kondisi pasien (Kiswari, 2014). Pengaturan waktu mengacu pada perubahan diurnal yang terlihat pada kadar/konsentrasi beberapa analit dalam sirkulasi. Oleh karena itu, penting untuk waktu pengumpulan spesimen dijaga konstan dari hari ke hari untuk mengesampingkan variasi yang disebabkan oleh efek diurnal (Marcia, 2018).

4. Tourniquet

Penggunaan tourniquet dapat membantu kemudahan untuk menemukan vena, tetapi penggunaan jangka panjang tourniquet dapat mengubah hasil laboratorium (Makitalo dan Lilkanen, 2013). Aplikasi tourniquet yang lama dapat menyebabkan hemokonsentrasi, yang meningkatkan konsentrasi analit dan komponen seluler (Kiswari, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Lima-Oliveira et al., tahun 2014, bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh stasis vena dengan aplikasi tourniquet selama pengumpulan spesimen diagnostik darah dengan *venipuncture*. Secara singkat, stasis vena yang diinduksi torniket mendorong keluarnya air, ion yang dapat berdifusi, dan zat dengan berat molekul rendah dari pembuluh darah, sehingga meningkatkan konsentrasi berbagai analit darah di tempat tusukan, dan berpotensi mempengaruhi interpretasi hasil pemeriksaan laboratorium (lihat gambar 2.6). Selain itu, ketika lingkungan mikro vaskular mengalami hipoksia dan stasis bersamaan, sel endotel diaktifkan dan dapat secara aktif melepaskan berbagai senyawa dalam

aliran darah (misalnya, aktivator plasminogen tipe jaringan). Akumulasi beberapa bioproduk juga terjadi, seperti proton yang memiliki potensi untuk mendorong perubahan parameter laboratorium. Analisis yang paling penting yang dipengaruhi oleh aplikasi tourniquet ditunjukkan pada Tabel 2.5.



Gambar 2.6

Representasi skema efek stasis aplikasi tourniquet pada konstituen darah

Keterangan Gambar 2.6: Aliran darah normal melalui vena yang tidak terhalang (Gambar 2.6 A). Obstruksi karena tourniquet mengurangi aliran darah sehingga menciptakan stasis vena (Gambar 2.6 B) dengan aliran air bersih dari pembuluh ke celah. Unsur bermassa molekul rendah berdifusi dengan air sedangkan senyawa berbobot molekul tinggi dan sel terkonsentrasi di vena.

Tabel 2.5 Pengaruh stasis vena akibat aplikasi tourniquet pada pemeriksaan hematologi

	Aplikasi Waktu Pemasangan Tourniquet				
TEST	**30 detik**	**60detik**	**90 detik**	**120 detik**	**180 detik**
FIB	NS	NA	I	I	I
PT	NS	NA	NS	D	D
APTT	NS	NA	NS	D	D
PLT	NS	I	I	I	D
RBC	NS	I	I	I	I

Aplikasi Waktu Pemasangan Tourniquet					
TEST	**30 detik**	**60detik**	**90 detik**	**120 detik**	**180 detik**
Hb	NS	I	I	I	I
Ht	NS	I	I	I	I
WBC	NS	I	I	I	I
NEU	NS	I	I	I	I
LYMP	NS	NS	I	I	I
MONO	NS	I	I	NS	NS
EOS	NS	I	I	NS	I
BASO	NS	NS	I	I	I

Keterangan Tabel 2.5: NS: tidak signifikan; I: meningkat; D: penurunan; NA: tidak tersedia; FIB: fibrinogen; PT: waktu protrombin; APTT: waktu tromboplastin parsial yang diaktifkan; PLT: trombosit; RBC: sel darah merah; Hb: hemoglobin; Ht: hematokrit; WBC: sel darah putih; NEU: neutrofil; LIMP: limfosit; MONO: monosit; EOS: eosinofil; BASO: basofil.

5. Jenis Spesimen

Darah vena dan kapiler tidak sama. Darah dari punksi kapiler merupakan campuran darah dari arteriol, vena, dan kapiler serta mengandung sejumlah cairan intersitial dan intraseluler. Umumnya darah vena digunakan untuk pemeriksaan hematologi dan kimia darah (KK Hematologi PDsPatklin, 2016).

a. Penampung dan Antikoagulan

Penampung darah yang sesuai merupakan hal yang penting untuk menghindari kesalahan selama pengambilan, penyimpanan, transportasi spesimen ke laboratorium. Penampung yang dipakai untuk pemeriksaan hematologi mengandung antikoagulan. Antikoagulan yang umum dipakai untuk pemeriksaan parameter hematologi adalah garam *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA).

Perbandingan jumlah darah dengan antikoagulan yang dipakai harus tepat karena bila bila darah yang dipakai lebih banyak dari yang seharusnya, maka akan didapat mikrotrombi di dalam penampung yang dapat berpengaruh menurunkan jumlah trombosit dan dapat menyumbat alat pemeriksaan. Apabila volume darah kurang dari seharusnya, maka antikoagulan akan berlebih dan dapat mengakibatkan eritrosit mengerut sehingga nilai hematokrit lebih rendah.

Konsentrasi garam EDTA sebagai antikoagulan juga dapat memengaruhi neutrophil. Bila digunakan 1,50 mg garam EDTA/mL darah dapat menyebabkan pembengkakan neutrofil, hilangnya struktur lobus neutrophil, dan hilangnya granulasi dalam sitoplasma. Bila

konsentrasi garam EDTA lebih dari 2,5 mg/mL darah, maka neutrofil akan langsung mengalami disintegrasi.

Penggunaan tabung vakum yang sudah batas kadaluarsa dapat menimbulkan hal-hal berikut.

1) Daya isap ke dalam tabung vakum berkurang, sehingga rasio darah terhadap antikoagulan menurun dengan akibat darah tersebut mengandung antikoagulan yang berlebih.
2) Aktivitas antikoagulan berkurang sehingga dapat menimbulkan mikrotrombi dan menyumbat alat pemeriksaan.
3) Antikoagulan yang ada di dalam tabung vakum dapat menguap sehingga mengganggu rasio antara jumlah darah terhadap antikoagulan.

b. Puasa

Spesimen puasa dibutuhkan untuk beberapa pemeriksaan laboratorium. Puasa berarti seseorang tidak boleh mengonsumsi makanan atau cairan apapun selain air mineral selama 12 jam sebelum dilakukan pengambilan spesimen. Pasien biasanya dapat mengonsumsi obat-obatan yang telah diresepkan dokter apabila dengan melewatkan atau menunda satu dosis hingga selesai periode puasa dapat membahayakan kesehatan pasien (Lieseke dan Zeibig, 2018).

c. Hemolisis

Hemolisis (penghancuran sel darah merah) merupakan sumber kesalahan penting yang terkait dengan fase pra-analisis. Pengetahuan tentang derajat hemolisis sampel sangat penting. Hal ini memungkinkan penanganan sampel yang berbeda, sesuai dengan jenis hemolisis, dan untuk melakukan tindakan korektif terhadap gangguan tersebut (Garcia, 2020). Hemolisis dapat disebabkan oleh alasan patofisiologis atau penyebab eksogen. Pengetahuan tentang jenis hemolisis penting untuk melakukan manajemen yang lebih tepat dari parameter yang terganggu (Tabel 2.6).

Hemolisis sering terjadi ketika pengambilan darah tidak dilakukan dengan benar, misalnya ketika jarum tidak dimasukkan dengan benar ke dalam vena (Makitalo dan Lilkanen, 2013). Meningkatkan protokol untuk deteksi, pengukuran, pengelolaan parameter yang dipengaruhi oleh gangguan hemolisis, dan diferensiasi antara hemolisis in vivo dan in vitro, akan mendukung manajemen hemolisis untuk dengan meningkatkan keselamatan pasien (Garcia, 2020).

Pemeriksaan biokimia terganggu oleh kerusakan sel darah merah sebagai akibat dari pelepasan konten selulernya. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) mendefinisikan interferensi sebagai "kesalahan sistematis pengukuran yang

disebabkan oleh komponen sampel, yang dengan sendirinya tidak menghasilkan sinyal dalam sistem pengukuran". Interferensi (bias) dalam proses hemolisis melalui empat jenis mekanisme yaitu: 1) peningkatan konsentrasi konstituen dengan pelepasan intraseluler; 2) interferensi kimia; 3) interferensi spektrofotometri; dan 4) gangguan oleh efek pengenceran. Berikut uraian masing-masing interferensi tersebut.

1) Peningkatan konsentrasi konstituen dengan pelepasan intraseluler. Di dalam sel darah merah terdapat beberapa analit dengan konsentrasi yang lebih tinggi daripada cairan di sekitarnya. Dengan demikian, pelepasan sel darah merah sebagai akibat dari hemolisis menghasilkan interferensi positif pada pemeriksaan yang relevan, menyebabkan perkiraan kadar yang lebih tinggi dari nilai sebenarnya. Kalium, LDH, AST, magnesium atau fosfor adalah parameter yang memiliki perbedaan terbesar antara media intraseluler sel darah merah dan media ekstraseluler yang menunjukkan interferensi signifikan sudah terjadi pada derajat hemolisis rendah (Garcia, 2020).
2) Interferensi kimia. Dalam mekanisme ini, zat pengganggu bekerja pada salah satu fase reaksi kimia pengujian. Secara umum, interaksi atau kompetisi beberapa zat yang dilepaskan dari sel darah merah, seperti protein atau lipid, dengan reagen atau produk reaksi akan terjadi, sehingga mengubah konsentrasi parameter yang dianalisis. Sebagai contoh interaksi ini adalah efek yang diberikan hemoglobin pada pengukuran bilirubin.
3) Interferensi spektrofotometri. Panjang gelombang di mana parameter yang diukur secara spektrofotometri ditentukan dapat tumpang tindih dengan spektrum penyerapan hemoglobin. Dengan demikian, pengujian analit akan mengalami gangguan tergantung pada derajat hemolisis. Baik oksihemoglobin dan deoksihemoglobin memiliki penyerapan maksimum pada 415 nm dengan rentang deteksi masing-masing antara 320 nm dan 450 nm, dan antara 540 nm dan 589 nm. Pengujian yang panjang gelombang deteksinya berada di antara interval di atas akan terpengaruh, misalnya, lipase, albumin dan *gama-glutamil transferase* (GGT). Analit ini diperkirakan terdapat peningkatan, sementara pemeriksaan yang lain seperti *alkaline phosphatase* (ALP) akan diabaikan ketika hemoglobin terdegradasi dalam media alkali (Garcia, 2014).
4) Gangguan oleh efek pengenceran. Analit yang konsentrasinya lebih rendah di dalam sel darah merah dibandingkan dengan cairan ekstraseluler, akan mengalami pengurangan lebih lanjut ketika terjadi hemolisis, karena efek pengenceran. Natrium, klorida, dan glukosa adalah contoh klasik dari jenis interferensi ini. Gangguan seperti itu pada natrium, yang memiliki regulasi homeostatis yang sangat sempit, dapat memiliki relevansi klinis yang penting.

Ada kemungkinan bahwa, ketika tingkat hemolisis sangat tinggi, beberapa mekanisme yang telah dijelaskan terjadi secara bersamaan. Derajat interferensi yang disebabkan oleh hemolisis tidak hanya penting dalam pemeriksaan biokimia spektrofotometri, tetapi juga dalam tes gasometrik, hematositometrik, koagulometri, dan immunoassay.

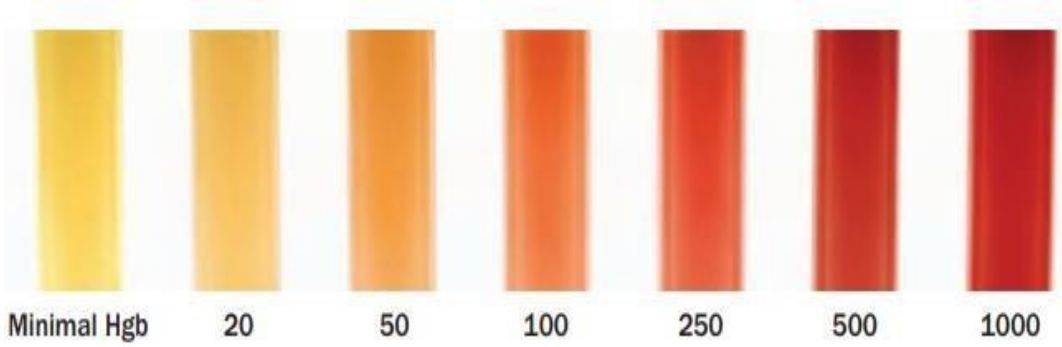
Tabel 2.6

Daftar Penyebab Hemolisis yang Terjadi Secara Invivo dan Invitro

Beberapa Penyebab Hemolisis invivo	
Diturunkan	**Didapat**
Kelainan hemoglobin	Penyebab-penyebab yang diperantarai imun
Kelainan membrane eritrosit	Hipersplenisme
Kelainan metabolisme eritrosit	Luka bakar
Defisiensi G6PD	Infeksi
Defisiensi piruvat kinase	Kerusakan mekanik di sirkulasi
Defisiensi enzim eritrosit lainnya	Kesalahan imunofenotiping pada transfusi darah
	Obat-obatan dan toksin
Penyebab-penyebab hemolisis invitro	
Tergantung operator	Penanganan spesimen
	Pengiriman spesimen
Tergantung perlengkapan	Pemrosesan spesimen
	Penyimpanan spesimen

Hemolisis adalah degradasi sel darah merah secara invitro atau invivo. Namun, sebagian besar peristiwa hemolisis terjadi karena gangguan mekanis integritas sel darah merah selama pengumpulan sampel, transportasi, pemrosesan atau penyimpanan. Hemolisis merupakan masalah kritis terutama pada sampel darah yang berasal dari layanan darurat dan sampel yang diambil dari anak-anak.

Hemolisis yang terlihat setelah sentrifugasi didefinisikan sebagai adanya hemoglobin bebas dalam serum atau plasma >100 mg/L. Gambaran grafik derajat hemolisis pada spesimen plasma atau serum diberikan pada gambar 2.7.



Gambar 2.7

Grafik derajat hemolisis dalam serum atau plasma (Sumber: Mayoclinic Laboratories, 2008)

Keterangan: Perkiraan konsentrasi hemoglobin dalam plasma atau serum (mg/dL)
Panduan umum untuk penerimaan/penolakan spesimen:
< 50 (mg/dL) : tidak hemolisis
>100 mg/dL : hemolisis

D. TEKNIK/PROSEDUR PENGAMBILAN SPESIMEN

Darah merupakan spesimen utama dalam pemeriksaan laboratorium hematologi yang dapat digunakan untuk manajemen klinis atau pemeriksaan kesehatan. Memperoleh darah dari pasien diperlukan beberapa teknik yang harus dikuasai seorang flebotomis yaitu orang yang melakukan proses atau tindakan flebotomi (Gilang Nugraha, 2017). Tugas utama flebotomis adalah mengumpulkan spesimen darah untuk pengujjian laboratorium (Kiswari, 2014). Spesimen darah yang berkualitas untuk pemeriksaan hematologi dapat diperoleh dengan memperhatikan dan mempertimbangkan beberapa faktor yang mempengaruhi, terutama teknik pengambilan spesimen primer.

Teknik pengambilan darah sering dikenal dengan istilah flebotomi (*phlebotomy*) yang diartikan sebagai suatu proses pengambilan darah dari sirkulasi melalui tusukan atau sayatan dalam rangka memperoleh spesimen. Orang yang melakukan flebotomi disebut flebotomis (Gilang Nugraha, 2017).

Kesalahan yang dapat terjadi selama pengambilan dan penanganan spesimen darah berpotensi banyak, antaar lain, identifikasi spesimen yang tidak akurat, hemolisis spesimen, penanganan antikoagulan yang tidak tepat, pembentukan hematoma, dan hemokonsentrasi. Standar untuk pungsi vena dapat mengurangi banyak kesalahan ini dengan cara yang sama seperti standar kontrol kualitas telah mengurangi kesalahan di dalam laboratorium (CLSI, 2003). Meminimalkan kesalahan selama pengambilan specimen darah akan menghasilkan spesimen yang representatif secara biologis sehingga dapat dibandingkan dari satu institusi ke institusi lainnya. Lingkungan yang direncanakan dengan baik dan menarik untuk melakukan

pungsi vena akan mengurangi kecemasan pasien dan meningkatkan efisiensi dan akurasi flebotomis.

Flebotomis membutuhkan berbagai peralatan lengkap dalam melaksanakan tugasnya sehingga dapat dengan bijaksana dan teliti memilih bahan yang paling tepat untuk setiap pasien yang akan dilakukan pengambilan spesimen darah. Standar yang mengatur pemrosesan dokumen akan mengurangi kesalahan dan menghemat waktu. Program pelatihan yang komprehensif dan periodik diperlukan untuk menghasilkan flebotomis yang efisien dan terlatih.

Pada akhirnya, standar untuk prosedur pungsi vena yang direkomendasi oleh lembaga yang berwenang diperlukan untuk membantu menghilangkan banyak kesalahan yang dapat terjadi selama pengambilan darah. Spesimen yang representatif secara biologis untuk pengujian laboratorium akan diperoleh jika standar pungsi vena yang diberlakukan secara nasional digunakan (CLSI, 2003).

Terdapat tiga teknik pengambilan darah berdasarkan kebutuhan pemeriksaan atau kemudahan dalam pengumpulan spesimen untuk pemeriksaan hematologi yaitu *venipuncture* untuk pengambilan darah vena, *skinpuncture* untuk memperoleh darah kapiler, dan *arterial puncture* untuk memperoleh darah arteri. Pengambilan darah vena dan kapiler merupakan teknik flebotomi yang paling sering digunakan dalam memperoleh spesimen untuk pemeriksaan hematologi (Gilang Nugraha, 2017). Selanjutnya pada bagian ini, pembahasan akan difokuskan pada contoh teknik pengambilan darah vena.

Prosedur *venipuncture* atau prosedur pungsi vena merupakan prosedur yang cukup komplek dan membutuhkan pengetahuan dan keterampilan serta sikap yang harus difahami, dimiliki, dan harus diaplikasikan sesuai prosedur yang berlaku. Saat melakukan pengambilan spesimen darah, seorang flebotomis harus terlatih. Selanjutnya akan dibahas secara ringkas terkait teknik pengambilan darah vena berdasarkan pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2003), dengan langkah-langkah ebagai berikut

Langkah 1: Menyiapkan formulir permintaan pemeriksaan laboratorium pasien

Setiap permintaan spesimen darah harus dilengkapi dengan formular permintaan terkait, untuk mengidentifikasi semua dokumen dan peralatan yang terkait dengan setiap pasien. Sistem yang terorganisir akan memastikan pemrosesan yang cepat dan akurat dari berbagai bentuk yang diperlukan saat melakukan pungsi vena dan menganalisis hasilnya. Semua informasi harus dicatat secara rinci pada formulir permintaan pemeriksaan laboratorium. Informasi untuk Formulir Permintaan Pemeriksaan laboratorium, harus menyertakan hal-hal berikut.

1) Nama dan usia pasien dari plat identitas.
2) Nomor identifikasi

3) Tanggal dan waktu spesimen harus diperoleh
4) Nomor formulir permintaan pemeriksaan laboratorium
5) Nama dokter
6) Departemen atau lokasi tempat pekerjaan dilakukan
7) Informasi lain yang diperlukan, misalnya, komentar khusus: tempat intravena, tempat pengambilan sampel jika selain lengan.

Langkah 2: Melakukan pendekatan dan identifikasi pasien

Flebotomis harus memperkenalkan diri kepada pasien, membangun hubungan baik, dan mendapatkan kepercayaan diri pasien. Informasi yang diberikan kepada pasien mengenai pemeriksaan yang akan dilakukan dan spesimen yang akan diambil harus sesuai dengan kebijakan institusi.

Identifikasi pasien sangat penting. Flebotomis harus memastikan bahwa spesimen darah diambil dari pasien yang ditunjuk sesuai pada formulir permintaan. Flebotomis tidak boleh bergantung pada label tempat tidur, atau pada identitas atau catatan yang ditempatkan di tempat tidur, meja terdekat, atau peralatan. Langkah-langkah berikut adalah urutan yang disarankan untuk memastikan identifikasi pasien rawat jalan atau rawat inap.

1) Meminta pasien rawat jalan untuk memberikan nama lengkap, alamat, nomor identifikasi, dan/atau tanggal lahir.
2) Bandingkan informasi ini dengan informasi pada formulir permintaan.
3) Minta informasi yang sama kepada pasien rawat inap dan bandingkan informasi ini dengan informasi pada formulir permintaan dan gelang identitas pasien yang harus dilampirkan pada pasien.
4) Laporkan setiap perbedaan, betapapun kecilnya, kepada pihak yang bertanggung jawab di area tersebut, sebagaimana ditentukan oleh kebijakan institusional, dan minta pasien diidentifikasi dengan nama dan nomor identifikasi sebelum mengambil spesimen apa pun.

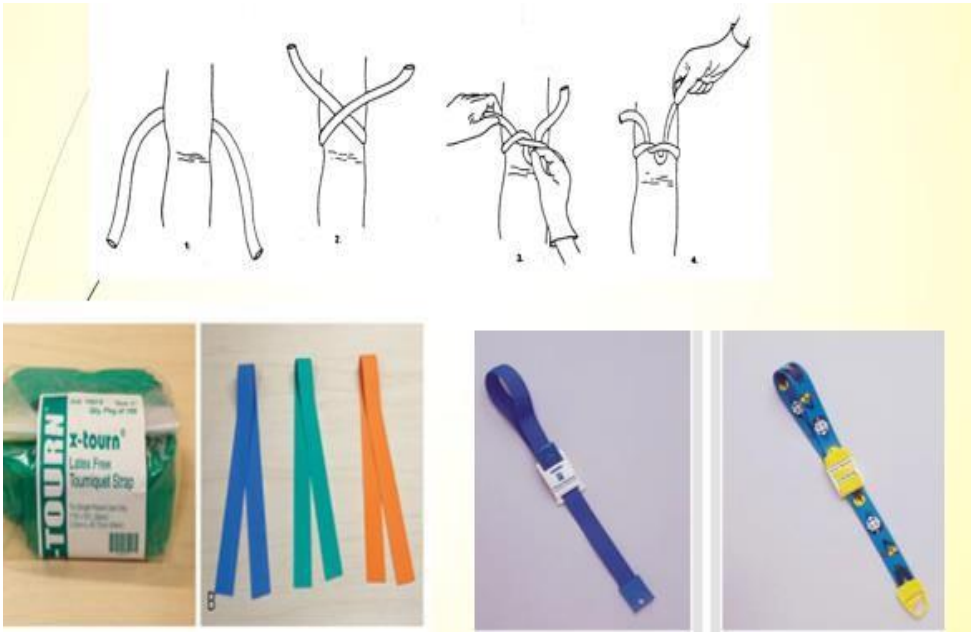
Langkah 3: Memverifikasi pembatasan diet pasien sesuai persyaratan pemeriksaan, dan menanyakan apakah pasien memiliki sensitivitas lateks, kemudian memilih sarung tangan dan tourniquet yang sesuai.

Beberapa tes mengharuskan pasien untuk berpuasa dan/atau menghilangkan makanan tertentu dari diet sebelum darah diambil. Batasan waktu dan diet bervariasi sesuai dengan pemeriksaan yang akan dilakukan. Pembatasan tersebut diperlukan untuk memastikan hasil pemeriksaan yang akurat. Prosedur untuk menahan makanan (melakukan puasa) dan memberi tahu petugas yang tepat bahwa pasien telah diambil spesimennya harus sesuai dengan kebijakan institusi.

Sarung tangan lateks, vinil, atau nitril memberikan perlindungan kontak langsung dengan bahan infeksius. Sarung tangan lateks, vinil, atau nitril sekali pakai sudah umum tersedia di laboratorium. Beberapa petugas dapat mengalami dermatitis setelah memakai sarung tangan lateks untuk jangka waktu yang lama. Para petugas tersebut harus mencoba alternatif sarung tangan dengan bahan nitril, polietilen, atau sarung tangan lain dari berbagai komposisi, atau sarung tangan tanpa bubuk pelumas, atau dapat mengenakan sarung tangan katun di bawah sarung tangan lateks atau plastik. Hipersensitivitas parah telah dilaporkan dan kasus syok anafilaksis telah terjadi. Pada pasien atau petugas yang hipersensitif, sarung tangan lateks harus dihindari.

Tourniquet atau produk yang difungsikan sebagai tourniquet harus tersedia. Contoh tourniquet, antara lain sebagai berikut.

1) Tourniquet sekali pakai, sebaiknya bebas lateks.
2) Manset tekanan darah yang dipompa sampai 40 mmHg.
3) Tourniquet jenis karet/kain dengan pita penutup, klip plastik, gesper, atau jenis pengikat serupa.
4) Tourniquet harus segera dibuang jika terkontaminasi dengan darah atau cairan tubuh atau harus dibuang jika dicurigai kontaminasi.



Gambar 2.8
Contoh jenis Tourniquet

Langkah 4: Kumpulkan peralatan yang diperlukan dan pilih tabung yang sesuai dengan permintaan pemeriksaan

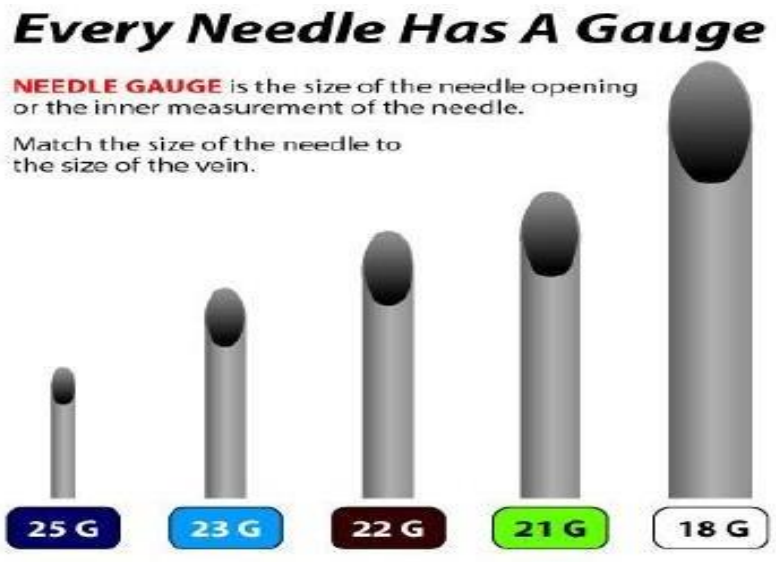
a. Peralatan

Penting bahwa peralatan untuk pengambilan darah yang digunakan mencerminkan peraturan keselamatan lokal dan regional terbaru. Periksa semua peralatan untuk kemungkinan cacat dan tanggal kedaluwarsa yang berlaku. Perlengkapan berikut harus tersedia di setiap lokasi di mana punksi vena dilakukan secara rutin.

1) Tabung pengumpul darah/botol kultur darah.
2) Jarum.
3) Tempat tabung/jarum sekali pakai.
4) Jarum suntik.
5) Perangkat transfer jarum suntik.
6) Sebuah torniket.
7) Bantalan persiapan alkohol.
8) 1 sampai 10% bantalan povidone-iodine, tingtur yodium, atau senyawa klorheksidin jika kultur darah akan diambil.
9) Pembersih berbasis nonalkohol jika alkohol darah ingin diambil.
10) Bantalan kasa, perban berperekat, atau selotip (termasuk perekat hipoalergenik).
11) Sarung tangan.
12) Wadah benda tajam, sesuai dengan peraturan OSH. Di Amerika Serikat, OSHA merekomendasikan penggunaan teknik dan kontrol praktik kerja untuk menghilangkan paparan pekerjaan atau menguranginya ke tingkat yang paling rendah, misalnya, jarum pengaman, perangkat jarum berpelindung, dan lain-lain.

b. Jarum

Flebotomis harus memilih ukuran jarum yang sesuai berdasarkan karakteristik fisik vena, lokasi vena, dan volume darah yang akan diambil.

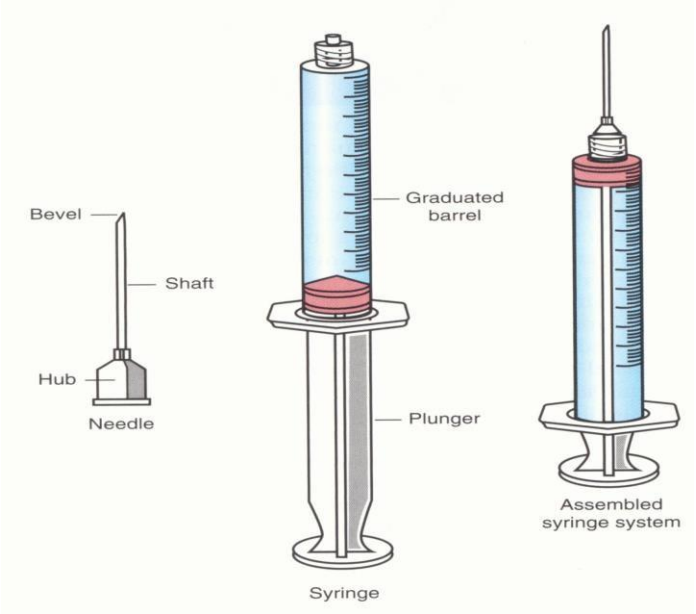


Gambar 2.9

Berbagai ukuran jarum

c. Jarum Suntik

Plunger harus digerakkan di dalam laras spuit untuk menunjukkan kepatenan spuit dan jarum serta kebebasan gerakan plunger.



Gambar 2.10

Syringe dan komponennya

c. Sistem Pengambilan Darah

Flebotomis harus memilih sistem pengumpulan darah yang sesuai dengan karakteristik fisik pasien.

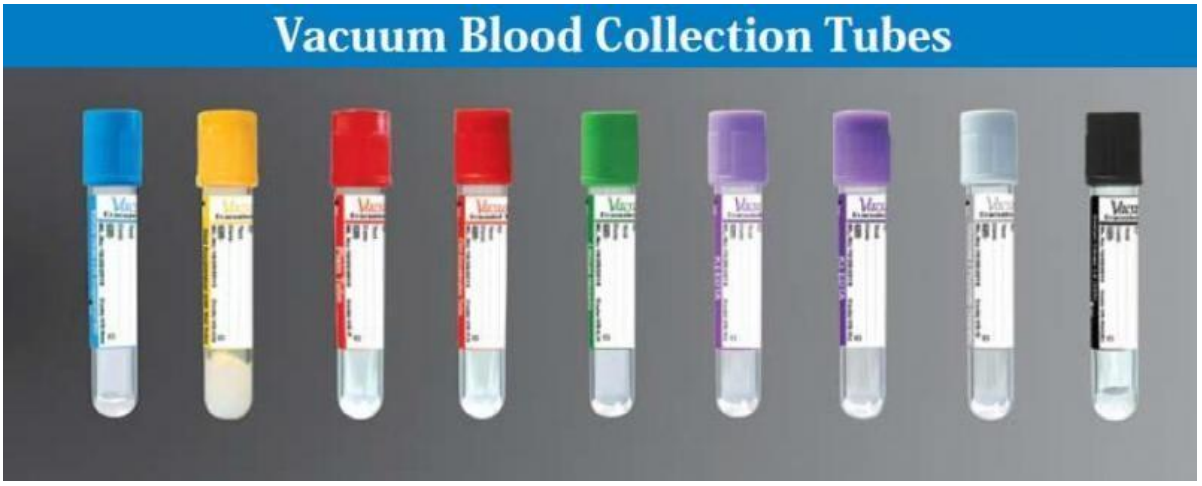
1) Sistem Pengumpulan Darah Vena

Ketika tabung pengumpulan darah vena digunakan, flebotomis harus melakukan hal-hal berikut.

a) Memilih jenis dan ukuran tabung penampung darah vena yang benar. Untuk ini penutup dan label berkode warna memudahkan untuk melakukan langkah ini (lihat Gambar 2.11).

b) Memberi label pada setiap tabung yang diperlukan dan semua formulir pemeriksaan segera setelah spesimen darah diambil (lihat gambar 2.12).

c) Mengacu pada kebijakan kelembagaan.



Gambar 2.11

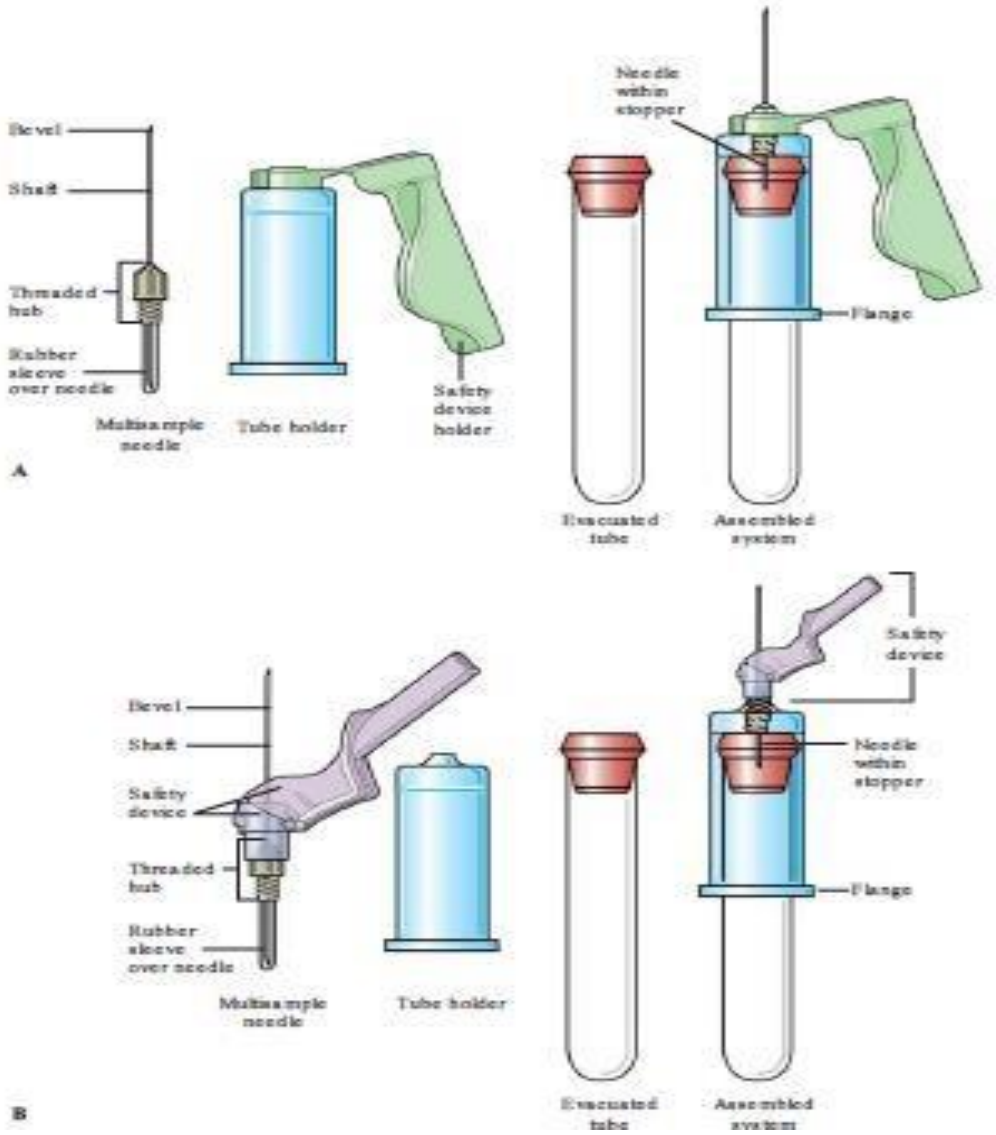
Contoh jenis dan ukuran tabung berkode warna untuk penampung spesimen darah vena

Gambar 2.12

Pengisian label identitas pasien pada tabung penampung spesimen darah vena

Semua tabung harus diberi label segera setelah spesimen darah diambil. Label lengkap harus ditempelkan pada tabung sebelum pasien meninggalkan tempat pengambilan spesimen, dan harus ada mekanisme untuk mengidentifikasi petugas yang mengambil darah. Jika label pra-cetak tidak tersedia, informasi lengkap pasien dapat ditulis tangan pada label tabung. Prosedur ini menghilangkan kemungkinan tercampurnya spesimen darah.

Direkomendasikan agar spesimen darah dikumpulkan dengan pungsi vena menggunakan sistem pengumpulan darah yang mengumpulkan darah langsung ke dalam tabung (*closed system*).



Gambar 2.13

Komponen Sistem Tabung Evakuasi (Turgeon, 2018)

2) Jarum Suntik Plastik

Secara umum, penggunaan jarum suntik dan jarum harus dihindari untuk alasan keamanan. Jika jarum suntik digunakan, alat transfer terlindung pengaman jarum suntik harus digunakan untuk mentransfer darah ke tabung penampung darah vena yang sesuai.

3) Peralatan Pengambilan Darah

Venipuncture/pungsi vena harus dilakukan dengan menggunakan peralatan yang dapat membantu mengurangi tekanan pada vena untuk mencegah kolaps pembuluh darah. Contohnya termasuk sistem pengambilan darah vena dengan jarum ukuran 22 hingga

23, atau pengambilan darah ukuran 22 hingga 23 (bersayap) dengan tabung terpasang dan holder tabung pengambilan darah vena. Untuk pasien anak-anak, hingga usia 16 tahun, ukuran jarum yang lebih besar mungkin sesuai.

Langkah 5: Memposisikan Pasien

a. Prosedur Tempat Duduk Pasien

1) Meminta pasien untuk duduk dengan nyaman di kursi yang sesuai untuk pungsi vena. Kursi harus memiliki lengan untuk menopang dan mencegah jatuh jika pasien kehilangan kesadaran. Kursi tanpa lengan tidak memberikan dukungan yang memadai untuk lengan atau melindungi pasien pingsan supaya tidak jatuh.
2) Meminta pasien memposisikan lengannya miring pada sandaran tangan dan rentangkan lengan untuk membentuk garis lurus dari bahu ke pergelangan tangan. Lengan harus ditopang dengan kuat oleh sandaran tangan dan tidak boleh ditekuk secara signifikan pada siku. Sedikit menekuk mungkin penting dalam menghindari hiperekstensi lengan.

b. Prosedur Membaringkan Pasien

1) Meminta pasien untuk berbaring telentang dalam posisi yang nyaman.
2) Jika penopang tambahan diperlukan, letakkan bantal di bawah lengan tempat spesimen diambil.
3) Meminta pasien menjulurkan lengannya untuk membentuk garis lurus dari bahu ke pergelangan tangan.

c. Benda Asing di Mulut

Tidak boleh ada makanan atau cairan, permen karet, atau termometer di dalam mulut pasien pada saat spesimen diambil.

Langkah 6: Memasang torniket, memastikan tangan pasien tertutup, dan memilih lokasi vena

Tourniquet digunakan untuk meningkatkan pengisian vena. Hal ini membuat vena lebih menonjol dan lebih mudah untuk masuk.

a. Tindakan Pencegahan Saat Menggunakan Tourniquet

Aplikasi tourniquet untuk pemilihan vena awal tidak boleh lebih dari satu menit karena stasis lokal dengan hemokonsentrasi dan infiltrasi darah ke dalam jaringan dapat terjadi. Hal ini dapat menghasilkan nilai yang sangat tinggi untuk semua analit berbasis protein, volume sel , dan elemen seluler lainnya. Jika pasien memiliki masalah kulit, torniket harus dipasang di atas gaun pasien atau sepotong kain kasa atau tisu kertas harus digunakan agar kulit tidak terjepit.

b. Lokasi Tourniquet

Memasang tourniquet di sekitar lengan 3 sampai 4 inci (7,5 sampai 10,0 cm) di atas tempat tusukan vena.

c. Manset Tekanan Darah

Jika manset tekanan darah digunakan sebagai tourniquet, pompa hingga 40 mm Hg.

d. Memastikan Tangan Pasien Tertutup (mengepal)

Vena menjadi lebih menonjol dan lebih mudah dimasuki saat pasien mengepalkan tangan. Tidak boleh ada aktivitas tangan yang kuat ("memompa"). Pemompaan tangan yang kuat dapat menyebabkan perubahan konsentrasi analit tertentu dalam darah.

e. Menyeleksi Vena

Lengan pasien disiapkan dan diperiksa fosa antekubisi atau lengan bawah. Penilaian seleksi vena dapat dilihat berdasarkan beberapa kriteria, antara lain, kedalaman, kesehatan, arah, dan ukuran vena (lihat gambar 2.14).

1) Memperkirakan kedalaman dengan palpasi, cukup kuat untuk menilai seberapa jauh letak vena di bawah permukaan tempat penusukan vena. Kedalaman dapat digunakan untuk menentukan panjang jarum yang akan digunakan.
2) Kesehatan, dengan menggunakan jari telunjuk atau jari tengah, tekan ke bawah dan ke atas pada kulit yang memungkinkan pembuluh darah mengalir kembali. Vena yang sehat harus terasa kenyal. Hindari vena yang terasa keras atau resisten.
3) Arah, mensejajarkan jari dengan arah vena yang akan ditusuk. Penting untuk memasukkan jarum sesuai dengan arah letak vena.
4) Ukuran, dengan tetap menyentuh kulit, gulirkan sedikit di atas vena untuk menentukan lebarnya. Hal ini akan memandu flebotomis untuk memasukkan jarum di tengah vena. Vena dicari dan dipilih dengan ukuran bagus yang terlihat lurus, jelas, serta sehat.

2.9.5.9. The vein assessment to determine : vein's depth , size, direction , and health condition.

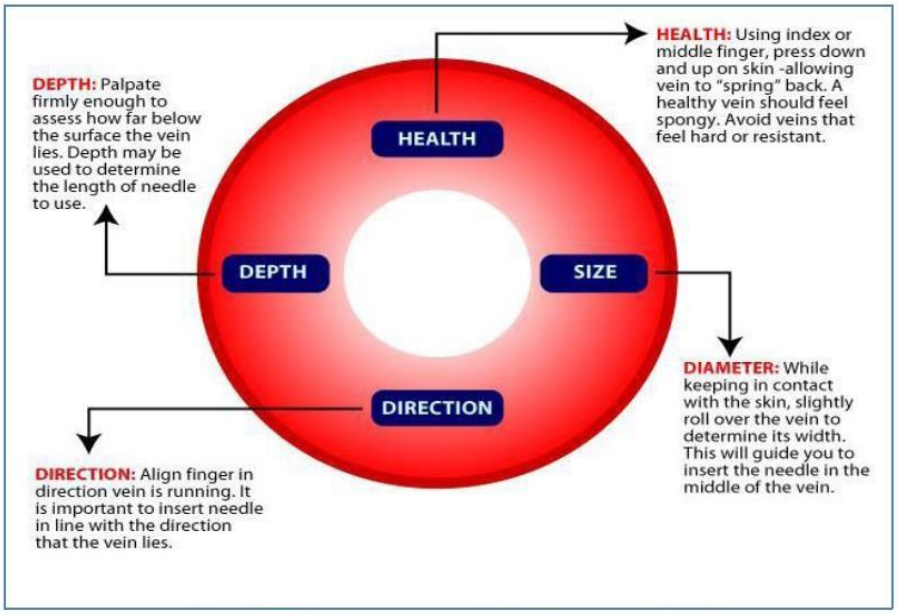


Figure 2.Vein assessment. CAP competency 2017.

Gambar 2.14

Seleksi vena (CAP, 2017)

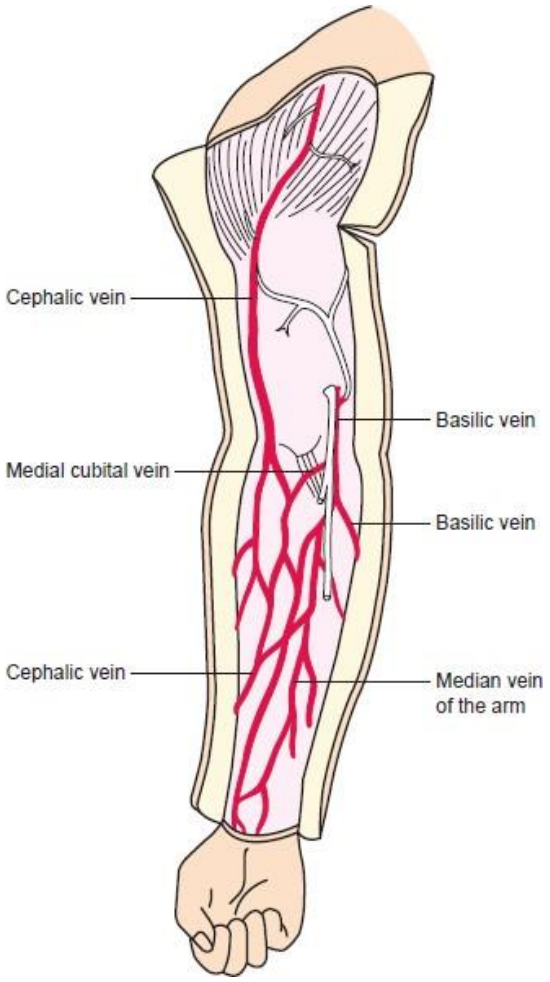
f. Pemilihan Vena

Tusukan arteri tidak boleh dianggap sebagai alternatif untuk pungsi vena untuk pengambilan darah vena yang sulit. Jika kondisi ini menjadi satu-satunya alternatif, harus dikonsultasikan dengan dokter.

Vena median cubiti dan sefalika lebih besar dan lebih penuh (lihat gambar 2.15), sehingga merupakan vena yang paling sering digunakan. Vena di punggung tangan juga dapat digunakan untuk pungsi vena. Vena di bagian bawah pergelangan tangan tidak boleh digunakan.

Pengambilan darah pada vena median cubiti lebih disukai karena biasanya lebih dekat ke permukaan kulit, lebih stasioner, kurang menyakitkan saat memasukkan jarum, dan cenderung tidak melukai saraf jika penempatan jarum tidak akurat. Cobalah untuk menemukan vena cubiti median di kedua lengan sebelum mempertimbangkan vena alternatif. Karena kedekatan vena basilika dengan arteri brakialis dan saraf median, vena ini hanya boleh dipertimbangkan jika tidak ada vena lain yang lebih menonjol. Di atas segalanya, flebotomis harus menyadari potensi cedera yang terkait dengan masing-masing vena dan memilih vena yang memberikan tingkat kepercayaan terbesar untuk diakses dengan sukses tanpa berpotensi terkena saraf atau arteri (lihat gambar 2.15).

Tempat alternatif seperti pergelangan kaki atau ekstremitas bawah tidak boleh digunakan tanpa izin dokter karena berpotensi menyebabkan komplikasi medis yang signifikan, seperti flebitis, trombosis, nekrosis jaringan, dan lain-lain.



Gambar 2.15

Anatomi pembuluh darah di lengan. Tiga jenis vena dapat digunakan untuk pungsi vena: vena cephalic, basilic, dan median cubiti (Sumber: Turgeon, 2018)

g. Faktor dalam Pemilihan Lokasi

1) Jaringan parut yang luas akibat area luka bakar yang sembuh harus dihindari.
2) Mastektomi. Sebelum mengambil darah dari sisi di mana mastektomi dilakukan, harus berkonsultasi dengan dokter karena potensi komplikasi akibat limfostasis.
3) Hematoma. Spesimen yang dikumpulkan melalui area hematoma dapat menyebabkan hasil tes yang salah. Flebotomi tidak boleh dilakukan pada hematoma ukuran berapa pun. Jika situs vena lain tidak tersedia, spesimen dikumpulkan di bagian distal hematoma.

4) Terapi Intravena. Sebaiknya, spesimen tidak boleh diambil dari lengan dengan tempat intravena.
5) Kanula, Fistula, Cangkok Vaskular. Lengan kanulasi digunakan hanya setelah berkonsultasi dengan dokter yang hadir bertugas.

h. Prosedur Pemilihan Vena

Untuk menemukan vena, perlu untuk meraba dan menelusuri jalur vena beberapa kali dengan jari telunjuk. Tidak seperti vena, arteri berdenyut, lebih elastis, dan memiliki dinding yang tebal. Vena yang mengalami trombosis tidak memiliki ketahanan, terasa seperti tali pusat, mudah berguling, dan sebaiknya tidak digunakan. Sebuah tourniquet harus digunakan untuk membantu dalam pemilihan lokasi vena kecuali tes tertentu memerlukan untuk tidak menggunakan tourniquet (misalnya, laktat). Jika tourniquet harus dipasang untuk pemilihan vena awal, tourniquet harus dilepaskan dan dipasang kembali setelah dua menit.

Langkah 7: Memakai Sarung Tangan

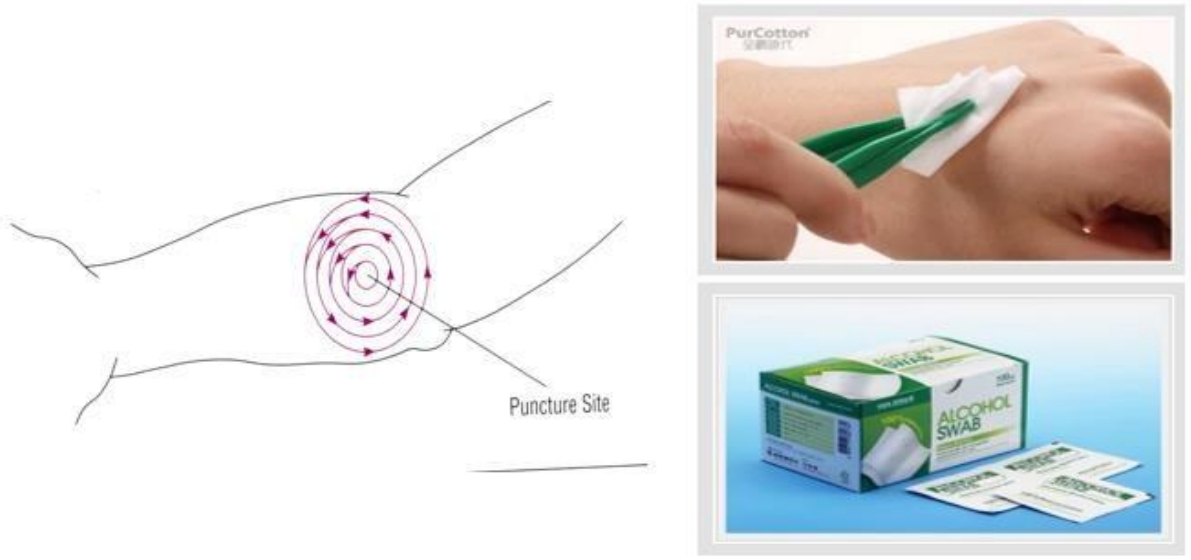
Flebotomis harus mengenakan sarung tangan sebelum pungsi vena dilakukan, untuk setiap pasien, dengan mempertimbangkan sensitivitas lateks.

Langkah 8: Membersihkan Tempat Tusukan Vena

Tempat tusukan harus dibersihkan untuk mencegah kontaminasi mikrobiologis dari pasien atau spesimen.

a. **Metode Pembersihan *Venipuncture***

1) Menggunakan kain kasa dengan larutan isopropil alkohol 70%, atau bantalan kapas alkohol yang disiapkan secara komersial.
2) Membersihkan area *venipuncture* dengan gerakan melingkar dari pusat ke pinggiran.
3) Membiarkan area tersebut mengering di udara untuk mencegah hemolisis spesimen dan untuk mencegah pasien mengalami sensasi terbakar saat pungsi vena dilakukan.



Gambar 2.16
Teknik desinfeksi area vena

b. Untuk Pengumpulan Kultur Darah

Untuk kultur darah, perlu hati-hati mendisinfeksi area pungsi vena. Chlorhexidine glukonat direkomendasikan untuk bayi dua bulan dan lebih tua dan pasien dengan sensitivitas yodium. Bersihkan area dengan alkohol 70%, lalu usap secara konsentris, mulai dari tengah situs dengan larutan povidone-iodine 1 hingga 10% (0,1 hingga 1% yodium yang tersedia) atau klorheksidin glukonat. Biarkan area mengering, lalu hilangkan yodium atau klorheksidin dari kulit dengan alkohol. Ketika spesimen diperoleh untuk kultur darah, desinfeksi tutup botol kultur sesuai dengan instruksi pabrik.

c. Menyentuh Area Setelah Membersihkan

Jika pungsi vena terbukti sulit dan vena harus disentuh lagi untuk mengambil darah, tempat tersebut harus dibersihkan lagi.

Langkah 9: Melakukan pungsi vena, setelah aliran darah dimulai, meminta pasien untuk membuka tangan

a. Prosedur Venipuncture menggunakan tabung vacutainer

1) Memegang lengan pasien dengan kuat di bagian distal dari tempat tusukan yang diinginkan.
2) Ibu jari flebotomis digunakan untuk menarik kulit agar kencang. Ibu jari harus 1 hingga 2 inci (2,5 hingga 5,0 cm) di bawah tempat tusukan vena.

3) Pasien disiapkan dengan diberitahu bahwa pungsi vena akan segera dilakukan. Catatan: Mulai saat ini, bersiaplah untuk bertindak antisipatif terhadap kehilangan kesadaran yang tiba-tiba dan tidak terduga pada pasien.
4) Dengan bevel menghadap ke atas menusuk bagian vena dengan posisi sudut 15-30 derajat. Masukkan tabung ke dalam holder dan dorong sehingga jarum bagian posterior tertancap pada tabung, maka darah akan mengalir masuk ke dalam tabung. Setelah aliran darah dimulai, pasien diminta untuk membuka tangan.
5) Melepaskan tourniquet sesegera mungkin setelah darah mulai mengalir. Jangan mengubah posisi tabung sampai dikeluarkan dari jarum. Selama pengumpulan, jangan biarkan isi tabung menyentuh penutup. Biarkan tabung terisi sampai vakum habis dan aliran darah berhenti. Untuk tabung yang mengandung aditif, keadaan ini akan memastikan rasio antara darah dan aditif sudah benar. Jika memerlukan beberapa tabung, setelah tabung pertama terisi, tabung ditarik dan diganti dengan tabung kedua sesuai urutan pemakaian tabung yang direkomendasikan, begitu seterusnya.
6) Ketika darah berhenti mengalir, melepaskan tabung terakhir dari jarum.
7) Segera setelah menarik setiap tabung yang mengandung zat aditif, campurkan darah secara perlahan dan menyeluruh dengan membalik tabung lima sampai sepuluh kali. Untuk menghindari hemolisis, jangan mencampur dengan kuat.

b. Prosedur Venipuncture Menggunakan Jarum Suntik

Secara umum, pungsi vena menggunakan jarum dan spuit harus dihindari untuk alasan keamanan. Jika kondisi memerlukan pengambilan jarum suntik, prosedur berikut direkomendasikan.

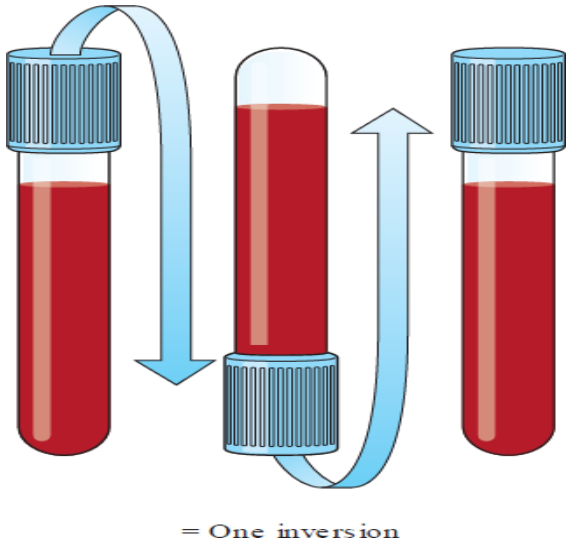
1) Memasang jarum dan spuit.
2) Memegang lengan pasien dengan kuat di bagian distal dari tempat tusukan yang diinginkan. Ibu jari flebotomis digunakan untuk menarik kulit agar kencang. Ibu jari flebotomis harus 1 atau 2 inci (2,5 cm atau 5,0 cm) di bawah tempat tusukan vena.
3) Persiapkan pasien dengan memberitahukan bahwa pungsi vena akan segera dilakukan.
4) Dengan bevel ke atas, menusuk vena dengan jarum pada sudut penyisipan 30 derajat atau kurang (15-30 derajat) (lihat gambar 2.17).
5) Dengan menjaga agar jarum tetap stabil di dalam vena, perlahan-lahan menarik jumlah darah yang diinginkan.
6) Melepaskan tourniquet sesegera mungkin, setelah darah mulai mengalir.

c. Isi Tabung Jika Jarum Suntik dan Jarum Digunakan

Metode pengambilan darah vena dengan jarum suntik tidak dianjurkan karena jauh lebih aman dan lebih mudah menggunakan sistem tabung pengumpul darah vena tertutup. Jika perlu menggunakan jarum suntik, lanjutkan dengan rekomendasi berikut untuk memindahkan darah dari jarum suntik ke tabung penampung darah.

1) Menggunakan "urutan pengambilan" yang sama seperti untuk sistem tabung pengumpul darah vena.
2) Sumbat karet tidak boleh dilepas dari tabung pengumpul darah vena untuk mentransfer darah ke beberapa tabung.
3) Untuk mentransfer darah dari spuit ke tabung pengumpul darah vena, aktifkan fitur keamanan dari *needle atau winged blood collection set* yang digunakan untuk mengambil spesimen, lepaskan dan buang jarum atau *winged blood collection set*, dan gunakan alat *transfer safety*.
4) *Stopper* ditusuk dengan jarum dan tabung dibiarkan terisi (tanpa memberikan tekanan apapun pada plunger) sampai aliran berhenti. Teknik ini membantu untuk mempertahankan rasio yang benar dari darah untuk aditif jika tabung aditif sedang digunakan.
5) Mencampur tabung aditif dengan inversi (Gambar 2.18).

Gambar 2.17
Sudut insersi jarum



Gambar 2.18.
Homogenisasi spesimen satu kali inversi

Langkah 10: Menggunakan urutan pengambilan spesimen yang benar

a. Tabung Aditif

Tabung pemisah gel dengan aktivator pembekuan atau antikoagulan diklasifikasikan sebagai tabung aditif. Tabung ini harus diambil setelah tabung koagulasi (tutup biru) dan sebelum tabung aditif lainnya (hijau, lavender, abu-abu). Semua tabung aditif harus memiliki urutan pengambilan spesimen yang lengkap.

b. Tabung Pengumpul Darah Vena Kaca dan Plastik

Urutan pengambilan spesimen berikut ini direkomendasikan saat mengambil beberapa spesimen untuk pengujian laboratorium klinis selama pungsi vena tunggal. Tujuannya adalah untuk menghindari kemungkinan kesalahan hasil tes karena kontaminasi silang dari tabung aditif. Prosedur ini harus diikuti untuk tabung pengumpul darah vena kaca dan plastik.

1) Tabung kultur darah.
2) Tabung koagulasi (penutup biru).
3) Tabung serum dengan atau tanpa aktivator bekuan, dengan atau tanpa gel (penutup merah).
4) Tabung heparin dengan atau tanpa pemisah plasma gel (penutup hijau).
5) EDTA (penutup lavender/ungu).
6) Inhibitor glikolitik (penutup abu-abu).

Catatan: Urutan pengambilan telah direvisi untuk mencerminkan peningkatan penggunaan tabung penampung darah plastik. Tabung serum plastik yang mengandung aktivator bekuan dapat menyebabkan gangguan dalam pemeriksaan koagulasi. Tabung serum kaca non aditif dapat diambil sebelum tabung koagulasi.

Catatan: Saat menggunakan set pengambil darah bersayap (*wing needle/winged blood collection set)* untuk pungsi vena dan tabung koagulasi adalah tabung pertama yang ditarik, tabung pembuangan harus diambil terlebih dahulu. Tabung pembuangan digunakan untuk memastikan pemeliharaan rasio antikoagulan/darah yang tepat dan tidak perlu diisi sepenuhnya. Tabung pembuangan harus berupa tabung nonaditif atau tabung koagulasi.

Tabel 2.7

Urutan pengambilan tabung sampel sesuai dengan *order of draw* (The Turkish Biochemical Society Preanalytical Phase Working Group, 2020)

Cap color	Tube/Additive	Mixing
Parameter (1)	Blood culture/Medium	In order to make medium and blood mix, it is inverted slightly
(3)	Coagulation tube / Citrated	3-4 times
(4)	ESR tube / Citrated	3-4 times
(5)	Serum tube / Without gel	5 times
(5)	Serum tube / With gel	5 times
(5)		5 times
(5)	Serum tube / Tube withthrombin clot activator	5 times
(6)	Plasma tube / Heparin tubewith or without gel	8-10 times
(7)	Plasma tube / EDTA tubewith or without gel	8-10 times
(8)	Plasma tube / Fluoride / Potassium Oxalate: Fluoride / EDTA Fluoride / Heparin	8-10 times

c. Pemeriksaan Koagulasi

Penelitian telah menunjukkan bahwa hasil PT (INR) dan APTT tidak terpengaruh jika diperiksa pada tabung pertama yang diambil. Karena tidak diketahui apakah pemeriksaan koagulasi lain terpengaruh, disarankan untuk menarik tabung kedua untuk pemeriksaan koagulasi lainnya. Bila sistem spuit digunakan dan spesimen besar diambil, sebagian darah

dari spuit kedua harus digunakan untuk spesimen koagulasi. Dalam kasus hasil pemeriksaan koagulasi abnormal yang tidak dapat dijelaskan, spesimen baru harus diperoleh dan pemeriksaan diulang. Jika dicurigai kontaminasi heparin, pemeriksaan harus diulang setelah spesimen diperlakukan dengan metode yang menghilangkan atau menetralkan heparin.

Langkah 11: Melepaskan Tourniquet

Lepaskan tourniquet sesegera mungkin setelah darah mulai mengalir.

Langkah 12: Menempatkan bantalan kasa di atas tempat tusukan

Bantalan kasa bersih harus diletakkan sedikit di atas lokasi tusukan vena. Bola kapas tidak dianjurkan karena kemungkinan lepasnya sumbat trombosit di tempat tusukan vena.

Langkah 13: Melepaskan jarum, Mengaktifkan fitur keamanan sesuai dengan instruksi pabrik

Lepaskan jarum dan aktifkan alat pengaman sesuai dengan instruksi dari produsen alat yang digunakan. Buang unit peralatan pengambilan darah dengan aman ke dalam wadah benda tajam yang mudah dijangkau, sesuai dengan peraturan OSHA (gambar 2.19). Jarum tidak boleh disarungkan kembali, ditekuk, patah, atau dipotong, juga tidak boleh dilepaskan dari jarum suntik sekali pakai kecuali memasang alat *transfer safety* sebelum dibuang. Flebotomis harus mengantisipasi hilangnya kesadaran dan bersiap untuk bereaksi sesuai dengan kebijakan institusional. Penggunaan inhalansia amonia dapat dikaitkan dengan efek yang tidak diinginkan dan tidak dianjurkan.

Gambar 2.19

Wadah tidak tembus benda tajam

Langkah 14: Memberikan tekanan pada bagian area vena yang diambil darah, memastikan pendarahan telah berhenti, lalu perban lengannya

a. Kondisi Normal

Dalam kondisi normal, flebotomis harus melakukan hal-hal berikut.

1) Menempatkan kain kasa di atas tempat tersebut, lanjutkan dengan tekanan ringan.
2) Melakukan pemeriksaan apakah perdarahan telah berhenti, mengamati adanya hematoma, dan memasang perban perekat atau kasa di atas tempat tusukan vena. Direkomendasikan agar perekat hypoallergenic selalu tersedia.
3) Memberitahu pasien untuk membiarkan perban selama minimal 15 menit.

b. Pendarahan Berlanjut

Flebotomis harus memperhatikan perdarahan yang berlebihan. Jika hematoma berkembang atau perdarahan berlanjut lebih dari lima menit, perawat harus disiagakan sehingga dokter yang hadir bertugas dapat diberitahu. Tekanan, diterapkan dengan kain kasa, harus terus ditekan di area vena selama diperlukan untuk menghentikan pendarahan. Membungkus perban kasa dengan erat di sekitar lengan untuk menjaga bantalan tetap di tempatnya dan beri tahu pasien untuk membiarkan perban di tempat itu setidaknya selama 15 menit.

Langkah 15: MemBeri label pada tabung dan mencatat waktu pengumpulan.

Pasien dan spesimen darah pasien harus diidentifikasi secara positif pada saat pengambilan. Spesimen darah harus diperoleh dalam tabung yang diidentifikasi dengan label yang terpasang kuat dengan data setidaknya sebagai berikut.

1) Nama depan dan belakang pasien.
2) Nomor identifikasi.
3) Tanggal.
4) Waktu (sesuai kebutuhan, misalnya, pemantauan obat terapeutik).
5) Identifikasi orang yang mengumpulkan spesimen.

Label lengkap (gambar 2.12) harus dilampirkan ke tabung sebelum meninggalkan sisi pasien, dan harus ada mekanisme untuk mengidentifikasi orang yang mengambil darah. Sebagai alternatif, label tabung pabrikan dapat ditulisi dengan informasi lengkap pasien. Spesimen bank darah harus diberi label sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh American Association of Blood Banks (AABB).

Jika label yang dikodekan (kode batang) digunakan, lampirkan label sesuai dengan kebijakan institusi yang ditetapkan. Catatan permanen diperlukan oleh dokter yang harus tahu persis kapan setiap spesimen diambil untuk menghubungkan hasil dengan perubahan kondisi pasien. Laboratorium juga harus mendokumentasikan waktu pengambilan spesimen. Jika tidak dapat memperoleh spesimen, catatan tentang alasan dan inisial dokter spesialis vena diperlukan.

Langkah 16: Mendinginkan spesimen (jika diperlukan)

Beberapa tes mengharuskan spesimen darah didinginkan segera setelah pungsi vena untuk memperlambat proses metabolisme yang dapat mengubah beberapa hasil tes. Contoh tes yang membutuhkan pendinginan spesimen adalah: Gastrin, Amonia, Asam laktat, Katekolamin, pH/gas darah, hormon paratiroid (PTH).

Langkah 17: Mengirim tabung pengumpulan darah yang sudah diberi label yang sesuai dan benar ke laboratorium.

Tabung pengumpulan darah yang diberi label yang sesuai harus dikirim ke laboratorium yang ditunjuk untuk melakukan prosedur pemeriksaan yang diperlukan.

Secara ringkas tahap dan pentingnya prosedur flebotomi disajikan pada Tabel 2.8.

Tabel 2.8

Prosedur pengambilan spesimen diagnostik darah vena menggunakan pedoman CLSI (CLSI, 2003)

Langkah	Prosedur	Tujuan Prosedur
1	Siapkan formulir permintaan pemeriksaan laboratorium pasien	Untuk menjamin identitas pasien
2	Lakukan pendekatan dan identifikasi pasien	
3	Verifikasi pembatasan diet pasien sesuai persyaratan pemeriksaan, dan tanyakan apakah pasien memiliki sensitivitas lateks. Pilih sarung tangan dan torniquet yang sesuai.	Status puasa merupakan sumber penting dan sensitivitas terhadap lateks ditanyakan untuk mencegah reaksi alergi dan/atau syok anafilaksis yang disebabkan oleh alergi lateks

Langkah	Prosedur	Tujuan Prosedur
4	Kumpulkan peralatan yang diperlukan dan pilih tabung yang sesuai dengan permintaan pemeriksaan	Untuk mencegah kesalahan tahapan di laboratorium yang disebabkan oleh peralatan dan zat additif seperti antikoagulan dan aktivator bekuan
5	Posisikan pasien	Untuk menghilangkan kemungkinan gangguan/interferensi distribusi darah karena postur yang berbeda
6	Pasang torniquet, pastikan tangan pasien tertutup, dan pilih lokasi vena	Torniquet perlu dipasang cukup tinggi agar tidak menghalangi lokasi pungsi vena. Hanya pembuluh vena yang dapat dipalpasi yang sebaiknya digunakan untuk pungsi vena
7	Kenakan sarung tangan	mencegah paparan flebotomis terhadap patogen yang berpotensi menimbulkan infeksi melalui darah
8	Bersihkan tempat tusukan vena	Membersihkan tempat penusukan untuk mencegah infeksi oleh mikroorganisme kulit. Menunggu pengeringan setelah desinfeksi untuk mencegah hemolisis
9	Lakukan pungsi vena; setelah aliran darah dimulai, minta pasien untuk membuka tangan	Penusukan vena dilakukan pada sudut antara 15 -30 derajat dengan arah bevel menghadap ke atas agar darah masuk ke jarum dengan trauma minimal. Penusukan yang lembut akan meminimalkan trauma pada pasien. Mengikuti arah vena saat jarum dimasukan memberi kesempatan darah untuk memasuki jarum tanpa obstruksi.
10	Gunakan urutan pengambilan spesimen yang benar	Untuk mencegah kesalahan adanya kontaminasi silang antara additif pada tabung penampung spesimen
11	Lepaskan torniquet	Untuk mencegah hemokonsentrasi
12	Tempatkan bantalan kasa di atas tempat tusukan	▪ Fitur pengaman digunakan untuk mencegah pajanan flebotomis

Langkah	Prosedur	Tujuan Prosedur
13	Lepaskan jarum, aktifkan fitur keamanan sesuai dengan instruksi pabrik	terhadap infeksi patogen yang potensial dapat ditularkan melalui darah ▪ Pemberian tekanan pada tempat pengambilan darah untuk pencegahan memar/hematoma yang efisien
14	Berikan tekanan pada bagian area vena yang diambil darah, pastikan pendarahan telah berhenti, lalu perban lengannya	
15	Beri label pada tabung dan catat waktu pengumpulan	Untuk mengurangi identifikasi pasien yang hilang dan menjamin ketertelusuran proses
16	Dinginkan spesimen (jika diperlukan)	Untuk menjamin stabilitas spesimen darah diagnostik
17	Kirim tabung pengumpulan darah yang sudah diberi label yang sesuai ke laboratorium	

E. PENYIMPANAN SEBELUM SPESIMEN DIKIRIM KE LABORATORIUM

Petunjuk laboratorium terkait kegiatan pengambilan spesimen berdasarkan SNI ISO 15189: 2012 di antaranya diperlukan adanya instruksi mengenai kondisi penyimpanan yang sesuai sebelum sampel dikirim ke laboratorium. Kondisi penyimpanan untuk menjaga kualitas spesimen pada beberapa parameter hematologi berdasarkan PMK no.43 tahun 2015 disajikan pada Tabel 2.9 berikut ini. Kondisi Stabilitas spesimen *whole blood* pada pemeriksaan Hemostasis disajikan pada Tabel 2.10.

Tabel 2.9 Spesimen darah dengan jenis antikoagulan/pengawet dan wadah yang dipakai untuk pemeriksaan laboratorium dengan stabilitasnya

Jenis pemeriksaan Hematologi	Spesimen		Antikoagulan/ Pengawet	Wadah	Stabilitas
	Jenis	Jumlah			
Hematokrit	Darah	2 mL	K2/K3EDTA 1-1,5 mg/mL darah	Gelas/ Plastik	Suhu kamar (6 jam)
LED Westergren	Darah	2 mL	K2/K3EDTA 1-1,5 mg/mL darah	Gelas/ Plastik	Suhu kamar (2 jam)
Hitung jumlah lekosit,	Darah	2 mL	K2/K3EDTA 1-1,5 mg/mL darah	Gelas/ Plastik	Suhu kamar (2 jam)

Jenis pemeriksaan Hematologi	Spesimen		Antikoagulan/ Pengawet	Wadah	Stabilitas
	Jenis	Jumlah			
Hemostasis (PT, APTT)	Darah	5 mL	Natrium sitrat 3,8% dengan perbandingan 1 : 9	Plastik	20-25°C (4 jam)
Hitung jumlah retikulosit	Darah	2 mL	K2/K3EDTA 1-1,5 mg/mL darah	Gelas/ Plastik	Suhu kamar (6 jam)
Trombosit	Darah	2 mL	K2/K3EDTA 1-1,5 mg/mL darah	Gelas/ Plastik	Suhu kamar (2 jam)
Masa perdarahan dan masa pembekuan	Darah	4 mL	Tanpa antikoagulan		Segera diperiksa

Tabel 2.10

Stabilitas spesimen *whole blood* pada pemeriksaan Hemostasis

Assay	Stability of Whole Blood Sample	
	CLSI H21 A5[10]	Other[30–35]
APTT	4 h	18–24 h
PT	24 h	24–72 h
APTT or anti-Xa assay for sample containing UFH	1 h	
APTT or Anti-Xa assay for sample containing LMWH	4 h	24 h
Factors II, VII, IX, X, and XI activities	4 h	48 h
Factors V and VIII	4 h	24 h
VWF:Ag and VWF:RCo	4 h	24–48 h
Fibrinogen	4 h	48 h to 7 d
D-dimer	4 h	48 h
Antithrombin activity	4 h	48 h to 7 d
PC activity	4 h	48 h
PS activity	4 h	4–6 h
Free PS	4 h	24 h

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; APTT, activated partial thromboplastin time; h, hours; PT, prothrombin time; UFH, unfractionated heparin; LMWH, low-molecular weight heparin; VWF:Ag, von Willebrand factor antigen; VWF:RCo, von Willebrand factor: Ristocetin cofactor; d, days; PC, protein C; PS, protein S.

Penyimpanan spesimen darah EDTA pada suhu ruang bila > 6 jam, maka akan terjadi peningkatan MCV dan hematokrit serta penurunan MCHC.

F. PEMBUANGAN LIMBAH KEGIATAN PRA ANALITIK

Regulasi Klinik berdasarkan PMK No.9 Tahun 2004 tentang Klinik pada Pasal 35 ayat (1) setiap klinik mempunyai kewajiban melakukan pengelolaan limbah sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. Limbah fasyankes merupakan buangan hasil kegiatan manusia di fasilitas pelayanan kesehatan yang sudah tidak bisa dimanfaatkan Kembali, dapat berupa: gas, cair, padat yang dapat berpotensi mengandung mikroorganisme pathogen dan bahan berbahaya serta beracun.

Limbah gas adalah semua limbah yang berbentuk gas yang berasal dari kegiatan pembakaran di rumah sakit seperti incinerator, dapur, perlengkapan generator, anastesi dan pembuatan obat sitotoksik. Limbah cair adalah semua air buangan termasuk tinja yang berasal dari kegiatan fasyankes yang kemungkinan mengandung mikroorganime, bahan kimia beracun dan radioaktif yang berbahaya bagi Kesehatan. Limbah padat non B3: limbah padat yang dihasilkan dari kegiatan di rumah sakit fasyankes di luar medis yang berasal dari dapur, perkantoran, taman dan halaman yang dapat dimanfaatkan kembali apabila ada teknologinya. Limbah padat B3 medis/B3 meliputi limbah infeksius, limbah patologi, limbah benda tajam, limbah farmasi, limbah sitotoksis, limbah radioaktif, limbah container bertekanan, dan limbah dengan kandungan logam berat yang tinggi.

Limbah fasyankes tersebut harus dikelola karena berdampak terhadap lingkungan, Kesehatan, dan untuk pemenuhan peraturan. Pengelolaan limbah bahan beracun dan berbahaya (B3) pada fasyankes (RS, PKM, Klinik dan PMD) dilakukan dengan melakukan identifikasi limbah B3 (infeksius, beracun, mudah menyala, meledak), dan sesuai peraturan/UU dikelola, antara lain, melalui tempat pengolah LB3 (incinerator, autoclav, MOU pihak ke 3).

Alur pengelolaan limbah B3 meliputi: minimasi/pengurangan, pemilahan, pewadahan, pengangkutan, penyimpanan, pengolahan dan pemanfaatan/penimbunan/pemusnahan. Pada pemilahan dan pewadahan, dilakukan mulai dari sumber oleh penghasil limbah (misalnya laboratorium). Di setiap sumber/ruangan ditempatkan wadah yang sesuai dengan limbah yang dihasilkan. Wadah dinamai sesuai kategori/kelompok limbah dan diberikan kantong plastik sesuai warna. Untuk jarum suntik, dapat disediakan *safety box* di tempat dilakukan tindakan. Setelah menyuntik, suntikan langsung dimasukan ke dalam safety box tanpa menutup kembali. Untul limbah jarum suntik juga dapat menggunakan *needle cutter* atau *needle destroyer* untuk memisahkan syringe dengan spuitnya.

Gambar 2.20.
Contoh Wadah untuk berbagai Limbah Medis

Peraturan tentang pengelolaan limbah juga sesuai dengan PMK No. 46 Tahun 2015 tentang akreditasi PKM, Klinik, Praktek Mandiri Dokter dan Dokter Gigi yaitu pada Standar 3.5. Lingkungan pelayanan mematuhi persyaratan hukum, regulasi dan perijinan yang berlaku. Kriteria: 3.5.2 Inventarisasi, pengelolaan, penyimpanan dan penggunaan bahan berbahaya serta pengendalian dan pembuangan limbah berbahaya dilakukan berdasarkan perencanaan yang memadai. Adapun pokok pikiran: Klinik mengidentifikasi dan mengendalikan secara aman bahan dan limbah berbahaya. Bahan berbahaya dan limbahnya tersebut meliputi bahan kimia, gas dan uap berbahaya serta limbah medis dan infeksius lain sesuai ketentuan. Klinik harus menyusun rencana pengendalian bahan dan limbah berbahaya dan menetapkan proses untuk:

1. inventarisasi bahan dan limbah berbahaya;
2. penanganan, penyimpanan dan penggunaan bahan berbahaya;
3. pelaporan dan investigasi dari tumpahan, paparan (*exposure*) dan insiden lainnya;
4. pembuangan limbah berbahaya yang benar;
5. perlalatan dan prosedur perlindungan yang benar pada saat penggunaan, ada tumpahan (spill) atau paparan (*exposure*);
6. pendokumentasian, meliputi setiap izin dan perizinan/lisensi atau ketentuan persyaratan lainnya; dan
7. pemasangan label yang benar pada bahan dan limbah berbahaya.

Latihan

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

1) Jelaskan tentang maksud dan tujuan identifikasi pasien pada saat akan melakukan pengambilan specimen!
2) Jelaskan tentang prosedur melakukan identifikasi pasien pada saat akan dilakukan pengambilan specimen!
3) Jelaskan tentang tujuan dari verifikasi pasien pada saat akan dilakukan pengambilan specimen!
4) Jelaskan secara singkat tentang tentang faktor-faktor variabel analitik yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium!
5) Jelaskan tentang jenis informasi yang diperlukan untuk formulir permintaan pemeriksaan laboratorium?

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam menjawab soal-soal Latihan pada Topik 2 tersebut, silahkan dipelajari kembali tentang:

1) Penentuan Identifikasi pasien
2) Prosedur identifikasi pasien
3) Verifikasi persiapan pasien
4) Variabel pengambilan spesimen
5) Teknik/Prosedur pengambilan spesimen.

Ringkasan

Identifikasi pasien bertujuan untuk memastikan ketepatan pasien yang akan menerima layanan atau tindakan, serta untuk menyelaraskan layanan atau tindakan yang dibutuhkan oleh pasien.

Verifikasi persiapan pasien bertujuan untuk memastikan bahwa pasien memenuhi persyaratan pra analitik, misalnya memastikan dan mengedukasi pasien agar melakukan puasa dengan benar sesuai persyaratan pemeriksaan hematologi terkait, memastikan status pengobatan, dan lain-lain.

Terdapat beberapa variabel pada tahap pengambilan spesimen yang mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium yang dapat berpotensi menyebabkan kesalahan pada hasil pemeriksaan laboratorium. Variabel-variabel itu, antara lain, posisi saat pengambilan darah,

ritme sirkardian, waktu pengambilan spesimen, torniquet, jenis spesimen, penampung dan antikoagulan, puasa, dan lain-lain. Penting bagi flebotomis untuk mencegah dan meminimalkan potensi kesalahan akibat variabel tersebut.

Pengambilan sampel yang baik merupakan bagian yang sangat penting dalam praktek laboratorium. Kesalahan dalam pengambilan sampel dapat mengarah kepada penundaan laporan, pengambilan darah ulang yang tidak diperlukan, mengurangi kepuasan pelanggan, meningkatkan biaya, kesalahan diagnosis atau penanganan, cedera, dan terkadang kematian pasien (Shoaib et al, 2020).

Standar untuk prosedur pungsi vena yang direkomendasi oleh lembaga yang berwenang sangat diperlukan untuk membantu menghilangkan banyak kesalahan yang dapat terjadi selama pengambilan darah. Spesimen yang representatif secara biologis untuk pemeriksaan laboratorium akan diperoleh jika digunakan standar pungsi vena yang diberlakukan secara nasional (CLSI, 2003).

Program pelatihan dan uji kompetensi yang komprehensif dan periodik terkait teknik flebotomi yang baik dan benar diperlukan untuk menghasilkan flebotomis yang kompeten, efisien, terlatih dan tersertifikasi.

Pembuangan Limbah non infeksius dan Limbah infeksius pada kegiatan pra analitik di laboratorium pada fasilitas pelayanan kesehatan harus dipisahkan sesuai dengan tempat limbah yang sesuai peruntukannya. Peralatan, kursi dan lingkungan sekitar pasca pengambilan darah selalu dibersihkan menggunakan desinfektan sebelum maupun sesudah kegiatan pra analitik dilakukan. Produksi limbah harus diminimalkan. Pengelolaan limbah medis dari fasilitas pelayanan Kesehatan harus diterapkan sesuai prosedur dan regulasi yang berlaku.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang bertugas di laboratorium klinik yang terakreditasi SNI ISO laboratorium medik. Petugas tersebut akan melakukan pengambilan spesimen darah vena pasien sesuai instruksi persyaratan akreditasi laboratorium tersebut.

   Apakah acuan yang digunakan oleh ATLM dalam mengakomodasi instruksi yang harus tercakup pada kegiatan tersebut?

   A. ISO 17025: 2017
   B. SNI ISO 15189: 2012
   C. Perpres No. 8 Tahun 2012
   D. Permenkes No. 43 Tahun 2013.
   E. CAP tahun 2017.

2) Seorang ATLM akan melakukan pengambilan spesimen darah vena pasien perempuan, usia 20 tahun, yang akan melakukan pemeriksaan skrining anemia. Setelah memperkenalkan diri kepada pasien, petugas tersebut melakukan identifikasi pasien.
Apakah dasar hukum dari kegiatan yang dilakukan oleh ATLM tersebut?
   A. Permenkes No. 43 Tahun 2013
   B. Permenkes No. 11 Tahun 2017
   C. Permenkes No. 42 tahun 2015
   D. Permenkes No. 411 tahun 2010
   E. Permenkes No. 028 Tahun 2011

3) Seorang ATLM akan melakukan pengambilan spesimen darah vena pasien anak laki-laki, usia 10 tahun. Informasi klinik menunjukkan pasien suspek kelainan faktor koagulasi. Pemeriksaan yang diminta adalah pemeriksaan darah lengkap dan dan pemeriksaan skrining koagulasi.
Apakah jenis tabung penampung spesimen yang harus disiapkan petugas pada kasus tersebut?
   A. Tabung tutup merah dan biru
   B. Tabung tutup biru dan ungu
   C. Tabung tutup kuning dan merah
   D. Tabung tutup hijau dan biru
   E. Tabung tutup abu-abu dan hijau

4) Seorang ATLM sedang melakukan pengambilan spesimen darah pada pasien anak, laki-laki, usia 10 tahun, untuk pemeriksaan skrining suspek Demam Berdarah. Setelah penusukan vena berhasil, petugas tersebut secara perlahan melepaskan torniquet pada lengan pasien.
Apakah tujuan utama dari tindakan ATLM pada kasus tersebut?
   A. Menghindari terjadinya bekuan
   B. Mencegah terjadinya hemokonsentrasi
   C. Mencegah terjadinya hemodilusi
   D. Mencegah terjadinya hematoma
   E. Menghindari terjadinya pajanan infeksi pathogen

5) Seorang ATLM sudah berhasil melakukan pengambilan spesimen darah vena pasien untuk pemeriksaan skrining hemostasis di antaranya pemeriksaan PT dan APTT. ATLM tersebut segera memberikan label yang lengkap dan sesuai persyaratan. Selanjutnya spesimen disimpan terebih dahulu sebelum dikirim ke laboratorium yang dituju. Berapakah waktu stabilitas spesimen untuk pemeriksaan pada kasus tersebut berdasarkan PMK no.43 tahun 2013 dan CLSI?

A. 2 jam
B. 4 jam
C. 8 jam
D. 12 jam
E. 24 jam

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 3
Transportasi Spesimen

Transportasi sampel darah merupakan bagian utama dari fase pra-analitik. Sebelum pengiriman spesimen ke laboratorium, harus dipastikan bahwa spesimen telah memenuhi persyaratan sesuai yang tertera dalam persyaratan masing-masing pemeriksaan. Apabila spesimen tidak memenuhi persyaratan, maka spesimen tersebut perlu diambil ulang (*resampling*) atau dikirim ulang. Pengiriman spesimen disertai formulir permintaan yang berisi data yang lengkap. Harus dipastikan bahwa identitas pada label dan formulir permintaan sudah sama.

Saat ini permintaan pemeriksaan laboratorium dari dokter semakin meningkat. Tempat pengambilan spesimen penting untuk memiliki tabung pengumpul spesimen darah vena primer yang mudah diangkut ke laboratorium pemeriksa secepat mungkin. Setelah spesimen darah untuk pemeriksaan telah diambil, spesimen tersebut harus langsung diantarkan ke laboratorium untuk penanganan selanjutnya.

Pada Topik 3 ini akan dibahas tiga subtopik sebagai berikut.

1. Sarana Pengiriman Spesimen.
2. Persyaratan Pengiriman Spesimen
3. Sistem Kontrol Pengiriman Spesimen

A. SARANA PENGIRIMAN SPESIMEN

Laboratorium menetapkan metode transportasi sampel mulai dari pengambilan sampel untuk sampai ke laboratorium pemeriksa atau laboratorium sentral dalam keadaan utuh dan sesuai persyaratan.

1. Transportasi Spesimen di Lingkungan Internal

Terdapat beberapa metode transportasi, untuk sampel internal, yang dapat dilakukan secara manual atau automatic, yaitu sebagai berikut.

a. Metode Manual

Transportasi manual umumnya dilakukan dengan troli (*courier*) atau dengan tangan (*hand carry*), misalnya oleh flebotomis atau dokter yang mengambil spesimen emergensi, prioritas cito atau *Stat.* Permintaan pemeriksaan spesimen dengan tulisan '*stat*' atau cito (gambar 3.1) atau emergensi ini biasanya ini dibubuhkan/ditulis pada formulir permintaan pemeriksaan laboratorium khusus yang memerlukan tindakan 'gerak cepat'. Tindakan 'cito' atau 'stat' ini dilaksanakan terutama untuk menyelamatkan nyawa pasien yang terancam.

Kedua jenis transportasi manual tersebut dapat diandalkan karena tidak ada instrumen teknis yang terlibat dan juga merupakan bentuk transportasi yang biasa dan aman. Namun ada kelemahannya yaitu waktu pengantaran lebih lambat. Hambatan lain adalah kecenderungan untuk mengumpulkan spesimen di tempat pengambilan spesimen (unit sampling) untuk dikirim dalam *batch* ke laboratorium. Kondisi tersebut dapat menghemat tenaga transportasi, tetapi spesimen pertama yang dikumpulkan waktu simpannya menjadi lebih lama (Nybo dkk., 2019).

Gambar 2.21
Contoh spesimen STAT (Urgen) diperlukan pengiriman segera ke laboratorium (Lexington Medical Center)

b. Metode Automatik

Sebagai konsekuensi dari kekurangan pengiriman secara manual, saat ini semakin banyak rumah sakit atau laboratorium klinik yang menggunakan sistem transportasi otomatis, yang dapat berupa sistem transportasi tabung pneumatik (PTS/*Pneumatic Tube System*) atau, misalnya, menggunakan kendaraan trek listrik. Kedua sarana tersebut cocok dengan otomatisasi penerimaan spesimen internal (*in-house*) di laboratorium. Di bagian unit sampling, penggunaan metode ini juga cenderung dapat mengirim spesimen secara lebih "*real time*" dan memungkinkan laboratorium untuk mempertahankan prinsip FIFO (*first in first out*) (Nybo,dkk., 2019).

Sistem *pneumatic tube* dapat berupa *point to point* atau sistem *multipoint*. Sistem *point to point* merupakan pengiriman dua arah melalui tabung yang terhubung secara tunggal ke salah satu stasiun. Sedangkan sistem *multipoint* merupakan sistem yang menghubungkan

semua titik, dimana besar dan beratnya lalu lintas dapat dibagi menjadi tiap-tiap zona, sehingga memungkinkan pengiriman lokal dari operator di setiap zona serta ke zona lain apabila diperlukan (Alamsyah, dkk., 2018).

Gambar 2.22

Pipa *receiving* dan basket sebagai tempat penerimaan tabung pada pengiriman spesimen melalui tabung pneumatik (*Pneumatic Tube System*) (Alamsyah, dkk., 2018)

Tabung pneumatik merupakan sistem transportasi otomatis yang dominan untuk pengiriman spesimen ke laboratorium. Efek dari sistem ini pada validitas hasil laboratorium telah dievaluasi. Hasil bervariasi menurut sistem tabung tertentu, tetapi secara umum, pemeriksaan yang terpengaruh adalah yang dipengaruhi oleh gangguan integritas membran sel darah merah. Pemeriksaan yang paling sering dipengaruhi adalah kalium, hemoglobin plasma, dan fosfatase asam.

Pemeriksaan lain yang tidak sesuai untuk sistem pengiriman tabung pneumatik adalah spesimen yang harus dipertahankan pada suhu tubuh, termasuk cryoglobulin dan aglutinin dingin (CLSI, 2010). Di samping itu efek pra-analitik yang signifikan pada sampel yang dikirim melalui tabung pneumatik terdapat pada pemeriksaan tromboelastografi. Untuk pemeriksaan tersebut, transportasi sampel secara manual lebih direkomendasikan. Dalam kasus pemeriksaan fungsi trombosit, praktik terbaik adalah dengan menghindari transportasi sama sekali, yaitu, jika memungkinkan, dilakukan pengambilan darah di tempat pemeriksaan (Nybo, dkk., 2019).

Sistem tabung pneumatik digunakan sebagai sarana pengiriman spesimen diagnostik automatik yang digunakan untuk memungkinkan pengiriman sampel yang cepat ke laboratorium masing-masing departemen yang dituju. Hal-hal yang harus diperhatikan secara

umum apabila menggunakan tabung pneumatik sebagai alternatif pengiriman spesimen ke departemen Patologi, adalah sebagai berikut.

1. Memastikan bagian atas tabung spesimen aman.
2. Menempatkan spesimen di dalam tas spesimen dan tutup tasnya.
3. Menempatkan formulir permintaan dan spesimen dalam pembawa spesimen Patologi. Jangan menggunakan pembawa untuk Farmasi serta jangan menggunakan pembawa yang rusak.
4. Memilih tujuan dengan menekan nomor yang sesuai pada papan tombol stasiun.
5. Memeriksa tampilan sesuai dengan tujuan yang diperlukan
6. Memuat pembawa ke stasiun.

Jenis- jenis spesimen berikut ini tidak boleh dikirim melalui sistem transportasi vakum.

1. Sampel berharga, yaitu sampel yang sulit atau tidak mungkin diganti, misalnya: sampel jaringan.
2. Spesimen dalam botol yang mengandung formalin (hal ini berbahaya karena dapat terhirup apabila tumpah).
3. Sampel cairan serebrospinal (CSF),
4. Sampel dalam botol kaca tidak boleh ditempatkan ke dalam sistem transportasi vakum, karena kemungkinan pecahnya botol.
5. Produk transfusi – sel darah dalam produk darah untuk transfusi dapat terganggu selama transit dalam sistem transportasi vakum.
6. Sampel yang dicurigai atau diketahui mengandung patogen kelompok bahaya III/IV.
7. Jarum/benda tajam

Tabung pembawa tidak boleh diisi terlalu penuh karena dapat menimbulkan risiko kesehatan dan keselamatan bagi staf laboratorium yang membongkarnya. Sampel gas darah harus memiliki semua gelembung yang dikeluarkan dan ditutup dengan tepat. Jika tidak, hasilnya dipengaruhi oleh transportasi dalam sistem vakum.

2. Transportasi di Lingkungan Eksternal

Stabilitas spesimen menentukan kondisi transportasi dari lokasi pengumpulan yang jauh (misalnya, praktik dokter, stasiun pengambilan satelit, dan lain-lain) ke tempat pemeriksaan. Jika spesimen darah utuh yang tidak disentrifugasi akan dikirim ke laboratorium untuk pemeriksaan, maka spesimen tersebut harus mencapai laboratorium tepat waktu agar dapat diproses pemisahan serum/ plasma dalam batas waktu yang sesuai untuk melindungi stabilitas analit. Jika persyaratan ini tidak dapat dipenuhi, spesimen harus disentrifugasi di tempat pengambilan, dengan serum atau plasma dipisahkan dari sel dan disimpan dalam

kondisi yang sesuai, sampai dapat dikirim ke laboratorium. Tabung sampel sekunder harus anti bocor (CLSI, 2010).

Untuk sampel yang telah diambil dan akan dirujuk, agar dapat selalu terjamin kualitasnya, maka harus mengikuti prosedur rujukan berikut ini.

1. Sampel disimpan pada suhu tertentu dan tidak boleh lebih lama dari pesyaratan stabilitas sampel.
2. Sampel yang akan dikirimkan dikemas sesuai dengan prosedur kerja yang ditetapkan. Misalnya pengiriman harus dilakukan dalam kondisi dingin dengan cara pemberian *dry ice* atau atau *ice pack* untuk mengawetkan spesimen. Kualitas *dry ice* dan *ice pack* yang digunakan harus telah melewati tahap evaluasi.
3. Sampel yang dikirimkan harus selalu dipantau kondisinya dengan cara memantau suhu dan waktu pengiriman yang tepat waktu.
4. Jasa pengiriman yang ditunjuk adalah ekspedisi khusus yang telah melalui tahap seleksi, audit, dan evaluasi serta dibuat perjanjian kerja-samanya (PKS).
5. Mengevaluasi kinerja kurir layanan pengiriman tersebut secara priodik untuk memastikan sampel yang dikirimkan sampai dengan kondisi baik dan tepat pada waktunya.
6. Menggunakan kemasan (*packaging*) khusus (*styrofoam*) dan *dry ice* tertentu yang terlebih dahulu telah melalui proses uji coba untuk memastikan kualitasnya dapat memenuhi persayaratan yang ditentukan.

Semua proses baku yang ketat tersebut dilakukan untuk memastikan akurasi hasil pemeriksaan laboratorium yang akan menjadi bahan pertimbangan bagi dokter dalam menentukan diagnosis untuk pasiennya secara benar dan tepat.

B. PERSYARATAN PENGIRIMAN SPESIMEN

Spesimen yang akan dikirim ke laboratorium lain (dirujuk) sebaiknya dikirim dalam bentuk yang relatif stabil. Untuk itu perlu diperhatikan persyaratan pengiriman spesimen sebagai berikut (PMK no. 43 tahun 2013).

1. Waktu pengiriman jangan melampaui masa stabilitas spesimen

Instruksi kerja untuk kegiatan pasca-pengambilan spesimen di antaranya penyimpanan spesimen untuk transportasi. Laboratorium harus memiliki prosedur terdokumentasi untuk memantau transportasi spesimen untuk memastikan spesimen dikirim dalam jangka waktu sesuai dengan sifat dari pemeriksaan yang diminta dan bidang laboratorium bersangkutan.

Spesimen idealnya sesegera mungkin dikirim ke laboratorium. (CLSI, 2004). Penundaan pengiriman spesimen ke laboratorium dapat dilakukan selambat-lambatnya 2 jam setelah pengambilan spesimen. Penundaan pengiriman spesimen terlalu lama akan menyebabkan perubahan fisik dan kimia yang dapat menjadi sumber kesalahan pada tahap analitik (Mardiana dan Rahayu, 2017).

Sampel darah EDTA hendaknya segera diperiksa atau jika diperlukan penundaan maka tidak boleh lebih dari 2 jam. Perubahan morfologi sel akan terjadi jika darah K3EDTA ditunda lebih dari 2 jam pada suhu ruang. Morfologi sel pada sediaan darah tepi belum berubah jika darah K3EDTA ditunda selama 1 jam pada suhu ruang (18-25ºC) atau disimpan selama 24 jam pada suhu 4ºC.

Perubahan morfologi leukosit yang terjadi adalah neutrofil akan tampak membengkak, lobus akan terpisah, kromatin hilang, warna inti menjadi pudar, terjadi vakuolisasi sitoplasma, dan disintegrasi sel. Pada limfosit dapat dijumpai *budding* inti, sehingga inti tampak menjadi 2-3 lobus. Hitung leukosit dan trombosit akan rendah palsu (Monica dkk., 2018)

Perubahan akan tampak juga pada morfologi eritrosit. Eritrosit akan membengkak sehingga nilai hematokrit meningkat, MCV meningkat dan MCHC turun, serta fragilitas osmotik meningkat. Bila darah K3EDTA disimpan pada suhu 4ºC selama 24 jam akan menghambat perubahan morfologi sel. Hitung retikulosit juga akan berubah bila darah disimpan pada suhu ruang selama 6 jam. Eritrosit berinti akan mengalami disintegrasi bila darah disimpan pada suhu ruang selama 1-2 hari. Hemoglobin stabil selama beberapa hari, namun akan lisis pada suhu ruang selama 2-3 hari sehingga hitung eritrosit menurun, dan MCV serta MCHC meningkat (Monica dkk., 2018).

2. Tidak terkena cahaya matahari langsung

Penting untuk menghindari paparan spesimen darah untuk analit fotosensitif terhadap cahaya buatan atau sinar matahari (ultraviolet) untuk waktu yang lama. Untuk bilirubin, hal ini sangat penting ketika bayi baru lahir ikterik sedang dipantau untuk kemungkinan transfusi tukar. Contoh lainnya termasuk vitamin A dan B6, beta-karoten, dan porfirin. Spesimen ini harus dilindungi dengan bungkus aluminium foil, wadah spesimen kuning, atau yang setara (CLSI, 2004).

3. Kemasan/ Tempat Pengiriman

Kemasan untuk pengiriman spesimen harus memenuhi syarat keamanan kerja laboratorium termasuk pemberian label yang bertuliskan “Bahan pemeriksaan infeksius” atau “bahan pemeriksaan berbahaya”.

Pengiriman spesimen sebaiknya menggunakan wadah khusus, misalnya berupa kotak atau tas khusus yang terbuat dari bahan plastik, gabus (styro-foam) yang dapat ditutup rapat dan mudah dibawa (Mardiana dan Rahayu, 2017). Spesimen harus dikirim dalam kantong atau wadah biohazard yang sesuai ke laboratorium (CLSI, 2004).

Wadah spesimen untuk pengiriman jika memungkinkan dirancang agar tabung darah dapat disimpan dalam posisi vertikal dan tertutup. Posisi ini akan meningkatkan pembentukan bekuan darah lengkap dan mengurangi agitasi isi tabung sehingga mengurangi potensi hemolisis (CLSI, 2010). Pada saat transportasi, sampel harus berada pada rak tabung dengan posisi datar. Sampel harus dihindari seoptimal mungkin dari guncangan dan getaran (Noby, dkk, 2019).

4. Suhu pengiriman harus memenuhi syarat

Semua spesimen harus diangkut pada suhu kamar kecuali pendinginan sampel diperlukan. Pemindahan spesimen dengan segera dari area pengumpulan sangat penting jika suhu area di atas 22^{o}C, yang dapat menyebabkan beberapa analit mengalami perubahan (CLSI, 2004).

Spesimen harus dikirim dalam wadah primer khusus (tabung sampel), wadah sekunder (dalam kondisi yang dapat mencegah kontaminasi infeksi meskipun tutupnya dibuka dan berisi bahan sorben), dan wadah tersier (dapat digunakan sebagai kantong transportasi, terlindung dari perubahan suhu) yang merupakan wadah untuk mengontrol panas. Kontrol panas dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat yang merekam perubahan suhu. Apabila sampel akan diperiksa di laboratorium yang jauh, maka transportasi berpendingin merupakan aplikasi yang direkomendasikan. Namun harus diperhatikan juga bahwa menyimpan sampel pada suhu lemari es dapat merangsang koagulasi dan sampel ini harus dievaluasi berkaitan dengan keberadaan koagulum.

C. SISTEM KONTROL PENGIRIMAN SPESIMEN

Proses pengiriman harus dikontrol dengan ketat untuk memastikan bahwa pemeriksaan yang diminta pada formulir permintaan pemeriksaan laboratorium tidak terpengaruh oleh suhu, agitasi dan pengaruh fisik atau biologis lainnya (Nybo, dkk., 2019). Secara optimal pengiriman harus dilakukan pada kondisi suhu yang sama dengan penyimpanan suhu sebelum pengiriman. Waktu dan suhu wadah/kotak transportasi spesimen harus dicatat dan harus dimasukkan dalam sistem informasi laboratorium (Nybo, dkk., 2019).

Latihan

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

1) Jelaskan secara singkat tentang metode transportasi spesimen di lingkungan internal pada suatu fasilitas pelayanan kesehatan!
2) Jelaskan tentang prosedur rujukan spesimen agar memenuhi jaminan kualitas spesimen yang berintegritas/utuh selama pengiriman!
3) Jelaskan tentang persyaratan pengiriman spesimen berdasarkan peraturan Menteri Kesehatan No. 43 Tahun 2013!
4) Jelaskan tentang sistem pengendalian pengiriman spesimen agar tetap dalam kondisi sesuai persyaratan!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam menjawab soal-soal Latihan 3 tersebut, silahkan dipelajari kembali Topik 3 tentang hal-hal berikut.

1) Sarana pengiriman specimen.
2) Sarana pengiriman specimen.
3) Persyaratan pengiriman specimen.
4) Sistem kontrol pengiriman spesimen.

Ringkasan

Laboratorium menetapkan metode transportasi sampel mulai dari pengumpulan spesimen untuk sampai ke laboratorium pemeriksa atau laboratorium sentral dalam keadaan utuh dan sesuai persyaratan. Setelah spesimen untuk pemeriksaan diambil, spesimen tersebut harus langsung diantarkan ke laboratorium dengan jarak yang bervariasi.

Tahap paling penting pada transportasi spesimen adalah perlu distandarisasi dan dioptimalisasi dengan akurat, dengan menerapkan kriteria yang ketat terkait waktu, suhu, posisi spesimen, kemasan/wadah specimen, demikian juga dengan penyesuaian dan pemenuhan kriteria spesimen yang dapat diterima.

Proses pengiriman harus dikontrol dengan ketat untuk memastikan bahwa pemeriksaan yang diminta pada formulir permintaan pemeriksaan laboratorium tidak terpengaruh oleh suhu, agitasi, dan pengaruh fisik, atau biologis lainnya. Secara optimal pengiriman harus

dilakukan pada kondisi suhu yang sama dengan suhu penyimpanan sebelum pengiriman. Waktu dan suhu wadah/kotak transportasi spesimen harus dicatat dan harus dimasukkan dalam sistem informasi laboratorium.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang ditugaskan penanggung jawab laboratorium untuk mempersiapkan pengiriman spesimen. Pada salah satu formulir permintaan pemeriksaan laboratorium ternyata ada yang bertuliskan STAT/*Urgent*.
   Sarana transportasi apakah yang paling tepat untuk kasus di atas?
   A. Menggunakan *trolly*
   B. *Hand carry*
   C. Kendaraan trek listrik
   D. Tabung pneumatik
   E. Jasa pihak ketiga

2) Seorang ATLM sedang menyiapkan pengiriman spesimen. Sarana yang akan digunakan untuk pengiriman adalah melalui tabung pneumatik.
   Manakah jenis spesimen berikut ini yang tepat menggunakan sarana transportasi tersebut?
   A. spesimen jaringan
   B. spesimen dalam botol yang mengandung formalin
   C. spesimen darah sitrat dalam tabung vacutainer
   D. spesimen cairan serebrospinal (CSF),
   E. spesimen dalam botol kaca

3) Seorang ATLM sedang menyiapkan pengiriman spesimen darah EDTA untuk pemeriksaan darah lengkap ke laboratorium hematologi.
   Berapakah waktu stabilitas spesimen tersebut sesuai rekomendasi CLSI?
   A. 2 jam
   B. 4 jam
   C. 8 jam
   D. 12 jam
   E. 48 jam

4) Seorang ATLM sedang menyiapkan pengiriman spesimen darah EDTA untuk pemeriksaan darah lengkap ke laboratorium hematologi.
Berapakah suhu pengiriman spesimen tersebut sesuai rekomendasi CLSI?
A. 2 sampai 6^{o}C
B. 15 sampai 22^{o}C
C. 37^{o}C
D. -20 sampai 0^{o}C
E. -70 sampai -20^{o}C

5) Seorang ATLM sedang menyiapkan pengiriman spesimen darah vena pasien bayi untuk pemeriksaan porfirin dan bilirubin.
Bagaimanakah pengemasan spesimen tersebut agar sesuai persyaratan pemeriksaan dan pengiriman spesimen?
A. Spesimen dalam tabung vacutainer tanpa pembungkus
B. Spesimen dibungkus aluminium foil
C. Spesimen dibungkus tisu kering
D. Spesimen dibungkus kertas saring
E. Spesimen dibungkus parafilm

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 3 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 3.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 4
Penanganan Spesimen Pra Analitik

Penanganan spesimen dilakukan setelah tahap pengiriman spesimen. Pada tahap ini berfokus pada persiapan spesimen yang bertujuan menyediakan spesimen yang sesuai untuk tahap pemeriksaan laboratorium selanjutnya yaitu tahap analitik.

Beberapa studi menunjukkan bahwa pengolahan dan penyimpanan spesimen di luar laboratorium memberikan dampak terhadap kualitas spesimen. Cara spesimen ditangani dari pasien menuju laboratorium merupakan tahap yang dapat memberikan potensi kesalahan dan seringkali di luar kontrol dari hasil pemeriksaan laboratorium.

Kehati-hatian dalam melakukan pengantaran dan pengolahan spesimen merupakan keharusan dalam menjaga kualitas spesimen yang sudah diperoleh.

Pada topik ini akan dibahas 4 subtopik, yaitu sebagai berikut.

1. Penerimaan Spesimen
2. Penolakan Spesimen
3. Pengolahan Spesimen
4. Penyimpanan Spesimen Sebelum Pemeriksaan

A. PENERIMAAN SPESIMEN

Spesimen yang telah datang ke laboratorium pemeriksa atau laboratorium sentral setelah pengiriman dari unit sampling selanjutnya dievaluasi dan diverifikasi untuk memastikan bahwa panduan pengiriman spesimen telah diterapkan (Lippi dan Favaloro, 2015). Penerimaan spesimen di laboratorium medis harus jelas identifikasinya, karena pihak petugas laboratorium harus memverifikasi informasi pada spesimen (Widyatmojo, dkk., 2018).

Prosedur laboratorium untuk penerimaan spesimen harus memastikan bahwa beberapa kondisi berikut ini terpenuhi.

1. Spesimen dapat tertelusur dengan jelas pada pasien atau tempat yang teridentifikasi melalui permintaan dan pelabelan.
2. Laboratorium mengembangkan, mendokumentasikan, dan menetapkan kriteria untuk penerimaan atau penolakan sampel.
3. Apabila ada masalah dengan identifikasi pasien atau sampel, ketidakstabilan sampel karena keterlambatan transportasi atau wadah yang tidak sesuai, volume sampel tidak cukup, atau ketika sampel secara klinis penting atau tak tergantikan dan laboratorium

tetap memilih untuk memproses sampel, maka laporan akhir harus menunjukkan adanya masalah tersebut dan diperlukan kewaspadaan pada saat menginterpretasikan hasilnya.

4. Semua sampel yang diterima dicatat dalam suatu buku penerimaan lembar kerja, computer, atau sistem lain yang setara. Tanggal dan waktu penerimaan dan/atau pendaftaran sampel harus direkam. Bila memungkinkan identitas orang yang menerima sampel juga harus direkam.
5. Personel yang berwenang harus mengevaluasi sampel yang diterima untuk memastikan bahwa sampel memenuhi kriteria keberterimaan yang relevan untuk pemeriksaan yang diminta.
6. Jika relevan, harus ada instruksi untuk penerimaan, pelabelan, pengolahan, dan pelaporan sampel khusus yang ditandai sebagai cito. Instruksi yang harus diikuti mencakup rincian dari pelabelan khusus untuk formulir permohonan dan sampel, mekanisme penyerahan sampel ke area pemeriksaan laboratorium dan cara pemeriksaan yang cepat, serta kriteria pelaporan khusus (Widyatmojo, dkk., 2018).

B. PENOLAKAN SPESIMEN

Spesimen yang tiba di laboratorium selanjutnya dilakukan pemeriksaan yang meliputi hal-hal berikut.

1. Spesimen diterima oleh petugas loket dan sampling
2. Penilaian spesimen harus dilakukan sesuai dengan jenis pemeriksaan
3. Penilaian spesimen harus segera dilakukan setelah menerima spesimen
4. Petugas penerima spesimen di laboratorium wajib menolak dan mengembalikan spesimen yang tidak memenuhi syarat pemeriksaan.
5. Spesimen yang ditolak diberitahukan lewat aiphon ruangan atau petugas yang mengantar spesimen.

Laboratorium harus mempunyai prosedur dan fasilitas yang memadai untuk mengamankan spesimen pasien dari deteriorasi, kehilangan, atau kerusakan selama kegiatan pra analitik dan selama penanganan, persiapan dan penyimpanan. Prosedur laboratorium harus mencakup batas waktu permintaan pemeriksaan tambahan atau pemeriksaan lebih lanjut dari sampel primer yang sama.

Laboratorium memiliki hak untuk menolak spesimen sebelum dilakukan pemeriksaan apabila ada masalah atau ketidaksesuaian terhadap spesimen yang akan diperiksa. Di samping itu spesimen hematologi yang dibawa ke laboratorium dapat ditolak jika terdapat kondisi yang membahayakan validitas hasil pemeriksaan. Laboratorium menerapkan tindakan untuk

mempertahankan integritas spesimen. Laboratorium juga tidak boleh membuang spesimen sampai personel/petugas yang bertanggung jawab terhadap spesimen tersebut memberikan informasi (Naz. dkk., 2012).

1. Kriteria Umum Untuk Penolakan Spesimen:

a. Spesimen yang tidak diberi label

Spesimen yang tidak diberi label akan ditolak oleh laboratorium karena tidak mungkin untuk di identifikasi asal usul dari spesimen tersebut. Sampel dapat diambil ulang atau dikonsultasikan dengan orang yang melakukan pengambilan sampel dan memintanya untuk mengidentifikasi sampel dan memberikan bukti yang dapat memperkuat bahwa orang tersebut sudah mengidentifikasi spesimen tersebut.

b. Kesalahan dalam memberikan label

Pada kasus ini, spesimen diberi label, namun informasi yang tertera pada label tidak lengkap atau pemberian label salah. Spesimen bisa saja diberi label dengan nama pasien yang berbeda atau berbeda dengan permintaan ataupun salah dalam pemberian nomor pasien. Kesalahan kecil mungkin dapat ditolerir dan dilakukan pemeriksaan, namun tidak untuk kesalahan yang cukup fatal. Untuk menghindari kesalahan pada proses labeling, spesimen harus segera diberi label segera setelah darah berhasil diambil.

c. Salah menggunakan tabung

Kesalahan dalam menggunakan tabung pada saat pengambilan darah juga dapat memberikan hasil yang invalid. Sampel dengan tabung yang salah harus diambil ulang dengan menggunakan tabung yang sesuai. Kebanyakan tipe tabung yang umum digunakan adalah tabung dengan tutup berwarna merah, kuning, biru muda, hijau, ungu, abu-abu, biru tua, dan hitam yang masing-masing memiliki zat pengawet serta ditujukan untuk penggunaan pemeriksaan yang berbeda.

Sebagai contoh, tabung dengan tutup warna ungu mengandung EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*) dan digunakan untuk pemeriksaan hematologi (CBC, LED). Tabung tutup biru mengandung Natrium sitrat 3,2% untuk pemeriksaan hemostasis. Apabila terdapat kesalahan pemilihan tabung maka dapat menimbulkan hasil yang tidak akurat seperti yang disajikan pada Tabel 2.9 (Adcock, D.M., Lippi, G. dan Favaloro, E.J., 2012).

Pasien harus di hubungi kembali terkait pengambilan darah ulang apabila terjadi kesalahan dalam tabung yang digunakan.

d. Salah dalam menggunakan pengawet

Sampel yang tidak menggunakan bahan pengawet yang sesuai, contohnya penggunaan ACD untuk pemeriksaan CBC akan memberikan hasil yang invalid, oleh karena itu pengambilan darah ulang harus dilakukan. Unit terkait pengambilan spesimen harus diinformasikan untuk menggunakan bahan pengawet yang sesuai.

Tabel 2.11

Contoh Efek Matriks spesimen pada Pemeriksaan Hemostasis

Jenis Tabung	Na. sitrat 3,2%	EDTA	Natrium heparin	Serum
Pemeriksaan	Mean/ Range			
APTT (s)	29/25-33	68/45-92	NCD	NCD
PT (s)	12,4/11,5-13,2	23/19-27	NCD	NCD
dRWT (s)	34,6/27-43	55/45-64	NCD	NCD
FV activity (%)	113/84-142	71/39-103	81/59-103	23/13-33
FVII activity (%)	115/50-180	116/51-182	77/43-107	308/80-437
FVIII activity (%)	141/80-202	7,5/2-19	<1	4,5/1,3-7,7
FIX activity (%)	122/97-148	115/63-168	<1	350/ 135-565
VWF:Ag (%)	122/50-194	143/59-228	70/42-98	101/32-169
VWF: RCo (%)	114/41-188	131/46-215	37/13-60	74/25-124
PC activity (%)	111/ 66-155	152/100-205	<1	21,6/0-70
PS activity (%)	96/73-119	30/17-42	<1	15,3/0-39,5
Free PS antigen (%)	108/72-144	131/91-171	126/94-159	131/97-164
AT activity (%)	102/86-118	121/105-138	126/108-143	47/30-65

EDTA, Ethylendiaminetetraacetic acid; APTT, activated partial thromboplastin time; s, second (s); NCD, no clot detected; PT, prothrombine time; dRWT, dilute Russel Viper venom time; F, factor; VWF:Ag, von Willebrand Factor Antigen; WF:RCo, von Willebrand factor: Ristocetin cofactor; PC, protein C; PS, protein S;Free PS Ag, free Protein S antigen; AT, antithrombin

e. Kekurangan volume spesimen

Jika volume dari spesimen yang telah diambil kurang untuk keperluan pemeriksaan, sampel harus diambil ulang. Biasanya untuk pemeriksaan hematologik, spesimen yang diambil itu sekitar 3-5 mL. Prosedur untuk spesimen yang kurang harus dilakukan.

2. Kriteria Penolakan Untuk Spesimen Darah

a. Adanya bekuan pada spesimen

Sampel darah yang membeku setelah dilakukan pengambilan darah seringkali ditemukan sebagai penyebab penolakan terbanyak. Studi sebelumnya melaporkan bahwa 43-51% dari sampel yang diambil ditolak karena adanya formasi pembekuan. Alasan utama dari terjadinya formasi pembekuan ialah hasil dari pengambilan darah yang tidak baik dan penghomogenan sampel yang kurang baik setelah sampel berhasil diambil. Pembekuan darah harus dihindari dengan menambahkan antikoagulan yang tepat dan dengan jumlah yang sesuai kedalam tabung sampel serta mengadakan pelatihan bagi pegawai plebotomi untuk meningkatkan kualitas dari sampel yang didapat.

b. Kekurangan volume darah

Hal yang paling banyak ditemukan sebagai penyebab penolakan sampel yang kedua ialah kurangnya volume darah yang dibutuhkan untuk prosedur pemeriksaan yang berbeda. Sebagai contoh, pengambilan sampel sebanyak 0,5 mL darah dalam 5 mL tabung EDTA akan mengarah kepada penyusutan dari sel darah merah. Kebanyakan volume darah 3-5 mL darah diambil untuk pemeriksaan hematologi. Alasan terkait dengan kesalahan jenis ini dapat saja karena ketidakpedulian dari flebotomis, kesulitan dalam menentukan vena pada pasien-pasien dengan penyulit, misalnya: pasien lansia (geriatrik), pasien pediatrik dan lain-lain.

c. Sampel hemolisis

Sampel darah yang hemolisis pada saat pengambilan darah juga akan mengganggu hasil dan yang akan didapat adalah hasil invalid. Hal ini dipertimbangkan sebagai penyebab tertinggi dari penolakan spesimen. Hemolisis dari spesimen darah dapat disebabkan oleh homogenisasi yang berlebihan, pemindahan darah dari spuit ke tabung melalui jarum, serta sentrifugasi sampel sebelum membeku.

Spesimen harus disimpan pada kondisi yang sesuai untuk menghindari hemolisis. Tabung dengan tutup warna merah tanpa aditif (jenis wadah gelas) tidak boleh dihomogenisasi setelah pengambilan darah dilakukan, dan sampel plasma harus tetap terbalik untuk beberapa saat sehingga antikoagulan akan tercampur dengan rata bersama darah. Kesalahan jenis ini dapat dikurangi dengan menggunakan vacutainer untuk pengambilan darah dengan sistem tertutup yang membuat pengambilan darah menjadi lebih mudah dan efisien.

d. Spesimen yang diambil lipemik

Spesimen dengan keadaan seperti ini biasanya diambil setelah makan siang dan masalah gangguan metabolisme yang sudah ada pada tubuh seperti hyperlipoproteinemia. Lemak

pada sampel akan berefek pada hasil dari pengujian. Sampel seperti ini biasanya diambil tanpa memberitahukan informasi yang jelas kepada pasien oleh phlebotomis itu sendiri serta preparasi pasien yang tidak sesuai. Tipe kesalahan ini dapat dihindari dengan mengambil kembali sampel setelah berpuasa semalaman dan memberikan catatan adanya gangguan metabolisme pada slip permintaan.

e. Persiapan pasien yang tidak sesuai

Aktivitas pasien sebelum pengambilan darah merupakan kriteria penting untuk memberikan hasil yang baik. Jika pasien melakukan kegiatan yang tidak biasa atau olahraga berlebihan sebelum pengambilan darah dilakukan maka akan mempengaruhi hasil pemeriksaan. Jika flebotomis mengambil darah segera setelah pasien melakukan lari marathon maka parameter dari darah seperti sel darah putih, jumlah netrofil, dan hitung trombosit akan meningkat. Bagaimanapun, olahraga yang yang dilakukan dalam waktu yang lama akan memberikan peningkatan hasil pada komponen PCV, sel darah merah, hemoglobin dan hematokrit pada darah. Karena itu, pasien harus selalu mengingat interpretasi hasil. Postur tubuh pasien juga memiliki efek pada hasil CBC. Sangat direkomendasikan untuk pasien harus beristirahat selama 15 menit pada posisi duduk sebelum pengambilan sampel dilakukan atau untuk prosedur plebotomi lainnya.

f. Kontaminasi dari sampel dengan cairan lain.

Jika pengambilan spesimen diambil didekat lokasi yang diberikan cairan infus, maka akan menyebabkan anemia palsu dan akan terjadi koagulasi yang tidak normal dari darah. Pembendungan vena selama 1-3 menit dapat menghasilkan efek yang terbalik pada CBC *(Complete Blood Count)* dengan meningkatnya hemoglobin, hematokrit, dan sel darah merah. Pemilihan lokasi yang sesuai dengan menggunakan cahaya infra merah dapat membantu menemukan lokasi vena yang tepat.

g. Pemilihan antikoagulan atau rasio darah dengan antikoagulan yang tidak sesuai

Antikoagulan yang paling sesuai untuk pemeriksaan CBC ialah EDTA dengan pilihan yang ada ialah K_2EDTA dengan alternatif seperti magnesium sulfat untuk memberikan hasil yang sesuai terhadap parameter trombosit. Antikoagulan yang biasa digunakan pada laboratorium hematologic adalah EDTA, sodium fluorida, double oxalate, heparin, dan sodium sitrat. Tabung CBC mengandung volume EDTA yang sudah ditetapkan untuk pengisian sampel darah yang sesuai. Peningkatan dan pengurangan pada volume EDTA akan mempengaruhi hasil dari CBC.

Penambahan antikoagulan yang berlebihan dapat menyebabkan hasil menjadi pseudopolisitemia, pseudoleukopenia dan pseudothrombositopenia. Sedangkan untuk pemberian EDTA yang kurang akan mengganggu volume trombosits dan kelebihan K_3EDTA akan mengurangi jumlah lekosit.

h. Kondisi penyimpanan yang tidak baik

Sampel darah untuk pemeriksaan CBC harus dianalisis secepat mungkin dalam kurun waktu 6 jam setelah pengambilan darah dilakukan. Penyimpanan sampel yang lama dapat memberikan peningkatan terhadap MCV dan juga perubahan morfologi pada sel darah. Pemanasan dan pendinginan yang berlebihan juga dapat menyebabkan sampel tidak cocok untuk diproses. Jika ada penundaan pada pemeriksaan, sampel harus disimpan pada suhu yang memadai yaitu 2-8^{o}C.

i. Kriteria lain untuk penolakan sampel darah

Kriteria lain termasuk kesalahan identifikasi pada sampel darah, menggunakan tabung yang tidak layak pakai, penghomogenan sampel yang tidak benar, rasio perbandingan antara antikoagulan dan sampel yang tidak sesuai, sampel ikterik yang tidak signifikan, sampel yang diambil menggunakan jarum, spesimen yang dikirim tidak sesuai dengan permintaan yang diminta, kurang atau lebih dalam pengisian tabung sampel, kesalahan dalam melabeli sampel, sampel rusak dan sampel bocor, serta spesimen disimpan dalam waktu yang lama.

C. PENGOLAHAN SPESIMEN

Spesimen yang telah diambil dilakukan penanganan untuk menghindari kerusakan pada spesimen tersebut. Penanganan spesimen berbeda-beda tergantung dari jenis spesimennya masing-masing sesuai peruntukan pemeriksaan hematologi yang diminta, yaitu sebagai berikut.

1. Serum

Darah yang sudah diambil dari pasien dibiarkan membeku terlebih dahulu pada suhu kamar selama 30 menit. Darah yang sudah membeku selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5-15 menit. Pemisahan serum dilakukan dalam waktu 2 jam setelah pengambilan darah. Serum yang memenuhi syarat harus tidak tampak berwarna merah atau keruh.

2. Plasma

Darah yang sudah diambil dari pasien ditambah dengan antikoagulan (misalnya: K_2/K_3-EDTA atau natrium sitrat) dicampur segera secara perlahan-lahan sampai homogen. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 -15 menit. Pemisahan darah EDTA/ sitrat yang sudah homogen tersebut dilakukan dalam 2 jam setelah pengambilan spesimen. Plasma yang memenuhi syarat harus tidak tampak berwarna merah atau keruh.

3. Whole Blood

Darah yang diperoleh dari pasien ditampung dalam tabung yang telah berisi antikoagulan yang sesuai lalu dihomogenisasi dengan cara mencampur secara perlahan sesuai prosedur. Apabila tidak langsung diperiksa dan dilakukan penyimpanan sesuai waktu stabilitas pemeriksaan spesimen, maka spesimen harus dihomogenisasi kembali sesuai prosedur.

D. PENYIMPANAN SPESIMEN SEBELUM PEMERIKSAAN

Sangat direkomendasikan untuk menjaga stabilitas spesimen sampai akan dilakukan pemeriksaan pada tahap analitik, dengan prosedur-prosedur berikut.

1. Jangka Waktu Hitung Darah Lengkap dan Kondisi Penyimpanan Sampel

Jika spesimen pemeriksaan hitung darah lengkap disimpan pada pada suhu kamar, direkomendasikan untuk melakukan pemeriksaan dalam waktu 6 (enam) jam setelah pengambilan darah. Jika spesimen tidak dapat diperiksa dalam waktu 6 jam, maka spesimen dapat disimpan dalam lemari es pada suhu +4ºC selama 24 jam. Pada sampel yang disimpan di lemari es, dilaporkan bahwa nilai MCV, HCT, WBC lebih stabil (Aksungar, dkk, 2020).

2. Serum atau Plasma

a. Serum atau Plasma Terpisah

Semakin banyak permintaan pemeriksaan laboratorium mengharuskan pihak laboratorium memiliki referensi spesifik untuk menentukan penanganan yang tepat dan kondisi penyimpanan yang diperlukan untuk memastikan stabilitas analit tertentu. Merupakan tanggung jawab masing-masing laboratorium untuk menggunakan semua referensi yang tersedia dan/atau studi pihak laboratorium untuk menentukan kriteria stabilitas spesifik di laboratorium. Secara ideal spesimen plasma sitrat dapat disimpan sebelum pemeriksaan selama 1-4 jam setelah pengambilan darah (Adcock, dkk., 2012).

Secara umum penyimpanan serum/plasma yang terpisah dengan sel darah adalah sebagai berikut.

1) Serum/plasma yang terpisah harus disimpan pada suhu kamar tidak lebih dari delapan jam. Jika pemeriksaan tidak akan selesai dalam waktu delapan jam, serum/plasma harus disimpan pada suhu dingin (2 sampai 8^{o}C).
2) Jika pengujian tidak selesai dalam waktu 48 jam, atau serum/plasma yang dipisahkan akan disimpan lebih dari 48 jam, maka serum/plasma harus dibekukan pada atau di bawah -20^{o}C. Perlu diingat bahwa spesimen serum/plasma tidak boleh dibekukan dan dicairkan berulang kali, karena dapat menyebabkan kerusakan analit. Serum/ plasma beku harus dicairkan hanya satu kali (CLSI, 2004).

b. Serum/Plasma Dengan Separator

Setelah sentrifugasi, serum atau plasma dapat dibiarkan bersentuhan dengan gel separator untuk waktu yang terbatas. Konsultasikan rekomendasi pabrikan untuk batasan waktu tertentu.

Latihan

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

1) Jelaskan tentang prosedur laboratorium untuk penerimaan spesimen agar dapat dipastikan memenuhi kondisi yang dipersyaratkan!
2) Jelaskan dengan singkat tentang kriteria umum untuk penolakan specimen!
3) Jelaskan tentang jenis-jenis spesimen dan cara pengolahan/pemrosesan spesimen setiap jenis itu!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam menjawab soal-soal latihan tersebut, silahkan dipelajari kembali subtopik-subtopik pada Topik 4 ini

1) Penerimaan spesimen
2) Penolakan spesimen
3) Pengolahan spesimen

Ringkasan

Setelah pengambilan spesimen seharusnya spesimen di antarkan sesegera mungkin ke laboratorium. Penerimaan spesimen di laboratorium medis harus jelas identifikasinya, agar petugas laboratorium dapat memverifikasi informasi pada spesimen.

Laboratorium memiliki hak untuk menolak spesimen sebelum dilakukan pemeriksaan apabila ada masalah atau ketidaksesuaian terhadap spesimen yang akan diperiksa. Laboratorium menerapkan tindakan untuk mempertahankan integritas spesimen.

Spesimen yang beku harus dilaporkan karena merupakan penyebab masalah yang signifikan dalam pemeriksaan laboratorium. Umumnya kondisi tersebut terjadi karena spesimen darah tidak dihomogenkan dengan baik. Sampel yang beku tidak dapat digunakan untuk analisis. Demikian juga dengan spesimen hemolisis yang dapat terjadi setelah pengambilan apabila sampel ditangani terlalu kasar. Keadaan tersebut juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan laboratorium. Keadaan spesimen demikian dapat dilakukan penolakan spesimen dan pasien diminta untuk melakukan pengambilan spesimen ulang.

Di samping itu ada beberapa kriteria penolakan spesimen secara umum, antr lain, spesimen yang tidak diberi label, kesalahan dalam memberi informasi dalam label, salah menggunakan tabung penampung spesimen, salah dalam menggunakan pengawet, dan kekurangan volume spesimen.

Spesimen yang telah diambil dilakukan penanganan dengan hati-hati dan teliti untuk menghindari kerusakan pada spesimen yang sudah diperoleh. Penanganan spesimen berbeda-beda tergantung dari jenis spesimennya masing-masing sesuai peruntukan pemeriksaan masing-masing apakah diperlukan darah lengkap, serum, atau plasma.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang bertugas di bagian penerimaan spesimen. ATLM tersebut menjalankan prosedur laboratorium untuk penerimaan spesimen untuk memastikan bahwa kondisi persyaratan sudah terpenuhi sesuai SNI ISO laboratorium medik.
   Apakah acuan yang digunakan oleh ATLM dalam melaksanakan tugasnya tersebut?
   A. ISO 17025: 2017
   B. SNI ISO 15189: 2012
   C. Perpres No. 8 Tahun 2012
   D. Permenkes No. 43 Tahun 2013.
   E. CAP tahun 2017.

2) Seorang ATLM sedang melakukan pengambilan spesimen pasien laki-laki, usia 74 tahun, untuk pemeriksaan medical check up. Setelah dimasukkan ke dalam tabung penampung sesuai permintaan pemeriksaan, pada tabung berwarna ungu tampak ada bekuan halus. Apakah tindakan yang paling tepat dilakukan oleh petugas ATLM tersebut?

A. Melakukan pengiriman spesimen
B. Menghomogenisasi spesimen menggunakan roller
C. Melapor kepada supervisor
D. Memohon maaf kepada pasien
E. Meminta kepada pasien untuk resampling

3) Seorang ATLM yang bertugas di bagian penerimaan spesimen bagian hematologi sedang melakukan penilaian terhadap spesimen yang baru dikirim ke laboratorium. Petugas tersebut menemukan ketidaksesuaian antara formulir permintaan dengan label pada spesimen.

Apakah tindakan prioritas yang harus dilakukan ATLM pada kasus tersebut?

A. Menelusur identitas spesimen ke bagian pengelolaan spesimen
B. Menolak spesimen
C. Melapor kepada supervisor
D. Meminta pihak terkait untuk resampling
E. Menghubungi dokter pengirim

4) Seorang ATLM akan melakukan penanganan spesimen untuk persiapan pemeriksaan skrining faktor koagulasi. ATLM tersebut memilih tabung penampung untuk dihomogenisasi kemudian disentrifugasi sesuai prosedur.

Apakah warna penutup tabung penampung yang akan diproses pada kasus tersebut?

A. Merah
B. Ungu
C. Biru
D. Hijau
E. Kuning

5) Seorang ATLM yang sedang bertugas shift sore di laboratorium klinik swasta. Sekitar 15 menit terakhir jam pulang, terdapat pasien baru dengan membawa formulir permintaan pemeriksaan laboratorium. Instrumen hematology analyzer sudah dimatikan. Pemeriksaan yang diminta adalah nilai indeks eritrosit.

Apakah tindakan yang dilakukan petugas ATLM pada kasus tersebut?

A. Meminta pasien untuk kembali ke laboratorium besok pagi
B. Menolak pasien karena sudah mendekati jam pulang
C. Menunda pemeriksaan dengan menyimpan spesimen pada suhu kamar
D. Menunda pemeriksaan dengan menyimpan spesimen pada suhu refrigerator
E. Meminta pasien untuk puasa terlebih dahulu

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

90	-	100%	=	baik sekali
80	-	89%	=	baik
70	-	79%	=	cukup
	<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

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

Tes 2

1) B
2) B
3) B
4) B
5) B

Tes 3

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

Tes 4

1) B
2) E
3) A
4) C
5) D

Glosarium

Istilah		Keterangan
Akurasi	:	Hasil pemeriksaan sesuai dengan nilai sebenarnya.
Antikoagulan	:	Zat aditif yang digunakan untuk menghambat proses pembekuan darah.
Cito	:	Pemeriksaan yang harus segera dilakukan dan diselesaikan.
Informed consent	:	Penyampaian informasi sebelum tindakan medis.
Torniquet	:	Alat yang digunakan untuk membebat untuk mendapatkan vena pada proses flebotomi.
Venipuncture	:	Pengumpulan darah vena.

Daftar Pustaka

Adcock, D.M., Lippi, G. and Favaloro, E.J. (2012). Quality Standards for Sample Processing, Transportation, and storage in Hemostasis Testing. Seminars in Thrombosis and Hemostasis. Vol. 38. No. 6. 576-585.

Aksungar, et al. (2020). *Guideline for Complete Blood Count in Medical Laboratories: Effects of Preanalytical Parameters.* Ankara, Turkey: Turkish Biochemical Society Preanalytical Phase Working Group.

Alamsyah, Djoko Handojo, dan Purwanto AP. (2018). "Manajemen Pengiriman Sampel Menggunakan *Pneumatic Tube*," dalam *Manajemen Laboratorium Klinik: Total Quality Management for Quality Assurance, Seri VI.* Semarang: Universitas Dipenogoro

Badan Standardisasi Nasional (2017). *Laboratorium Medik: Persyaratan Mutu dan Kompetensi Berdasarkan* SNI ISO 15189:2012. ISBN/ISSN. 978-602-9394-19-1. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional

CLSI. (2004). *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. Approved Guidelines, Third Edition*. H18-A3. Vol. 24. No. 38

CLSI. (2003). *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture. Approved Standard, Fifth Edition*. H3-A5. Vol. 23. No.32

De la Salle, B. (2019). **"**Pre- and Postanalytical Errors in Haematology, Supplement Article. *International Journal of Laboratory Hematology (Suppl.1)*: 170-176

Kiswari, R. (2014). *Hematologi dan Transfusi*. Jakarta: Penerbit Erlangga

Hadian Widiatmojo, Indrayani P.S. dan Herniah Asti W. (2018). "Aplikasi Penerapan ISO 15189:2012 pada Laboratorium Medik," dalam *Manajemen Laboratorium Klinik*: *Total Quality Management for Quality Assurance. Seri VI.* Semarang: Universitas Dipenogoro

KK. Hematologi. PDS Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium Indonesia. (2016). Panduan Pemeriksaan Hematologi. Jakarta.

Lexington Medical Center. *Specimen Collection, Handling and Transport*. Department of Pathology and Laboratory Medicine.

Lieseke, C.L., dan Zeibig, EA. (2018). *Buku Ajar Laboratorium Klinis*. Jakarta: EGC - Penerbit Buku Kedokteran

Lippi, G., Mattiuzzi, C. and Favaloro, E.J. (2015). "Review Article. Pre-analytical Variability and Quality of Diagnostic Testing. Looking at the M and Gazing beyond the Finger." NZ: J Med Lan Science.

Lippi, G., Betsou, F., Cadamuro, J., Cornes, M., Fleischhacker, M. Fruekilde, Neumaier, M., Nyo, M., Padoan, A., Plebani, M. Sciacovelli, L., Vermeersch, P. von Meyer, A. and Simundic, A.M. (2019). "Preanalytical Challenges - Time for Solutions." *Clin Chem Lab Med. De Gruyter.* 1-8

Mayo Clinic. Mayo Medical Laboratories. (2008). "Preanalytic Laboratory Errors: Identification and Prevention." *Communique. Mayo Foundation for Medical Education and Research. Volume 33*. No. 12

Mayo Clinic Laboratories. (2021). *Rochester 2021 Test Catalog laboratory Reference Edition. Sorted by Test Name.* Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER)

Monica Ariestha, Endah Kurnia, dan Muji Rahayu. (2018). "Trouble Shooting Alat Hematology Analyzer" dalam *Manajemen laboratorium Klinik. Total Quality Management for Quality Assurance*. Semarang: Universitas Dipenogoro

Makitalo, Outi and Liikanen, Eeva. (2013). "Improving Quality at the Preanalytical Phase of blood sampling: Literatur Review." *International Journal of Biomedical Laboratory Science (IJBLS). Vol. 2. No.1*. 7-16.

Narayanan, S. (2003). "Preanalytical Issues in Hematology." *J Lab Med 2003; 27 (7/8)*: 243–248.

Nugraha, G. (2017). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium, Hematologi Dasar. Edisi 2.* Jakarta: Trans Info Media

Patel, K. (2019). “Pre Analytical Issues Identification and Prevention in Clinical Hematology Laboratory: Best Practice for Safety. Pathology Update.” *Tropical Journal of Pathology & Microbiology, 5/9,* 619-624

Plebani, M., Sciacovelli, L., Aita, A. (2017). “Quality Indicators for the Total Testing Process.” *Clin Lab Med 37* (2017) 187–205

Plebani, M. (2015). “Diagnostic Errors in Laboratory Medicine – Causes and Strategies.” *eJIFCC. Vol 26 .* No1. Pp 007-014

PMK No. 11. Tahun 2017. *Tentang Keselamatan Pasien*. Berita Negara Republik Indonesia no. 308

PMK No. 46. Tahun 2015. Tentang Akreditasi PKM, Klinik, Praktek Mandiri, Dokter, dan Dokter Gigi

PMK RI No. 411/ Menkes/PER/III/2010/ Tentang Laboratorium Klinik

PMK RI No. 028/Menkes/PER/1/2011/ Tentang Klinik

Shoaib M, Muzammi I, Bhutta, ZA, Yaseen I, Munir H, Ali M, Younas MS, Ahmad S, Mehtab, U. (2020). Pre-analytical Errors and Rejection Criteria for Blood Samples in Hematology Laboratory.” *Journal of Agriculture, Food, Environment and Animal Sciences, 1 (*1): 39-49.

The Turkish Biochemical Society Preanalytical Phase Working Group. (2020). Guideline for Complete Blood Count in Medical Laboratories: Effects of Preanalytical Parameters. Turkey, Ankara: Turkish Biochemical Society.

Bab 3
PEMERIKSAAN HEMATOLOGI RUTIN

dr. Lucia Sincu Gunawan, M. Kes

Pendahuluan

Pemeriksaan hematologi merupakan bagian dari pemeriksaan laboratorium medik yang berperan sebagai pemeriksaan penunjang dalam menegakkan diagnosis penyakit pasien. Pemeriksaan hematologi biasanya dibagi menjadi pemeriksaan darah rutin, lengkap, dan khusus. Secara umum, pemeriksaan darah rutin meliputi pemeriksaan hemoglobin, hitung sel darah, hitung jenis lekosit, hematokrit, dan laju endap darah/LED. Sedangkan pemeriksaan darah lengkap dengan menambahkan pemeriksaan indeks eritrosit pada pemeriksaan darah rutin. Pemeriksaan darah khusus meliputi pemeriksaan apusan darah tepi, analisis hemoglobin, tes resistensi osmotik eritrosit, apusan sumsum tulang, hitung retikulosit, dan lain sebagainya.

Pemeriksaan hematologi rutin merupakan pemeriksaan yang sering diminta oleh dokter dalam *screening* pasien, baik rawat jalan maupun rawat inap. Dari hasil pemeriksaan hematologi rutin ini, dokter mendapatkan informasi tambahan selain dari anamnesis dan pemeriksaan fisik pasien, sehingga dapat membantu dokter dalam menegakkan diagnosis pasien. Dokter juga dapat meminta pemeriksaan laboratorium lanjutan yang berupa pemeriksaan hematologi lengkap atau khusus dalam upaya diagnosis dan terapi pasien, atau dalam upaya menilai perjalanan penyakit pasien. Pemeriksaan hematologi biasa dikerjakan bersama dengan pemeriksaan laboratorium lainnya seperti kimia klinik, imunoserologi, dan lain-lain.

Bab 3 ini membahas berbagai jenis pemeriksaan darah yang termasuk dalam pemeriksaan hematologi rutin seperti pemeriksaan kadar hemoglobin, hitung jumlah eritrosit, trombosit, lekosit serta hitung jenis lekosit. Di masa lampau, pemeriksaan hitung darah dilakukan dengan cara-cara manual yang lambat dan membutuhkan ketekunan, menggunakan kamar hitung, mikroskop, tabung-tabung kaca, kolorimeter, alat pemusing (*centrifuges*), dan beberapa macam reagen. Namun sekarang, banyak tehnik pemeriksaan sudah dikerjakan secara otomatis maupun semi otomatis hanya dalam hitungan menit, berbasis cara manual yang dimodifikasi, atau dengan tehnik yang sama sekali baru. Hasilnya sangat presisi, pengukuran berulang sampel yang sama akan memberikan hasil yang sangat

serupa. Selama alat pemeriksaan dikalibrasi dengan seksama dan sampel darah tidak memiliki ciri yang tidak biasa, hasil pengukuran juga akan akurat, yaitu hasil yang sangat dekat ke hasil sesungguhnya. Walau begitu, meski pemeriksaan dengan mesin makin mendominasi, tehnik-tehnik manual masih tetap penting, baik sebagai metode rujukan, dan pada pemeriksaan sampel darah di mana pemeriksaan otomatis memberikan hasil yang abnormal, tidak lazim, atau tidak biasa.

Hasil pemeriksaan hematologi untuk nilai normal dan abnormal daapt jadi akan tumpang tindih, dan sebuah nilai yang masuk batasan normal lazim, mungkin saja daapt bermakna patologis pada orang tertentu. Untuk alasan inilah, konsep nilai normal (*normal value*) dan rentang normal (*normal range*) diganti dengan istilah nilai rujukan (*reference value*) dan rentang nilai rujukan (*reference range*), yang ditentukan oleh batas-batas rujukan yang diperoleh dari pengukuran pada populasi untuk sebuah tes tertentu. Rentang nilai rujukan ini juga disebut dengan interval nilai rujukan (*reference interval*). Idealnya, setiap laboratorium harus mempunyai data nilai rujukan yang mencakup variabel-variabel yang telah diuraikan dengan metode pemeriksaannya, sehingga hasil seseorang dapat ditampilkan dan diinterpretasikan (Barbara J.Bain, 2006).

Penyajian materi dalam bab 3 ini diharapkan dapat memberi Anda kompetensi terkait jenis pemeriksaan hematologi rutin, faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil, serta cara menginterpretasi hasil pemeriksaan. Bab ini membahas enam topik utama yaitu sebagai berikut.

1. Pemeriksaan hemoglobin
2. Pemeriksaan hematokrit
3. Pemeriksaan hitung jumlah leukosit
4. Pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
5. Pemeriksaan hitung jumlah trombosit
6. Pemeriksaan hitung jenis lekosit

Setelah mempelajari Bab 3 ini, Anda akan mampu mengintepretasikan hasil pemeriksaan hematologi rutin. Secara rinci, Anda akan mampu:

1. menjelaskan dasar keilmuan pemeriksaan hematologi rutin;
2. menjelaskan jenis-jenis metode pemeriksaan hematologi rutin;
3. menginterpretasikan hasil pemeriksaan hematologi rutin
4. menjelaskan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi rutin

Mempelajari Bab 3 ini tak dapat dilepaskan dari bab sebelumnya mengenai dasar hematologi dan tahap praanalitik pemeriksaan hematologi, sampai dengan bab terakhir di buku ini mengenai tahapan paska analitik. Langkah yang dapat ditempuh agar mudah memahami isi bab ini adalah sebagai berikut:

1. pelajarilah bab 1: Dasar Hematologi, bab 2: Pra-analitik dalam Pemeriksaan Hematologi terlebih dahulu dengan seksama;
2. pahamilah kompetensi yang Anda akan di capai pada bab 3;
3. bacalah topik-topik pada bab ini secara berurutan, karena beberapa topik saling berkaitan;
4. bab ini dilengkapi dengan gambar dan tabel sebagai ilustrasi untuk mempermudah pemahaman;
5. bacalah rangkuman untuk memahami garis besar materi pada masing-masing topik;
6. kerjakan setiap latihan dan tes setelah mempelajari setiap topik pada bab ini, jawablah Latihan dan setiap butir tes tanpa melihat kunci jawaban terlebih dahulu, tetapi dengan membaca materi kembali; dan
7. cocokkan jawaban Anda pada setiap tes dengan kunci jawaban pada akhir bab ini, dan menghitung jumlah jawaban benar untuk mengevaluasi perolehan kemampuan Anda terhadap kompetensi pada setiap topik.

Selamat belajar dan semoga sukses

Topik 1
Pemeriksaan Hemoglobin

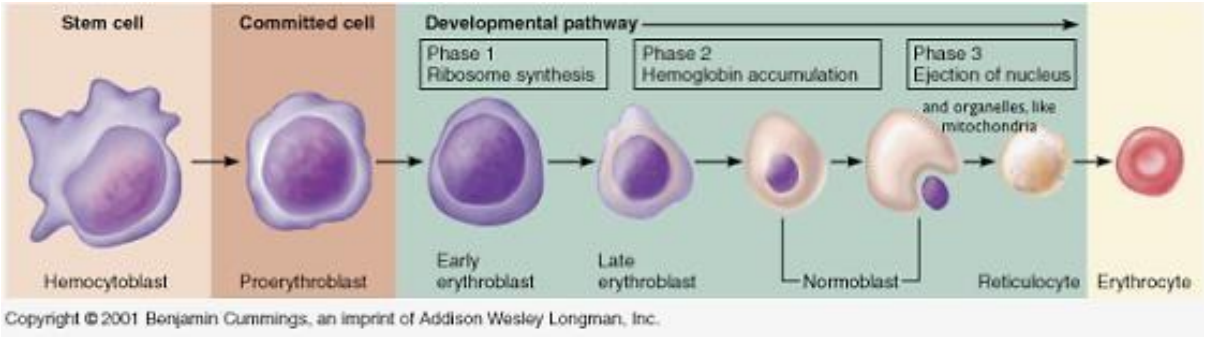
Pemeriksaan hemoglobin adalah pemeriksaan darah rutin yang dikerjakan ATLM untuk mengetahui kadar hemoglobin pasien secara kuantitatif. Selain menghitung secara kuantitatif, ada pemeriksaan hemoglobin yang dikerjakan secara kualitatif untuk mengetahui komposisi dan fungsi hemoglobin seperti pada pemeriksaan Hb elektroforesis, ataupun metode Cupri sulfat yang digunakan pada uji pra donor yang memberikan informasi perkiraan kadar hemoglobin calon pendonor.

Pada topik ini, hanya akan dibahas mengenai pemeriksaan kadar hemoglobin sebagai bagian pemeriksaan rutin yang mengukur secara kuantitatif.

A. HEMOGLOBIN

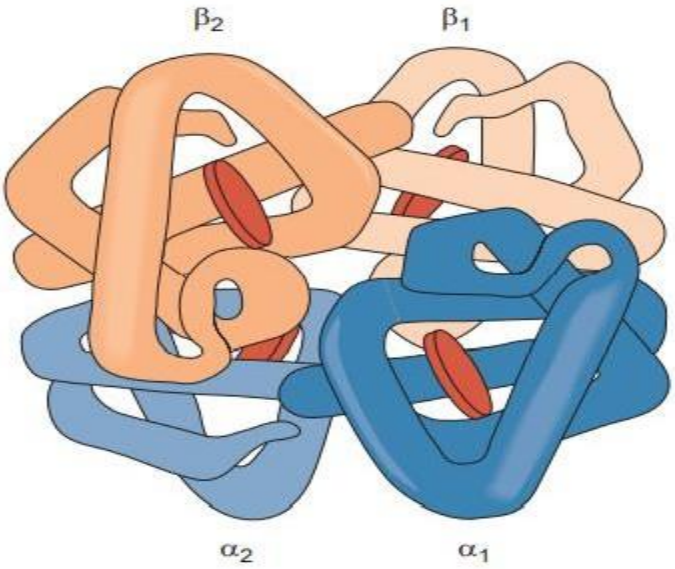
1. Struktur Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) adalah pigmen merah yang terdapat di dalam eritrosit. Hemoglobin terdiri dari beberapa rantai protein dan molekul yang mengandung besi. Tahun 1862, Felix Seyler berhasil mengidentifikasi protein hemoglobin. Dia menemukan spektrum warna hemoglobin yang khas dan membuktikan bahwa inilah yang memberikan warna merah pada darah. Hemoglobin disintesis terutama saat proses maturasi eritrosit. Sekitar 65 persen hemoglobin disintesis sebelum inti eritrosit dikeluarkan, dan 35 persen sisanya disintesis pada fase retikulosit awal. Komponen utama hemoglobin adalah heme dan globin.



Gambar 3.1
Tahap Maturasi Eritrosit

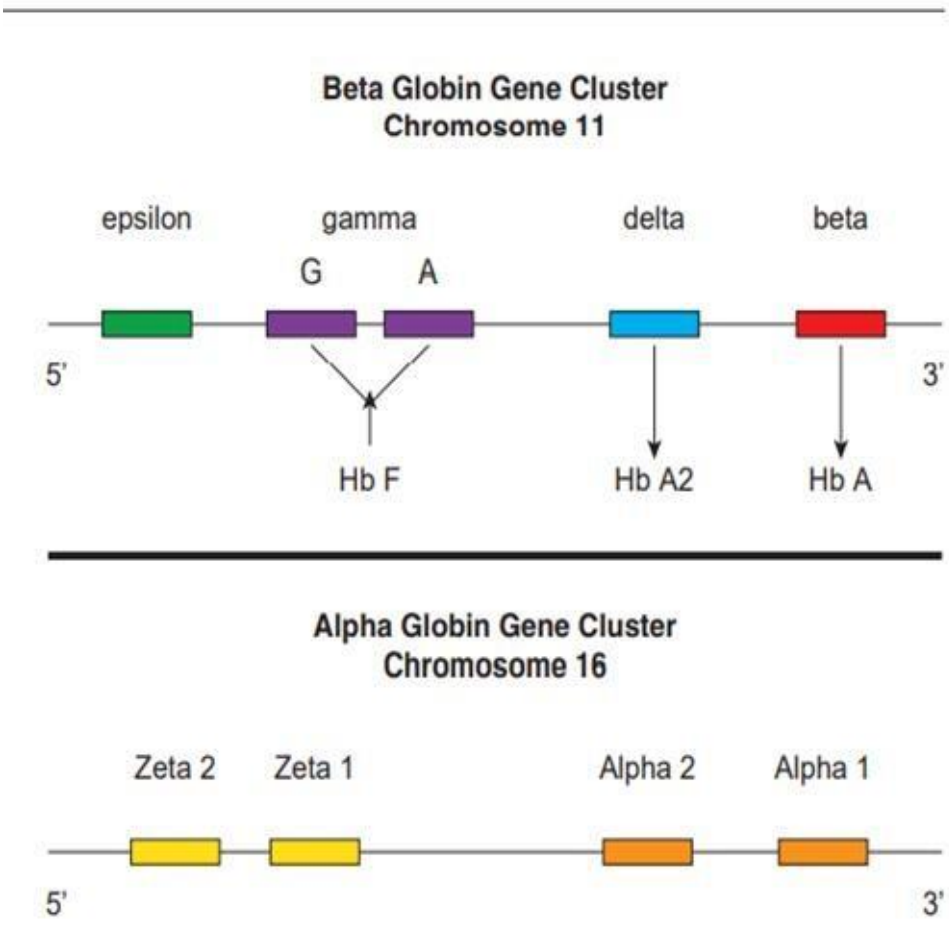
Hemoglobin orang dewasa normal (hemoglobin A) tersusun oleh empat kelompok heme dan empat rantai polipeptida dengan total 574 asam amino. Rantai polipeptida dikelompokkan menjadi dua rantai alfa dan dua rantai beta. Hemoglobin dewasa normal memiliki 141 asam amino di masing-masing rantai alfa, dan 146 asam amino di masing-masing rantai beta.



Gambar 3.2
Struktur Hemoglobin

Sintesis heme terjadi di hampir semua sel tubuh kecuali untuk eritrosit matur. Dari semua jaringan tubuh, sumsum tulang dan hati adalah penghasil heme (profirin) yang paling utama. Heme yang dihasilkan selama prekursor eritroid, secara kimiawi identik dengan yang terdapat di sitokrom dan mioglobin.

Tujuh rantai globin yang berbeda disintesis pada orang normal; empat adalah hemoglobin embrionik sementara yang dinamakan Hb Gower 1, Hb Gower 2, Hb Portland 1 dan Hb Portland 2. Hb F adalah hemoglobin utama selama masa fetal dan merupakan sebagian besar hemoglobin yang terdapat saat lahir. Hb A adalah hemoglobin utama pada dewasa dan anak anak. Hb A2 dan Hb F didapati juga dalam jumlah sedikit pada orang dewasa, yaitu kira-kira 2-3,3 persen untuk Hb A2 dan 0,2-1 persen untuk Hb F. Perbandingan kadar Hb A, Hb A2 dan Hb F seperti pada orang dewasa umumnya sudah diperoleh saat usia 6-12 bulan.



Gambar 3.3

Sintesis Rantai Globin Pembentuk Hemoglobin

Rantai α ditemukan pada ketiga molekul hemoglobin, baik Hb A, Hb A2, maupun Hb F. Sintesis rantai α1 dan α2 diatur pada kromosom 16; sintesis rantai β dan δ oleh gen β dan δ tunggal diatur pada kromosom 11; sintesis rantai γ oleh dua gen, Gg dan Ag, juga pada kromosom 11.

Rantai-rantai individual yang disintesis setelah masa post natal diberi nama rantai α, β, γ dan δ. Hb A memiliki dua rantai α dan dua rantai β (α 2 β 2); Hb F memiliki dua rantai α dan dua rantai γ (α 2 γ 2) dan Hb A2 memiliki dua rantai α dan dua rantai δ (α 2 δ 2).

Ketika setiap hemoglobin berikatan dengan oksigen maka disebut dengan oksihemoglobin (HbO_2). Selain itu terdapat karboksihemoglobin, sulfhemoglobin, dan methemoglobin yang merupakan bentuk varian hemoglobin yang normal. Tidak seperti hemoglobin abnormal dengan susunan molekul struktural yang permanen, varian-varian ini dibedakan dari hemoglobin normal hanya oleh jenis molekul yang menggantikan oksigen.

Kadar karboksihemoglobin normal berkisar 1-3 persen karena adanya produksi karbon monoksida endogen oleh katabolisme heme dan paparan karbon monoksida lingkungan yang rendah. Peningkatan ringan ditemukan pada para perokok, berkisar 5 persen per bungkus rokok per hari. Sedangkan kadar yang tinggi terus-menerus dikaitkan dengan meningkatnya produksi eritrosit.

Sulfhemoglobin mengandung sulfur. Kondisi in vitro dan pada adanya oksigen, hemoglobin bereaksi dengan hidrogen sulfida membentuk senyawa kehijauan yang diberi nama sulfhemoglobin. Pembentukan varian ini menyebabkan perubahan rantai polipeptida pada molekul hemoglobin yang ireversibel akibat stres oksidatif, dan perubahan lebih lanjut akan menyebabkan denaturasi dan presipitasi hemoglobin berupa badan Heinz. Sulfhemoglobin tidak dapat membawa oksigen, namun ia dapat bergabung dengan karbon monoksida membentuk karboksisulfhemoglobin. Konsentrasi sulfhemoglobin in vivo normalnya kurang dari 1 persen dan jarang melebihi 10 persen dari total hemoglobin seorang pasien.

Methemoglobin adalah varian lain hemoglobin dengan senyawa besi dalam bentuk feri (*ferric*), yang tidak dapat membawa oksigen. Normalnya, 2 persen methemoglobin dibentuk setiap hari. Pada konsentrasi ini, hemoglobin abnormal ini tidak menimbulkan bahaya karena menurunnya kemampuan eritrosit membawa oksigen tidaklah signifikan.

2. Fungsi Hemoglobin

Fungsi utama molekul hemoglobin adalah membawa oksigen ke jaringan. Daya ikat oksigen terhadap molekul hemoglobin tergantung susunan molekul hemoglobin dan diatur oleh konsentrasi fosfat, khususnya 2,3-DPG (Diphosphogliserate) pada eritrosit.

Kapasitas pengangkutan oksigen adalah 1,34 ml oksigen tiap gram hemoglobin. Idealnya, dalam menilai anemia secara klinis, pemeriksaan fungsional hemoglobin perlu dikerjakan dengan mengukur kapasitas oksigen, namun hal ini sulit dilakukan pada pemeriksaan hematologi rutin. Kandungan besi pada hemoglobin dapat diukur juga, namun metode ini juga tidak praktis untuk keperluan rutin. Perkiraan hemoglobin berdasarkan kandungan besi umumnya dianggap dapat diandalkan, namun ikatan besi dengan pigmen inaktif juga ikut diukur. Kandungan besi dikonversi menjadi hemoglobin dengan persamaan yaitu 0,347 besi per 100 gram hemoglobin.

B. JENIS PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN

1. Metode Sahli

Prinsip kerja metode Sahli adalah penetapan kadar hemoglobin secara visual. Darah diencerkan dengan larutan HCl sehingga hemoglobin berubah menjadi asam hematin.

Langkah selanjutnya adalah melakukan pengenceran secara bertahap pada campuran tersebut dengan penambahan aquades sambil membandingkan warna yang terbentuk pada larutan tersebut dengan standar di hemoglobinometer.

Metode hematin asam Sahli, yang kurang akurat karena warna berubah dengan lambat, cenderung tidak stabil dan mulai memudar hampir segera setelah mencapai puncaknya. Pada metode ini, tidak semua hemoglobin berubah menjadi hematin asam seperti karboksihemoglobin, methemoglobin, dan sulfhemoglobin. Penyimpangan pada metode visual ini sampai 15-30%. Hasil dilaporkan dalam g/dL tanpa angka desimal. Pemeriksaan hemoglobin metode ini tidak dapat digunakan untuk menghitung indeks eritrosit.

Faktor yang dapat mempengaruhi pada keakuratan metode Sahli ini adalah sebagai berikut:

a. kemampuan membedakan warna yang tidak sama antar pemeriksa;
b. sumber cahaya kurang baik;
c. warna gelas standar kotor atau pucat;
d. pemipetan kurang tepat; dan
e. alat-alat yang digunakan kurang bersih.

Gambar 3.4
Haemometer Sahli

2. Metode Cyanmethemoglobin

Prinsip pemeriksaan hemoglobin metode Cyanmethemoglobin adalah darah yang diencerkan dengan larutan pengencer Drabkin, akan terjadi hemolisis eritrosit dan konversi Hb menjadi hemiglobinsianida (sianmetHb). Larutan yang terbentuk selanjutnya diperiksa dengan spektrofotometer (atau colorimeter), yang absorbansinya sebanding dengan kadar Hb dalam darah.

Komite Internasional untuk Standarisasi Hematologi (ICSH, *International Committee for Standardization in Haematology*) telah merekomendasikan metode rujukan di mana hemoglobin diubah menjadi sianmethemoglobin (*haemiglobincyanide*). Cara ini memiliki tiga keuntungan, yaitu sebagai berikut.

a. Hemoglobin, methemoglobin, dan karboksihemoglobin seluruhnya diubah menjadi sianmethemoglobin dan dengan demikian dimasukkan dalam pemeriksaan. Dari bentuk-bentuk hemoglobin yang mungkin ada dalam darah, hanya sulfhemoglobin yang terdapat dalam jumlah yang dapat diabaikan. Ia tidak diubah ke sianmethemoglobin, meski karboksihemoglobin diubah lebih lambat ke bentuk lain. Lambatnya konversi karboksihemoglobin menjadi methemoglobin menyebabkan perkiraan Hb yang berlebih bila pemeriksaan dibaca dalam 3 menit, karena karboksihemoglobin menyerap lebih banyak cahaya 540 nm daripada sianmethemoglobin.
b. Standar sekunder yang stabil, yang telah diperbandingkan dengan standar internasional dari WHO telah tersedia untuk keperluan kalibrasi.
c. Sianmethemoglobin memiliki pita penyerapan pada 540 nm, yang luas dan relatif datar sehingga pengukuran dapat dilakukan pada spektrofotometer gelombang pendek atau pada fotometer berfilter atau kolorimeter yang mampu membaca rentang panjang gelombang yang luas. Pada panjang gelombang ini, penyerapan sinar untuk pelarut maupun air adalah nol.

Gambar 3.5 Fotometer

Untuk reagen/pengencer Drabkin tersusun dari zat-zat berikut:

a. kalium sianida (KCN) dan kalium ferisianid ($C_6N_6FeK_3$), untuk mempengaruhi konversi ke methemoglobin;
b. kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), untuk menurunkan pH, mempercepat reaksi, dan memungkinkan pembacaan dalam 3 menit saja; dan
c. detergen non ionik, untuk mempercepat lisis sel dan mengurangi turbiditas akibat presipitasi lipoprotein (dan juga stroma sel), yang merupakan konsekuensi turunnya pH oleh kalium dihidrogen fosfat.

Tabel 3.1.
Komposisi Reagen Drabkin

Reagen tipe Drabkin	
Kalium ferisianat (0,607 mmol/l)	200 mg
Kalium sianida (0,768 mmol/l)	50 mg
Kalium dihidrogen fosfat (1,029 mmol/l)	140 mg
Detergen non ionik	1 mL
Air destilasi atau deionisasi	Hingga 1 liter
Detergen non ionik yang sesuai meliputi Nonidet P40 (VWR International, Merck, Eurolab) dan Triton X-100 (Aldrich)	

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan pada pemeriksaan hemoglobin metode *cyanmeth*, yaitu sebagai berikut.

a. Kalium sianida adalah larutan yang sangat beracun. Larutan ini harus disimpan dalam lemari terkunci kalau tidak dipakai. Sehabis bekerja dengan larutan ini, segera cuci tangan Anda.
b. Simpanlah larutan pengencer Drabkin dalam botol reagen berwarna cokelat, untuk mencegah kerusakan reagen akibat paparan cahaya. Kalau tidak ada botol reagen berwarna cokelat, pakailah botol-kaca yang bening dan bungkuslah dengan kertas aluminium.
c. Larutan pengencer Drabkin seharusnya jernih dan berwarna kuning pucat. Kalau berubah menjadi keruh, atau warnanya memudar, larutan ini tidak dapat digunakan lagi dan harus dibuang.
d. Kejernihan larutan pengencer ini dapat diketahui berdasarkan absorbansinya, yang diukur dengan spektrofotometer pada 540 nm (dan memakai air sebagai blanko). Pada larutan yang benar-benar jernih, nilai absorbansinya seharusnya sama dengan nol.

e. Estimasi kadar Hb dalam larutan hemiglobinsianida harus dilakukan maksimal 6 jam setelah larutan ini dibuat.

f. Larutan pengencer Drabkin tetap stabil selama beberapa bulan kalau disimpan pada suhu yang rendah (ruangan yang dingin). Kalau suhu ruangan melampaui 30°C, simpan larutan ini di dalam kulkas pada temperature 4-6°C. Jangan membekukannya karena senyawa-senyawa dalam larutan akan terurai. Tiap kali sebelum dipakai, hangatkan dulu larutan ini pada suhu kamar.

3. Metode Hemoglobinometer Portabel

Banyak metode lain untuk mengukur Hb yang umumnya tidak digunakan secara luas kecuali hemoglobinometer. Metode-metode pemeriksaan hemoglobin ini biasanya membutuhkan standarisasi yang kembali ke standar sianmethemoglobin, namun bagaimanapun juga metode pemeriksaan hemoglobin ini menghindari penggunaan sianida, yang bersifat toksik untuk lingkungan. Metode baru untuk memperkirakan konsentrasi hemoglobin telah diperkenalkan secara khusus, dikerjakan langsung di sebelah pasien.

Hemoglobinometer portabel mempunyai filter terpasang dan skala yang terkalibrasi untuk bacaan langsung hemoglobin dalam gram/dL atau gram/liter. Alat ini umumnya berdasarkan metode HbO_2. Tersedia beberapa macam alat yang memanfaatkan *a light-emitting diode* khusus dengan panjang gelombang tertentu, dan distandarkan untuk memberikan hasil yang sama dengan metode HiCN. Konsentrasi hemoglobin pada sebuah sediaan dapat diperkirakan dengan melihat warnanya, dengan kemampuan mengikat oksigen atau karbon monoksida, atau dengan kandungan besinya. Metode ini disebut dengan membandingkan warna atau intensitas cahaya, yang dapat juga mengukur hingga batas-batas tertentu termasuk adanya methemoglobin (Hi) atau sulfhemoglobin (SHb).

Hemoglobin dapat diubah menjadi turunan sulfat dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 534 nm dengan menambahkan natrium lauril sulfat. Konversi ini terjadi hampir seketika dan hanya mengubah methemoglobin, bukan sulfhemoglobin. Hemoglobin juga dapat diukur setelah konversi menjadi azidmethemoglobin dengan menambahkan natrium nitrat dan natrium azid. Ini adalah satu metode yang digunakan pada sebuah alat hemoglobinometer portabel dari HemoCue, Clandon Scientific,. Alat ini mengukur pada dua panjang gelombang, 570 dan 880 nm, dengan sedikit kompensasi pada turbiditas. Sebuah modifikasi pada alat ini memungkinkan akurasi hingga 0,1 gram/liter.

Gambar 3.6
Hemocue Hemoglobinometer portabel

Hemoglobin yang dapat diukur adalah oksihemoglobin, dan dalam hal ini kadar karboksihemoglobin, sulfhemoglobin, dan methemoglobin tidak dapat diperiksa dengan akurat. Dibutuhkan standar tambahan. Metode ini telah disatukan ke hemoglobinometer bacaan langsung, yang distandarisasi untuk memberikan hasil sama dengan tehnik sianmethemoglobin.

C. INTERPRETASI HASIL

Satuan SI untuk kadar Hb adalah milimol per liter (mmol/L). Satuan ini sebenarnya dipakai untuk struktur kimia spesifik pada hemoglobin. Jadi, sewaktu satuan ini dipakai, lebih tepat menggunakan istilah "Hb(Fe)" dibandingkan "Hb" saja. Namun, beberapa laboratorium memakai satuan "gram per liter" (g/L) sebagai satuan sementara, sebelum dikonversi menjadi mmol/L. Kalau satuan g/L yang dipakai, istilah "Hb" saja sudah cukup, tidak perlu menggunakan istilah "Hb(Fe)". Nilai gram per liter dapat dikonversikan ke nilai milimol per liter dengan mengalikah 0,062.

Contoh: Hb 150 g/L x 0 ,062 = Hb(Fe) 9,3 mmol/L

Ingat, kalau memakai satuan "gram per liter", nilainya 10 kali lebih besar dari satuan "gram per 100 ml". Sebagai contoh, 150 g/L = 15,0 g/ l00 ml.

Tabel 3.2

Kisaran Normal Kadar Hb, Berdasarkan Kelompok Usia

Kelompok usia	Kadar Hb(Fe) (mmol/L)	Kadar Hb (g/L)
Bayi baru lahir	8,4 -12,1	136-196
Bayi (1 tahun)	7,0 – 8,1	113-130
Anak-anak (10-12 tahun)	7,4 – 9,2	115-148
Perempuan dewasa	7,4 - 9,9	120-160
Laki-laki dewasa	8,1 – 11,2	130-180

D. FAKTOR-FAKTOR YANG DAPAT MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

1. Postur

Ada sedikit perubahan volume plasma dengan peningkatan hemoglobin dan hematokrit saat posisi tubuh berubah dari berbaring ke duduk, terutama pada perempuan; sebaliknya perubahan dari berjalan ke berbaring menyebabkan penurunan hemoglobin dan hematokrit sebanyak 5-10 persen. Maka dari itu, subyek sebaiknya beristirahat minimal 5-10 menit sebelum diambil darahnya. Perbedaan posisi lengan selama pengambilan sampel darah vena, setinggi jantung atau tidak, dapat juga mempengaruhi hematokrit.

2. Variasi Diurnal dan Musiman

Kadar hemoglobin dan sel darah merah sepanjang hari dapat berubah-ubah sedikit, sekitar 3 persen, dengan perubahan MCV dan MCH yang dapat diabaikan.

3. Latihan dan Olahraga

Kemampuan olahraga yang optimal tergantung pada fungsi banyak organ termasuk darah, pembuluh darah, dan jantung. Beberapa parameter hematologis dapat mempengaruhi atau dipengaruhi oleh aktivitas fisik, termasuk sel-sel darah dan mekanisme koagulasi. Sebagai contoh, pada atlet tipe ketahanan (*endurance*) dapat terjadi “anemia olahraga”, yang mungkin terjadi akibat meningkatnya volume plasma.

4. Ketinggian

Efek ketinggian suatu daerah tempat tinggal adalah menurunnya volume plasma, meningkatkan hemoglobin dan hematokrit, dan menaikkan jumlah sel darah merah yang bersirkulasi dengan MCV yang lebih rendah. Tingkat polisitemia tergantung pada derajat hipoksemia. Peningkatan ini nampaknya karena meningkatnya eritropoesis yang sekunder terhadap stimulus hipoksia dan menurunnya volume plasma yang terjadi di daerah-daerah tinggi.

5. Merokok

Merokok mempengaruhi hemoglobin, sel darah merah, hematokrit, dan MCV.

6. Memasang Torniquet Terlalu Lama

Memasang torniquet terlalu lama (lebih dari 2 menit) menyebabkan hemoglobin meningkat palsu.

7. Mengambil Darah Dekat Daerah Masuknya Infus

Mengambil darah pada tangan atau lengan yang menerima cairan infus akan menyebabkan kadar Hb rendah palsu.

Latihan

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

1) Jelaskan prinsip kerja pemeriksaan Hb Sahli.
2) Dua ATLM memeriksa kadar Hb pasien, dan hasil keduanya didapatkan selisih yang signifikan. Menurut Anda, apakah penyebab perbedaan tersebut?
3) Seorang ATLM menyiapkan pemeriksaan Hb metode *cyanmeth* dan mendapatkan bahwa reagen Drabkin yang tersedia tidak lagi jernih, sehingga dilakukan pengecekan kualitas. Bagaimana cara menilai kejernihan reagen Drabkin?
4) Jelaskan prinsip kerja hemoglobinometer portable.
5) Seorang ATLM yang bekerja dengan larutan pengencer Drabkin pada pemeriksaan Hb metode cyanmeth harus bekerja dengan hati-hati dan segera mencuci tangannya sehabis melakukan pemeriksaan, hal ini terkait dengan komposisi larutan yang bersifat toksik. Apakah jenis senyawa kimia yang bersifat toksik itu?

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pemeriksaan Hemoglobin metode Sahli.
2) Pelajari kembali tentang faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan Hb Sahli.
3) Pelajari kembali tentang faktor-faktor yang diperhatikan pada pemeriksaan Hb metode cyanmethemoglobin.
4) Pelajari kembali materi Hemoglobinometer portable.
5) Pelajari kembali materi komposisi reagen Drabkin.

Ringkasan

Hemoglobin adalah protein pada eritrosit yang mengikat oksigen, yang tersusun dari heme dan globin. Hemoglobin memberikan warna merah pada darah.

Pemeriksaan hemoglobin secara kuantitatif dapat dilakukan dengan metode Sahli, Sianmethemoglobin, dan otomatik. Setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Metode Sianmethemoglobin adalah *gold standard* pemeriksaan kadar hemoglobin. Nilai rujukan kadar Hb normal berdasarkan jenis kelamin dan usia. Perlu diperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan kadar hemoglobin.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) ATLM mengerjakan pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menyiapkan tabung reaksi. Specimen darah dicampur dengan reagen dimana reagen ini berfungsi untuk mengoksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit dan dibaca menggunakan fotometer.
   Apa nama reagen yang digunakan dalam pemeriksaan tersebut?
   A. Drabkin
   B. Asam hematin
   C. HCl 0,1 N
   D. Aquadest
   E. NaCl

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan Hb metode Sahli. Darah yang direaksikan dengan HCl 0,1 N diencerkan menggunakan aquades, homogenisasi campuran larutan menggunakan batang pengaduk secara berulang-ulang. Nilai Hb yang didapat dari pengerjaan metode tersebut menyimpang hingga 40% dari nilai sebenarnya. Apakah faktor kesalahan yang menyebabkan penyimpangan pada metode pemeriksaan tersebut?
   A. HCl bereaksi dengan batang pengaduk
   B. Konsentrasi HCl yang digunakan tidak tepat
   C. Volume larutan dalam tabung Sahli berkurang
   D. Asam hematin yang tebentuk bukan larutan sejati
   E. Metode Sahli bukan merupakan metode baku emas

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan kadar hemoglobin dengan metode cyanmethemoglobin. Dalam metode ini hemoglobin dengan $K_3Fe(CN)_6$ akan diubah menjadi methemoglobin yang kemudian menjadi hemoglobin sianida (HiCN) oleh KCN. Berapa banyak sampel darah dan reagen yang dibutuhkan pada pemeriksaan tersebut?
   A. 2 mL darah dan 5 mL reagen
   B. 20 µL darah dan 5 mL reagen
   C. 20 µL dan beberapa tetes reagen pada tabung Hb sampai tanda skala 2,0
   D. Darah diteteskan pada *quick-check* sebanyak 4 µL, ditunggu sampai 30 detik
   E. Darah diteteskan pada kertas hisap, warna yang terjadi bandingkan dengan skala *tallquist*

4) ATLM menyimpan larutan Drabkin yang telah digunakan. Penyimpanan reagen harus sesuai dengan sifat fisik dan kimianya supaya tetap stabil. Bagaimanakah cara menyimpan larutan Drabkin tersebut?
   A. Larutan disimpan aliquot pada botol coklat.
   B. Larutan disimpan dalam botol coklat, dalam freezer
   C. Larutan disimpan dalam botol coklat, dalam lemari tertutup
   D. Larutan disimpan dalam botol coklat, dalam ruangan terbuka
   E. Larutan disimpan dalam botol coklat, dalam kulkas pada 4-6°C

5) ATLM menerima blangko permintaan pemeriksaan Hb dan golongan darah. Kadar Hb hanya dapat dikerjakan dengan menggunakan cara Sahli di laboratorium tersebut. Maka ATLM setelah memasukkan darah dalam tabung pengencer, dan dalam waktu kurang dari 2 menit segera melakukan pengenceran menggunakan aquades. Apa resiko jika waktu prosedur tersebut dikerjakan terlalu cepat?
   A. Belum semua hemoglobin bereaksi
   B. Kadar hemoglobin menjadi tidak tepat
   C. Volume pengencerannya lebih tinggi
   D. Kadar hemoglobin tinggi
   E. Sukar dalam pengamatan

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Pemeriksaan Hematokrit

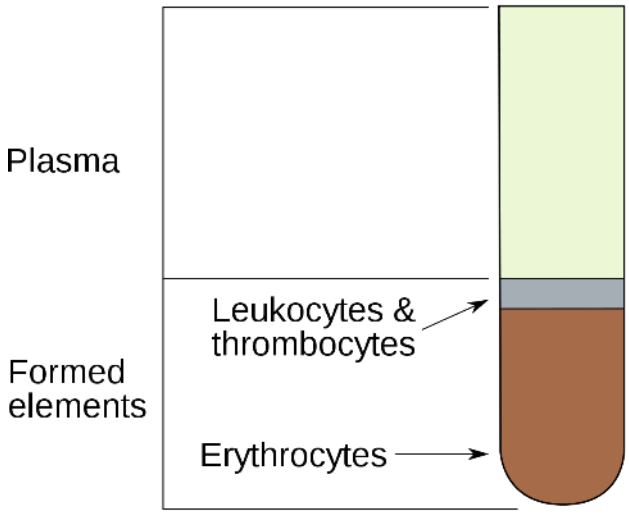
Hematokrit adalah volume eritrosit yang dimampatkan di mana ini menggambarkan proporsi eritrosit dalam darah lengkap. Fraksi volume eritrosit adalah volume eritrosit total dalam darah dibagi volume darah. Fraksi volume eritrosit dulu dinamakan hematokrit atau *Packed Cell Volume* (PCV), dinyatakan dalam bentuk pecahan atau decimal. Terkadang perlu digunakan istilah berbeda untuk membedakan pemeriksaan otomatis dan manual hematokrit dan untuk alasan ini ICSH menyarankan bahwa istilah "hematokrit (Hct)" yang harus dipakai pada pengukuran otomatis daripada PCV. Namun demikian, perlu dicatat juga bahwa di masa lalu, istilah "*packed cell volume* (PCV)" dan "hematokrit" sama-sama digunakan pada pemeriksaan manual. Skrining kasus anemia dapat menggunakan satu paket pemeriksaan laboratorium yaitu kadar hemoglobin, nilai hematokrit, dan jumlah sel darah merah.

Pemeriksaan hematokrit ini juga dapat digunakan sebagai uji konfirmasi dari pemeriksaan hemoglobin. Nilai hematokrit yang didapatkan adalah sekitar tiga kali kadar hemoglobin. Pemeriksaan hematokrit ini juga digunakan dalam perhitungan indeks eritrosit. Pemeriksaan hematokrit ini memiliki makna diagnostik untuk kasus syok, anemia, dan luka bakar.

A. HEMATOKRIT

Nilai hematokrit sampel adalah perbandingan antara volume eritrosit dengan volume darah secara keseluruhan. Nilai hematokrit dapat dinyatakan sebagai persentase (%) atau sebagai pecahan desimal (unit SI), liter/liter (L/L). Untuk mengukur hematokrit, eritrosit dalam darah dipadatkan dalam sebuah tabung dengan cara disentrifuge dengan kecepatan dan waktu tertentu sehingga membentuk padatan di bawah tabung.

Pemeriksaan hematokrit ini menggunakan spesimen darah dengan antikoagulan heparin (darah kapiler) ataupun EDTA (darah vena), dan harus dipastikan saat pengambilan spesimen darah vena sebelum pemeriksaan telah dilakukan homogenisasi dengan sempurna. Penentuan hematokrit dengan membaca tinggi kolom eritrosit yang terbentuk setelah sentrifugasi. *Buffy coat* yang merupakan lapisan putih keabuan diantara kolom eritrosit dan kolom plasma, berisi trombosit dan lekosit, tidak ikut dibaca.



Gambar 3.7
Komposisi Darah

B. JENIS PEMERIKSAAN HEMATOKRIT

1. Metode Mikrohematokrit

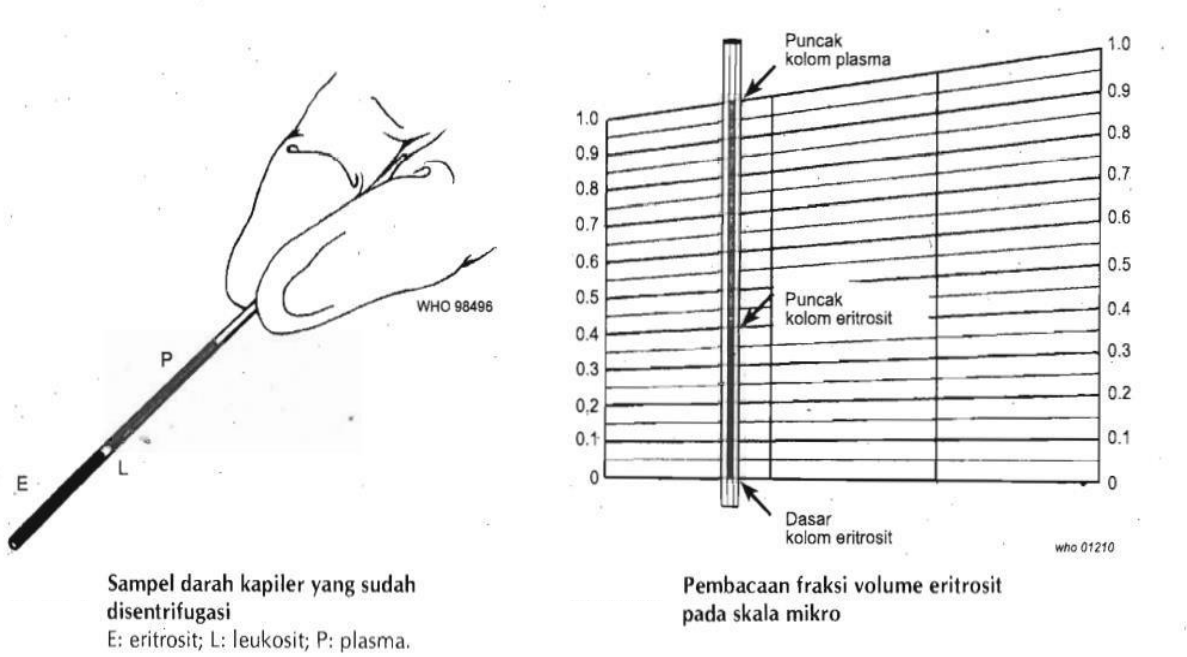
Prinsip kerja metode ini adalah spesimen darah dimasukkan ke dalam tabung-kapiler yang panjang dan disentrifugasi dengan centrifuge khusus mikrohematokrit. Selanjutnya, panjang kolom eritrosit ditentukan dengan skala-pembaca (*hematocrit reader*). Metode ini lebih sering dipakai dibandingkan metode makro (wintrobe) karena lebih cepat dan dapat dikerjakan hanya dengan sampel darah kapiler.

Metode mikrohematokrit dikerjakan pada spesimen darah yang telah dimasukkan di tabung kapiler yang berukuran panjang 75 mm dan diameter internal sekitar 1 mm. Tabung ini ada 2 macam, 1) tabung yang pertama adalah tabung tanpa antikoagulan (tabung warna biru) yang biasanya digunakan untuk specimen darah dengan EDTA/antikoagulan lainnya, dan 2) tabung yang kedua dilapisi antikoagulan heparin 1 IU (tabung warna merah) untuk pengambilan darah kapiler secara langsung.

Gambar 3.8
Tabung Mikrokapiler Hematokrit

Prosedur kerja pemeriksaan hematokrit secara mikro adalah dengan memasukkan darah EDTA atau langsung dari pungsi kulit masuk tabung secara kapilaritas. Sisakan ruang dalam tabung kira-kira 15 mm. Kemudian segel tabung dengan segel plastik/dempul. Menyegel tabung dengan memanaskan tidak dianjurkan karena segel akan menipis dan kemungkinan terjadi lisis.

Lakukan sentrifugasi selama 5 – 10 menit dengan 10.000 – 12.000 rpm. Setelah dipusing, ukur perbandingan sel dengan tinggi kolom (hematokrit) dengan alat pembaca. Centrifuge yang digunakan untuk tabung-tabung kapiler harus mempunyai gaya sentrifugal 12g dan waktu lima menit harus dapat memberikan hasil PCV yang presisi. Bila PCV di atas nilai 0,5, mungkin diperlukan pemusingan lagi selama 5 menit.



Sampel darah kapiler yang sudah disentrifugasi
E: eritrosit; L: leukosit; P: plasma.

Pembacaan fraksi volume eritrosit pada skala mikro

Gambar 3.9

Prosedur Pemeriksaan Mikrohematokrit

2. Metode Otomatis

Pada alat hitung otomatis *(hematology analyzer)* yang kini semakin banyak digunakan, hematokrit dihitung dari jumlah dan ukuran impuls-impuls listrik yang dihasilkan sel darah merah ketika melewati sebuah sensor. Karena itu, parameter terkait seperti jumlah sel darah merah (RBC), PCV, dan MCV (volume eritrosit rata-rata) akan berkaitan erat. Lewatnya sel darah merah melalui celah bukaan pada metode impendansi atau melalui pancaran sinar ke sensor hamburan cahaya akan membangkitkan semacam impuls listrik yang derajatnya sebanding dengan volume sel. Impuls yang dibangkitkan kemudian diolah, untuk menghitung sel darah merah. Analisis tingkat impuls ini memungkinkan perhitungan MCV. Bila tingkat impuls rata-rata dihitung maka dari MCV yang terukur, kadar Hct dapat juga ditentukan dengan mengalikan MCV dengan RBC.

Gambar 3.10
Hematology Analyzer

Alat hitung otomatis ini membutuhkan kalibrasi sebelum Hct atau MCV dapat ditentukan, karena alat ini rentan terhadap kesalahan tertentu yang tidak ditemukan atau tidak menjadi masalah pada tehnik perhitungan manual. Kesalahan-kesalahan yang mungkin terjadi seperti adanya bekuan mikro (*microclot*) atau bekuan sebagian (*partial clot*), mikrositosis ekstrem, dan adanya krioglobulin atau *cold aglutinin*. *Cold aglutinin* ini adalah penyebab tersering peningkatan semu MCV karena sel-sel yang menumpuk dianggap sebagai satu sel. Karena sel darah merah dihitung rendah, maka nilai Hct akan terpengaruh.

C. INTERPRETASI HASIL

Tabel 3.3 Kisaran fraksi volume eritrosit dan hematokrit yang normal berdasarkan kelompok usia.

Kelompok Usia	Fraksi Volume Eritrosit (SI unit)	Hematokrit (%)
Bayi baru lahir	0.50 – 0.58	50 – 58
Bayi (3 bulan)	0.35 – 0.40	35 – 40
Anak-anak (5 tahun)	0.38 – 0.44	38 – 44
Perempuan dewasa	0.37 – 0.43	37 – 43
Laki-laki dewasa	0.40 – 0.50	40 – 50

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, yaitu sebagai berikut.

1. Penurunan nilai Hct merupakan indikator anemia (karena berbagai sebab), reaksi hemolitik, leukemia, sirosis, kehilangan banyak darah, dan hipertiroid. Penurunan Hct sebesar 30% menunjukkan pasien mengalami anemia sedang hingga parah.
2. Peningkatan nilai Hct dapat terjadi pada eritrositosis, dehidrasi, kerusakan paru-paru kronik, polisitemia, dan syok.
3. Nilai Hct biasanya sebanding dengan jumlah sel darah merah pada ukuran eritrosit normal, kecuali pada kasus anemia makrositik atau mikrositik.
4. Anemia karena kekurangan zat besi (ukuran sel darah merah lebih kecil), nilai Hct akan terukur lebih rendah karena sel mikrositik terkumpul pada volume yang lebih kecil, walaupun jumlah sel darah merah terlihat normal.
5. Nilai normal Hct adalah sekitar 3 kali nilai hemoglobin. Normalnya, terdapat korelasi linear antara Hct dan kadar Hb. Kalau kadar Hb dinyatakan dalam satuan g/L, Hct adalah sekitar 3 kalinya. Contoh: kalau kadar Hb adalah 12 g/dL, Hct nya adalah 12 x 3 = 36%.

D. FAKTOR-FAKTOR YANG DAPAT MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

Metode mikrohematokrit memiliki nilai akurasi dan presisi yang sudah memadai untuk tujuan klinis. Namun demikian perlu diperhatikan adanya sejumlah faktor yang dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat.

1. Dianjurkan menggunakan K_2-EDTA yang berbentuk serbuk dibandingkan dengan K_3-EDTA yang berbentuk cair, yang menyebabkan mengkerutnya eritrosit dan menyebabkan menurunnya nilai hematokrit sekitar 2 persen.
2. Rasio darah berbanding antikoagulan yang tidak tepat dimana konsentrasi antikoagulan yang melebihi 2,2 mg/mLdapat juga menyebabkan nilai hematokrit yang rendah karena mengerutnya sel.

3. Karena hematokrit secara bertahap akan naik bila didiamkan, pemeriksaan harus dikerjakan dalam 6 jam setelah sampel darah diambil. Penundaan hingga 24 jam diperbolehkan bilamana darah disimpan pada suhu 4^{o}C.
4. Homogenisasi sampel darah yang tidak baik akan menyebabkan hasil yang tidak akurat karena akan terbentuk bekuan darah.
5. Tingkat oksigenasi darah juga mempengaruhi dimana hematokrit darah vena adalah 2 persen lebih tinggi daripada darah teroksigenasi penuh. Untuk memastikan oksigenasi dan pencampuran yang adekuat, ruang udara bebas di atas sampel harus lebih dari 20 persen volume tabung vakum.
6. Variasi ujung tabung dapat menyebabkan masalah serius bila tidak sesuai dengan spesifikasi yang ditentukan pabrik pembuatnya, yaitu panjang 75±0,5 mm, diameter internal 1,07-1,25 mm, ketebalan dinding 0,18-0,23 mm, dan ujung tabung tidak melebihi 2 persen diameter internal dibandingkan keseluruhan panjang tabung.
7. Centrifuge harus dikalibrasi (sedikitnya setahun sekali). Tingkat efisiensi pemadatan sel darah merah (*packing*) perlu diperiksa dengan memusingkan sampel darah normal dan darah polisitemik antara 5-10 menit untuk menentukan waktu minimum tercapainya pemadatan sel darah merah tadi.
8. Hasil pemeriksaan harus dibaca sesegera mungkin setelah centrifuge karena sel darah merah akan mulai membengkak dan perbatasan akan menjadi semakin samar. Untuk menghindari kesalahan pembacaan, mungkin diperlukan kaca pembesar. Sel-sel darah putih dan platelet (*buffy coat*) perlu disingkirkan sejauh mungkin dari pembacaan sel-sel darah merah.
9. Jumlah plasma yang terperangkap di antara sel-sel darah merah, khususnya pada sisi bawah kolom sel darah, dan dehidrasi sel darah merah selama proses centrifuge pada umumnya akan menyeimbangkan satu sama lain, dan kesalahan yang disebabkan oleh terjebaknya plasma ini biasanya tidak lebih dari 0,01 unit hematokrit. Maka, pada praktek rutin, tidak perlu mengoreksi hal ini, kecuali jika hematokrit diperlukan untuk mengkonfirmasi jumlah sel darah merah atau untuk menghitung volume darah/MCV, maka hematokrit yang teramati harus dikurangi 2 persen setelah dipusingkan selama 5 menit, atau 10 menit bila darahnya polisitemik. Plasma yang terperangkap ini akan meningkat pada anemia makrositik, sferositosis, talasemia, anemia hipokrom, dan anemia sel sabit.

Tabel 3.4

Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Mikrohematokrit

	Menurunkan hematokrit	**Meningkatkan hematokrit**
Pengenceran	Menggunakan larutan EDTA dibandingkan EDTA kering (0,5% lebih rendah)	
Penyimpangan karena terkait jumlah plasma yang terperangkap	• Proses sentrifugasi lebih lama • Meningkatnya gaya sentrifugal (misal meningkatnya radius pemusing atau meningkatnya kecepatan pemusingan) • LED meninggi	• Waktu sentrifugasi yang lebih singkat • Menurunnya gaya sentrifugal • Mikrositosis (misal defisiensi besi atau talasemia) • Penyakit sel sabit • Sferositosis • Menurunnya fleksibilitas sel darah merah dalam penyimpanan lama pada suhu ruangan
Sel darah merah mengkerut	• Terlalu banyak EDTA • K_3EDTA daripada K_2EDTA atau Na_2EDTA (2 persen lebih rendah) • Pemakaian tabung yang lebih sempit • Tabung soda lime • Darah yang teroksigenasi penuh	• K_2EDTA atau Na_2EDTA • Tabung borosilikat • Darah deoksigenasi

Latihan

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

1) Pemeriksaan hematokrit dapat menggunakan spesimen darah kapiler atau darah vena. Bagaimana ATLM memilih penggunaan specimen terkait pemeriksaan tersebut?
2) Bagaimana cara pembacaan hematokrit pada kolom tabung hematokrit?
3) Pemeriksaan hematokrit dikerjakan pada specimen darah yang telah diambil 8 jam. Jelaskan pengaruh hal tersebut pada hasil pemeriksaan.

4) Dalam tahap praanalitik, pengambilan specimen darah vena tidak lancer sehingga tidak memenuhi tabung vakum yang tersedia, apa pengaruhnya terhadap hasil pemeriksaan hematokrit?
5) Centrifuge adalah salah satu alat yang harus dikalibrasi minimal 1 tahun sekali. Pemeriksaan hematokrit menggunakan centrifuge untuk memampatkan sel darah merah. Apa dampak yang diakibatkan dari centrifuge yang tidak berfungsi dengan baik terhadap hasil pemeriksaan hematokrit?

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi jenis pemeriksaan hematokrit.
2) Pelajari kembali materi pemeriksaan hematokrit metode mikrohematokrit.
3) Pelajari kembali materi faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hematokrit.
4) Pelajari kembali materi faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hematokrit.

Ringkasan

Nilai hematokrit sampel adalah perbandingan antara volume eritrosit dengan volume darah secara keseluruhan. Nilai hematokrit dapat dinyatakan sebagai persentase (%) atau sebagai pecahan desimal (unit SI), liter/liter (L/L). Untuk mengukur hematokrit, eritrosit dalam darah dipadatkan dalam sebuah tabung dengan cara disentrifuge dengan kecepatan dan waktu tertentu sehingga membentuk padatan di bawah tabung.

Prinsip kerja metode mikro hematokrit adalah spesimen darah dimasukkan ke dalam tabung-kapiler yang panjang dan disentrifugasi dengan centrifuge khusus mikrohematokrit. Selanjutnya, panjang kolom eritrosit ditentukan dengan skala-pembaca (*hematocrit reader*).

Pada alat hitung otomatis *(hematology analyzer)* yang kini semakin banyak digunakan, hematokrit dihitung dari jumlah dan ukuran impuls-impuls listrik yang dihasilkan sel darah merah ketika melewati sebuah sensor. Nilai normal Hematokrit adalah sekitar 3 kali nilai hemoglobin. Normalnya, terdapat korelasi linear antara Hct dan kadar Hb. Kalau kadar Hb dinyatakan dalam satuan g/L, Hct adalah sekitar 3 kalinya. Perlu diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hematokrit.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) ATLM melakukan pemeriksaan dengan cara darah dimasukkan dalam tabung kapiler, panjang 75 mm, diameter 1 mm, dan memiliki tanda merah pada ujung tabung. Darah dimasukkan dalam tabung kurang lebih ¾ tabung, dan salah satu ujung tabung disumbat dengan wax. Sampel tersebut disentrifuse dengan kecepatan dan waktu tertentu. Apa yang diamati pada pemeriksaan tersebut?
   A. Tinggi buffy coat
   B. Tinggi leukosit
   C. Tinggi eritrosit
   D. Tinggi plasma
   E. Tinggi serum

2) ATLM melakukan plebotomi menggunakan *vacuum tube* EDTA untuk pemeriksaan Hematokrit pada perempuan usia 35 tahun dengan obesitas, sehingga terjadi kesulitan akses vena dan perpanjangan waktu pengambilan darah. Apa resiko yang paling mungkin terjadi pada specimen darah tersebut?
   A. Hemokonsentrasi
   B. Darah ada sebagian yang mengalami koagulasi
   C. Plasma darah menjadi lipemik
   D. Plasma darah menjadi ikterus
   E. Lisisnya sel- sel eritrosit

3) ATLM hendak melakukan pemeriksaan mikro Hematokrit. Spesimen dari pasien yang telah tersedia adalah darah vena dengan antikoagulan EDTA. Apa yang harus dilakukan ATLM?
   A. Mengambil darah lagi
   B. Melakukan pemusingan darah untuk mengambil plasma
   C. Menggunakan tabung biru kapiler untuk mengerjakannya
   D. Menyiapkan larutan pengencer
   E. Melakukan inkubasi selama 5 menit

4) ATLM melakukan validasi hasil pemeriksaan pada parameter laboratorium untuk penapisan anemia. Hasil pemeriksaan Hct 42%, Hb 16 g/dL Anthal eritrosit $4.7x10^6/mm^3$. Berapa kadar Hb yang sesuai dengan pemeriksaan Hct tersebut?

A. 12
B. 13
C. 14
D. 15
E. 17

5) ATLM mendapatkan hematokrit yang meningkat secara aneh. Maka ia melakukan verifikasi untuk mengetahui penyebabnya. Apa saja yang dapat menyebabkan kasus tersebut?

A. Mengambil darah dengan jarum kecil
B. Plasma yang tampak kemerahan
C. Pemusingan yang berlebihan
D. Terlalu lama penyimpanan specimen dalam suhu ruang
E. Menggunakan K_3EDTA sebagai antikoagulan

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 3
Pemeriksaan Hitung Jumlah Lekosit

Komponen seluler darah berasal dari sebuah sel hematopoetik pluripotent di sumsum tulang, yang akan menjadi progenitor myeloid umum dan progenitor limfoid umum. Pada orang dewasa, sumsum hematopoetik (sumsum merah) terutama terdapat di tulang tengkorak, sternum, iga, tulang belakang, panggul, dan bagian proksimal tulang panjang.

Progenitor limfoid umum menghasilkan sel B, sel T, dan sel NK (*natural killer)*. Sel progenitor myeloid umum akan menghasilkan progenitor megakariosit-eritroid dan sel progenitor granulosit-monosit. Proses pematangan sel progenitor selanjutnya menjadi kategori utama komponen darah yang bersirkulasi yaitu eritrosit, lekosit dan trombosit.

Progenitor granulosit-monosit tidak hanya akan menghasilkan monosit dan ketiga jenis granulosit, tetapi juga akan menghasilkan sel dendritik sebagai penyaji antigen dan sel mast. Turunan monosit akan menghasilkan banyak makrofag jaringan yang khusus seperti sel Kupffer dan juga osteoklas. Berdasarkan fungsinya, lekosit dibagi menjadi seri granulosit, monositik, dan limfoid.

Konsentrasi jumlah lekosit atau hitung lekosit adalah jumlah lekosit yang terdapat dalam 1 liter darah. Pada penyakit-penyakit tertentu, terjadi perubahan jumlah lekosit dalam darah. Sebagai contoh, pada mononukleosis infeksiosa dan infeksi bakterial, jumlah lekosit meningkat secara bermakna; sebaliknya, pada demam tifoid, jumlahnya menurun secara bermakna.

Hitung lekosit secara manual dikerjakan setelah mengencerkan sebagian besar darah dalam sebuah pelarut yang menyebabkan lisisnya sel darah merah sekaligus mewarnai sel-sel darah putih. Sel darah putih ini kemudian dihitung dengan hemositometer di bawah mikroskop.

Gambar 3.11
Hemositometer

Sel darah merah berinti (*Nucleated red blood cell, NRBC*) tidak mudah dibedakan dengan sel darah putih di kamar hitung. Bila terdapat NRBC, persentase sel tersebut dapat dihitung berdasar gambaran preparat hapusan darah, dan jumlah total sel berinti akan dapat dikoreksi.

Pemeriksaan manual hitung sel darah putih ini tidaklah presisi, sehingga dilakukan pemeriksaan metode lain yaitu menggunakan penghitung impedansi semi otomatis saluran tunggal. Pada alat hitung yang otomatis penuh, sel darah putih dihitung dengan tehnik *flowcytometri* dan *light scattering*. *Hematology analyzer* impedansi sering tidak mampu menghitung sel-sel darah putih yang sangat sedikit jumlahnya, sehingga dibutuhkan pemeriksaan dengan metode *flowcytometri* dengan pewarnaan sel darah putih dengan pewarna DNA, sehingga dilakukan koreksi yang akurat yang dicapai dengan ekstrapolasi dari perhitungan berdasarkan pengenceran secara serial.

A. LEKOSIT

Lekosit atau sel darah putih adalah adalah sel yang bulat berinti dengan ukuran 9-20 µm, dengan jumlah sekitar 4.0 – 11.0 ribu/mm^3 darah. Lekosit dibentuk di sumsum tulang dan jaringan limfatik. Dalam keadaan normal terdapat lima jenis lekosit dalam darah. Tiga diantaranya disebut granulosit, karena sitoplasmanya mengandung granul, dan berdasarkan warna granulanya dibagi menjadi neutrophil (granul ungu kecil), eosinofil (granul jingga besar), dan basofil (granul ungu tua besar). Jenis lekosit yang lain adalah limfosit dan monosit.

1. Pembentukan Lekosit

Sel punca hemopoetik memiliki kemampuan sebagai kualitas penentu untuk memperbanyak dirinya sendiri dan juga berdiferensiasi menjadi sel progenitor jalur-jalur spesifik yang pada akhirnya akan membentuk sel matang. Diferensiasi sel punca dan sel progenitor menjadi sel pada galur spesifik diatur oleh sejumlah sitokin antara lain *Stem Cell Factor* (SCF), berbagai interleukin, eritropoetin (eritrosit), trombopoetin (megakariosit) dan faktor perangsang koloni granulosit dan makrofag-granulosit (G-CSF dan GM-CSF). G-CSF dihasilkan oleh fibroblast, sel endotel, dan makrofag, sehingga akan meningkatkan pembentukan neutrophil, ketahanan dan aktivitas fungsinya dan mempercepat pelepasan neutrophil dari sumsum tulang.

2. Fungsi Lekosit

Lekosit berfungsi melindungi tubuh dari infeksi dan berpartisipasi dalam respon imun. Neutrophil adalah sel fagosit yang berespon terhadap rangsangan kemotaksis dengan bermigrasi ke lokasi-lokasi infeksi, inflamasi, dan kematian sel. Proses migrasi neutrophil adalah dengan menggelinding sepanjang endothel, melekat ke reseptor endotel spesifik, berjalan menembus dinding kapiler (diapedesis), dan bermigrasi melewati jaringan sebagai respon terhadap zat kemotaksin. Neutrophil menelan bakteri dan benda asing lainnya di jaringan, dengan proses fagositosis.

Eosinofil mempunyai fungsi utama melawan infeksi parasit. Eosinofil juga mempunyai kinerja yang melibatkan diri pada reaksi alergi, seperi halnya pada basofil. Sel limfosit B dari sumsum tulang akan bermigrasi melalui aliran darah ke kelenjar limfe atau jaringan limfoid lainnya, tempat mereka terpajan antigen yang disajikan oleh sel dendritik. Pajanan antigen menyebabkan mutasi somatik limfosit sehingga menjadi sel B memori dan sel plasma yang memproduksi antibody yang berperan penting dalam imunitas humoral. Sel limfosit T juga berasal dari sumsum tulang dan mengalami pematangan di timus. Setelah pematangan, akan bermigrasi ke kelenjar limfe dan jaringan limfoid lainnya. Sel T dapat berperan pengatur sel B, mengaktifkan makrofag dan neutrophil serta merusak mikroorganisme yang diselaputi antibodi.

Monosit memiliki peran utama di jaringan. Monosit membawakan antigen kepada limfosit, yang lebih berperan pada infeksi bakteri kronik seperti TBC. Monosit juga menyekresi sitokin yang meningkatkan respon inflamasi terhadap infeksi.

B. JENIS PEMERIKSAAN JUMLAH LEKOSIT

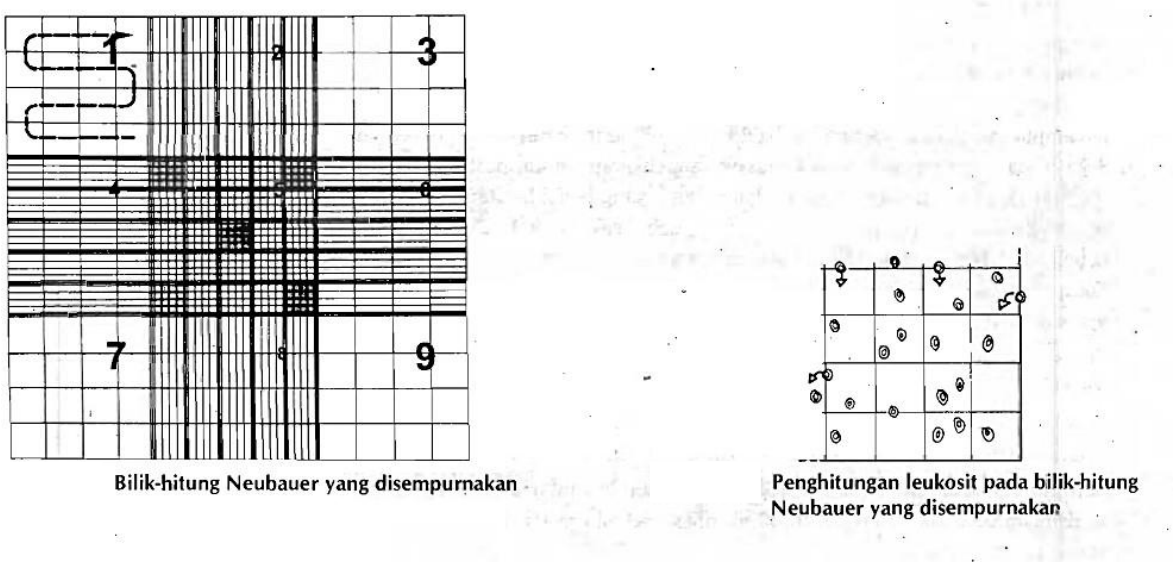
Beberapa jenis tes laboratorium dapat membantu menilai adanya respon inflamasi. Ada dua pemeriksaan yang terkait, yaitu hitung lekosit total dan hitung jenis lekosit pada

gambaran darah tepi. Uji lainnya meliputi hitung lekosit absolut, LED (laju endap darah), hitung eosinofil dan basofil absolut, tes LAP (*Leukocyte Alkaline Phosphatase*) dan tes fungsi neutrophil.

1. Secara Manual

Prinsip pemeriksaan hitung jumlah lekosit secara manual adalah dengnan mengencerkan darah dengan larutan pengencer leukosit (larutan Turk), yang akan menghemolisis eritrosit, tetapi lekositnya sendiri tetap utuh sehingga mudah dihitung. Selanjutnya, semua lekosit pada bilik-hitung dihitung di bawah mikroskop dan dilaporkan sebagai jumlah sel per mm^3.

Hitung leukosit secara manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* pada bidang seluas 4 mm^2, yaitu jumlah luas bidang nomor 1, 3, 7, dan 9 di keempat sudut bilik-hitung. Keempat bidang pada bilik-hitung leukosit masing-masingnya memiliki luas 1 mm^2 jadi, luas seluruh bidang adalah 4mm^2. Karena kedalaman setiap bilik-hitung leukosit adalah 0,1 mm, volume seluruh bilik-hitung leukosit adalah 4 x 0,1 = 0,4 mm^3



Gambar 3.12

Kamar Hitung Improved Neubauer

Jadi, kalau jumlah lekosit yang ditemukan dibagi 4 dan dikali 10, diperoleh jumlah lekosit per 1 mm^3 darah (tanpa pengenceran). Karena 1 liter sama dengan 1 juta (10^6) millimeter kubik, jumlah lekosit per liter darah (tanpa pengenceran) sama dengan nilai tersebut dikali 10^6.

Pengenceran pada hitung jumlah lekosit ini menggunakan larutan Turk yang berisi asam asetat glasial 15 mL, gentian violet 1% 1 mL, dan aquades add 475 mL. Jika pengencerannya adalah 1:20 (menggunakan pipet Thoma lekosit), jumlah lekosit per 1 mm^3 darah (tanpa pengenceran) sama dengan hasil di atas dikali 20.

$$\text{Hitung lekosit} = \frac{\text{Jumlah sel yang dihitung x Pengenceran/mm}^3}{\text{Volume bilik hitung}}$$

$$\text{Hitung lekosit} = \frac{\text{Jumlah sel yang dihitung x 20/mm}^3}{0{,}4}$$

Contoh. Dengan pengenceran 20x, didapatkan lekosit pada 4 bidang besar sebanyak 60, maka jumlah hitung lekosit = 60 x 50 = 3000 sel/mm^3.

1. Secara Otomatis

Prinsip dasar yang digunakan yaitu impedansi (resistensi elektrik) dan pembauran cahaya (*light scattering*). Prinsip impedansi didasarkan pengukuran perubahan hambatan listrik yang dihasilkan oleh sel darah saat mereka melintasi sebuah lubang/celah kecil. Hambatan listrik yang dihasilkan sel darah ini berbanding lurus dengan volume sel darah. Alat ini dapat menghitung jumlah eritrosit, lekosit, dan trombosit berdasarkan dari ukuran/volume sel tersebut, sehingga jika didapatkan anomali, misalnya *giant thrombocyte* akan dikenali dan dihitung sebagai eritrosit.

C. INTERPRETASI HASIL

Diagnosis inflamasi akut umumnya didasarkan pada hitung lekosit total lebih dari 10,5 x 10^9/L bersama dengan faktor-faktor lain yang dapat diperiksa secara bersamaan.

Tabel 3.5

Kisaran Normal Konsentrasi Jumlah Lekosit Berdasarkan Kelompok Usia

Kelompok Usia	Konsentrasi Jumlah Lekosit (per liter)
Bayi baru lahir	10 – 20 x 10^9
Bayi (3-9 bulan)	4 – 15 x 10^9
Anak-anak (3 tahun)	4 – 11 x 10^9
Anak-anak (10 tahun)	4 – 10 x 10^9
Dewasa	4 – 10 x 10^9

2. Nilai yang Tinggi

Nilai jumlah lekosit yang tinggi menunjukkan hal-hal berikut ini

a. Terjadi peningkatan jumlah leukosit total dalam darah yang disebut lekositosis.
b. Lekositosis dapat terjadi secara fisiologi seperti pada kehamilan, olahraga, emosi, menstruasi, stres, mandi air dingin.
c. Perdarahan, trauma, obat (misalnya: merkuri, epinefrin, kortikosteroid), nekrosis, toksin, leukemia dan keganasan adalah penyebab lain leukositosis.
d. Lekositosis sering dikaitkan dengan infeksi bakterial tertentu.
e. Pada leukemia, konsentrasi jumlah lekosit bisa sangat meningkat, berkisar antara 50 x 10^9/L hingga 400 x 10^9/L. Pada perhitungan manual, darah penderita leukemia untuk estimasi jumlah lekosit harus diencerkan misalnya dengan mencampurkan 0,05 mL darah dan 1,95 mL larutan pengencer, sehingga menghasilkan pengenceran 1:40. Dengan pengenceran ini, jumlah sel (x 10^9) per liter darah diperoleh dari jumlah sel yang ditemukan dikali 0,1, bukan 0,05. Kalau dipakai satuan konvensional, jumlah sel per milimeter kubik darah diperoleh dari jumlah sel yang ditemukan dikali 100, bukan 50.

3. Nilai yang Rendah

Penurunan jumlah lekosit total dalam darah disebut lekopenia. Hal ini dapat terjadi pada infeksi tertentu, termasuk pada demam tifoid dan malaria. Lekopenia juga dapat terjadi akibat terapi rnedikamentosa tertentu. Pada perhitungan manual, dengan adanya jumlah lekosit yang sangat rendah, maka pengenceran darah perlu diperkecil misalnya dengari mencampurkan 0,05 mL darah dan 0,45 mL larutan pengencer, menghasilkan pengenceran 1:10. Dengan pengenceran sebesar ini, jumlah sel (x 10^9) per liter darah diperoleh dari jumlah sel yang ditemukan dikali 0,25 bukan 0,05.

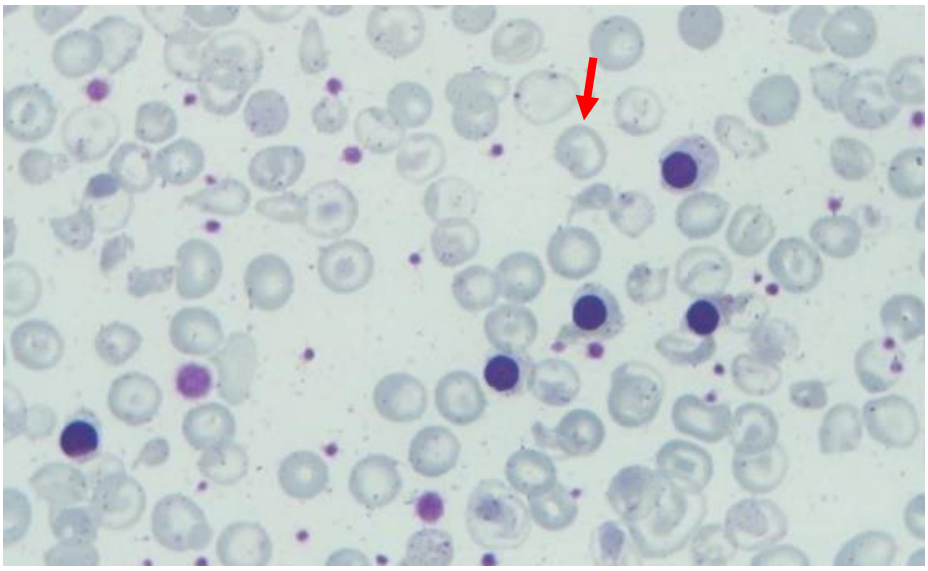
D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

1. Koreksi Jumlah Lekosit Akibat Adanya Eritrosit Berinti

Eritrosit berinti atau normoblas merupakan bentuk-eritrosit dini. Normalnya, sel ini tidak terdapat dalam darah, tetapi bisa saja ditemukan pada penyakit-penyakit tertentu, seperti anemia sel sabit atau jenis anemia hemolitik lainnya. Normoblas yang tidak lisis dalam larutan pengencer (Turk) akan ikut terhitung sebagai lekosit. Adanya normoblas ini, apalagi kalau jumlahnya banyak, membuat penghitungan lekosit, terutama yang memakai alat hitung sel automatik atau semi-automatik, harus dikoreksi sehingga didapatkan hitung lekosit yang tepat. Langkah-langkah koreksi yang harus ditempuh adalah sebagai berikut.

a. Buatlah apusan darah dengan pewarna Romanowsky (Wright Giemsa misalnya)

b. Amati apusan darah tipis yang dipulas tersebut dan hitung banyaknya normoblas yang tampak per 100 leukosit.



Gambar 3.13 Normoblas

c. Jumlah lekosit yang terkoreksi menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Jumlah lekosit terkoreksi} = \frac{100 \times \text{hitung lekosit}}{100 + \text{jumlah normoblast (\%)}}$$

Contoh. Pada hitung lekosit (manual atau otomatik) didapatkan WBC = 25.000 sel/mm^3
Didapatkan 25 normoblas pada 100 lekosit pada apusan darah, maka jumlah lekosit terkoreksi

$$\text{Jumlah lekosit terkoreksi} = \frac{100 \times 25.000 = 20.000 \text{ sel/mm}^3}{100 + 25}$$

2. Waktu Harian

Konsentrasi leukosit mengikuti ritme harian. Pada pagi hari jumlahnya sedikit. Jumlah tertinggi adalah pada sore hari.

Latihan

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

1) Pemeriksaan hitung lekosit secara manual menggunakan reagen Turk sebagai pengencer. Dengan menggunakan reagen ini maka eritrosit akan dilisiskan sehingga mempermudah pemeriksaan. Sebutkan bagian reagen yang mempunyai fungsi melisiskan eritrosit itu.
2) Pemeriksaan jumlah lekosit secara manual menggunakan pipet lekosit dengan pengenceran 20x. Jika didapatkan 100 lekosit pada 4 kotak besar, berapakah jumlah lekosit per mm^3?
3) Pada pemeriksaan jumlah lekosit didapatkan hasil yang sangat tinggi, maka pemeriksaan manual menggunakan pengenceran yang lebih besar. Jika pengenceran akan dibuat 40x, berapa specimen darah dan larutan pengencer yang dibutuhkan?
4) Eritrosit berinti sering dikenali sebagai lekosit. Perhitungan jumlah lekosit membutuhkan koreksi jika ditemukan eritrosit berinti. Jika pada pemeriksaan didapatkan jumlah lekosit 36.000/mm^3, dan didapatkan 20 eritrosit berinti per 100 lekosit, jelaskan perhitungan jumlah lekosit terkoreksi.
5) Jelaskan pengaruh waktu harian pada pengambilan specimen terhadap jumlah lekosit.

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi komposisi Reagen Turk.
2) Pelajari kembali materi perhitungan pemeriksaan lekosit secara manual.
3) Pelajari kembali materi pengenceran pada metode manual pemeriksaan jumlah lekosit.
4) Pelajari kembali materi perhitungan koreksi jumlah lekosit.
5) Pelajari kembali materi faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah lekosit.

Ringkasan

Komponen seluler darah berasal dari sebuah sel hematopoetik pluripotent di sumsum tulang, yang akan menjadi progenitor myeloid umum dan progenitor limfoid umum. Lekosit atau sel darah putih adalah sel yang bulat berinti dengan ukuran 9-20 µm, dengan jumlah sekitar 4.0 – 11.0 ribu/mm^3 darah. Lekosit dibentuk di sumsum tulang dan jaringan limfatik.

Prinsip pemeriksaan hitung jumlah lekosit secara manual adalah darah diencerkan dengan larutan pengencer leukosit (larutan Turk), yang akan menghemolisis eritrosit, tetapi lekositnya sendiri tetap utuh sehingga mudah dihitung. Selanjutnya, semua lekosit pada bilik-hitung dihitung di bawah mikroskop dan dilaporkan sebagai jumlah sel per mm^3.

Lekositosis adalah peningkatan jumlah lekosit, melebihi harga normal. Penurunan jumlah lekosit total dalam darah disebut lekopenia.

Normoblas yang tidak lisis dalam larutan pengencer (Turk) akan ikut terhitung sebagai lekosit. Adanya normoblas ini, apalagi kalau jumlahnya banyak, membuat penghitungan lekosit, terutama yang memakai alat hitung sel automatik atau semi-automatik, harus dikoreksi sehingga didapatkan hitung lekosit yang tepat.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan jumlah leukosit pada pasien leukositosis ekstrim menggunakan kamar hitung, pengenceran dilakukan menggunakan pipet Thoma 20 kali. Pada pemeriksaan mikroskopik sel leukosit sangat banyak dan menumpuk, sehingga sulit untuk di amati dan hitung. Apa tindakan yang perlu dilakukan oleh ATLM itu?
   A. Dirujuk ke laboratorium lain
   B. Dilakukan pemeriksaan oleh ATLM yang lain
   C. Dilakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
   D. Melakukan pengenceran dengan pipet thoma eritrosit
   E. Dilakukan pengenceran yang sama menggunakan tabung

2) Seorang ATLM melakukan hitung jumlah lekosit dengan menggunakan bilik hitung. Sebelumnya dilakukan pengenceran darah dengan larutan Turk. Darah dipipet dengan pipet thoma lekosit sampai tanda 0,5 dan pengencer dipipet sampai tanda 11. Setelah diamati dengan bilik *Improved Neubauer* didapatkan lekosit pada kotak I = 30, kotak II = 35, kotak ke III = 28 dan kotak ke IV = 40. Berapa jumlah lekosit absolut/µL darah?
   A. 6.650 sel/µL
   B. 3.325 sel/µL
   C. 4.500 sel/µL
   D. 5.500 sel/µL
   E. 6.000 sel/µL

3) Pada pemeriksaan hitung jumlah sel dengan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* dan diencerkan 20 X, sel dihitung pada 4 bidang besar pada sudut kamar hitung menggunakan lensa obyektif 10 X ditemukan sel dengan ciri-ciri berbentuk bulat, memiliki inti dan sitoplasma transparan sebanyak 20 sel. Berapa jumlah sel pada pemeriksaan tersebut dalam mm^3 darah?

A. 1.000
B. 20
C. 62
D. 40.000
E. 200.000

4) ATLM mengerjakan pemeriksan hitung lekosit dengan menggunakan pipet thoma, dimana darah dengan penambahan antikoagulan dihisap sampai tanda 0,5 dan ditambah reagen sampai tanda 11. Setelah dihomogenkan dibuang 4 tetes dan sampel dimasukkan ke kamar hitung *improved Neubauer* dan dihitung pada 4 kotak besar. Berapa pengenceran dalam pemeriksaan hitung jumlah sel tersebut?

A. 10 X
B. 20 X
C. 50 X
D. 100 X
E. 200 X

5) ATLM menemukan banyaknya normoblast pada apusan darah tepi, saat mengerjakan pemeriksaan konfirmasi terhadap jumlah lekosit yang tinggi. Ditemukan 20 normoblas per 100 lekosit. Sehingga ATLM melakukan koreksi dari jumlah lekosit yang diperoleh sebelumnya yakni 24.000/mm^3. Berapakah jumlah lekosit terkoreksi?

A. 20.000/mm^3
B. 22.000/mm^3
C. 28.000/mm^3
D. 48.000/mm^3
E. 50.000/mm^3

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 3 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 3.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 4
Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit

Pemeriksaan hitung jumlah eritrosit merupakan salah satu parameter laboratorium dalam *screening* kasus anemia. Hitung jumlah eritrosit, pemeriksaan kadar hemoglobin dan hematokrit juga digunakan untuk menghitung nilai indeks eritrosit. Volume eritrosit rerata (MCV, *mean cell volume*) dihitung dengan membagi hematokrit dengan jumlah eritrosit.

Hemoglobin eritrosit rerata (MCH, *mean cell haemoglobin*) dihitung dengan membagi hemoglobin dengan jumlah eritrosit dalam volume yang sama. Konsentrasi hemoglobin eritrosit rerata (MCHC, *mean cell haemoglobin concentration*) adalah konsentrasi rerata hemoglobin pada setiap eritrosit, dihitung dengan membagi hemoglobin pada volume darah tertentu dengan proporsi sampel darah yang berisi eritrosit.

A. ERITROSIT

Eritrosit adalah sel darah yang bulat atau agak oval, tampak seperti cakram biconcaf dan tidak berinti dengan ukuran 7-8 µm. Sel ini merupakan bagian terbesar dari sel darah, dengan jumlah sekitar 4-6 juta/mm^3. Eritrosit yang berbentuk cakram bikonkaf mempunyai area permukaan yang luas sehingga jumlah oksigen yang terikat dengan hemoglobin dapat lebih banyak. Bentuk bikonkaf juga memungkinkan sel berubah bentuk agar lebih mudah melewati kapiler yang kecil.

Eritrosit mengandung hemoglobin yang mengikat dan mengangkut oksigen dari paru-paru ke berbagai jaringan, sehingga fungsi utama eritrosit adalah untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh dan mengangkut CO2 dari jaringan tubuh ke paru-paru. Jika kadar oksigen menurun, hormon eritropoetin akan menstimulasi produksi eritrosit. Eritrosit dengan umur 120 hari, adalah sel utama yang dilepaskan dalam sirkulasi. Bila kebutuhan eritrosit tinggi, sel yang belum dewasa akan dilepaskan ke dalam sirkulasi. Pada akhir masa hidupnya, eritrosit yang lebih tua akan dikeluarkan dari sirkulasi melalui fagositosis di limpa, hati, dan sumsum tulang (sistem retikuloendotelial).

B. JENIS PEMERIKSAN HITUNG JUMLAH ERITROSIT

Pemeriksaan hitung sel darah merah mulanya dikerjakan dengan menghitung sel-sel darah merah di bawah mikroskop, menggunakan spesimen darah yang dilarutkan dan diteteskan di kamar hitung (hemositometer). Meski metode ini mampu memberikan hasil

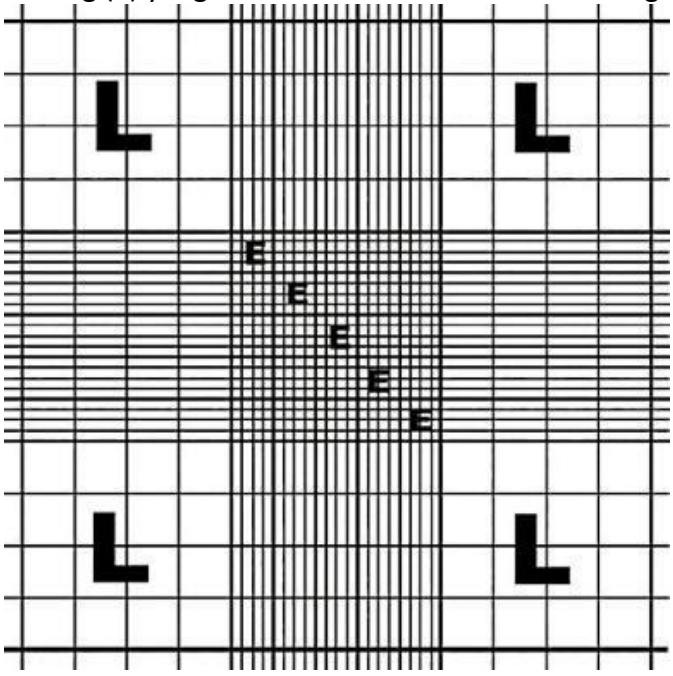
yang memuaskan bila dilakukan dengan cermat, tehnik ini sangat tidak dapat diandalkan untuk pemeriksaan rutin karena sangat tidak presisi dan membutuhkan banyak waktu. Karena itulah, pemeriksaan manual hitung sel darah merah dan parameter lainnya dikerjakan dan diukur hanya pada sebagian kecil spesimen. Hitung sel darah merah yang lebih presisi dan secara klinis lebih bermanfaat dapat dilakukan oleh mesin penghitung impedansi saluran tunggal, yang menghitung sel-sel dengan akurat pada volume darah tertentu saat mereka melewati sebuah sensor.

1. Cara Manual

Menghitung eritrosit dapat dilakukan dengan cara manual dengan menggunakan bilik hitung dan mikroskop. Kesalahan yang timbul rata-rata sekitar 20%. Prinsipnya darah diencerkan dengan larutan yang isotonis terhadap eritrosit, sedangkan trombosit dan lekosit dilisiskan sehingga eritrosit lebih mudah dihitung. Jumlah eritrosit per satuan volume darah ditentukan dengan menghitung sel di bawah mikroskop dan mengalikan dengan faktor pengenceran. Larutan Hayem atau larutan Gower yang digunakan sebagai pengencer akan dicampurkan dalam pipet eritrosit dengan pengenceran 200 X.

Larutan Hayem dibuat dari Natrium Sulfat kristal 5,0 g, Natrium Klorida 1 g, Mercuri Klorida 0,5 g dan aquadest add 200 mL. Pada keadaan hiperglobulinemia, larutan Hayem tidak dapat dipergunakan karena dapat menyebabkan precipitasi protein, rouleaux, aglutinasi, sehingga digunakan larutan Gower sebagai alternatifnya. Larutan Gower dibuat dari Natrium sulfat kristal 12,5 g, asam Asetat glasial 33,3 mL, dan aquadest add 200 mL.

Menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* maka eritrosit dihitung pada 5 kotak sedang (E) yang terletak dalam kotak besar di tengah.



Gambar 3.14
Kamar Hitung Improved Neubauer

Perhitungan jumlah eritrosit per mm^3 adalah

$$\text{Jumlah eritrosit} = \frac{\text{jumlah sel yang ditemukan x pengenceran}}{\text{Volume kamar hitung}}$$

Luas kotak sedang 0.2 x 0.2 mm. Tinggi kamar hitung 0.1 mm. volume 5 kotak sedang = 5 x 0.2 x 0.2 x 0.1 mm^3

Faktor pengali dapat dihitung dari = 200 x 5 x 10 = 10.000

Contoh: didapatkan sel yang dihitung dalam 5 kotak sedang sejumlah 400 sel, maka jumlah hitung eritrosit 400 x 10.000 = 4 juta sel/mm^3

Atau detailnya sebagai berikut:

Jumlah eritrosit $= \frac{400 \times 200}{5 \times 0{,}2 \times 0{,}2 \times 0{,}1} = 400 \text{ X } 200 \text{ X } 5 \text{ X } 10 = 4.000.000/mm^3$

2. Cara Otomatis

Dewasa ini pemeriksaan hitung sel darah banyak dikerjakan oleh mesin-mesin otomatis. Beberapa mesin semi otomatis membutuhkan beberapa langkah (misalnya pengenceran sampel darah) yang harus dilakukan oleh ATLM. Sedangkan mesin otomatis penuh hanya membutuhkan sampel darah yang sesuai untuk ditempatkan di mesin.

Mesin semi otomatis sering hanya memeriksa dan mengukur sejumlah kecil komponen saja, misalnya sel darah putih dan hemoglobin. Sementara mesin otomatis penuh mampu memeriksa hingga 8-20 komponen hitung darah lengkap dan juga hitung jenis, termasuk beberapa macam pemeriksaan yang tidak dapat dikerjakan secara manual. Tingkat presisi mesin-mesin otomatis umumnya sangat tinggi, di mana untuk pemeriksaan hitung dan ukuran sel, jauh lebih unggul daripada yang dapat dicapai oleh tehnik manual.

Hitung sel darah merah menggunakan mesin impedansi saluran tunggal jauh lebih presisi daripada kamar hitung manual, dan dapat dilakukan dengan hanya sedikit sumber daya, membuatnya jauh lebih berguna secara klinis. Meski demikian hasil hitung sel oleh alat ini tidak berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi sel karena adanya kemungkinan dua sel kebetulan melewati sensor secara bersamaan. Tergantung masing-masing alat, koreksi terhadap kejadian ini dapat secara otomatis dikerjakan langsung oleh mesin, atau dikoreksi secara manual oleh ATLM menggunakan sebuah tabel rujukan.

Hasil hitung eritrosit dengan alat otomotis ini dapat digabungkan dengan pemeriksaan Hb dan PCV manual untuk menentukan MCV dan MCH, yang juga lebih presisi, dibandingkan bila dihitung dari hasil hitung sel darah merah secara manual. Hasil hitung sel darah merah

dari mesin ini juga dapat dimanfaatkan untuk melakukan kalibrasi mesin hitung sel darah otomatis penuh yang menggunakan model impuls listrik ketika sel-sel darah merah melewati sebuah sensor. Mesin-mesin otomatis mampu menghitung 20.000 – 50.000 sel, sehingga presisinya sekali lagi jauh lebih besar daripada hitung manual dengan hemositometer yang hanya 500 - 1.000 sel.

C. INTERPRETASI HASIL

Hasil hitung jumlah eritrosit yang normal memberikan gambaran eritropoesis yang memadai, dimana ini ditentukan oleh kondisi sumsum tulang, eritropoetin, hormon tyroid, hormon adrenokortikal, kecukupan nutrient pendukung. Hasil hitung eritrosit yang digunakan bersama dengan data hematokrit serta kadar hemoglobin, maka dapat menghasilkan informasi lanjutan yaitu indeks eritrosit yang terdiri dari MCV, MCH, dan MCHC, yang akan memberikan gambaran lebih lanjut tentang eritrosit. Pada kondisi anemia, data ini dapat digunakan untuk membedakan jenis anemia berdasarkan morfologi eritrosit sehingga dapat dilakukan pemeriksaan lanjutan seperti kadar ferritin pada anemia mikrositik hipokromik dan sejenisnya.

Tabel 3.6

Kisaran Normal Jumlah Eritrosit Berdasarkan Kelompok Usia

Kelompok Usia	Konsentrasi Jumlah Eritrosit	
	Satuan SI (per liter)	Satuan konvensional (per mm^3)
Bayi baru lahir	$5.0 – 7.0 \times 10^{12}$	$5.0 – 7.0 \times 10^{6}$
Bayi (1-6 bulan)	$3.8 – 5.9 \times 10^{12}$	$3.8 – 5.9 \times 10^{6}$
Anak (4 tahun)	$3.8 – 5.4 \times 10^{12}$	$3.8 – 5.4 \times 10^{6}$
Perempuan dewasa	$4.0 – 5.4 \times 10^{12}$	$4.0 – 5.4 \times 10^{6}$
Laki-laki dewasa	$4.5 – 6.2 \times 10^{12}$	$4.5 – 6.2 \times 10^{6}$

Pada dehidrasi atau polisitemia, dapat ditemukan konsentrasi jumlah eritrosit yang tinggi, dimana kedua kondisi ini sangatlah berbeda dalam menyebabkan jumlah eritrosit yang meningkat lebih dari normal. Pada kondisi polisitemia, maka rangsangan eritropoesis memang lebih dibandingkan kondisi normal, sehingga jumlah eritrosit meningkat secara absolut. Berbeda pada kondisi dehidrasi, maka jumlah eritrosit ini meningkat secara palsu atau relatif, karena jumlah plasma darah yang berkurang.

Pada anemia (akibat penurunan produksi eritrosit, peningkatan hemolisis, atau perdarahan), dapat ditemukan konsentrasi jumlah eritrosit yang rendah. Dalam kasus anemia maka penggunaan data-data laboratorium lain seperti indeks eritrosit, apusan darah tepi, hitung retikulosit serta penilaian kadar zat besi, vitamin B12, asam folat menjadi dasar tata laksana anemia oleh dokter.

D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

Kesalahan saat hitung sel darah dapat berupa pre-analitik, analitik, atau post-analitik. Kesalahan pre-analitik adalah sebelum dilakukan analisis sampel dan mencakup kesalahan lembar permintaan, kesalahan saat pengambilan darah, transpor, serta penyimpanan spesimen. Kesalahan analitik terjadi selama proses pemeriksaan spesimen mencakup alat dan bahan yang digunakan, seperti reagen, metode, standar prosedur, dan ATLM sebagai pelaksana pemeriksaan. Sementara kesalahan post-analitik adalah kesalahan setelah proses pemeriksaan selesai dan ini termasuk perhitungan, penanganan, dan informasi data yang keliru.

Darah yang mengandung antikoagulan akan mengalami perubahan ketika disimpan pada suhu ruang, dan perubahan ini terjadi lebih cepat bila suhu sekitarnya lebih tinggi. Perubahan ini tidak memandang jenis antikoagulan, meski kurang nyata pada ACD, CPD daripada darah EDTA, dan lebih nyata pada garam K_3EDTA daripada K_2EDTA.

Hitung sel darah merah, sel darah putih, platelet dan indeks sel darah merah umumnya akan tetap stabil selama 8 jam pasca pengambilan sampel, meski sel darah merah akan mulai membengkak, sehingga PCV dan MCV meningkat, fragilitas osmotik meningkat, dan laju endap eritrosit akan menurun. Bila darah disimpan pada suhu 4^{o}C, efek terhadap hitung darah biasanya tidak akan signifikan hingga 24 jam.

Latihan

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

1) Sebutkan komposisi dari larutan Hayem!
2) Jelaskan kelebihan larutan Gower pada pemeriksaan jumlah eritrosit dibandingkan dengan larutan Hayem!
3) Jelaskan perhitungan eritrosit pada pemeriksaan manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer!*
4) Jelaskan efek dari menunda pemeriksaan terhadap pemeriksaan hitung sel darah merah!

5) Uraikan cara perhitungan indeks eritrosit menggunakan data jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung eritrosit secara manual.
2) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung eritrosit secara manual.
3) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung eritrosit secara manual.
4) Pelajari kembali materi faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit.
5) Pelajari kembali materi menggunakan referensi yang tersedia.

Ringkasan

Pemeriksaan hitung jumlah eritrosit merupakan salah satu parameter laboratorium dalam *screening* kasus anemia. Hitung jumlah eritrosit, pemeriksaan kadar hemoglobin, dan hematokrit juga digunakan untuk menghitung nilai indeks eritrosit.

Eritrosit adalah sel darah yang bulat atau agak oval, tampak seperti cakram biconcaf dan tidak berinti dengan ukuran 7-8 µm. Sel ini merupakan bagian terbesar dari sel darah, dengan jumlah sekitar 4-6 juta/mm^3.

Larutan Hayem atau larutan Gower yang digunakan pada pemeriksaan hitung eritrosit secara manual, sebagai pengencer akan dicampurkan dalam pipet eritrosit dengan pengenceran 200 X. Dengan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* maka eritrosit dihitung pada 5 kotak sedang.

Hasil hitung eritrosit yang digunakan bersama dengan data PCV/Hct serta kadar Hb, dapat menghasilkan informasi lanjutan yaitu indeks eritrosit yang terdiri dari MCV, MCH, MCHC yang akan memberikan gambaran lebih lanjut tentang eritrosit. Pada kondisi anemia, indeks eritrosit ini dapat digunakan untuk membedakan jenis anemia berdasarkan morfologi eritrosit sehingga dapat dilakukan pemeriksaan lanjutan seperti kadar ferritin pada anemia mikrositik hipokromik dan sejenisnya.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan hitung eritrosit menggunakan larutan pengencer Hayem. Dengan menggunakan larutan Hayem, ternyata eritrosit mengalami aglutinasi, sehingga harus mengganti larutan pengencer yang sesuai agar tidak terjadi aglutinasi. Larutan pengencer apakah yang sesuai dengan kasus tersebut?
   A. Turk
   B. HCl 0,1 N
   C. NaCl 0,85%
   D. Natrium sulfat
   E. Asam asetat glasial

2) Seorang ATLM memeriksa sampel darah bayi untuk pemeriksaan eritrosit dengan menggunakan kamar hitung didapatkan hasil sebesar 4,4 jt/µL. Bagaimana interpretasi hasil tersebut?
   A. Dalam batas normal
   B. Bayi mengalami anemia
   C. Perlu diperiksa secara serial Hb dan jumlah eritrositnya
   D. Peningkatan hasil terkait dengan hipoksia
   E. Hasil lebih rendah menunjukkan adanya hemolisis bayi baru lahir

3) Seorang ATLM mendapatkan rujukan sampel darah EDTA untuk pemeriksaan hitung eritrosit. Perhitungan dengan metode manual, dengan menggunakan pipet thoma eritrosit dan kamar hitung. Apa reagen yang digunakan pada pemeriksaan tersebut?
   A. Eosin
   B. Turk
   C. Hayem
   D. Drabkins
   E. Rees Ecker

4) Hasil pemeriksaan Hb, Hct, dan jumlah eritrosit pada pasien perempuan, usia 50 tahun, digunakan untuk mengetahui jenis anemia yang diderita pasien, dengan hasil: Hb 9 g/dL, AE $3x10^6/mm^3$, Hct 27%. Konfirmasi dilakukan dengan pembuatan apusan darah tepi. Bagaimana gambaran eritrosit pada kasus tersebut?
   A. MCV meningkat

B. Gambaran anisositosis
C. Normositik
D. Aglutinasi eritrosit
E. Hemolisis autoimun

5) ATLM mengerjakan perhitungan jumlah eritrosit manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* dengan pengenceran 200 X. Jika ditemukan 450 sel pada 5 kotak sedang, berapa jumlah eritrosit/mm^3?
A. 1.500.000
B. 3.000.000
C. 4.000.000
D. 4.500.000
E. 6.000.000

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 5
Pemeriksaan Hitung Jumlah Trombosit

Hemostasis yang bertujuan mencegah perdarahan, tergantung beberapa komponen. Ada empat komponen utama yang berperan pada pada hemostasis, yaitu sistem vaskuler, trombosit, faktor pembekuan darah, dan fibrinolysis untuk perbaikan jaringan. Trombosit bergerak bebas melalui lumen pembuluh darah. Agar hemostasis berlangsung dengan baik, trombosit harus terdapat dalam jumlah yang normal sekaligus berfungsi dengan baik. Saat berperan dalam pembentukan sumbat trombosit, trombosit akan melalui tahap adhesi, agregasi, dan stabilisasi.

Pembentukan sumbat trombosit menjadi tidak berjalan dengan baik jika jumlah trombosit kurang dari normal (trombositopenia) dan/atau fungsi trombosit yang kurang baik (tromboastenia). Pada topik 5 ini akan dibahas pemeriksaan hitung jumlah trombosit, sedangkan untuk tes fungsi trombosit, seperti agregasi trombosit dan retraksi bekuan, akan dibahas pada kesempatan yang lain.

A. TROMBOSIT

Trombosit adalah sel darah terkecil dalam komposisi darah. Trombosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1-4 µm dan memiliki volume 7-8 fL. Trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit yang berada dalam sumsum tulang. Megakariosit yang matang ditandai dengan proses makin besarnya volume plasma sehingga sitoplasma menjadi granuler dan terjadi pelepasan trombosit. Setiap megakariosit mampu menghasilkan 3000-4000 trombosit.

Gambar 3.15
Megakariosit dan Fragmentasi Membentuk Trombosit

Trombosit diaktivasi setelah kontak dengan permukaan endotel pembuluh darah. Masa hidup trombosit sekitar 7 – 10 hari. Dua pertiga dari seluruh trombosit terdapat di dalam sirkulasi dan sepertiganya terdapat di limpa.

B. JENIS PEMERIKSAAN HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

Pemeriksaan jumlah trombosit dapat dilakukan secara langsung maupun tak langsung. Secara langsung menggunakan metode Rees Ecker, metode Brecher Cronkite, dan *Cell Counter Automatic*. Hitung trombosit secara tidak langsung menggunakan metode Fonio dan estimasi dilakukan denga metode Barbara Brown.

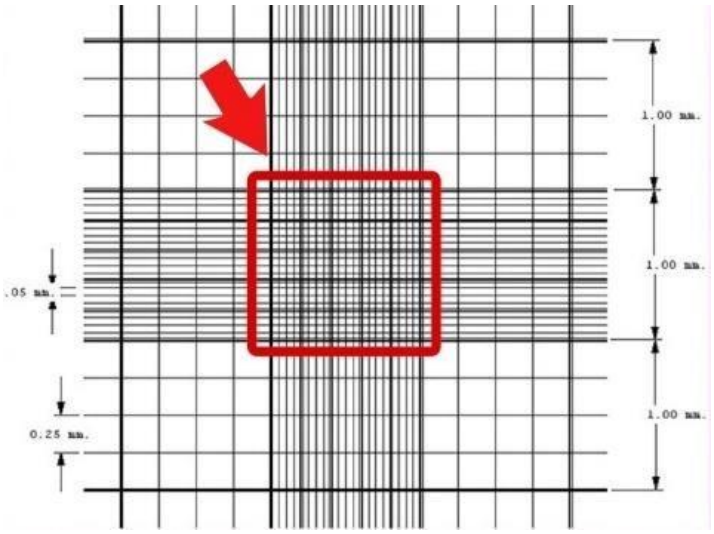
1. Hitung Trombosit Secara Langsung

Trombosit dapat dilihat pada kamar hitung *Improved Neubauer* dengan bantuan mikroskop cahaya biasa atau mikroskop fase kontras. Pada perhitungan tak langsung ditambahkan pelarut *brilliant cresyl blue* (Rees Ecker) pada specimen darah vena berantikogulan, yang mewarnai trombosit menjadi kebiruan dan memungkinkan identifikasinya melalui cara pembiasan/refraktil, mengkilat dengan ukuran lebih kecil dari eritrosit, berbentuk bulat atau lonjong/koma tersebar atau bergerombol.

Larutan Rees Ecker dibuat dari Natrium citrate 3,8 g, Briliant Cresyl Blue 0,1 g, formalin 0,2 g dan aquadest 100 mL. Larutan Rees Ecker harus disimpan dalam lemari es dan disaring dahulu sebelum digunakan.

Pilihan mengidentifikasi platelet dengan mikroskop fase kontras, dengan pelarut ammonium oksalat, hasil hitungnya akan lebih presisi dibandingkan dengan mikroskop cahaya, karena eritrosit akan dilisiskan sehingga memudahkan perhitungan trombosit dengan latar belakang yang gelap. Hitung trombosit manual umumnya tidak presisi, terutama bila jumlah trombosit rendah. Tehnik manual juga membutuhkan banyak sumber daya tenaga dan waktu, sehingga bila ini hanya satu-satunya cara yang tersedia, hanya dilakukan bila jelas indikasi klinisnya.

Dengan menggunakan pipet eritrosit dengan pengenceran 200 X larutan Rees Ecker atau ammonium oksalat, campuran diteteskan di kamar hitung *Improved Neubauer*, dan dilakukan perhitungan sel pada 1 kotak besar di tengah kamar hitung atau 25 kotak sedang di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyektif 40 X.



Gambar 3.16
Area Hitung Trombosit pada Kamar Hitung Improved Neubauer

Perhitungan jumlah trombosit per mm^3 adalah

$$\text{Jumlah trombosit} = \frac{\text{jumlah sel yang ditemukan x pengenceran}}{\text{Volume kamar hitung}}$$

Luas kotak besar 1 x 1 mm. Tinggi kamar hitung 0.1 mm. Volume 1 kotak besar = 1 x 1 x 0.1 = 0.1 mm^3

Faktor pengali dapat dihitung dari = 200 x 10 = 2.000
Contoh : didapatkan sel yang dihitung dalam 25 kotak sedang atau 1 kotak besar tengah kamar hitung sejumlah 80 sel,

maka jumlah hitung trombosit 80 x 2.000 = 160.000 sel/mm^3

1. Hitung Trombosit Secara Tidak Langsung

Hitung trombosit secara tidak langsung menggunakan metode Fonio, yang dilakukan dengan menggunakan darah kapiler pada ujung jari yang dicampur dengan larutan magnesium sulfat 14%, kemudian dibuat apusan darah tepi dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah trombosit dihitung per 1.000 eritrosit. Hasil metode ini akan menghasilkan kesalahan yang lebih kasar dibandingkan metode langsung.

2. Hitung Trombosit Secara Otomatik

Trombosit dapat dihitung menggunakan mesin penghitung impedansi semi otomatis menggunakan preparat plasma kaya platelet. Namun penting untuk melakukan koreksi terhadap kejadian kebetulan dan penggunaan dua atau tiga ambang, untuk menyingkirkan debris dan kontaminan sel-sel darah merah dan sel-sel darah putih. Tehnik ini juga membutuhkan banyak sumber daya tenaga dan waktu, dan rentan terjadi kesalahan karena terdiri dari beberapa langkah.

Laboratorium yang memiliki mesin hitung otomatis untuk sel darah merah otomatis, tapi tidak mempunyai mesin hitung platelet otomatis, dapat menaksir jumlah trombosit dengan mengukur sel darah merah kemudian mengonversinya menjadi jumlah platelet berdasarkan rasio sel darah merah – trombosit pada gambaran darah tepi. Namun demikian, cara paling ideal untuk menghitung trombosit yang diperlukan oleh praktek kedokteran masa kini adalah dengan mesin hitung otomatis penuh.

Mesin-mesin semacam ini menghitung trombosit menggunakan tehnik impedansi, hamburan cahaya, atau tehnik fluorosensi optik. Pada mesin otomatis ini, sel-sel darah dihitung setelah mereka diurutkan ukurannya. Sel-sel kecil berukuran 2-20 fL (ambang bervariasi untuk masing-masing mesin) dianggap sebagai trombosit. Bila terdapat *giant thrombocyte* atau *clumping* trombosit, mereka tidak akan dihitung dan hasilnya akan di bawah nilai seharusnya. Di sisi lain, adanya partikel-partikel kecil seperti fragmentosit atau mikrosit akan menyebabkan hasil di atas nilai seharusnya.

Hematology analyzer modern dapat mengenali faktor-faktor pengganggu ini dan akan melakukan koreksi secara algoritma untuk memperoleh hasil hitung trombosit yang sebenarnya. Bila didapati hasil yang tidak diharapkan atau tampak aneh, perlu dilakukan pemeriksaan silang dengan gambaran darah tepi. Pseudotrombositopenia dapat disebabkan oleh agregasi trombosit karena adanya EDTA, yang tidak terjadi bila kita memakai heparin atau sitrat sebagai antikoagulan.

Trombosit dapat dihitung menggunakan *whole blood* dengan tehnik deteksi elektro-optikal yang sama yang digunakan untuk menghitung sel darah merah. Ambang batas atas diperlukan untuk memisahkan trombosit dengan sel darah merah, dan ambang bawah untuk memisahkan trombosit dari debris dan derau/noise elektronik. Resirkulasi sel darah merah

sekitar alat sensor sebisa mungkin harus dicegah karena impuls yang dibangkitkan akan menyerupai yang dibangkitkan oleh trombosit.

Digunakan 3 tehnik untuk menetapkan ambang batas ini yaitu:

a. trombosit dihitung antara dua ambang yang tetap (misal antara 2 hingga 20 fL);
b. impuls antara ambang-ambang yang tetap dihitung dengan menempatkan mereka di atas kurva dan kemudian diekstrapolasikan, sehingga trombosit yang terdeteksi di luar di luar dua ambang ini tetap dapat dimasukkan dalam perhitungan; dan
c. ambang dapat bervariasi secara otomatis, tergantung karakteristik sampel darah masing-masing, memungkinkan perhitungan sel-sel darah merah mikrositik atau terfragmen, atau untuk *giant thrombocyte*.

Jumlah trombosit yang rendah palsu mungkin merupakan akibat *giant thrombocyte* yang diidentifikasi sebagai sel darah merah, atau *clumping* platelet karena EDTA, atau satelitisme. Hal yang juga dapat menyesatkan adalah, jumlah platelet yang tinggi dapat terjadi karena sangat banyaknya sel darah merah yang mikrositik atau terfragmen, karena pecahan atau fragmen sel-sel darah putih pada leukemia, atau karena bakteri dan jamur.

C. INTERPRETASI HASIL

Pada orang dewasa normal, terdapat kira-kira 150-400 x 10^9 per liter darah. Jumlah ini lebih tinggi pada wanita daripada laki-laki, yang juga bervariasi siklis, sedikit lebih rendah pada saat menstruasi.

Trombositopenia adalah berkurangnya jumlah trombosit di bawah normal. Trombositopenia dapat terjadi pada beberapa keadaan seperti gangguan produksi di sumsum tulang, meningkatnya trombosit yang dirusak oleh sistem imun, luka bakar, trauma, infeksi, transfuse darah, dan efek samping obat.

Trombositosis adalah meningkatnya jumlah trombosit di atas normal. Pada trombositosis apabila rangsangan pemicunya dihilangkan, maka jumlah trombosit akan kembali normal. Pemicu yang sering dialami adalah perdarahan akut saat pembedahan atau melahirkan.

Trombositemia yaitu peningkatan jumlah trombosit oleh proses keganasan misalnya leukemia mielositik kronik, dimana jumlah trombosit dapat melebihi 1 juta/mm^3.

Tabel 3.7

Kisaran Normal Hitung Trombosit Berdasarkan Kelompok Usia

Kelompok Usia	Hitung Trombosit (per µL)
Bayi (< 1tahun)	$3.5 – 6.6 \times 10^5$
Anak-anak (1-5 tahun)	$2.5 – 5.1 \times 10^5$
Dewasa	$1,7 – 4.0 \times 10^5$

D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI HASIL

Berikut ini adalah faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil hitung trombosit.

1. Jumlah trombosit umumnya meningkat pada dataran tinggi; setelah olahraga, trauma atau dalam kondisi gembira, dan dalam musim dingin.
2. Jumlah hitung trombosit umumnya menurun sebelum menstruasi dan selama kehamilan.
3. Trombosit yang mengalami *clumping* akan menurunkan hasil hitung jumlah trombosit.
4. Kontrasepsi oral menyebabkan sedikit peningkatan jumlah trombosit.
5. Platelet atau keping darah (trombosit) dihitung pada hemositometer, dapat menggunakan darah lengkap (*whole blood*) di mana sel darah merah dibiarkan tetap intak atau lisis, atau menggunakan plasma kaya platelet (*platelet-rich plasma*) yang disiapkan dari proses sedimentasi atau sentrifugasi.
6. Bila terdapat *giant thrombocyte*, lebih baik menggunakan metode darah lengkap untuk menghindari resiko hilang atau rusaknya sel tersebut selama proses persiapan. *Giant thrombocyte* dapat dibedakan dari sel-sel darah merah oleh bentuk trombosit, yang cenderung oval daripada bulat, dan tepiannya yang tidak teratur, dengan tonjolan-tonjolan halus yang kadang terlihat. Sementara metode yang menggunakan plasma kaya platelet lebih unggul bila jumlah platelet adalah rendah.
7. Penggunaan amonium oksalat sebagai pelarut pada pemeriksaan hitung jumlah trombosit, yang melisiskan sel darah merah, memberikan hasil yang lebih tinggi namun lebih akurat daripada penggunaan formolsitrat, di mana sel darah merah tetap intak.
8. Hitung trombosit paling baik dilakukan menggunakan darah vena dengan antikoagulan. Sedangkan hasil hitung platelet dari sampel darah yang diperoleh secara kapiler dari ujung jari cenderung akan lebih rendah.

Latihan

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

1) Jelaskan perbedaan pemeriksaan hitung jumlah trombosit menggunakan pengencer larutan Rees Ecker dan Amonium oksalat!
2) Jelaskan prosedur pemeriksaan hitung trombosit menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer!*
3) Jelaskan perhitungan trombosit pada pemeriksaan manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer!*
4) Jelaskan pengaruh penggunaan EDTA sebagai antikoagulan pada pemeriksaan trombosit secara otomatis!
5) Jelaskan istilah-istilah abnormalitas jumlah trombosit dalam darah!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung trombosit secara langsung.
2) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung trombosit secara langsung.
3) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung trombosit secara langsung.
4) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung trombosit secara otomatis.
5) Pelajari kembali materi interpretasi hasil hitung jumlah trombosit.

Ringkasan

Trombosit adalah sel darah terkecil dalam komposisi darah. Trombosit adalah sel darah yang tidak berinti, berbentuk cakram dengan diameter 1-4 µm dan memiliki volume 7-8 fL. Trombosit berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit yang berada dalam sumsum tulang.

Pemeriksaan jumlah trombosit dapat dilakukan secara langsung maupun tak langsung. Secara langsung menggunakan metode Rees Ecker, metode Brecher Cronkite, dan *Cell Counter Automatic*. Hitung trombosit secara tidak langsung menggunakan metode Fonio dan estimasi dilakukan denga metode Barbara Brown.

Pada perhitungan tak langsung ditambahkan pelarut brilliant cresyl blue (Ress Ecker) pada specimen darah vena berantikogulan, yang mewarnai platelet menjadi kebiruan dan memungkinkan identifikasinya melalui cara pembiasan. Bila didapati hasil yang tidak diharapkan pada pemeriksaan otomatis, perlu dilakukan pemeriksaan silang dengan gambaran darah tepi.

Pseudotrombositopenia dapat disebabkan oleh agregasi trombosit karena adanya EDTA, yang tidak terjadi bila kita memakai heparin atau sitrat sebagai antikoagulan, sehingga menimbulkan hasil rendah palsu. Trombositopenia, trombositosis, dan trombositemia adalah kelainan jumlah trombosit. Perlu diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hitung trombosit.

Tes 5

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*, dan mendapatkan hasil pemeriksaan trombosit abnormal. ATLM tersebut diminta melakukan pemeriksaan konfirmasi. Apa pemeriksaan konfirmasi yang harus dilakukan ATLM itu?
   A. Pemeriksaan ulang
   B. Pembuatan hapusan darah
   C. Pemeriksaan dengan kamar hitung
   D. Melakukan pengambilan darah ulang
   E. Melakukan perbaikan quality control

2) Seorang ATLM menghitung trombosit menggunakan kamar hitung *improved neubauer*. Sampel ditambah dengan larutan pengencer kemudian dihitung jumlah sel trombosit. Sel trombosit akan terwarnai terang kebiruan, akan tetapi eritrosit tidak dilisiskan. Zat warna apakah yang digunakan pada pemeriksaan tersebut?
   A. Eosin
   B. Formalin
   C. Natrium sitrat
   D. Kristal violet
   E. Brilliant Cresyl Blue

3) ATLM menemukan perhitungan trombosit rendah pada hasil pemeriksaan otomatis. Dan melakukan pemeriksaan konfirmasi dengan pembuatan apusan darah tepi dan ditemukan agregasi trombosit terkait antikoagulan. Apa jenis antikoagulan yang dimaksud pada kasus tersebut?
   A. EDTA
   B. Heparin

C. Oksalat
D. Na sitrat
E. Fluoride

4) Seorang ATLM akan melakukan hitung jumlah trombosit cara langsung metode tabung, dengan cara 20 µL darah ditambahkan ke dalam 3,98 ml reagen amonium oksalat 1%. Setelah dilakukan perhitungan didapatkan 150 sel trombosit dalam 25 kotak sedang di tengah. Berapakah jumlah trombosit dalam mm^3?
A. 300.000 sel.
B. 150.000 sel.
C. 200.000 sel.
D. 250.000 sel.
E. 350.000 sel.

5) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung trombosit secara manual menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer.* Pengenceran menggunakan pipet lekosit dilakukan karena jumlah trombosit yang rendah. Berapa kali pengenceran yang digunakan pada kasus tersebut?
A. 10 X
B. 20 X
C. 50 X
D. 100 X
E. 200 X

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 5 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 5.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 6. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 5, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 6
Pemeriksaan Hitung Jenis Lekosit

Hitung jenis lekosit adalah mengelompokkan lekosit ke dalam jenis masing-masing lekosit, yang dapat ditampilkan dalam persentase, atau bila hitung lekosit ada, dinyatakan sebagai hitung absolut. Sesuai rekomendasi ICSH hitung jenis lekosit dinyatakan sebagai angka absolut.

Hitung jenis manual dikerjakan oleh seorang ATLM dengan mengamati preparat hapusan darah menggunakan mikroskop. Hitung jenis yang dikerjakan secara otomatis saat ini umumnya menggunakan *hematology analyzer* (*flow cytometry)* sebagai bagian dari pemeriksaan hitung darah lengkap (*complete blood count*), di mana perbedaan antar jenis didasarkan pada ciri-ciri khas sel seperti inti, rasio inti dan sitoplasma, warna dan ukuran granula, dan ukuran sel.

A. JENIS LEKOSIT

Lekosit pada darah tepi dapat dikelompokkan menjadi lima atau enam jenis, tergantung apakah neutrophil batang dipisahkan perhitungannya dengan neutrophil segmen, atau dihitung bersama-sama. Jenis-jenis lekosit itu adalah sebagai berikut.

1. Neutrophil

Pada orang dewasa normal, neutrophil berjumlah lebih dari setengah lekosit yang bersirkulasi. Neutrophil adalah pertahanan utama tubuh terhadap infeksi bakteri piogenik. Neutrophil normal kira-kira berdiameter 13 µm pada preparat hapus. Mereka memiliki inti yang bersegmen, dengan sitoplasma berwarna ungu muda dengan granulasi halus. Sebagian besar neutrophil mempunyai tiga segmen inti (lobus) yang terhubung oleh pita-pita kromatin. Kromatin umumnya bertumpuk-tumpuk dan tampak padat di tepian inti sel.

Sebagian kecil lagi memiliki empat lobus, bahkan terkadang hingga lima lobus. Neutrophil dengan lobus lebih dari 5 disebut dengan neutrophil hipersegmen, yang sering ditemukan pada anemia defisiensi vitamin B12.

Gambar 3.17

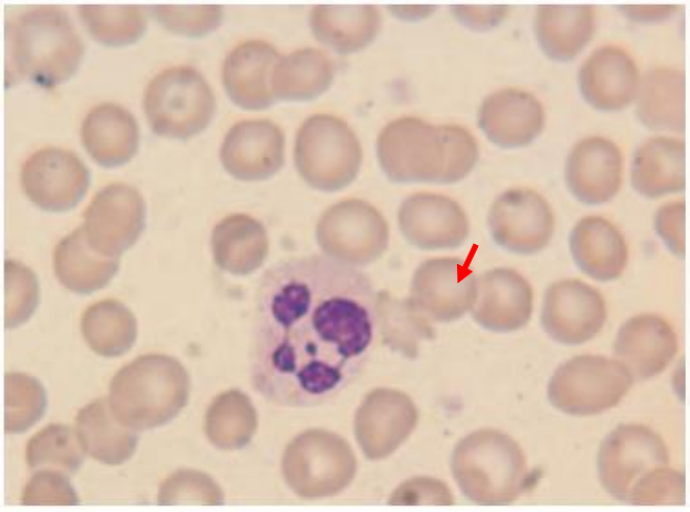
Apusan Darah Tepi - Neutrophil Hypersegmen

Sampai 8 persen dari populasi neutrophil yang bersirkulasi adalah neutrophil yang tidak bersegmen atau bersegmen sebagian (bentuk batang atau pita). Sejumlah kecil neutrophil batang ini terlihat pada orang sehat. Meningkatnya jumlah neutrophil batang relatif terhadap jumlah neutrophil disebut sebagai pergeseran ke kiri (*shift to the left*). Bila pergeseran ke kiri terjadi, prekursor neutrophil yang lebih imatur daripada bentuk batang (metamielosit, mielosit, promielosit, dan sel-sel *blast*) mungkin terikut dilepaskan ke aliran darah. Pergeseran ke kiri ini merupakan fenomena fisiologis selama kehamilan. Pada kondisi non kehamilan, kejadian ini sering merupakan penanda adanya respon infeksi atau inflamasi, atau rangsangan lain terhadap sumsum tulang.

Gambar 3.18

Apusan Darah Tepi - Neutrophil Batang

Pada wanita, 2-3 persen neutrophil memperlihatkan semacam tonjolan pada segmen inti bagian ujung, yang disebut "*drumstick*" dengan diameter sekitar 1,5 µm dan terhubungkan dengan inti oleh semacam ranting pendek. Ini menggambarkan kromosom X yang inaktif dan berhubungan dengan badan Barr pada sel-sel bukal mulut.

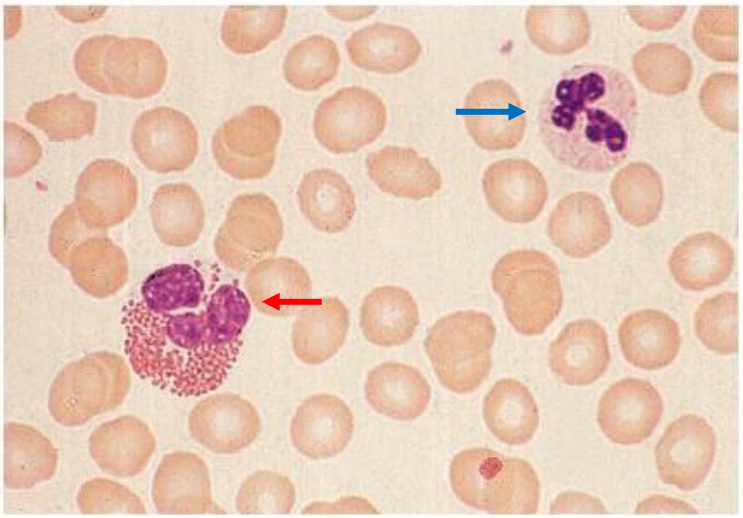


Gambar 3.19

Apusan Darah Tepi - Neutrophil Wanita dengan *Drumstick*

2. Eosinofil

Eosinofil sedikit lebih besar dari neutrophil, diameternya 12-17 µm. Eosinofil biasanya memiliki dua segmen inti, dan sitoplasmanya dipenuhi oleh granula-granula merah jingga bulat yang khas (eosinofilik). Sitoplasma di bawahnya, yang biasanya tertutup oleh banyaknya granula, berwarna biru pucat.



Gambar 3.20

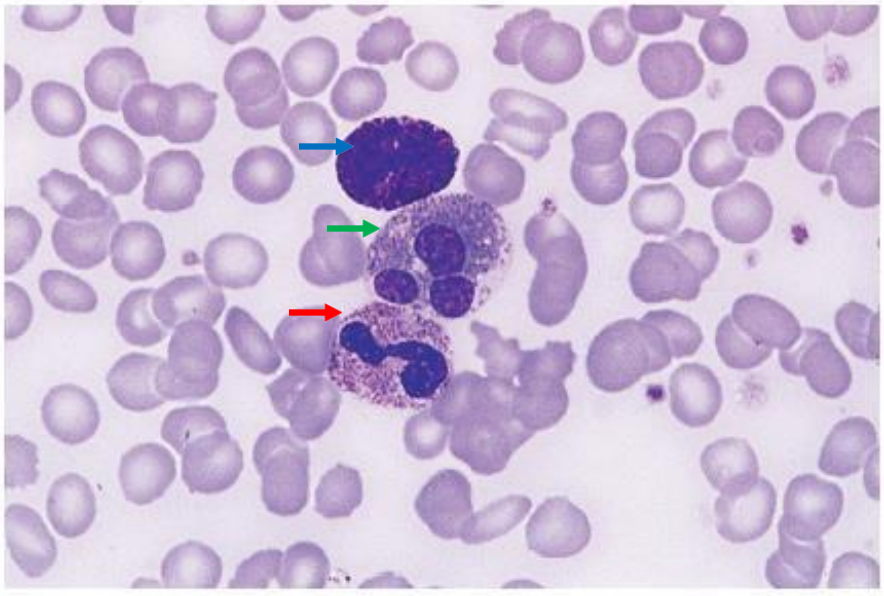
Preparat Apusan Darah Tepi – Neutrophil Segmen (Biru) dan Eosinofil (merah)

Pemberian steroid jangka panjang akan menyebabkan eosinopenia. Eosinofilia sedang terjadi pada keadaan alergi, infeksi parasit, dan eosinofilia reaktif seperti pada kasus leukemia eosinofilik dan sindrom hipereosinofilik idiopatik.

3. Basofil

Basofil adalah lekosit bersirkulasi yang paling jarang (kurang dari 1 persen). Segmen inti basofil cenderung menumpuk satu sama lain, menyebabkan gambaran inti padat yang tidak teratur, menyerupai bunga lotus yang masih menguncup. Gambaran granula sitoplasma basofil yang khas, besar, bervariasi ukurannya, berwarna biru gelap atau ungu sering membuat inti tidak terlihat.

Basofil kaya akan histamin, serotonin dan heparin. Basofil cenderung mengalami degranulasi, menyebabkan vakuola di sitoplasmanya. Basofil akan naik jumlahnya pada kondisi neoplasma mieloproliferatif, dan sangat menonjol pada leukemia mielogenik kronis, di mana jumlah basofil yang lebih dari 10 persen pada hitung jenis merupakan tanda akan terjadinya krisis *blast*.



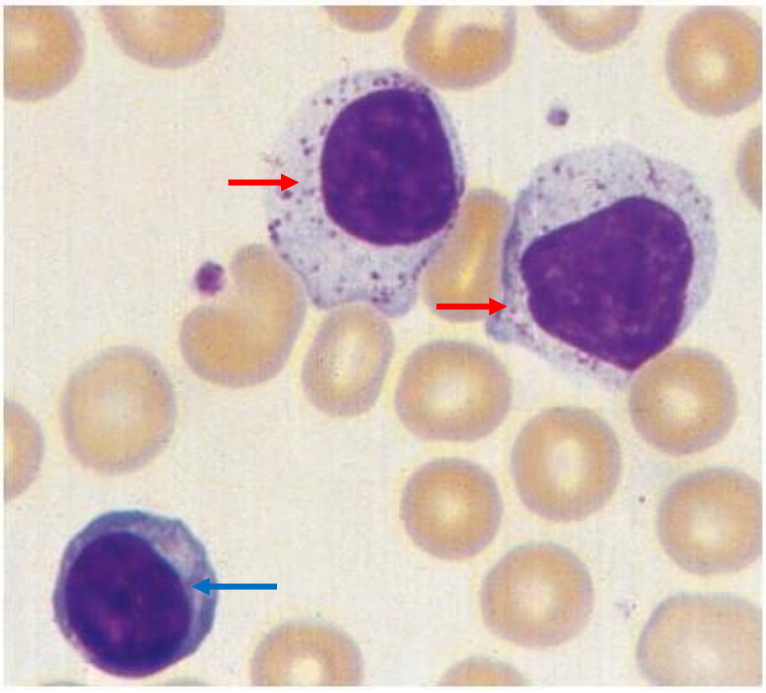
Gambar 3.21

Apusan Darah Tepi – Basofil (biru), Eosinofil (merah) dan Neutrophil (hijau)

4. Limfosit

Sebagian besar limfosit yang bersirkulasi adalah limfosit kecil dengan sitoplasma yang tipis, yang jarang mengandung granula-granula azurofilik. Inti limfosit kecil berdiameter sekitar 9 µm. Ini memberikan panduan yang berguna untuk memperkirakan ukuran eritrosit (normalnya 7-8 µm) pada preparat hapus. Sekitar 10 persen limfosit yang bersirkulasi ukurannya lebih besar, dengan sitoplasma berwarna biru pucat yang luas, yang mengandung

granula azurofilik. Inti limfosit memiliki kromatin yang homogen dengan sedikit yang menggerombol di bagian tepinya. Sekitar 85 persen limfosit yang bersirkulasi adalah sel-sel T atau sel-sel NK (*natural killer*).

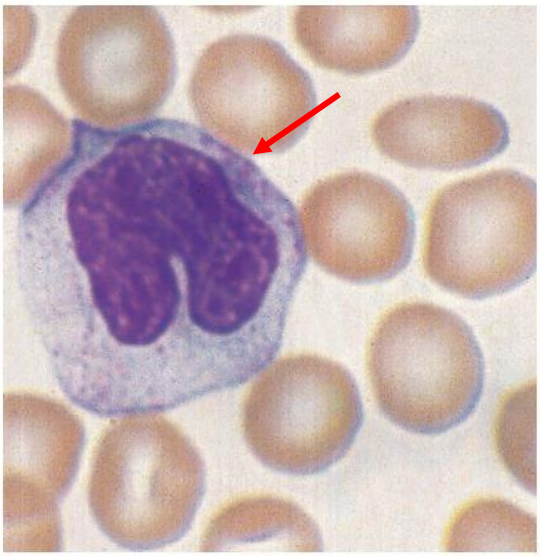


Gambar 3.22

Apusan Darah Tepi – Sebuah Limfosit Kecil (biru), dan 2 Limfosit Besar Dengan Granula Azurofiliknya (merah)

5. Monosit

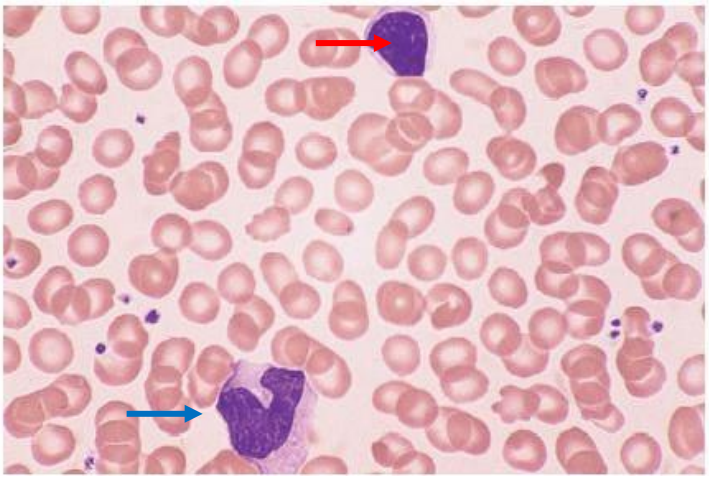
Monosit adalah lekosit yang paling besar, berdiameter 15-18 µm. Monosit mempunyai sitoplasma berwarna abu-abu kebiruan yang mengandung sejumlah granula kemerahan yang halus. Intinya besar dan melengkung, sering dalam bentuk tapal kuda, namun dapat juga dalam bentuk terlipat atau melingkar dan tidak tersegmentasi dengan kromatinnya halus dan tersebar merata.



Gambar 3.23

Apusan Darah Tepi - Monosit Pada Kondisi Normal

Meningkatnya jumlah monosit didapati pada beberapa infeksi dan peradangan kronis seperti tuberkulosis dan penyakit Crohn, pada leukemia mieloid kronis (terutama leukemia mieloid kronis atipikal dan leukemia mielomonositik kronis), dan pada leukemia akut dengan komponen monosit. Pada leukemia mielomonositik kronis, jumlah monosit matur dapat mencapai sebanyak 100 x 10^9/L.



Gambar 3.24

Apusan Darah Tepi – Monosit (biru) dan Limfosit Reaktif (merah)

Terkadang sulit membedakan monosit abnormal dengan limfosit T besar yang teraktivasi, yang terdapat pada penyakit mononukleosis infeksiosa, atau dari sel-sel limfoma berdiferensiasi tinggi.

B. JENIS PEMERIKSAAN HITUNG JENIS LEKOSIT

Pemeriksaan hitung jenis lekosit merupakan bagian dari pemeriksaan darah rutin yang dikerjakan dengan indikasi adanya kasus demam atau sangkaan infeksi, kasus alergi dan obat, dan juga dapat mengidentifikasi jenis leukemia. Pemeriksaan hitung jenis lekosit dapat dilakukan secara manual maupun menggunakan alat hitung otomatis.

1. Secara Manual Dengan Apusan Darah Tepi

Pemeriksaan hapusan darah menggunakan spesimen darah kapiler atau darah EDTA, dan sebaiknya dikerjakan tidak lebih dari 3 jam pasca pengambilan. Kaca preparat harus bebas minyak, karena dapat terjadi agregasi sel atau presipitasi zat pewarna. Untuk membersihkan minyak kaca dapat direndam selama beberapa jam dalam larutan etanol dan dibiarkan hingga kering.

Cara kerja pembuatan apusan darah tepi adalah sebagai berikut.

a. Darah diteteskan dekat bagian tepi kaca preparat.
b. Kaca penutup (kaca penyebar) diletakkan di depan tetesan, membentuk sudut 30 derajat, kemudian kaca penutup tersebut digeser hingga menyentuh tetesan darah. Begitu kontak dengan kaca penutup, darah akan menyebar sepanjang tepi kaca penutup. Tanpa menekan, kini kaca penutup digeser digerakkan pada kaca preparat. Semakin cepat kaca penutup digerakkan dan makin tegak posisinya, semakin tipis lapisan hapusan yang dihasilkan.
c. Sediaan dibiarkan mengering di udara, berikan identitas pasien.
d. Warnailah sediaan dengan larutan pewarna Wright atau Giemsa.
    1) Pewarna Wright
        a) Sediaan apus diletakkan di atas rak pengecatan dengan lapisan darahnya di bagian atas.
        b) Genangi dengen beberapa tetes larutan cat hingga seluruh lapisan darah tergenang, biarkan selama 2 menit.
        c) Teteskan larutan buffer fosfat dengan pH 6,4, biarkan selama 15-20 menit.
        d) Buang sisa larutan cat dan buffer, siram sediaan dengan air mengalir secara tidak langsung pada lapisan darahnya.
        e) Letakkan sediaan pada posisi vertikal/miring agar mongering di udara.
        f) Catatan: larutan Wright telah mengandung metanol dalam konsentrasi tinggi, sehingga sediaan apus tidak perlu difiksasi tersendiri sebelum pewarnaan.

2) Pewarna Giemsa

a) Lakukan fiksasi sediaan dengan metanol absolut, genangi sediaan dan biarkan sampai mongering.

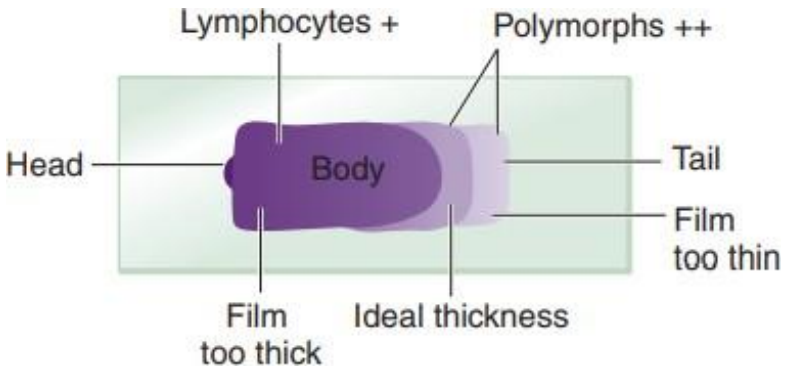
b) Encerkan larutan Giemsa dengan buffer fosfat 10 X, yaitu 1 bagian Giemsa diencerkan dengan 9 bagian buffer.

c) Letakkan sediaan yang telah difiksasi dengan metanol di atas rak pengecatan. Berikan beberapa tetes larutan Giemsa yang telah diencerkan dan telah disaring, sehingga seluruh lapisan darah tergenang oleh cat. Biarkan selama 15-20 menit.

d) Buang sisa larutan cat, kemudian siram sediaan dengan air mengalir. Kerjakan tanpa mengguyur air secara langsung pada sediaan, melainkan mengalirkan melalui tangan pemeriksa.

e) Letakkan sediaan pada posisi vertikal/miring sampai sediaan mengering di udara.

e. Sediaan apusan darah ini pertama dilihat dengan lensa obyektif 10 X, untuk menilai kepadatan sel dan untuk memilih area hitung yang baik.



Gambar 3.25

Sediaan Apusan Darah Tepi Dengan Sebaran Lekosit

f. Proyeksi sel paling baik biasanya berada 1 cm dari ujung akhir hapusan. Pada pembesaran 40 X, kita dapat mengharapkan menemukan satu dua lekosit per lapang pandang bila hitung lekosit jumlahnya normal. Terkadang perlu menggunakan perkiraan kasar untuk pemeriksaan silang dengan hasil kuantitatif yang mestinya tidak mungkin. Sementara pembesaran 100 X digunakan untuk memeriksa secara detail sel darah putih, dengan bantuan minyak imersi.

2. Secara Otomatis Dengan *Hematology Analyzer*

Setelah eritrosit mengalami lisis, *hematology analyzer* menentukan dan menghitung jumlah sel-sel berinti yang tersisa dengan beberapa macam tehnik. Semua mesin memanfaatkan aneka ciri-ciri sel, seperti ukuran, interaksi dengan hamburan sinar pada sudut yang berbeda-beda, konduktivitas listrik, rasio inti-sitoplasma dan reaksi peroksidase, untuk menggabungkan impuls-impuls sel individual menjadi kelompok. Kelompok ini selanjutnya dihitung dan dikelompokkan menjadi beberapa jenis lekosit.

Jika sel-sel darah normal, pengelompokan ke jenis lekosit yang bermacam-macam ini akan bekerja dengan baik, dengan tingkat presisi mesin otomatis melampaui hitung manual. Namun, bila ditemukan sel-sel patologis dalam jumlah banyak, seperti sel-sel *blast*, sampel akan dianggap sebagai "patologis", dan pemeriksaan perlu dilanjutkan dengan cara manual.

Kesulitan akan muncul bila hanya terdapat sedikit sel-sel patologis, atau bila wujud sel-sel patologis sangat menyerupai lekosit normal. Kondisi patologis ini tidak selalu dapat dikenali alat, sehingga akan menyebabkan hasil negatif palsu. Karena itulah, laporan hasil pemeriksaan hitung lekosit yang abnormal perlu diperiksa lebih lanjut secara manual dengan mikroskop.

C. INTERPRETASI HASIL

Hitung jenis lekosit menentukan jumlah relatif atau persentase dari berbagai jenis lekosit yang ada dalam darah, yang memberikan informasi mengenai berbagai penyakit ataupun dalam kondisi normal. Hitung jenis lekosit ini sering diabaikan jika hitung jumlah lekosit adalah normal. Namun demikian ternyata ada beberapa kelainan seperti keganasan, inflamasi, dan kelainan imunologik dapat mengakibatkan perubahan prosentase jenis lekosit meski jumlah lekositnya dalam batas normal.

Tabel 3.7

Referensi Hitung Jenis Lekosit pada Populasi Dewasa Normal

Jenis Lekosit	Nilai Relatif (%)	Jumlah Absolut (/mm^3)
Neutrophil Batang	0 - 12	0 – 1.440
Neutrophil Segmen	36 – 73	1.260 - 7300
Eosinofil	0 – 6	0 – 500
Basofil	0 - 2	0 – 150
Limfosit	15 – 45	800 – 4000
Monosit	0 – 10	100 – 800

Peningkatan jumlah neutrophil disebut dengan neutrophilia yang dapat timbul pada kondisi fisiologi seperti respon terhadap stress (fisik, panas, dingin, olah raga, stress emosi, habis melahirkan). Neutrophilia juga dapat timbul akibat patologis seperti infeksi bakteri, radang rematik, gout, kerusakan jaringan, luka bakar, pembedahan, dan diabetes mellitus.

Penurunan jumlah neutrophil disebut dengan neutropenia yang dapat dijumpai pada kasus infeksi virus, anemia, penyakit hati, dan leukemia. Jumlah absolut neutrophil segmen dan batang dianggap sebagai penanda inflamasi yang kurang spesifik dibandingkan tes-tes lain, karena hitung lekosit total sering sangat rendah pada pasien-pasien infeksi berat. Kondisi ini dikarenakan pergerakan granulosit yang bersirkulasi masuk ke jaringan tempat infeksi terjadi.

Namun demikian, hitung absolut mungkin penting artinya pada kasus-kasus inflamasi lain. Cara menghitung jumlah sel absolut dengan mengalikan total lekosit dan persentase jenis lekosit. Sebagai contoh, total lekosit 15.000/mm^3, dengan hitung jenis lekosit sebagai berikut, neutrophil batang 12%, neutrophil segmen 80%, limfosit 8%. Maka jumlah sel absolut neutrophil segmen adalah = 15.000 x 80% = 12.000 sel/mm^3.

Peningkatan jumlah eosinofil (eosinophilia) dapat dijumpai pada kasus alergi (asma, urtikaria, reaksi obat, ekzem kulit), penyakit parasit (kecacingan, amubiasis), dan leukemia. Penurunan jumlah eosinofil (eosinopenia) dapat dijumpai pada kondisi stress, syok, penggunaan obat-obat alergi dan steroid.

Basofilia yang ditandai dengan jumlah basofil yang meningkat dapat dijumpai pada proses keradangan, alergi, leukemia dan anemia hemolitik. Peningkatan jumlah limfosit yang dikenal sebagai limfositosis dijumpai pada infeksi virus, tuberculosis, sifilis, multiple myeloma, dan hipofungsi adrenokortikal. Penurunan limfosit yang disebut dengan limfopenia dapat terjadi pada AIDS dan sindroma imunodefisiensi, SLE, terapi steroid, dan leukemia.

Peningkatan jumlah monosit (monositosis) terkait infeksi virus (mononucleosis infeksiosa, parotitis, herpes zoster), SLE, anemia sel sabit, kanker dan leukemia. Penurunan jumlah monosit dapat dijumpai pada leukemia limfositk dan anemia aplastik (Riswanto, 2013).

D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

NRBC (*Nucleated Red Blood Cell*) dapat dimasukkan sebagai kategori terpisah pada hitung jenis, atau dapat juga ditampilkan hasilnya per 100 sel darah putih. Bila masuk kategori terpisah, hitung yang belum terkoreksi akan dinyatakan sebagai TNCC (*Total Nucleated Cell Count*) daripada WBC (*White Blood Cell*), dan ini digunakan untuk menghitung jumlah absolut sel. Bila ditampilkan dalam satuan per 100 sel darah putih, TNCC dikoreksi terhadap WBC dengan mengurangkan jumlah NRBC.

Laboratorium harus secara konsisten mengikuti salah satu cara ini. Namun ada yang berpendapat bahwa lebih baik tidak mengoreksi TNCC terhadap WBC, namun untuk menghitung jumlah absolut dari TNCC dan persentase masing-masing jenis sel, NRBC dimasukkan ke dalam hitung jenis. Keunggulan tehnik ini adalah bahwa TNCC nampaknya merupakan pengukuran yang presisi, sementara rasio NRBC terhadap WBC, yang dihitung dari jumlah NRBC per 100 WBC, cenderung tidak presisi. Oleh karena itu, lebih baik tidak menggantikan nilai TNCC yang lebih presisi dengan perkiraan WBC. Namun demikian, Komite Nasional untuk Standar Laboratorium Klinis Amerika Serikat (*US NCCLS)* merekomendasikan bahwa NRBC dinyatakan per 100 WBC.

Hitung jenis sel darah putih, seperti pemeriksaan laboratorium lain, dapat tidak akurat dan juga tidak presisi. Hitung jenis manual umumnya dianggap akurat, namun presisinya rendah. Sebaliknya hitung jenis yang dikerjakan dengan mesin dianggap presisi tapi terkadang tidak akurat.

1. Ketidakakuratan

Dengan hitung jenis manual, ketidakakuratan atau penyimpangan dari hasil hitung yang seharusnya dapat berasal dari maldistribusi dan salah identifikasi sel.

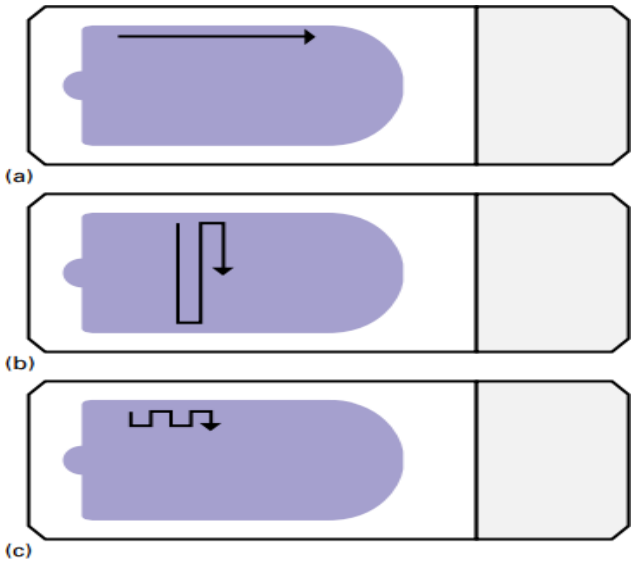
a. Maldistribusi Sel

Jenis-jenis sel darah putih sering tidak tersebar secara sempurna di kaca preparat pada pembuatan apusan darah tepi. Bagian ekor hapusan umumya mengandung lebih banyak neutrophil dan sedikit limfosit, sementara monosit biasanya tersebar secara imbang di sepanjang hapusan. Bila terdapat sel-sel imatur raksasa (sel blast, promielosit, dan mielosit), mereka seringnya tersebar secara relatif di tepi hapusan daripada di bagian tengah dan cenderung di sisi distal daripada proksimal, bila dibandingkan pada sebaran limfosit, basofil, neutrophil dan metamielosit. Maldistribusi sel ini terjadi bila hapusan terlalu tipis atau bila alat penyebar memiliki tepian yang kasar.

Telah dikembangkan aneka tehnik membaca preparat hapusan guna mengurangi kesalahan hitung akibat maldistribusi (lihat gambar 3.26). Sebuah metode teknik membaca yang terlihat di:

1) gambar (a) mampu mengkompensasi maldistribusi antara awal dan akhir hapusan, tetapi tidak berpengaruh terhadap maldistribusi antara bagian tengah dan tepi;
2) gambar (b), metode zigzag ("*battlement*") akan cenderung kebalikannya, karena hitung jenis "100 sel" tidak akan dapat mencakup bagian terbesar sepanjang hapusan; dan
3) gambar (c) adalah metode zigzag yang dimodifikasi menggabungkan kedua metode a dan b.

Dalam prakteknya, ketidakpresisian hitung manual sangatlah besar, sehingga sedikit ketidakakuratan yang disebabkan oleh maldistribusi sel tidak menyebabkan konsekuensi besar. Bila terdapat agregasi sel-sel darah putih, maldistribusi sel akan sangat nyata sehingga hitung jenis yang akurat tidak akan mungkin dilakukan.



Gambar 3.26
Tehnik Membaca Apusan Darah

b. Salah Identifikasi Sel

Ketidakakuratan karena kekeliruan mengidentifikasi sel biasanya tidaklah besar bila hitung jenis ini dikerjakan oleh ATLM yang berpengalaman dengan preparat hapusan yang baik. Salah identifikasi sel sering terjadi pada saat membedakan neutrophil segmen dengan neutrophil batang. Kriteria membedakan kedua macam sel ini berbeda antar laboratorium, dan pada ATLM sendiri sering tidak konsisten karena unsur subyektivitas. Salah identifikasi sel yang lain ialah membedakan monosit dengan limfosit besar, atau basofil degranulasi dengan neutrophil.

Adanya artefak akibat penyimpanan specimen darah akan menyebabkan hitung jenis menjadi sangat tidak akurat, seperti neutrophil degeneratif yang mungkin dianggap sebagai NRBC atau neutrophil yang mengalami disintegrasi dapat dihitung sebagai limfosit. Ketidakakuratan juga terjadi bila banyak sel-sel (terutama limfosit) yang rusak karena proses pembuatan preparat (*smear cells*), dan ini tidak ikut dihitung. Bila sel ini misalnya adalah limfosit, maka persentase dan hitung limfosit absolut akan menjadi rendah, dan persentase dan hitung sel-sel jenis lain akan menjadi tinggi.

Sel-sel *smear* yang asalnya dapat ditentukan sebaiknya dihitung dan dimasukkan ke kategori darimana mereka berasal. Sel-sel *smear* yang asalnya tidak jelas, harus tetap dihitung dan dimasukkan dalam kategori terpisah.

2. Ketidakpresisian

Ketidakpresisian atau kurang tepatnya hasil pengukuran apabila dikerjakan berulang kali dapat dinyatakan sebagai deviasi standar (SD) atau koefisien variasi (*CV, coefficient of variation*). Hitung manual jenis lekosit dapat menyebabkan presisi yang buruk. Presisi hitung absolut pada salah satu jenis sel tidak dapat lebih baik daripada tingkat presisi secara persentase, namun apabila dikerjakan pada mesin otomatis yang merupakan alat ukur yang lumayan presisi, hasilnya tidaklah terlalu buruk. Ketidakpresisian hitung jenis manual paling besar terjadi pada sel-sel yang memang paling sedikit jumlahnya, khususnya basofil.

Latihan

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

1) Apa yang dimaksud *shift to the left* pada pemeriksaan hitung jenis lekosit?
2) Kaca obyek untuk pembuatan apusan darah tepi harus bebas minyak. Bagaimana prosedur persiapannya?
3) Apa yang dimaksud dengan granula azurofilik?
4) Jumlah absolut sel jenis lekosit tertentu dapat dihitung menggunakan jumlah lekosit dan hitung jenis/relatif. Jika jumlah lekosit 10.000/mm^3, netrophil segmen 60%, maka berapakah jumlah absolut neutrophil segmen tersebut?
5) Ketidakakuratan hasil hitung jenis lekosit dapat disebabkan oleh adanya maldistribusi. Apa yang dimaksud dengan maldistribusi?

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pendahuluan.
2) Pelajari kembali materi pemeriksaan hitung jenis lekosit secara manual.
3) Pelajari kembali materi jenis lekosit.
4) Pelajari kembali materi interpretasi hasil hitung jenis lekosit.
5) Pelajari kembali materi faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pemeriksaan hitung jenis lekosit.

Ringkasan

Hitung jenis lekosit adalah mengelompokkan lekosit ke dalam jenis mereka masing-masing, yang dapat ditampilkan dalam persentase, atau bila hitung lekosit ada, dinyatakan sebagai hitung absolut. ICSH merekomendasikan bahwa hitung jenis lekosit dinyatakan sebagai angka absolut.

Lekosit pada darah tepi dapat dikelompokkan menjadi lima atau enam jenis, tergantung apakah neutrophil batang dipisahkan perhitungannya dengan neutrophil segmen, atau dihitung bersama-sama. Pemeriksaan hapusan darah menggunakan spesimen darah kapiler atau darah EDTA, dan sebaiknya dikerjakan tidak lebih dari 3 jam pasca pengambilan.

Setelah eritrosit mengalami lisis, *hematology analyzer* menentukan dan menghitung jumlah sel-sel berinti yang tersisa dengan beberapa macam tehnik. Semua mesin memanfaatkan aneka ciri-ciri sel, seperti ukuran, interaksi dengan hamburan sinar pada sudut yang berbeda-beda, konduktivitas listrik, rasio inti-sitoplasma, dan reaksi peroksidase, untuk menggabungkan impuls-impuls sel individual menjadi kelompok. Kelompok ini selanjutnya dihitung dan dikelompokkan ke beberapa jenis lekosit.

Hitung jenis sel darah putih, seperti pemeriksaan laboratorium lain, dapat tidak akurat dan juga tidak presisi. Hitung jenis manual umumnya dianggap akurat, namun presisinya rendah. Sebaliknya hitung jenis yang dikerjakan dengan mesin dianggap presisi tapi terkadang tidak akurat.

Tes 6

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Dilakukan pemeriksaan hitung jenis lekosit dengan pewarnaan May Grunwald, setelah preparasi sediaan apus di cat dengan May Grunwald, hasil pewarnaan didapatkan sel lekosit mononuklear, sitoplasma biru muda, tanpa granula, kromatin inti memadat. Apa nama sel yang ditemukan pada pemeriksaan tersebut?
   A. Monosit
   B. Limfosit
   C. Plasmosit
   D. Granulosit
   E. Metamielosit

2) ATLM mengerjakan pemeriksaan hitung jenis leukosit, dan didapatkan sel dengan sitoplasma memiliki granula berwarna merah oranye/*orange*, kepadatan granula rapat dengan ukuran yang homogen, inti sel memiliki susunan kromatin padat, berwarna merah keunguan, jumlah inti sel 3 lobus, dan masing-masing lobus dihubungkan oleh benang kromatin. Apa nama sel yang diidentifikasi tersebut?

A. Eosinofil
B. Neutrophil
C. Basophil
D. Monosit
E. Limfosit

3) Hasil pemeriksaan hitung jenis lekosit mendapatkan neutrophil 60%, eosinofil 1%, basofil 0%, limfosit 37%, monosit 25% dengan jumlah lekosit 30.000/mm^3. Berapa jumlah absolut neutrophil pada kasus tersebut?

A. 12.000/mm^3
B. 15.000/mm^3
C. 18.000/mm^3
D. 20.000/mm^3
E. 24.000/mm^3

4) Hasil pemeriksaan hitung jenis lekosit mendapatkan neutrophil 60%, eosinofil 1%, basofil 0%, limfosit 37%, monosit 25% dengan jumlah lekosit 30.000/mm^3. ATLM melakukan jumlah hitung absolut juga. Apa istilah yang tepat untuk neutrophil pada kasus tersebut?

A. Granula toksik
B. Hypersegmented
C. Shift to the right
D. Neutrophilia
E. Netropenia

5) ATLM mengerjakan hitung jenis lekosit secara manual dengan membuat apusan darah. Apusan yang telah diberi warna tersebut diperiksa di bawah mikroskop. Berapa pembesaran obyektif yang digunakan pada prosedur tersebut?

A. 5
B. 10
C. 40
D. 100
E. Pembesaran tergantung kompetensi dan pengalaman ATLM

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 6 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 6.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 6, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1) A
2) C
3) B
4) E
5) B

Tes 2

1) C
2) A
3) C
4) C
5) D

Tes 3

1) D
2) A
3) A
4) B
5) A

Tes 4

1) C
2) A
3) C
4) C
5) D

Tes 5

1) B
2) E
3) A
4) A
5) B

Tes 6

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

Glosarium

Istilah	Keterangan
Anamnesis	Komunikasi untuk mendapatkan informasi kesehatan pasien.
Clumping trombosit	Trombosit yang bergerombol.
Giant thrombocyte	Trombosit berukuran besar.
Hemoglobinometer	Serangkaian alat untuk pemeriksaan hemoglobin.
Hemositometer	Serangkaian alat untuk pemeriksaan hitung jumlah sel darah.
Pemeriksaan *screening*	Pemeriksaan untuk melihat adanya risiko kesehatan seseorang.
Sel *blast*	sel imatur yang berkembang menjadi sel-sel darah matur dari seri eritrosit, lekosit, dan trombosit.

Daftar Pustaka

Bain, B. J. *et al.* (2012) *Dacie & Lewis Practical Hematology*. 11th ed.

Barbara J.Bain (2006) *Blood Cells: A practical Guide.* Available at: http://blood.xqhospital.com.cn:8050/uploadfile/2009/3/16/ 20090316124121.pdf.

Hoffbrand, AV., Vyas, P., Campo, E., et al. (2019) *Color Atlas of Clinical Hematology: Molecular and Cellular Basis of Disease*, Available at: https://www.academia.edu/42076408/COLOR_ATLAS_OF CLINICAL_HEMATOLOGY_Molecular_and_Cellular_Basis_of_Disease_FIFTH_EDITION.

Kemenkes. (2011). *PEDOMAN INTERPRETASI DATA KLINIK*

Kiswari, R. (2014) Hematologi Dan Transfusi. edisi pertama. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Riswanto. (2013). Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. edisi pertama. Yogyakarta: Alfamedia.

Turgeon, M. L. (2012) *Clinical Hematology: Theory and Procedures. Fifth edition.* Lippincort William and Wilkins

WHO. (2003). *Manual of Basic Techniques for A Health Laboratory*.

Bab 4
PEMERIKSAAN HEMATOLOGI ATAS INDIKASI

Dewi Astuti, AMAK., S.Si., M.Biomed.

Pendahuluan

Pemeriksaan hematologi dapat dilakukan untuk menunjang diagnosis suatu kondisi klinis. Pasien dengan keadaan tertentu, seperti pasien dengan infeksi, dapat menyebabkan peningkatan nilai laju endap darah dikarenakan adanya peningkatan protein tertentu ketika seseorang mengalami infeksi. Pasien dengan keadaan anemia dapat ditegakkan diagnosanya dengan melakukan beberapa pemeriksaan hematologi, antara lain, nilai indeks eritrosit dan hitung jumlah retikulosit. Hasil pemeriksaan nilai indeks eritrosit dapat membantu menunjang diagnosis anemia berdasarkan morfologi eritrosit sedangkan hitung jumlah retikulosit dapat melihat fungsi sumsum tulang untuk membedakan apakah seseorang menderita anemia aplastik atau tidak.

Morfologi eritrosit juga dapat mempengaruhi ketahanan eritrosit pada kondisi hipotonis, sehingga pemeriksaan fragilitas osmotik eritrosit dapat dilakukan untuk melihat kemampuan eritrosit untuk tidak lisis pada konsentrasi hipotonis. Pemeriksaan hematologi lainnya seperti hitung jumlah eosinofil, dapat dilakukan untuk melihat reaksi tubuh terhadap alergi ataupun infeksi kecacingan.

Pada Bab 4 ini, Anda akan mempelajari tentang pemeriksaan hematologi atas indikasi, dengan topik-topik sebagai berikut.

1. Pemeriksaan Laju Endap Darah
2. Pemeriksaan indeks eritrosit
3. Pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
4. Pemeriksaan fragilitas osmotik
5. Pemeriksaan hitung jumlah eosinofil

Setelah mempelajari Bab 4, Anda akan mampu untuk menguraikan tentang prinsip pemeriksaan, metode pemeriksaan, nilai normal dan hal-hal yang mempengaruhi hasil pemeriksaan Laju Endap Darah, indeks eritrosit, hitung jumlah retikulosit, fragilitas osmotik, dan hitung jumlah eosinofil.

Anda dapat mempelajari bab ini dengan membaca bagian pendahuluan, materi serta kesimpulan, dimana telah diberi beberapa gambar serta contoh perhitungan untuk mempermudah pemahaman materi. Anda dapat menilai capaian pembelajaran dengan mengerjakan soal Latihan dan Tes di setiap topik kemudian melihat kunci jawaban untuk menyesuaikan jawaban anda sehingga dapat diketahui capaian pembelajaran yang telah anda lakukan.

Selamat belajar dan semoga sukses.

Topik 1
Pemeriksaan Laju Endap Darah

Pada kondisi inflamasi, 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. Uji laboratorium yang dapat dilakukan untuk melihat respon tubuh terhadap inflamasi, antara lain, pemeriksaan laju endap darah (LED). LED merupakan pemeriksaan penyaring, dengan metode pemeriksaan manual yang merupakan metode sederhana, ekonomis, dan tidak memerlukan tenaga listrik. LED bukan merupakan respon imun spesifik namun secara kllinis 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. Tahap awal yaitu terbentuknya rouleaux dan agregasi. Tahap ini terjadi di 10 menit awal pemeriksaan, terjadi sedikit pengendapan dalam bentuk rouleaux, dan ukuran dari rouleaux yang terbentuk mempengaruhi kecepatan laju endap darah.
2. Tahap kedua terjadi selama 40 menit berikutnya, pengendapan agregat terjadi dengan kecepatan yang konstan.
3. Tahap ketiga terjadi pada 10 menit terakhir, yaitu sel-sel yang telah beragregasi memadat di bagian bawah tabung dengan lambat. Sel eritrosit memiliki ion negatif di permukaan sel sehingga akan memisah antar sel, namun pada peningkatan protein plasma akan meningkatkan ion positif sehingga menyebabkan sel saling mendekat.

B. ALAT PEMERIKSAAN LAJU ENDAP DARAH

Pemeriksaan LED degnan metode Estergreen 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 selama pemeriksaan akan 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.

C. SAMPEL PEMERIKSAAN LAJU ENDAP DARAH

Pemeriksaan LED dilakukan menggunakan darah yang telah diberi antikoagulan ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA). Pemeriksaan sampel darah sebaiknya dilakukan maksimal dalam waktu empat jam setelah pengambilan sampel darah. Sampel yang disimpan pada suhu $4^{O}C$ dapat stabil selama 24 jam.

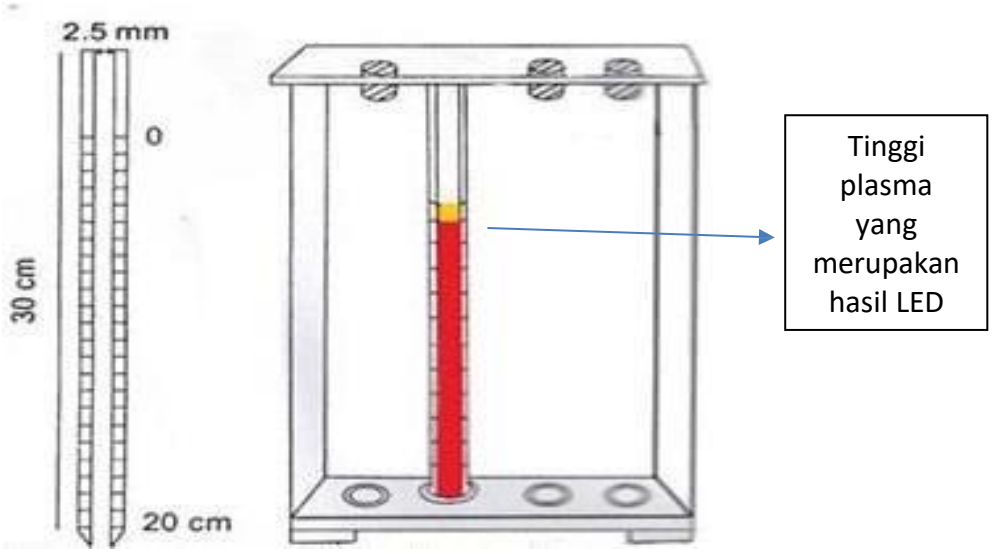
D. METODE PEMERIKSAAN LAJU ENDAP DARAH

Metode pemeriksaan LED yang direkomendasikan oleh *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) adalah metode Westergren. Ada juga metode lain yaitu metode Wintrobe

1. Pemeriksaan LED Metode Westergren

Langkah pemeriksaan LED dengan metode Westergren adalah sebagai berikut.

1. Sampel darah EDTA sebanyak empat bagian diencerkan dengan satu bagian larutan NaCl fisiologis atau larutan trisodium sitrat 109 mmol/L (32 g/L).
2. Larutan tersebut dihomogenisasi lalu dimasukkan ke dalam tabung Westergren dengan skala 200 mm, hingga batas tanda 0 bagian atas.
3. Tabung tersebut dibiarkan selama 60 menit secara vertikal/tegak lurus tanpa gangguan, goyangan/getaran, serta paparan cahaya langsung.
4. Hasil LED ditentukan dengan melihat tingginya plasma pada bagian atas tabung Westergren.



Sumber: https://www.onlinebiologynotes.com

Gambar 4.1

Tabung dan Rak Westergran

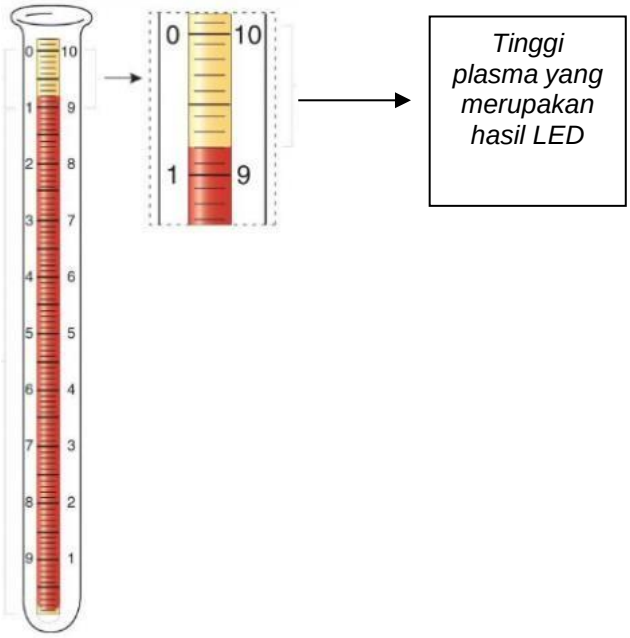
1. Pemeriksaan LED Metode Wintrobe

Langkah pemeriksaan LED dengan metode Wintrobe dilakukan dengan prosedur sebagai berikut.

a. Sampel darah EDTA dimasukkan ke dalam tabung Wintrobe sampai tanda batas 0 bagian atas.

b. Tabung tersebut dibiarkan selama 60 menit secara vertikal/tegak lurus tanpa gangguan, goyangan/getaran, serta paparan cahaya langsung.

c. Hasil LED ditentukan dengan melihat tingginya plasma pada bagian atas tabung Wintrobe seperti terlihat pada Gambar 4.2 berikut ini.



Sumber: https://www.onlinebiologynotes.com

Gambar 4.2

Tabung Wintrobe

2. Pemeriksaan LED Secara Otomatis

Pemeriksaan LED dapat dilakukan menggunakan metode otomatisasi, antara lain, dengan menggunakan alat Monitor 100®. Pemeriksaan LED menggunakan alat Monitor 100® dilakukan dengan cara sebagai berikut.

a. Sampel darah sebanyak 1,28 mL dimasukkan ke dalam tabung vakum khusus MONOSED berukuran 1,6 mL, panjang 120 mm, diameter 6 mm yang telah terisi 0,32 mL natrium sitrat 3,2%. Tabung tersebut harus terisi volume total darah dan antikoagulan pada tinggi tabung antar 50-60 mm agar monitor 100® dapat memproses pemeriksaan.

b. Tabung khusus tersebut kemudian diletakkan pada bagian khusus pembacaan sampel pada alat monitor 100®. Pembacaan hasil pada alat monitor 100® menggunakan infra red. Selanjutnya komputer membaca setiap tiga menit selama 30-60 menit. Alat monitor 100® mengatur suhu pemeriksaan pada suhu 18^{O}C dan memberikan hasil dalam waktu 30 menit.

E. NILAI NORMAL LAJU ENDAP DARAH

Nilai normal LED pemeriksaan yang dilakukan selama satu jam pada suhu 20±3^{o}C adalah sebagai berikut.

Umur (Tahun)	Laki-laki (mm/jam)	Perempuan (mm/jam)
0 - 16	≤10	≤10
17 – 50	≤10	≤12
51 – 60	≤12	≤19
60 – 70	≤14	≤20
>70	≤30	≤35

F. HAL-HAL YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN LED

Kecepatan LED dipengaruhi oleh gravitasi antara sel darah merah dan plasma, juga sangat dipengaruhi oleh rouleaux yang dibentuk oleh sel-sel eritrosit. Hal lain yang mempengaruhi nilai LED antara lain rasio sel darah merah dengan plasma, viskositas plasma, posisi tabung Westergren.

Peningkatan nilai LED dipengaruhi oleh konsentrasi fibrinogen serta protein fase akut lainnya seperti haptoglobin, ceruloplasmin, α_1-acid-glycoprotein, α_1-antitrypsin dan C-reactive protein. Peningkatan pembentukan rouleaux dapat distimulus oleh immunoglobulin dan dapat menurun dikarenakan oleh albumin.

Anemia mengubah rasio sel darah merah dengan plasma, menstimulus pembentukan rouleaux, dan mempercepat proses sedimentasi. Pada keadaan anemia, faktor selular dapat mempengaruhi proses pengendapan darah. Pada anemia defisiensi besi, penurunan kemampuan instrinsik sel eritrosit pada proses pengendapan dapat mengkompensasi percepatan peningkatan proporsi plasma.

Nilai LED dipengaruhi juga oleh usia, tahapan siklus menstruas,i serta obat yang dikonsumsi seperti kortikosteroid dan pil kontrasepsi. Nilai LED dapat menjadi rendah pada kondisi polisitemia, hipofibrinogenaemia, dan gagal jantung kongestif, serta kelainan bentuk eritrosit seperti poikilositosis, sferosit, *sickle cells*.

Nilai LED tidak dipengaruhi oleh kegiatan latihan fisik.

Latihan

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

1) Jelaskan prinsip pemeriksaan LED!
2) Jelaskan prosedur pemeriksaan LED metode Westergren!
3) Jelaskan prosedur pemeriksaan LED metode Wintrobe!
4) Jelaskan prosedur pemeriksaan LED metode otomatisasi menggunakan alat monitor 100@!
5) Jelaskan hal yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan LED!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi prinsip LED.
2) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan LED.
3) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan LED.
4) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan LED.
5) Pelajari kembali materi hal yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan LED.

Ringkasan

Pemeriksaan LED merupakan pemeriksaan penyaring sebagai penanda respon tubuh terhadap inflamasi. Pemeriksaan LED dilakukan menggunakan metode Westergren, Wintrobe, dan alat otomatis.

Pemeriksaan LED dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti rasio sel darah merah dengan plasma, viskositas plasma, posisi tabung Westergren.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan LED menggunakan metode Westergren. ATLM melakukan pengenceran 0,5 mL darah EDTA dengan menambahkan sejumlah larutan pengencer. Apakah larutan pengencer yang digunakan ATLM pada pemeriksaan tersebut?

A. Aquabidest
B. NaCl 0,9 %
C. NaF
D. Ethylene diamine tetra acetic acid
E. Na Sitrat 1,6%

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan LED menggunakan metode Westergren. ATLM melakukan pengenceran 0,5 mL darah EDTA dengan menambahkan sejumlah larutan pengencer. Berapa mL larutan pengencer yang digunakan ATLM pada pemeriksaan tersebut?
A. 0,5
B. 1,0
C. 1,5
D. 2,0
E. 2,5

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan LED menggunakan metode Wintrobe. ATLM memasukkan darah sampel ke dalam tabung Wintobe sampai batas 0. Apakah tahapan selanjutnya yang perlu dilakukan ATLM tersebut.
A. Menghomogenisasi sampel
B. Menambahkan larutan pengencer sebanyak 4 bagian
C. Meletakkan tabung pada rak khusus
D. Inkubasi tabung pada suhu ruang
E. Melihat tinggi plasma yang terbentuk

4) Pemeriksaan LED dilakukan pada pasien yang diduga mengalami infeksi. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan metode Westergen. ATLM memasukkan sampel darah yang telah diencerkan dengan perbandingan tertentu ke dalam tabung Westergren. Apakah tahapan selanjutnya yang harus dilakukan ATLM pada pemeriksaan tersebut?
A. Inkubasi sampel dalam tabung dengan posisi vertikal selama satu jam
B. Membaca hasil pemeriksaan sampel
C. Meletakkan tabung pada rak Westegren
D. Melihat tinggi eritrosit yang terbentuk
E. Melaporkan tinggi plasma sebagai hasil pemeriksaan

5) Pemeriksaan LED dilakukan pada pasien yang diduga mengalami infeksi. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan metode Westergen. ATLM melakukan pemeriksaan dengan menginkubasi sampel yang telah diencerkan. Apakah dasar pelaporan hasil pemeriksaan tersebut?

A. Tinggi Eritrosit yang mengendap
B. Lama waktu terbentunya endapan
C. Tinggi plasma
D. Hasil rataan tinggi eritrosit dan plasma
E. Banyaknya jumlah eritrosit

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Pemeriksaan Indeks Eritrosit

Sel eritrosit *mature* berbentuk sirkular, bikonkaf, mengandung protein pigmen yaitu hemoglobin dan pada pemeriksaan sediaan apus darah, sel eritrosit nampak memiliki sepertiga zona pucat pada bagian tengah sel. Morfologi tersebut membantu eritrosit menjadi fleksibel sehingga mudah melewati pembuluh darah kapiler serta memperluas permukaan sel yang sebanding dengan volume sel.

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 Concenctration* (MCHC) dan *Red Cell Distribution Width* (RDW).

A. PEMERIKSAAN INDEKS ERITROSIT

Pemeriksaan indeks eritrosit dilakukan menggunakan darah yang telah diberi antikoagulan EDTA. Jenis pemeriksaan indeks eritrosit ada empat, yaitu *Mean Cospuscular Volume* (MCV), *Mean Cospuscular Hemoglobin* (MCH), *Mean Cospuscular Hemoglobin Concenctration* (MCHC) dan *Red Cell Distribution Width* (RDW).

1. *Mean Cospuscular Volume* (MCV)

Mean Cospuscular Volume (MCV) merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui volume rata-rata sel eritrosit. Hasil pemeriksaan MCV dilaporkan dalam satuan femtoliter atau kubik mikrometer. Perhitungan nilai MCV didapatkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$MCV\ (fL) = \frac{Hematokrit}{Jumlah\ sel\ eritrosit} \times 10$$

Nilai normal MCV adalah 82-100 fL. Nilai MCV dibawah 80 fL dapat ditemui pada anemia mikrositik, sedangkan nilai MCV diatas 100 fL dapat ditemui pada anemia makrositik.

Contoh perhitungan. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan MCV pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan dari sampel pasien tersebut didaaptka: kadar hemoglobin 10 gr/dL, hematokrit 30%, jumlah eritrosit 4,2 juta sel/µL, jumlah sel lekosit 7500 sel/µL. Berapakah MCV pasien tersebut?

$$MCV\ (fL) = \frac{Hematokrit}{Jumlah\ sel\ eritrosit} \times 10$$

$$MCV\ (fL) = \frac{30}{4{,}2} \times 10 = 71\ fL$$

2. *Mean Cospuscular Hemoglobin* (MCH)

Mean Cospuscular Hemoglobin (MCH) merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui jumlah/berat hemoglobin pada tiap sel eritrosit. Hasil pemeriksaan MCH dilaporkan dalam satuan pikogram (1pg = 10^{-12}g). Perhitungan nilai MCH didapatkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$MCH\ (pg) = \frac{Hemoglobin}{Jumlah\ sel\ eritrosit} \times 10$$

Nilai normal MCH adalah 27-32 pg. Nilai MCH dibawah 26 pg dapat ditemui pada anemia mikrositik hipokrom, sedangkan nilai MCH diatas 34 pg dapat ditemui pada anemia makrositik, karena eritrosit makrositik memiliki ukuran lebih dari normal dan membawa lebih banyak hemoglobin.

Contoh perhitungan. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan MCV pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan dari sampel pasien tersebut didapatkan; kadar hemoglobin 10 gr/dL, hematokrit 30%, jumlah eritrosit 4,2 juta sel/µL, jumlah sel lekosit 7500 sel/µL. Berapakah MCH pasien tersebut?

$$MCH\ (pg) = \frac{Hemoglobin}{Jumlah\ sel\ eritrosit} \times 10$$

$$MCH\ (pg) = \frac{10}{4{,}2} \times 10 = 24\ pg$$

3. *Mean Cospuscular Hemoglobin Concenctration* (MCHC)

Mean Cospuscular Hemoglobin Concenctration (MCHC) merupakan pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk mengetahui kadar rata-rata konsentrasi hemoglobin dari sel eritrosit. Hasil pemeriksaan MCHC dilaporkan dalam satuan %. Perhitungan nilai MCHC didapatkan dengan menggunakan rumus berikut:

$$MCHC\ (\%) = \frac{Hemoglobin}{Hematokrit} \times 100$$

Nilai normal MCHC adalah 31-35 %. Nilai MCHC di bawah 31 % dapat ditemui pada sel eritrosit hipokrom, sedangkan nilai MCHC d iatas 35 % dapat ditemui pada sel eritrosit hiperkromik dan sel mikrosferosit karena volume sel kurang dari normal sehingga kadar hemoglobin relatif lebih banyak.

Contoh perhitungan. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan MCV pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan dari sampel pasien tersebut; kadar hemoglobin 10 gr/dL, hematokrit 30%, jumlah eritrosit 4,2 juta sel/µL, jumlah sel lekosit 7500 sel/µL. Berapakah MCH pasien tersebut?

$$MCHC\ (\%) = \frac{Hemoglobin}{Hematokrit} \times 100$$

$$MCHC\ (\%) = \frac{10}{30} \times 100 = 33\%$$

4. *Red Cell Distribution Width* (RDW)

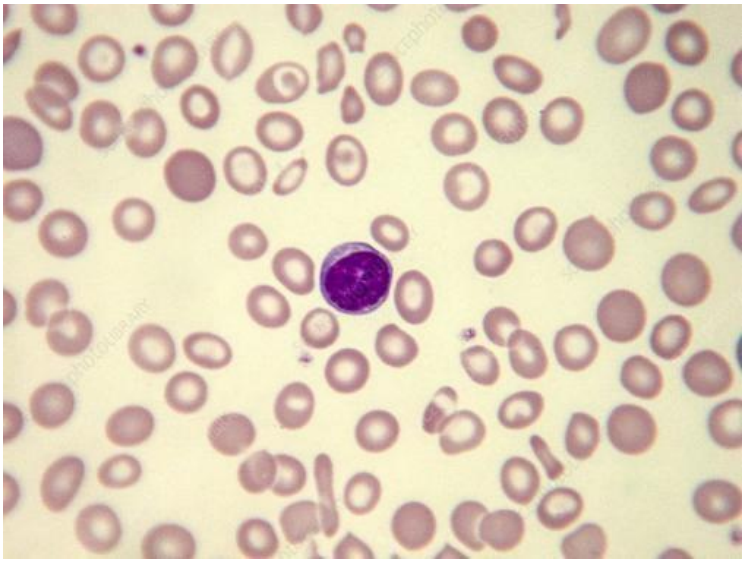
Red Cell Distribution Width (RDW) merupakan indeks variasi volume sel eritrosit dari seluruh populasi sel eritrosit. Pemeriksaan RDW dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer* yang dapat membantu diagnosis adanya anisositosis atau variasi pada ukuran sel eritrosit. Nilai normal RDW adalah 11,5 – 14,5 %. Nilai RDW normal mengindikasikan keseragaman ukuran sel eritrosit. Peningkatan nilai RDW menginfikasikan adanya variasi ukuran sel eritrosit.

B. HASIL INDEKS ERITROSIT

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.



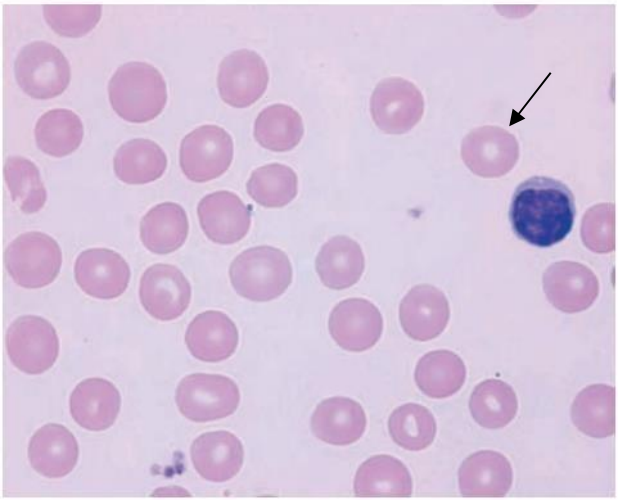
Sumber: https://www.sciencephoto.com

Gambar 4.3

Sel eritrosit mikrositik hipokrom

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.



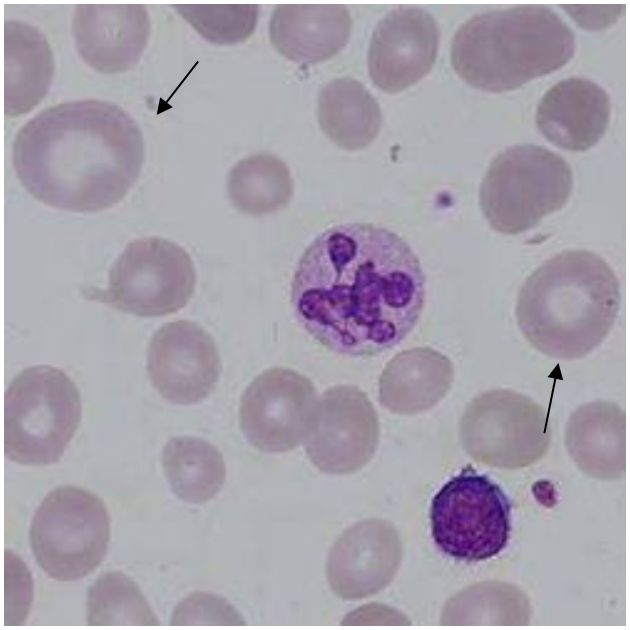
Sumber: Turgeon 2012

Gambar 4.4

Sel Eritrosit Normositik Normokrom

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.



Sumber: http://haematologyetc.co.uk

Gambar 4.5
Sel Eritrosit Makrositik Normokrom

Latihan

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

1) Jelaskan apa yang Anda ketahui tentang MCV!
2) Jelaskan apa yang Anda ketahui tentang MCH!
3) Jelaskan apa yang Anda ketahui tentang MCHC!
4) Jelaskan Jelaskan apa yang anda ketahui tentang RDW!
5) Bagaimanakah nilai indeks eritrosit pada keadaan klinis anemia normositik normokrom?

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi MCV.
2) Pelajari kembali materi MCH.
3) Pelajari kembali materi MCHC.
4) Pelajari kembali materi RDW.
5) Pelajari kembali materi hasil indeks eritrosit.

Ringkasan

Pemeriksaan nilai indeks eritrosit dilakukan untuk membantu menunjang diagnosis anemia berdasarkan morfologi eritrosit. Pemeriksaan indeks eritrosit terdiri atas pemeriksaan MCV, MCH, MCHC dan RDW. ATLM dalam menentukan nilai MCV, MCH dan MCHC dengan melakukan perhitungan manual menggunakan rumus tertentu ataupun dengan *hematology analyzer*. Analisis RDW dilakukan menggunakan *hematology analyzer*.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan indeks eritrosit seorang pasien terduga anemia defisiensi besi. Hasil pemeriksaan darah rutin sampel pasien tersebut didapatkan; kadar hemoglobin 10,4 gr/dL, hematokrit 30 %, jumlah sel eritrosit 3,01 juta sel/µL, jumlah sel lekosit pasien 6400 sel//µL, jumlah trombosit 460.000 sel//µL. Berapa fL MCV pasien tersebut?
   A. 16
   B. 23
   C. 24
   D. 34
   E. 97

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan indeks eritrosit seorang pasien terduga anemia defisiensi besi. Hasil pemeriksaan darah rutin sampel pasien tersebut didapatkan; kadar hemoglobin 10,4 gr/dL, hematokrit 30 %, jumlah sel eritrosit 3,01 juta sel/µL, jumlah sel lekosit pasien 6400 sel//µL, jumlah trombosit 460.000 sel/µL. Berapa pg MCH pasien tersebut?
   A. 16
   B. 23

C. 24
D. 34
E. 97

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan indeks eritrosit seorang pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan pasien tersebut didapatkan: MCV 52 fL, MCH 21 pg dan MCHC 28 %. Pada pengamatan mikroskopis ditemukan sel eritrosit mikrositik hipokrom. Pada Anemia apakah hal tersebut terjadi?
   A. Defisiensi besi
   B. Kehilangan darah spontan
   C. Kekurangan asam folat
   D. Kekurangan vitamin B12
   E. Pernisiosa

4) Pemeriksaan Indeks eritrosit dilakukan pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan didapatkan: nilai MCV 85 fL, MCH 30 pg, dan MCHC 32 gm/dL. Apakah bentuk sel eritrosit berdasarkan hasil pemeriksaan tersebut?
   A. Normositik normokrom
   B. Normositik hipokrom
   C. Mikrositik normokrom
   D. Mikrositik hipokrom
   E. Makrositik hipokrom

5) Pemeriksaan Indeks eritrosit dilakukan pada pasien terduga anemia. Hasil pemeriksaan didapatkan: nilai MCV 75 fL, MCH 24 pg, dan MCHC 28 gm/dL. Apakah bentuk sel eritrosit berdasarkan hasil pemeriksaan tersebut?
   A. Normositik normokrom
   B. Normositik hipokrom
   C. Mikrositik normokrom
   D. Mikrositik hipokrom
   E. Makrositik hipokrom

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

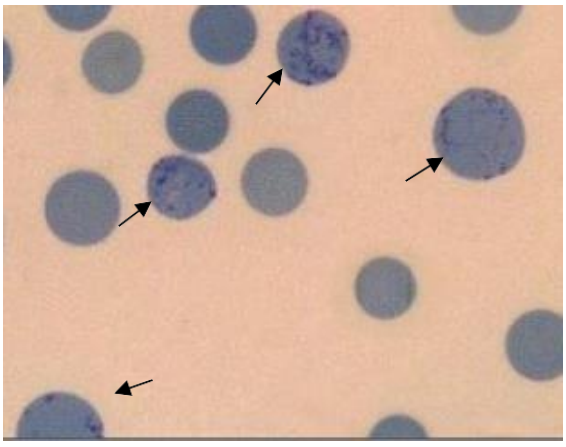
Topik 3
Pemeriksaan Hitung Jumlah Retikulosit

Retikulosit merupakan sel eritrosit *immature* yang tidak memiliki nukleus dan beredar di peredaran darah. Morfologi retikulosit, mempunyai ukuran yang lebih besar dibandingkan eritrosit matang, 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 imatur 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.

A. PRINSIP PEMERIKSAAN RETIKULOSIT

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^{O}C ketika sel eritrosit dalam keadaan hidup.



Sumber: http://analiskesehatan-indonesia.blogspot.com/

Gambar 4.6 Retikulosit

1. Pemeriksaan Sel Retikulosit Dengan Pewarnaan

Hitung jumlah sel retikulosit dilakukan menggunakan pewarnaan supravital yang memiliki komposisi sebagai berikut.

Komposisi	Jumlah	Fungsi
BCB/NMB	1 gr	Mewarnai RNA dan ribosom retikulosit
Larutan Natrium sitrat 3%	20 mL	Antikoagulan
Larutan NaCl 0,9%	80 mL	Saline isotonis

Pemeriksaan hitung retikulosit manual dapat dilakukan dengan membuat sediaan kering dan basah.

a. Metode manual sediaan kering dilakukan dengan prosedur sebagai berikut.
   1) Sampel darah EDTA diencerkan dengan larutan BCB/NMB 1:1.
   2) Larutan tersebut dihomogenisasi dan diinkubasi selama 15-30 menit pada suhu 37^{O}C.
   3) Larutan yang telah diinkubasi, dihomogenisasi kembali lalu dibuat sediaan apus darah, dan dibiarkan mengering.
   4) Sediaan apus tersebut diamati mikroskopis menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100 X, lalu dihitung jumlah retikulosit per 1000 sel eritrosit.

b. Metode manual sediaan basah dilakukan dengan prosedur sebagai berikut.
   1) Sampel darah EDTA diencerkan dengan larutan BCB/NMB 1:1.
   2) Larutan tersebut dihomogenisasi dan diinkubasi selama 15-30 menit pada suhu 37^{O}C.
   3) Larutan yang telah diinkubasi, dihomogenisasi kembali lalu teteskan ke atas kaca objek.
   4) Tetesan tersebut ditutup dengan kaca penutup lalu diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 X, lalu dihitung jumlah retikulosit per 1000 sel eritrosit.

Perhitungan jumlah retikulosit sebagai berikut:

$$\text{Jumlah retikulosit} = \frac{\text{Jumlah retikulosit}}{\text{Jumlah eritrosit}} \text{ x } 100\%$$

Contoh perhitungan pemeriksaan jumlah retikulosit. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit. ATLM menemukan 15 retikulosit dan 1015 eritrosit.

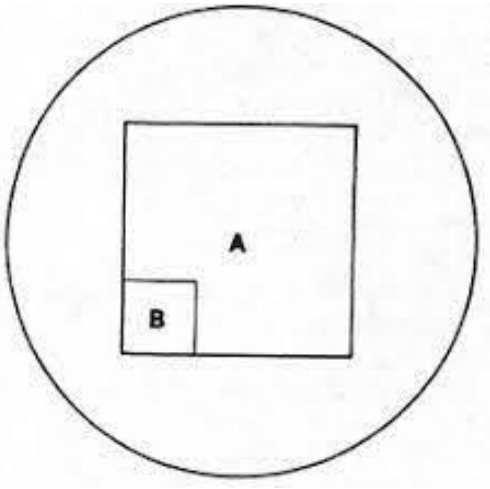
$$\text{Jumlah retikulosit sampel} = \frac{15}{1015} \text{ x } 100\% = 1{,}5\ \%$$

2. Pemanfaatan Alat *Miller Eye Disc*

Pemeriksaan hitung retikulosit dapat dilakukan menggunakan *Miller Eye Disc* untuk membantu proses perhitungan. *Miller eye disc* merupakan alat bantu perhitungan yang menunjukkan daerah pengamatan standar untuk menghitung sel eritrosit pada pemeriksaan hitung jumlah retikulosit.

Pada *Miller eye disc* terdapat 2 kotak, kotak A memiliki luas sembilan kali kotak B. Ketika melakukan hitung retikulosit, *Miller eye disc* diletakkan di lensa okular mikroskop sebelum melakukan perhitungan sel retikulosit. Retikulosit dihitung pada seluruh kotak (kotak A+B) dan sel eritrosit dihitung pada kotak B. Perhitungan retikulosit sebagai berikut.

$$\text{Retikulosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah retikulosit kotak besar (kotak A + B) x 100 \%}}{\text{Jumlah eritrosit kotak kecil x 9}}$$



Sumber: Indonesia, D. T. L. M.

Gambar 4.6

Miller eye disc

Pada keadaan anemia, perlu dilakukan koreksi jumlah retikulosit karena hasil dapat tidak memperlihatkan respon sumsum tulang yang sesungguhnya. Indeks prediksi retikulosit merupakan jumlah retikulosit yang baru bersikulasi di dalam peredaran darah satu hari sebelum pemeriksaan dilakukan. Berikut adalah rumus koreksi hitung retikulosit pada kondisi anemia:

Koreksi hitungan retikulosi

$$= \text{Hasil hitung retikulosit x } \frac{\text{Hematokrit}}{\text{Nilai normal hematokrit sesuai usia pasien}}$$

Indeks produksi retikulosit

$$= \text{Hasil hitung retikulosit x } \frac{\text{Hematokrit}}{\text{Nilai normal hematokrit sesuai usia pasien}} \text{ x } 0{,}5$$

Nilai RPI >2% mengindikasikan respon eritropoesis yang adekuat dari sumsum tulang yang dapat terjadi pada anemia yang disebabkan oleh kehilangan darah akut atau hemolisis. Nilai RPI <2% mengindikasikan anemia dikarenakan kurangnya produksi sel eritrosit oleh sumsum tulang.

Pemeriksaan jumlah retikulosit metode manual memiliki variabel-variabel yang memungkinkan hasil pemeriksaan menjadi kurang baik untuk presisi dan akurasinya dikarenakan adanya perbedaan penggunaan metode pewarnaan, kualitas sediaan apus, variasi pengamatan antar ahli teknologi laboratorium medik (ATLM), sehingga dapat menyebabkan tingginya nilai koefisien variasi hasil pemeriksaan.

3. Pemeriksaan Retikulosit dengan Hematology Analyzer

Mulai pertengahan tahun 1990, hitung jumlah retikulosit dapat dilakukan menggunakan alat *Hematology analyzer* dengan metode flow sitometri. Pemeriksaan menggunakan *Hematology analyzer* dapat mengurangi biaya pemeriksaan serta meningkatkan presisi dan akurasi hasil pemeriksaan dibandingkan dengan pemeriksaan dengan metode manual.

Pemeriksaan hitung retikulosit menggunakan alat *Hematology analyzer* menggunakan pewarna flouresensi ataupun non-flourosensi yang akan berikatan dengan RNA retikulosit. Kemudian perhitungan retikulosit dilakukan berdasarkan prinsip pengukuran teknologi optik *scatter* ataupun *flow* sitometer flouresensi. Pemeriksaan menggunakan *Hematology analyzer* juga menyediakan beberapa parameter pemeriksaan retikulosit, seperti *immature reticulocyte fraction* (IRF), *reticulocyte hemoglobin content* (Retic-Hb), dan *mean spherical reticulocyte volume* (MSCV).

a. Pemeriksaan hitung retikulosit pada *Hematology analyzer* menggunakan pewarna non-flouresensi, yaitu pewarna new methilen blue, dilakukan dengan prinsip pemeriksaan pewarna new methilen blue akan mempresipitasi RNA retikulosit sehingga retikulosit dapat dibedakan dari sel eritrosit matur. Pada alat *Hematology analyzer* LH-780, Beckman Coulter, sampel darah setelah diaspirasi akan direaksikan dengan new methilen blue, lalu diinkubasi beberapa saat. Larutan tersebut selanjutnya ditambahkan larutan yang bersifat asam dan hipoosmotik yang akan membersihkan hemoglobin namun mempertahankan pewarnaan RNA retikulosit. Kemudian perhitungan retikulosit dilakukan secara flowsitometri.

b. Pemeriksaan hitung retikulosit menggunakan pewarna flouresensi dapat dilakukan menggunakan *Hematology analyzer* Pentra-XLR, Horiba. Pada alat tersebut retikulosit direaksikan dengan ABX fluocyte yang mengandung pewarna flouresensi *thiazole orange*. Pewarna tersebut akan mengikat asam nukleat secara spesifik, sehingga akan berikatan dengan RNA dan menyebabkan retikulosit berflouresensi. Sinar laser optikal pada alat akan secara simultan mengukur rekulosit yang melewati area baca.

B. HASIL HITUNG JUMLAH RETIKULOSIT

Hasil hitung jumlah retikulosit dilaporkan dalam satuan persen. Nilai normal jumlah retikulosit 0,5 – 2,5% dan pada bayi 1,2 – 4,0%. Jumlah retikulosit memperlihatkan aktivitas eritropoesis pada sumsum tulang dan estimasi produksi eritrosit. Peningkatan eritropoesis menyebabkan peningkatan jumlah retikulosit. Peningkatan jumlah retikulosit dapat terjadi pada anemia hemolitik, keadaan hemolitik, hemoragik, serta proses pemantauan terapi zat besi, asam folat atau vitamin B12 pada pasien anemia. Pada pemantauan hasil terapi pasien anemia, peningkatan jumlah retikulosit tertinggi terjadi pada hari ke enam/tujuh dari waktu terapi, yang mengindikasikan respon sumsum tulang. Penurunan jumlah retikulosit terjadi pada penurunan aktivitas eritropoesis, seperti pada keadaan anemia aplastik, krisis aplastik (sferosit hereditas dan penyakit *sikle cell*), aplasia eritrosit, anemia Fanconi dan myelofibrosis, sindrom myelodysplastik, dan alkoholisme.

C. HAL-HAL YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN HITUNG RETIKULOSIT

Hasil hitung retikulosit dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain, sebagai berikut.

1. Jenis kelamin. Jumlah retikulosit pada perempuan dapat lebih tinggi dari laki-laki karena adanya siklus menstruasi yang dapat menstimulus eritropoesis.
2. Kondisi hipoksia. Hipoksia atau kekurangan oksigen dapat menstimulus eritropoesis. Hipoksia dapat terjadi pada perokok dan individu yang tinggal di dataran tinggi.
3. Usia. Retikulosit pada usia lanjut cenderung rendah dikarenakan aktivitas eritropoesis mulai menurun.
4. Diurnal. Pengambilan sampel di pagi hari menghasilkan jumlah retikulosit yang cenderung lebih tinggi dibandingkan pada sore hari.
5. Bentuk eritrosit. Eritrosit yang berkrenasi/mengerut dapat menghambat masuknya zat warna ke dalam sel sehingga sisa RNA tidak terwarnai.

Latihan

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

1) Jelaskan tentang morfologi retikulosit!
2) Jelaskan prinsip pemeriksaan jumlah sel retikulosit!
3) Jelaskan komposisi reagensia yang digunakan untuk pemeriksaan jumlah sel retikulosit!
4) Jelaskan prosedur kerja pemeriksaan jumlah sel retikulosit!
5) Jelaskan hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah sel retikulosit!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pengantar pemeriksaan jumlah sel retikulosit.
2) Pelajari kembali materi prinsip pemeriksaan jumlah sel retikulosit.
3) Pelajari kembali materi pemeriksaan sel retikulosit.
4) Pelajari kembali materi pemeriksaan sel retikulosit.
5) Pelajari kembali materi hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan jumlah sel retikulosit.

Ringkasan

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.

Hitung retikulosit metode manual dilakukan dengan menggunakan pewarna NMB atau BCB, sedangkan metode otomatisasi dilakukan menggunakan pewarna flouresensi dan non flouresensi. Hasil hitung retikulosit dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain, jenis kelamin, kondisi hipoksia, usia, variasi diurnal, dan bentuk eritrosit.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung retikulosit. ATLM melakukan pengambilan darah dan memasukkan ke dalam tabung berisi antikoagulan. Apakah antikoagulan yang digunakan oleh ATLM tersebut?
   A. Na Sitrat
   B. NaF
   C. EDTA
   D. Ca-Oxalat
   E. Heparin

2) Seorang ATLM akan melakukan pemeriksaan hitung retikulosit menggunakan metode manual. ATLM melakukan pengambilan darah dan memasukkan ke dalam tabung berisi antikoagulan. Prosedur apa yang perlu dilakukan selanjutnya oleh ATLM tersebut?
   A. Pengenceran sampel dengan reagensia
   B. Membuat sediaan darah
   C. Menghitung retikulosit
   D. Menginkubasi sampel pada suhu $37^{O}C$
   E. Memasukkan sampel ke dalam bilik hitung

3) Seorang ATLM akan melakukan pemeriksaan hitung retikulosit menggunakan metode manual. ATLM membuat sediaan apus dari sampel yang telah direaksikan dengan reagensia dan diinkubasi selama beberapa saat. ATLM menghitung 1050 sel eritrosit dan 12 retikulosit pada sediaan tersebut. Selain itu, diketahui kadar hemoglobin pasien 12,5 gr/dL, hematokrit 37% dan jumlah sel eritrosit 4,5 juta sel/µL. Berapa % jumlah retikulosit pasien tersebut?
   A. 1,0
   B. 1,1
   C. 1,7
   D. 3,0
   E. 3,7

4) Pemeriksaan hitung rekulosit dapat dilakukan dengan menggunakan alat hematology analyzer. Apakah reagensia flouresensi yang dapat digunakan pada pemeriksaan tersebut?

A. New methilen blue
B. Briliant crecyl blue
C. Carmine
D. Flourecein
E. Thiazole orange

5) Hitung retikulosit dilakukan pada pasien perempuan berusia 24 tahun terduga anemia. Hasil hitung pemeriksaan mikroskopis didapatkan 20 retikulosit pada 1040 eritrosit. Hasil pemeriksaan darah rutin pasien tersebu memberikan hasilt: kadar hemoglobin 10,4 gr/dL, Hematokrit 30 %, jumlah eritrosit 3,2 juta sel/µL. Diketahui nilai normal Hb = 12 gr/dL; Hematokrit = 47%; jumlah eritrosit = 3,5 x 106 sel//µL. Berapa % jumlah retikulosit terkoreksi pasien tersebut?

A. 0,4
B. 1,2
C. 1,7
D. 1,9
E. 2,1

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 3 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 3.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

90	-	100%	=	baik sekali
80	-	89%	=	baik
70	-	79%	=	cukup
	<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 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). Tes 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.

A. PRINSIP PEMERIKSAAN

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.

B. PROSEDUR PEMERIKSAAN

Pemeriksaaan tes resistensi osmotik dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut.

1. Larutan hipotonis dengan berbagai konsentrasi (0,9%; 0,75%; 0,65%; 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%; 0,20%; dan 0,1%) dibuat dari larutan stok NaCl 1%.
2. Sampel darah heparin sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam lima mL larutan NaCl isotonis dan hipotonis dengan berbagai konsentrasi tersebut pada nomor 1), lalu dihomogenisasi.
3. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.
4. Larutan dihomogenisasi kembali lalu disentrifugasi selama lima menit pada kecepatan 3000 rpm.
5. Supernatan larutan kemudian diukur absorbansnya pada panjang gelombang 540 nm dengan supernatan tabung-1 (NaCl 0,9%) sebagai blanko.
6. Persen hemolisis dihitung dengan membagi absorbansi sampel dengan absorbansi tabung ke-12 (NaCl 0,10%) lalu dikalikan 100%.

7. Pembuatan kurva resistensi osmotik dengan konsentrasi NaCl pada bagian axis (x) dan % hemolisis pada bagian ordinat (y).
8. Hasil dilaporkan dengan membandingkan kurva sampel dengan kurva nilai normal.

Contoh pemeriksaan tes resistensi osmotik. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan tes resistensi osmotik dengan data sebagai berikut.

No Tabung	Konsentrasi NaCl (%)	Absorbansi Suspensi Larutan Sampel	Persen hemolisis (%)
1	0,90	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

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 x Konsentrasi 1 = V2 x Konsentrasi 2
   V1 x 1,0% = 5,0 mL x 0,9%
   V1 = (5,0 x 0,9) : 1,0 = 4,5 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 x Konsentrasi 1 = V2 x Konsentrasi 2
   V1 x 1,0% = 5,0 mL x 0,45%
   V1 = (5,0 x 0,45) : 1,0 = 2,25 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.

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

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

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

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

C. NILAI NORMAL

Nilai normal pemeriksaan resistensi osmotik tes (ROT) 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:

   97-100% hemolisis dalam NaCl 0,30%

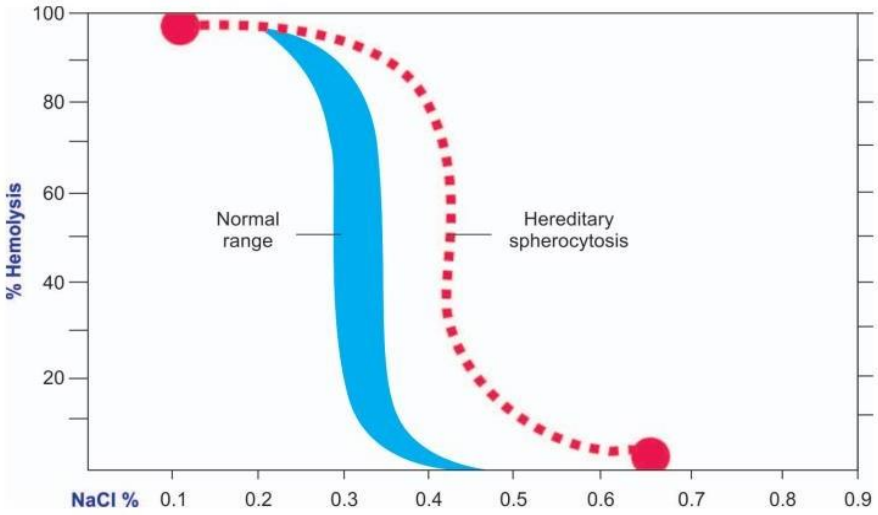
   50-90% hemolisis dalam NaCl 0,40%

   5-45% hemolisis dalam NaCl 0,45%

   0% hemolisis dalam NaCl 0,55%

D. INTERPRETASI HASIL PEMERIKSAAN

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 diibandingkan dengan kurva normal seperti pada gambar 4.7 berikut.



Sumber: Nayak, R., Rai, S. and Gupta, A.

Gambar 4.7

Kurva resistensi osmotik

Kurva normal digambarkan pada garis biru, kurva garis putus berwarna merah merupakan hasil resistensi osmotik pada sel eritrosit dengan bentuk sferosit. Gambar 4.7 tersebut memperlihatkan peningkatan fragilitas osmotik sel eritrosit atau *shift to the right* dari grafik kurva normal.

Sel sferosit memiliki volume permukaan sel/rasio volume yang lebih kecil dibandingkan sel eritrosit normal, sehingga memiliki keterbatasan kapasitas ketika larutan hipotonis masuk ke dalam sel eritrosit, yang menyebabkan sel sferosit lebih mudah lisis. Peningkatan nilai fragilitas osmotik dapat ditemukan pada keadaan sferositosis herediter, eliptosis herediter, dan keadaan lain yang berhubungan dengan kondisi sferositosis seperti anemia hemolitik autoimun.

Grafik sel eritrosit hipokromik dan makrositik akan berada di bagian kiri kurva normal (*shift to the left*). Keadaan ini menunjukan peningkatan resistensi osmotik dan penurunan fragilitas osmotik. Permukaan sel membran yang luas akan meningkatkan kemampuan untuk menyerap cairan sebelum lisis. Bentuk sel target yang memiliki area permukaan membran yang luas akan menyerap banyak cairan sebelum llisis.

Keadaan sel eritrosit hipokromik dan makrositik dapat meningkatkan kapasitas/volume sel eritrosit ketika berada pada larutan hipotonis. Eritrosit hipokromik dan makrositik akan lisis dalam larutan hipotonis dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan sel normal sehingga fragilitas osmotik sel tersebut menurun. Keadaan tersebut dapat ditemukan pada keadaan anemia defisiensi zat besi, thalasemia, anemia *sickle cell*, polisitemia vera, penyakit liver, dan retikulositosis.

E. HAL-HAL YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

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 progresteron yang mempengaruhi membran eritrosit pada wanita hamil.

Proses pemeriksaan sampel dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, yang terdapat pada tahapan pra analitik, analitik maupun, paska analitik. Pengambilan sampel sampel yang terlalu cepat, penentuan konsentrasi NaCl, pemipetan sampel, suhu ruang pemeriksaan, serta spektrofotometer juga dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan.

Antikoagulan yang digunakan pada proses sampling darah vena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan fragiliitas 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).

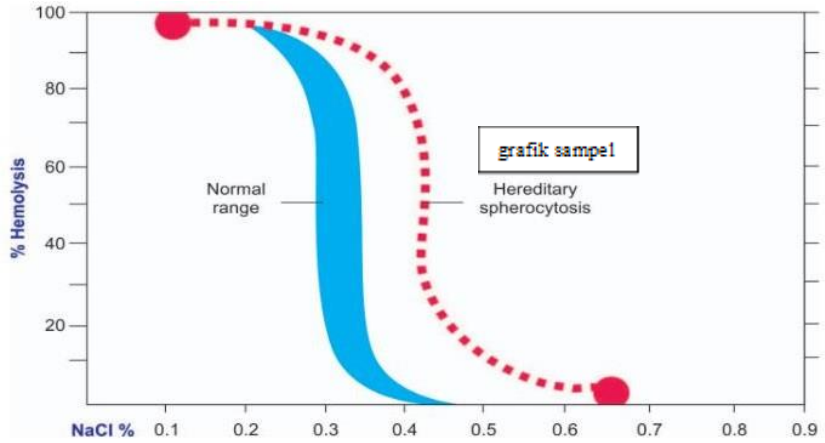
Penyimpanan sampel juga dapat mempengaruhi fragilitas osmotik sel eritrosit. Sel eritrosit yang disimpan pada tabung kaca di suhu $0^{o}C$ memperlihatkan peningkatan hemolisis dan fragilitas osmotik dibandingkan dengan sel eritrosit yang disimpan pada kantung plastik khusus darah yang terbuat dari polyvynylchloride dengan 2-ethylhexyl pthalate (DEHP).

Latihan

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

1) Jelaskan prinsip pemeriksaan ROT!
2) Jelaskan prosedur pemeriksaan ROT!
3) Jelaskan nilai normal pemeriksaan ROT!

4) Jelaskan kesimpulan hasil pemeriksaan grafik berikut.



5) Jelaskan hal-hal yang mempengaruhi hasil pemeriksaan ROT!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi prinsip pemeriksaan ROT.
2) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan ROT
3) Pelajari kembali materi nilai normal pemeriksaan ROT.
4) Pelajari kembali materi intrepetasi hasil pemeriksaan ROT.
5) Pelajari kembali materi hal-hal yang mempengaruhi hasil pemeriksaan ROT.

Ringkasan

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. Pemeriksaan dilakukan dengan memasukkan sejumlah sel eritrosit ke dalam larutan hipotonis lalu melihat persen hemolisis dari tiap larutan tersebut. Persen hemolisis sampel dibuat grafik dan dibandingkan dengan grafik kurva standar. Resistensi osmotik atau *fragility osmotic* dipengaruhi oleh bentuk sel eritrosit yang tergantung pada volume, luas permukaan membran, dan kondisi membran sel eritrosit. Pada sel sferosit, *resistensi osmotik test* menurun atau *fragility ostomotic test* meningkat sedangkan pada sel makrositik, dan sel target terjadi sebaliknya.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan resistensi osmotik pada pasien terduga thalasemia. Apakah pereaksi yang perlu dipersiapkan oleh ATLM tersebut?
   A. Na sitrat
   B. Heparin
   C. NaCl
   D. EDTA
   E. NaF

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan resistensi osmotik pada pasien. ATLM tersebut akan mempersiapkan larutan hipotonis diantaranya 5,0 mL larutan NaCl 0,30% dari larutan stok NaCl 1%. Berapa mL larutan NaCl yang dibutuhkan untuk membuat larutan tersebut?
   A. 0,5
   B. 1
   C. 1,5
   D. 2
   E. 3,5

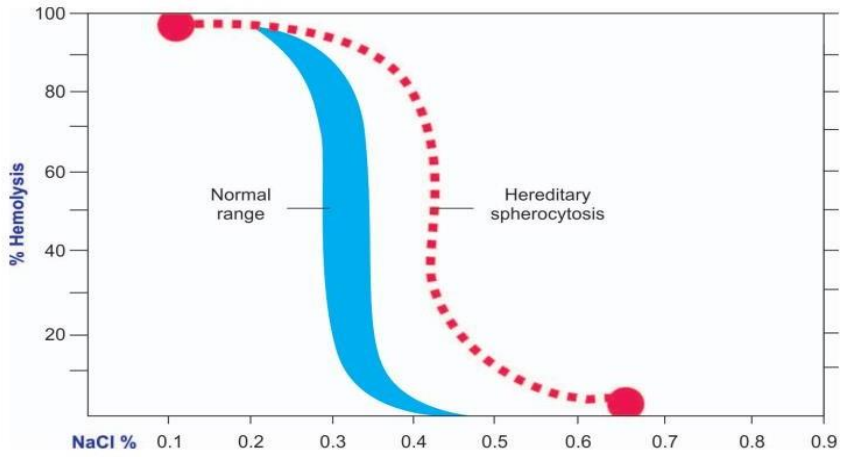
3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan resistensi osmotik pada pasien. Didapatkan data absorbansi tiap larutan sebagai berikut.

No Tabung	Konsentrasi NaCl (%)	Absorbansi Suspensi Larutan Sampel	Persen hemolisis (%)
1	0,90	0,001	.....
2	0,75	0,002	.....
3	0,65	0,0025	.....
4	0,60	0,0035	.....
5	0,55	0,004	.....
6	0,50	0,215	.....
7	0,45	0,380	.....
8	0,40	0,580	.....
9	0,35	0,825	.....
10	0,30	0,934	.....
11	0,20	0,955	.....
12	0,10	0,980	.....

Berapa % hemolisis yang terjadi pada tabung ke-8?

A. 37
B. 38
C. 41
D. 59
E. 84

4) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan resistensi osmotik pada pasien. Setelah didapatkan hasil absorbansi sampel dan dihitung persentase hemolisis, dibuat kurva berikut.



Apakah kesimpulan dari pemeriksaan tersebut?

A. ROT meningkat
B. FOT meningkat
C. FOT menurun
D. Pemeriksaan tidak valid
E. Sel eritrosit kuat menahan tekanan osmotik

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

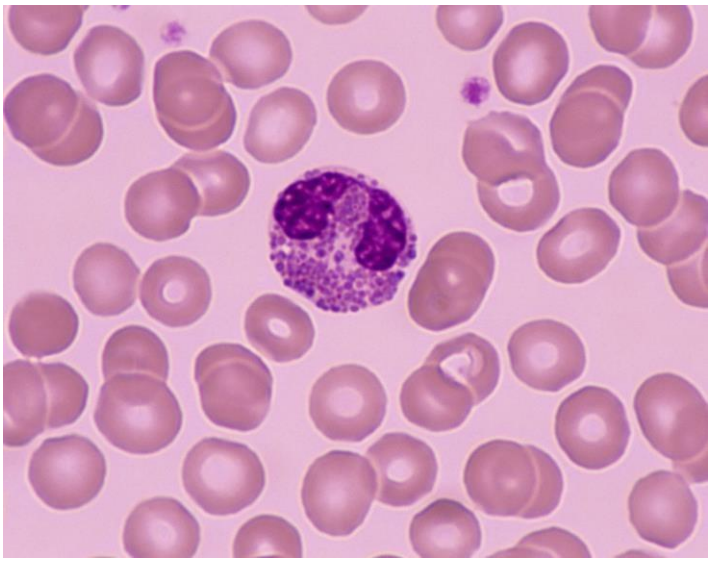
Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 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 cyrstal. Pada permukaan sel eosinofil terdapat reseptor imunoglobulin E yang berperan pada reaksi alergi dan proses eliminasi parasit.

A. PRINSIP PEMERIKSAAN

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.



Sumber: https://www.verywellhealth.com

Gambar 4.8
Sel Eosinofil

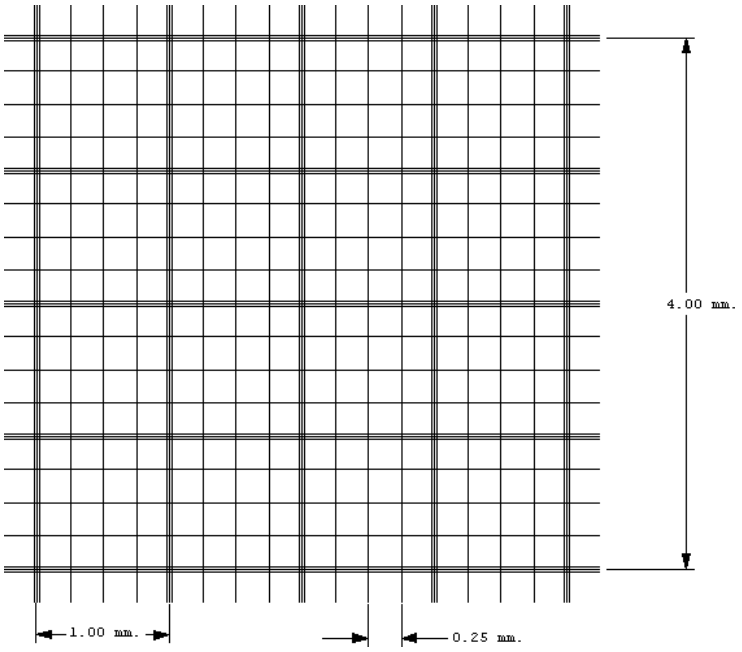
B. PROSEDUR PEMERIKSAAN

Pemeriksaan hitung sel eosinofil absolut manual dilakukan dengan mengencerkan sampel darah EDTA menggunakan larutan Dunger's. Komposisi larutan Dunger's adalah sebagai berikut.

Komposisi	Jumlah	Fungsi
Eosin	200 mg	Mewarnai garanula sel eosinofil menjadi orange
Aseton	10 mL	Fiksasi sel eosinofil
Aquadest	80 mL	Melisiskan sel eritrosit dan sel lekosit selain sel eosinofil (sudah resisten)

Prosedur hitung jumlah sel eosinofil absolut adalah sebagai berikut.

1. Sampel darah EDTA sebanyak 20 µL diencerkan dalam 180 µL larutan Dunger's, lalu dihomogenisasi.
2. Sampel yang sudah diencerkan dengan reagensia, dihomogenisasi kembali, lalu dimasukkan ke dalam bilik hitung Fuch Rosenthal dengan satu aliran.
3. Larutan dalam bilik hitung diinkubasi terlebih dahulu selama 15 menit di dalam cawan petri yang dialasi oleh tissue/kapas basah.
4. Sel eosinofil dihitung pada luas 16 mm^2 menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10 X. Sel eosinofil dihitung dalam enam belas bidang besar, dengan memperhatikan ketentuan "kiri atas". Ketentuan "kiri atas" adalah sel eosinofil yang menyinggung garis batas sebelah kiri dan batas atas dihitung, sedangkan sel eosinofil yang menyinggung garis batas sebelah kanan dan bawah tidak dihitung.
5. Jumlah sel eosinofil yang ditemukan dikalikan dengan faktor pengenceran, kemudian hasil perhitungan dilaporkan sebagai jumlah sel eosinofil sampel.



Sumber: http://hausserscientific.com

Gambar 4.9

Bilik hitung *fuchs-rosenthal*

Cara menghitung jumlah sel eosinofil. Untuk menentukan jumlah sel eosinofil/µL darah atau /mm^3 darah, maka faktor penghitungan harus ditentukan terlebih dahulu.

Jumlah sel eosinofil/µL darah = jumlah sel eosinofil yang dihitung (N) X faktor (F)

$$F = \frac{\text{Faktor pengenceran}(P)}{\text{Volume bilik hitung}(V)}$$

Pengenceran sampel (P):

$$P = \frac{\text{Total volume cairan}(\text{pelarut} + \text{terlarut})}{\text{Volume terlarut}}$$

$$= \frac{180\ \mu L + 20\ \mu L}{20\ \mu L} = 10$$

Volume bilik hitung Fuch Rossental (V):

V = luas bilik hitung (L) X tinggi bilik hitung (T)

$$V = \left(1\ mm^2\ \text{x}\ 16\ \text{kotak}\right)\frac{2\ mm}{10} = \frac{32}{10}\ mm^3$$

Jika pengenceran 10 kali, maka faktor penghitungan adalah:

$$F = \frac{10}{32/10} = \frac{100}{32}$$

Jumlah sel eosinofil/µL darah = N x $\frac{100}{32}$

C. INTEPRETASI HASIL PEMERIKSAAN

Nilai normal jumlah mutlak sel eosinofil adalah 40-450 sel/µL. Jumlah sel eosinofil di atas nilai normal disebut dengan eosinofilia. Eosinofilia dapat terjadi pada keadaan alergi, infeksi parasit, infeksi fungi, penyakit kulit (dermatitis, pemphigus, scabies, dan dermatitis herpetifomis), penyakit hematological (chronic myeloid leukimia, polisitemia, Limfoma Hodgkin, leukimia mielomonositik akut, leukimia eosinofilik), reaksi hipersensitif seperti sindrom Loeffler's. Eosinofilia dapat terjadi pada leukimia eosinofilik, dimana jumlah sel eosinofil absolut lebih dari 100 x 10^9 sel/µL dan pada apusan darah tepi ditemukan sel eosinofil lebih dari 60%.

D. HAL-HAL YANG MEMPENGARUHI HASIL PEMERIKSAAN

Sel eosinofil bersifat diurnal ketika bersirkulasi di pembuluh darah. Jumlah sel eosinofil cenderung lebih tinggi ketika malam menjelang tidur dan menurun ketika pagi hari karena dipengaruhi oleh fluktuasi hormon dan glukokotikosteroid. Pada wanita, siklus menstruasi mempengaruhi jumlah sel eosinofil. Jumlah sel eosinofil akan menurun pada masa ovulasi dan meningkat pada masa menstruasi. Jumlah eosinofil juga dapat meningkat pada orang yang melakukan kegiatan fisik/olahraga serta rendah ketika stres.

Hasil pemeriksaan dapat juga dipengaruhi oleh tehnik pengerjaan. Aseton merupakan zat yang mudah menguap, maka ketika membuat larutan Dunger's, aseton ditambahkan paling akhir dan setelah penambahan, wadah langsung ditutup, agar aceton tidak menguap. Pemipetan aceton juga dapat dilakukan dengan tehnik *reverse pippeting* yaitu pemipetan menggunakan tekanan kedua pada mikropipet, dan reagensia ditranfer/dikeluarkan pada tekanan pertama. Hal tersebut dilakukan untuk meminimalisir kesalahan volume pemipetan karena aceton mudah menguap.

Latihan

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

1) Jelaskan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil!
2) Jelaskan komposisi reagensia yang digunakan pada pemeriksaan hitung jumlah eosinofil!
3) Jelaskan prosedur pemeriksaan hitung jumlah eosinofil!
4) Pada kondisi klinis apakah terjadi eosinofilia?
5) Jelaskan hal-hal yang mempengarui hasil pemeriksaan hitung jumlah eosinofil!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil.
2) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan hitung jumlah eosinofil.
3) Pelajari kembali materi prosedur pemeriksaan hitung jumlah eosinofil.
4) Pelajari kembali materi intepretasi pemeriksaan hitung jumlah eosinofil.
5) Pelajari kembali materi hal-hal yang mempengarui hasil pemeriksaan hitung jumlah eosinofil.

Ringkasan

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.

Eosinofilia dapat ditemukan pada keadaan alergi, infeksi parasit, infeksi fungi, penyakit kulit (dermatitis, pemphigus, scabies dan dermatitis herpetifomis), penyakit hematological (chronic myeloid leukimia, polisitemia, Limfoma Hodgkin, leukimia mielomonositik akut, leukimia eosinofilik), reaksi hipersensitif seperti sindrom Loeffler's.

Tes 5

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil mutlak. ATLM tersebut melakukan pengenceran sampel sebanyak 20 µL ke dalam pelarut 180 µL. Apakah pelarut yang digunakan oleh ATLM pada pemeriksaan tersebut?
   A. Turk
   B. Hayem
   C. Amonium oxalat
   D. Dunger's
   E. NaCl

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil mutlak. ATLM tersebut melakukan pengenceran sampel sebanyak 20 µL ke dalam pelarut 180 µL. Berapakah pengenceran yang dilakukan oleh ATLM tersebut?
   A. 5
   B. 10
   C. 11
   D. 20
   E. 21

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil mutlak. ATLM tersebut melakukan pengenceran sampel sebanyak 20 µL ke dalam pelarut 180 µL. Apakah alat yang digunakan oleh ATLM pada pemeriksaan tersebut?
   A. Pipet Westergren
   B. Bilik Improved Neubauer
   C. Bilik Fuch Rosenthal
   D. Tabung Wintrobe
   E. Counter Tally

4) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil mutlak. ATLM tersebut melakukan pengenceran sampel sebanyak 20 µL ke dalam pelarut 180 µL. Apakah tahapan selanjutnya yang perlu dilakukan oleh ATLM tersebut?
   A. Menginkubasi larutan pada suhu 37oC
   B. Memasukkan sampel ke dalam bilik hitung
   C. Menghitung sel secara mikroskopis

D. Memasukkan sampel ke dalan tabung Wintrobe

E. Membuat sediaan apus darah

5) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah sel eosinofil mutlak. ATLM tersebut melakukan pengenceran sampel sebanyak 20 µL ke dalam pelarut 180 µL, lalu melakukan perhitungan sel menggunakan bilik hitung Fuch Rosenthal. Berapa mm^2 luas area hitung sel pemeriksaan tersebut?

A. 0,2

B. 1

C. 4

D. 5

E. 9

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 5 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 5.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	- 100%	=	baik sekali
	80	- 89%	=	baik
	70	- 79%	=	cukup
		< 70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 5, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1) B
2) D
3) C
4) C
5) C

Tes 2

1) E
2) C
3) A
4) A
5) D

Tes 3

1) C
2) A
3) B
4) E
5) D

Tes 4

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

Tes 5

1) D
2) B
3) C
4) B
5) E

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).
RNA	Materi genetik hasil dari transkripsi DNA.
Rouleaux	Eritrosit yang menumpuk memanjang.

Daftar Pustaka

Gugun, A. M. and Sukorini, U. (2004). 'Profil Pemeriksaan Fragilitas Osmotik Eritrosit di RS. Dr. Sardjito', *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, pp. 86–96. Available at: https://journal.umy.ac.id/index.php/mm/article/view/1745.

Hamid, A. (2013) *Clinical Hematology*, *Southern Medical Journal*. doi: 10.1097/00007611-195707000-00032.

Hoffman Ronald et all (2000) *Hoffman: Hematology: Basic Principles and Practice, 3rd ed. , Copyright © 2000* Churchill Livingstone, Inc. USA: Churchill Livingstone.

Igbokwe, N. A. (2019) 'A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility', *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 16(4), p. 1. doi: 10.4314/sokjvs.v16i4.1.

Indonesia, D. T. L. M. (2019) *Hematologi Teknologi Laboratorium Medik*. Edited by Maharani Eva Ayu. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Lewis S.M.; Bain BJ.; Bates I., et al (2017) *Dacie and Lewis Practical Haematology, 12th edn*. 12th edn. Philadelphia: Churchill Livingstone.

Myhre, E. (2020) 'Reticulocyte count.', *Nordisk medicin*, 15(5), pp. 37–40. Available at: https://journals.lww.com/nursingcriticalcare/fulltext/2020/09000/reticulocyte_count.7.aspx.

Nayak, R., Rai, S. and Gupta, A. (2011) *Essentials in Hematology and Clinical Pathology*. doi: 10.1108/17506141211259140.

Rukman, K. (2014) *Hematologi dan Transfusi*. Erlanggamedical series.

Subramanian, A. *et al.* (2011) 'Evaluation of an automated erythrocyte sedimentation rate analyzer as compared to the Westergren manual method in measurement of erythrocyte sedimentation rate', *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 54(1), pp. 70–74. doi: 10.4103/0377-4929.77328.

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

Uppal, V. *et al.* (2020) 'Reticulocyte count and its parameters: comparison of automated analyzers, flow cytometry, and manual method', *Journal of Hematopathology*. 13(2), pp. 89–96. doi: 10.1007/s12308-020-00395-8.

http://analiskesehatan-indonesia.blogspot.com/2012/05/pemeriksaan-laboratorium-retikulosit.html

http://haematologyetc.co.uk/Macrocytic_Red_Cells

http://hausserscientific.com/products/fuchs-rosenthal.html

https://www.onlinebiologynotes.com/erythrocyte-sedimentation-rate-esr-principle-method-procedure-and-clinical-application/

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

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

Bab 5
HEMATOLOGY ANALYZER

Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed.

Pendahuluan

Saat ini, *hematology analyzer* sudah umum digunakan untuk pemeriksaan darah rutin ataupun darah lengkap yang mencakup pemeriksaan Hb, hitung sel darah, Ht, indeks eritrosit/nilai eritrosit rata-rata (NER), hitung jenis lekosit sampai dengan analisis sel darah yang lebih spesifik seperti retikulosit bahkan sampai dengan mendeteksi adanya kelainan morfologi sel darah. *Hematology analyzer*-pun hadir dengan berbagai macam teknologi, merk dan spesifikasi-nya. Sebelum *hematology analyzer* diciptakan, parameter darah rutin/darah lengkap dilakukan dengan metode manual yang tidak efisien, karena membutuhkan waktu pengerjaan yang lebih lama dengan tingkat ketelitian yang kurang baik atau variasi hasil yang cukup besar.

Pada Bab 5 ini, kita akan mempelajari *hematology analyzer* dengan berbagai teknologi dan spesifikasinya. Adapun bab ini terdiri atas empat topik, yaitu:

Topik 1: Teknologi dan Prinsip Analisis
Topik 2: Parameter pemeriksaan
Topik 3: Hasil pemeriksaan
Topik 4: *Status Error* atau *Flagging*

Setelah mempelajari bab ini, Anda akan dapat menjelaskan konsep dasar teknologi *hematology analyzer*, prinsip tiap parameter pemeriksaan dengan *hematology analyzer*, hasil pemeriksaan dan menjelaskan status eror atau *flagging* yang dapat terjadi pada *hematology analyzer*.

Topik 1
Teknologi dan Prinsip Analisis

Hematology analyzer secara luas digunakan untuk analisis sampel darah pasien yang meliputi hitung sel darah dan mengidentifikasi sel darah sebagai bagian dari deteksi dan monitoring suatu penyakit. *Hematology analyzer* awalnya digunakan pada tahun 1950-an dengan teknologi impedansi listrik yang mendeteksi sel darah berdasarkan ukuran sel dengan parameter yang digunakan terbatas untuk hitung sel darah. Pada tahun 1970, *hematology analyzer* mengalami perkembangan dengan parameter hitung jenis sel lekosit, walaupun masih terbatas pada 3 jenis sel lekosit (limfosit, monosit, dan granulosit).

Teknologi *hematology analyzer* masih terus mengalami perkembangan dengan digunakannya teknologi *flow-cell* melalui Impedansi listrik ataupun optik melalui *light scatter* (pendaran cahaya) pada tahun 1990. Sampai saat ini, teknologi *hematology analyzer* terus mengalami perkembangan.

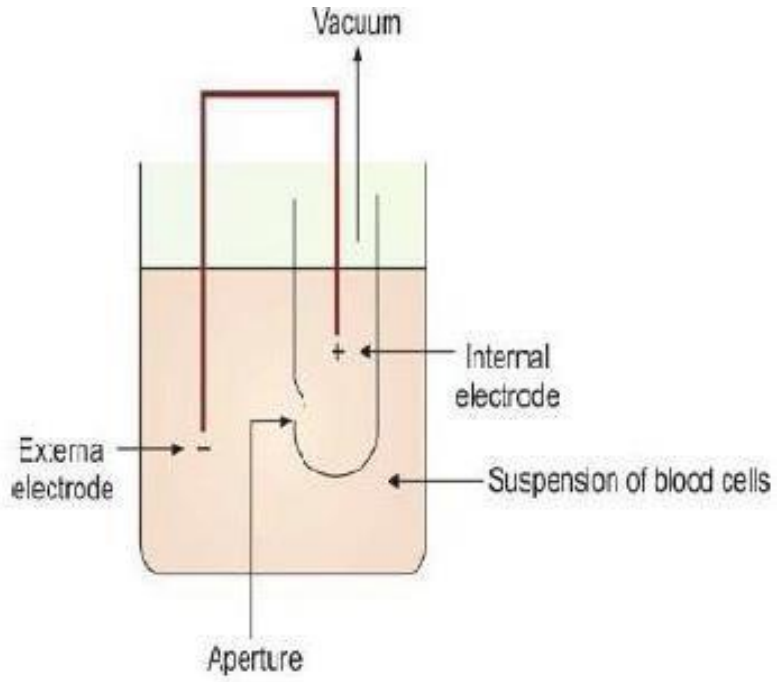
Secara umum, teknologi yang digunakan pada *hematology analyzer* adalah elektrik impedansi dan optik. Teknologi ini biasanya dikombinasikan dengan reagensia pelisis darah ataupun jenis reagensia lainnya untuk menganalisis sel darah. Pereaksi khusus yang digunakan menambah jenis parameter pemeriksaan, seperti penambahan larutan pelisis eritrosit yang berfungsi dalam pengukuran konsentrasi hemoglobin. Pada topik 1 ini akan dibahas secara spesifik jenis teknologi pada *hematology analyzer* dan prinsip analisisnya, yaitu sebagai berikut.

A. Teknologi Impedansi Listrik dan *radiofrequency* (RF)
B. Teknologi Optik
C. Teknologi Flowsitometri

A. TEKNOLOGI IMPEDANSI LISTRIK (*ELECTRICAL IMPEDANCE* DAN RADIOFREQUENCY/RF)

Teknologi impedansi listrik merupakan teknologi yang pertama kali diaplikasikan pada *hematology analyzer*. Teknologi ini ditemukan pertama kali oleh Wallace Coulter pada tahun 1956. Teknologi impedansi listrik merupakan teknologi hitung dan analisis sel berdasarkan pengukuran impedansi listrik (hambatan) yang dihasilkan oleh setiap sel darah. Konsep dasar teori impedansi listrik berasal dari sel eritrosit yang bersifat konduktor lemah dan larutan pengencer yang bersifat sebagai konduktor listrik yang baik.

Reaksi impedansi listrik terjadi pada dua elektroda dengan arus listrik yang ditempatkan pada larutan isotonik yang dipisahkan oleh tabung yang memiliki celah seperti terlihat pada Gambar 5.1 berikut ini.



Sumber: Dayyal, 2017)

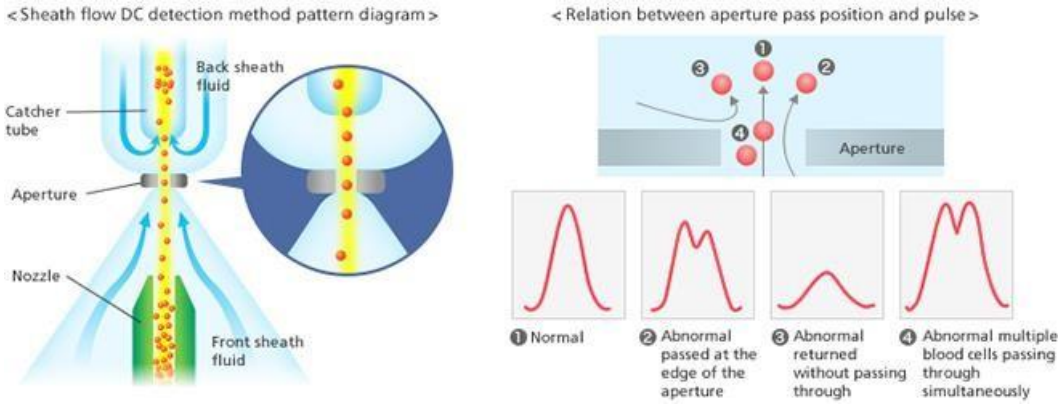
Gambar 5.1

Prinsip Kerja Teknologi Impedansi

Sel darah yang masuk melalui celah (*aperture*) akan menghalangi jalannya arus listrik dan terdeteksi sebagai peningkatan hambatan listrik (pulsa resistensi). Pulsa ini akan diukur dan dihitung jumlahnya persatuan waktu (frekuensi pulsa) dan akan dideteksi sebagai jumlah sel.

Tingginya pulsa atau perubahan tegangan listrik (amplitudo) yang ditimbulkan, akan dideteksi sebagai volume dari masing-masing sel darah. Jika sel darah tidak melewati pusat celah, maka sel tidak akan terukur sempurna dan tidak bisa dianalisis volume selnya.

Beberapa jenis *hematology analyzer* sudah menggunakan teknologi *hydrodynamic focusing* yang membuat seluruh sel melewati bagian pusat celah, sehingga seluruh sel dapat teranalisis dengan baik. Sysmex memperkenalkan sistem *sheath flow* pada tahun 1980 yang memungkinkan sel darah dapat mengalir satu persatu di dalam larutan pada interval tertentu, sehingga pulsa dapat terukur dengan baik dan berkorelasi dengan jumlah sel darah. Sistem *sheath flow* dapat dilihat pada gambar 5.2 berikut ini.



Sumber: https://www.sysmex.co.jp/en/rd/history_awards/history/history02_2.html

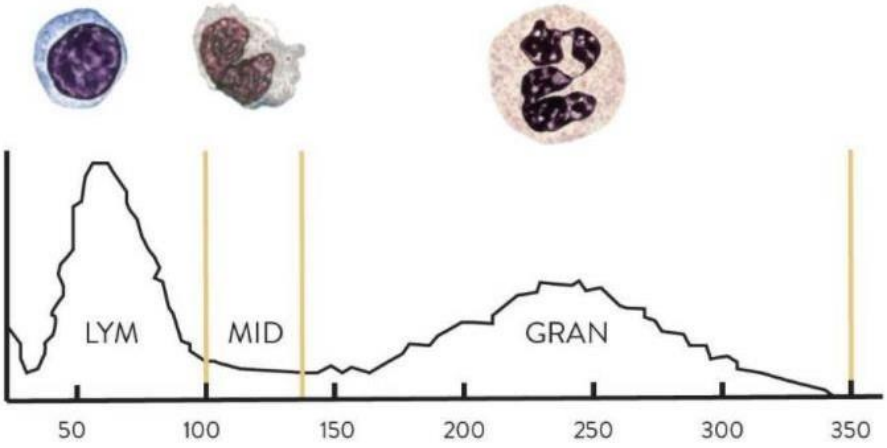
Gambar 5.2

Prinsip Kerja Sistem Sheath Flow

Prinsip kerja *hematology analyzer* dengan teknologi impedansi adalah sebagai berikut. Sampel darah dengan antikoagulan yang dihisap ke dalam alat, akan dipisahkan menjadi 2 bagian dan dicampurkan dengan larutan pengencer/diluen. Larutan pertama dialirkan ke dalam *chamber* sel eritrosit (untuk hitung sel eritrosit dan trombosit), sedangkan 1 bagian pengenceran lainnya dialirkan ke dalam *chamber* sel lekosit. Pada *chamber* lekosit juga dilakukan pengukuran kadar hemoglobin (Hb) dengan menambahkan reagen pelisis eritrosit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 535 nm.

Partikel yang berukuran 2-20 fL dihitung sebagai trombosit, dan partikel dengan ukuran 36-360 fL dihitung sebagai sel eritrosit. Output data berupa kurva ataupun histogram digambarkan sebagai distribusi dan frekuensi volume sel. Pada sumbu X merepresentasikan ukuran dalam femtoliter (fL) dan sumbu Y merepresentasikan jumlah sel.

Teknologi impedansi listrik menganalisis hitung sel darah dan hanya dapat membedakan 3 jenis sel lekosit berdasarkan ukuran, yaitu limfosit, sel *mid-range,* dan granulosit (Gambar 5.3), dan teknologi ini tidak dapat mendeteksi sub tipe granulosit. Hal ini dikarenakan teknologi impedansi belum dapat membedakan struktur internal sel, khususnya granula lekosit. Teknologi ini juga tidak daapt mendeteksi sel abnormal, seperti eritrosit berinti, *giant* trombosit yang dapat menimbulkan status eror atau *flagging*. Berikut ini adalah contoh kurva analisis pada alat impedansi yang membaca tiga jenis sel lekosit.



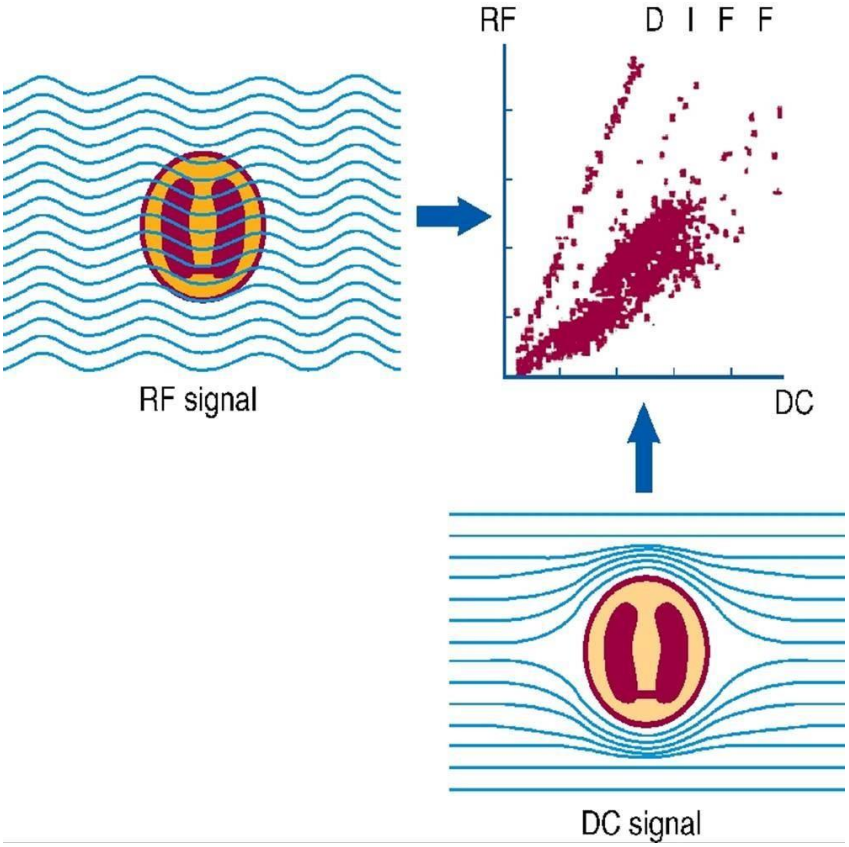
Sumber: Mukhtar Z, 2019.

Gambar 5.3

Tiga Jenis Sel Lekosit yang Terdeteksi Melalui Teknologi Impedansi

Teknologi impedansi listrik pada *hematology analyzer* masih digunakan luas hingga saat ini, walaupun beberapa jenis alat mengkombinasikan dengan teknologi tambahan untuk hitung jenis lekosit, salah satunya adalah teknologi radio frekuensi (RF). Teknologi ini berdasarkan pada sinyal elektromagnetik bertegangan tinggi untuk menganalisis ukuran sel, inti sel, dan kepadatan sel.

Informasi tambahan yang diberikan pada teknologi ini meliputi rasio nukleus dan sitoplasma, kepadatan nukleus dan granula sitoplasma. Informasi analisis sel yang didapat dari teknologi impedansi dan RF dapat di-plot dalam satu kurva titik atau *scatter*. Kurva menggambarkan satu populasi sel dalam satu kluster dengan jumlah titik dalam setiap kluster menggambarkan konsentrasi jenis sel. Teknologi ini memungkinkan pemisahan 5 jenis sel lekosit (netrofil, limfosit, monosit, eosinofil dan basofil). Berikut ini gambar ilustrasi kombinasi 2 teknologi (impedansi dan RF) dalam interpretasi parameter hitung jenis sel lekosit (Gambar 5.4).



Sumber: Sharral Longanbach, Martha K.Miers, 2013).

Gambar 5.4

Ilustrasi pengukuran volume sel melalui teknologi impedansi (DC) dan RF yang memberikan sinyal yang berbeda, sehingga dapat memberikan informasi lengkap mengenai suatu populasi sel yang di-plotkan dalam satu kurva

Walaupun teknologi impedansi mempunyai beberapa kelemahan, namun keutamaan alat ini adalah dapat menghitung 10.000 sel perdetik dan seluruh hasil pemeriksaan dapat terbaca di alat kurang dari satu menit. Selain itu, teknologi ini lebih murah dibandingkan teknologi flowsitometri, sehingga laboratorium dengan sumber daya terbatas dapat menggunakan teknologi ini.

B. TEKNOLOGI OPTIK

Teknologi optik menggunakan sinar laser untuk menghitung dan mengukur sel darah. Teknologi ini menganalisis sel darah melalui berkas sinar yang ditembakkan ke tiap sel darah yang mengalir dalam suatu saluran. Setiap sel yang melalui zona sinar tersebut akan meneruskan sinar yang ditangkap oleh *photodetector* dan diubah menjadi pulsa elektrik. Pulsa

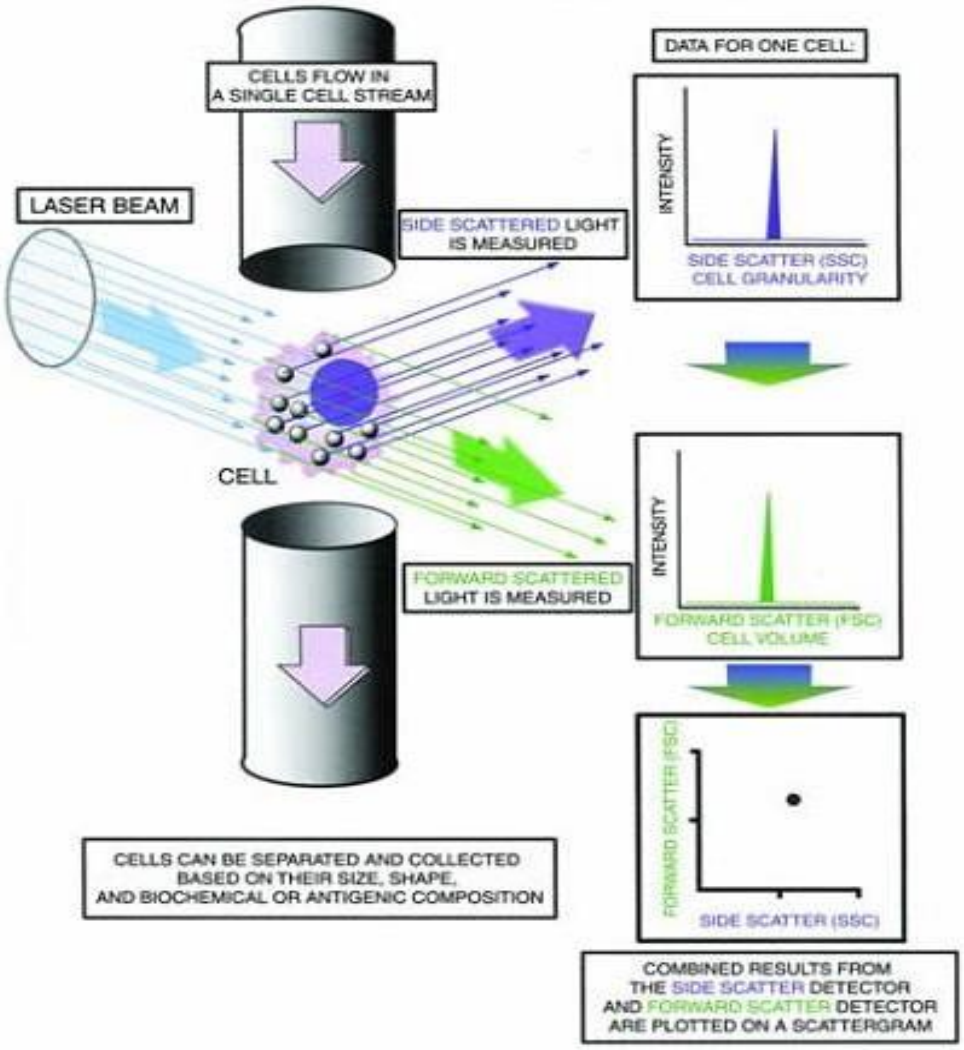
tersebut sebanding dengan jumlah sel yang melewati area penembakan sinar laser dalam periode tertentu. Pada beberapa literatur, teknologi optik dideskripsikan dengan teknologi flowsitometri, namun pada buku ini teknologi flowsitometri dideskripsikan sebagai teknologi yang lebih kompleks yang melibatkan zat warna fluoresensi ataupun antibodi monoklonal.

Prinsip kerja *hematology analyzer* dengan teknologi optik adalah sebagai berikut. Sel darah mengalir per satu sel pada saluran, dan sel darah akan terekspos pada cahaya atau sinar laser yang ditembakkan secara intens. Setiap sel darah akan memantulkan dan menyebarkan cahaya (*light scatter*). Pola penyebaran cahaya diukur pada beberapa sudut yaitu ke arah depan (*forward scatter*, 180^o) dan ke arah kanan (90^o).

Pancaran cahaya ke arah depan sel merupakan hasil dari difraksi yang menggambarkan volume sel darah. Sebaran cahaya ke arah samping kanan menggambarkan stuktur internal sel. Data sebaran cahaya dari arah depan dan samping, dianalisis melalui detektor dan diplot pada kurva titik (*scatter*) melalui komputer. Semakin banyak detektor yang ditempatkan pada berbagai sudut, dapat memberikan informasi lebih banyak mengenai karakteristik sel darah, sehingga identifikasi sel lebih akurat, seperti berikut ini.

1. *Forward light scatter* 0^o, yang menganalisis volume sel.
2. *Forward low-angle light scatter* $2^0 – 3^0$, yang menganalisis ukuran dan volume sel.
3. *Forward high angle* $5^0 – 15^0$, menganalisis komponen selular.
4. *Orthogonal light scatter/side scatter* 90^0, menganalisis kompleksitas internal sel.

Jenis sel lekosit seperti netrofil dan limfosit yang dapat dibedakan berdasarkan ukuran dan granulanya, dapat diidentifikasi menggunakan data sebaran cahaya depan dan samping. Ilustrasi prinsip pengukuran teknologi optik dapat dilihat pada gambar 5.5. berikut ini.



Sumber: Sullivan, 2006.

Gambar 5.5

Ilustrasi prinsip pengukuran dengan teknologi optik

Penggunaan teknologi optik untuk identifikasi sel darah memungkinkan dapat mengidentifikasi jenis sel lekosit menjadi lima jenis sel. Penambahan zat warna fluoresen dapat menambah kapasitas analisis sel darah melalui teknologi flow sitometri.

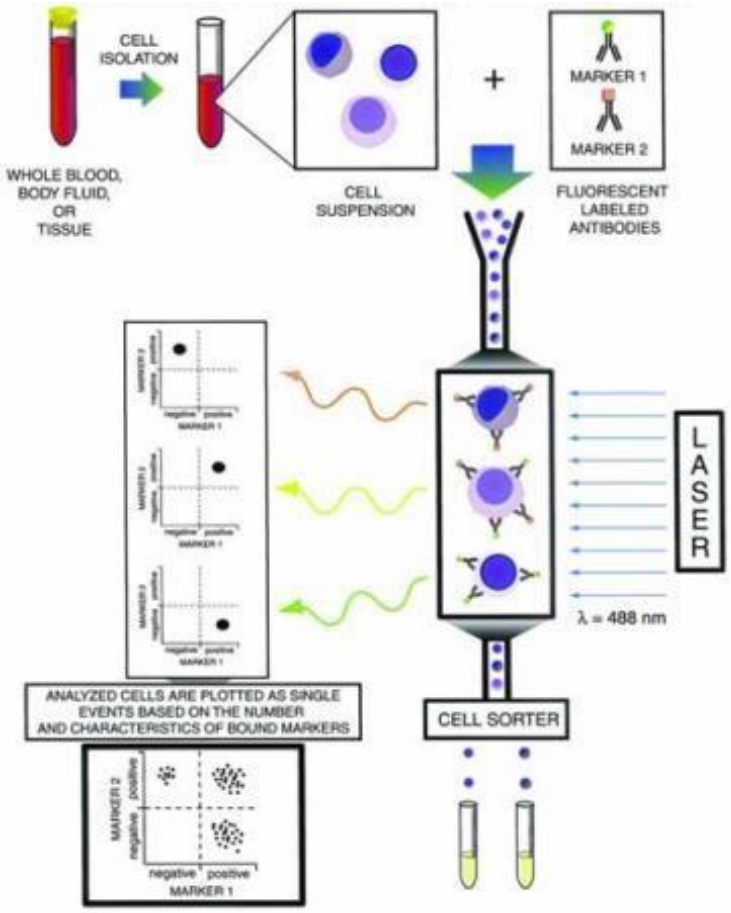
C. TEKNOLOGI FLOW SITOMETRI

Flow sitometri dideskripsikan sebagai analisis sel darah terhadap berbagai macam karakteristik fisik sel darah melalui suatu suspensi sel yang dialirkan dan dilewatkan pada alat pengukuran. Flow sitometri mengkombinasikan teknologi *fluid dynamics*, optik, dan *fluorochrome-conjugated monoclonal antibody* yang dapat mengklasifikasikan sel darah menjadi lebih spesifik.

Teknologi ini menganalisis sel berdasarkan sebaran cahaya yang diteruskan oleh sel darah yang sebelumnya diberi penanda/label zat fluoresensi. Zat fluoresensi yang merupakan penanda/marker dilabel pada antibodi monoklonal yang spesifik mengikat antigen atau protein spesifik pada permukaan/membran sel darah. Jenis zat fluoresensi seperti fluorescein atau R-phycoerythrin mempunyai spektrum berbeda sehingga dapat mengidentifikasi sel darah secara spesifik berdasarkan warna pendaran cahaya yang dihasilkan.

Prinsip kerja teknologi *flow* sitometri adalah sebagai berikut. Sel darah diinkubasi dengan label antibodi monoklonal dengan fluorokrom yang berbeda. Fluorokrom merupakan molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu dan memancarkannya dengan panjang gelombang yang lebih tinggi. Sel yang berikatan dengan antibodi yang terikat dengan fluorokrom, akan melewati kuvet, sehingga sinar laser yang ditembakkan pada area tersebut, menimbulkan pendaran spesifik yang berasal dari senyawa fluoresen. Pendaran cahaya yang spesifik yang mencakup jumlah sinar yang tersebar dan intensitas zat fluoresensi yang dipendarkan, akan dideteksi dan ditranslasikan menjadi sinyal elektrik yang dapat dianalisis melalui komputer.

Karakteristik sel darah dianalisis berdasarkan sebaran cahaya ke arah depan (*forward scatter*), sebaran cahaya samping (*side scatter*), dan intensitas cahaya fluoresen pada panjang gelombang tertentu. Data yang didapatkan dari berbagai reaksi tersebut kemudian dikumpulkan, dianalisis dan diplot melalui kurva histogram. Penggunaan penanda antibodi memungkinkan ketepatan identifikasi sel darah. *Flow* sitometri fluoresen dapat mendeteksi eritrosit berinti berdasarkan pewarnaan pada DNA serta penambahan jenis reagensia dan detektor untuk menangkap sinyal fluoresen pada jenis sel yang lebih spesifik. Prinsip kerja *flow* sitometri fluoresensi dapat dilihat pada Gambar 5.6 berikut ini.



Sumber: Sullivan, 2006.

Gambar 5.6

Prinsip Kerja Teknologi *Flow* Sitometri Fluoresen

Teknologi *flow* sitometri fluoresen diintegrasikan dengan teknologi optik pada beberapa sudut sebaran cahaya untuk mengklasifikasikan jenis sel lekosit lebih spesifik. Sebagai contoh, aplikasi teknologi MAPSS (*Multi-Angle Polarized Scatter Separation*) yang digunakan untuk identifikasi sel eosinofil. Teknologi ini menggunakan empat detektor untuk menangkap sinyal dari empat arah yang berbeda, yaitu:

0^o : identifikasi ukuran sel
0^o – 10^o : kompleksitas seluler
90^o polarisasi : lobus nukleus/segmentasi
90^o depolarisasi : granula eosinofil

Sinyal tersebut dapat mengklasifikasikan sub populasi jenis sel lekosit dan dapat memberikan informasi mengenai morfologi sel yang dapat menyebabkan status eror atau *flagging* pada alat.

Keutamaan teknologi *flow* sitometri adalah setiap sel dilakukan lebih dari satu pengukuran berdasarkan sinar yang diteruskan terhadap sel yang melewati sinar laser. Penggunaan teknologi *flow* sitometri lebih mahal dibandingkan teknologi impedansi karena jenis reagensia yang digunakan. Teknologi *flow* sitometri memungkinkan identifikasi lima jenis sel lekosit, yang lebih baik dibandingkan metode impedansi. Pada teknologi ini, sel dianalisis berdasarkan ukuran, struktur internal sel, granula, dan permukaan sel.

Setiap teknologi yang diaplikasikan pada *hematology analyzer* mempunyai keutamaan dan kelemahannya masing-masing, oleh karena itu terdapat *hematology analyzer* yang mengaplikasikan lebih dari satu teknologi untuk analisis sel darah. Sebagai contoh *hematology analyzer* Beckman Coulter dengan spesifikasi pembacaan lima jenis sel lekosit. Pada alat tersebut terdapat tiga teknologi yang diaplikasikan, yaitu: teknologi impedansi, RF, dan teknologi optik. Teknologi impedansi berkaitan dgn pengukuran volume sel, serta pengukuran daya konduksi, dan arus elektromagnetik frekuensi tinggi melalui teknologi RF, arus dapat menembus masuk ke dalam sel dan dapat mengetahui struktur internal sel yang dilihat berdasarkan ratio nukleositoplasmik, ketebalan nukleus dan granular. Teknologi optik yang menganalisis berkas cahaya pada sudut 10-70^0 yang ditembakkan ke arah depan sel, ketika sel melewati sinar laser. Teknologi optik menganalisis struktur, bentuk dan reflektivitas sel. Lima jenis sel lekosit dibedakan berdasarkan ketiga teknologi tersebut yaitu berdasarkan volume sel, bagian dalam sel, dan berkas sinar yang diteruskan.

Setelah membaca dan mempelajari teknologi yang diaplikasikan pada *hematology analyzer*, jawablah Latihan dan tes berikut ini untuk membantu meningkatkan pemahaman terhadap materi Topik 1.

Latihan

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

1) Jelaskan prinsip teknologi impedansi pada *hematology analyzer!*
2) Jelaskan prinsip dari teknologi *hydrodynamic focusing!*
3) Jelaskan prinsip teknologi optik pada *hematology analyzer!*
4) Jelaskan prinsip teknologi *flow* sitometri pada *hematology analyzer!*
5) Jelaskan kelebihan dan kelemahan teknologi impedansi, optik, dan flow sitometri!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali bagian A, tentang teknologi impedansi listrik pada *hematology analyzer.*
2) Pelajari kembali bagian A, tentang *hydrodynamic focusing* pada *hematology analyzer.*
3) Pelajari kembali bagian B, tentang teknolofgi optik pada *hematology analyzer.*
4) Pelajari kembali bagian C, tentang teknologi *flow* sitometri pada *hematology analyzer.*
5) Pelajari Kembali bagian A, B, dan C, dan buat tabel untuk membandingkan kelebihan dan kekurangan masing-masing teknologi pada *hematology analyzer.*

Ringkasan

Hematology analyzer sudah digunakan luas pada laboratorium klinik karena keutamaannya yang dapat melakukan beberapa parameter pemeriksaan dalam satu kali analisis dan hasil analisis dapat diketahui kurang dari satu menit.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pengukuran dengan *hematology analyzer* teknologi impedansi. Bagaimana prinsip pengukuran sel darah pada teknologi impedansi?
   A. Pengukuran perubahan arus listrik karena sel melewati celah yang dialiri listrik
   B. Sel darah yang dianalisis pada satu aliran tertentu
   C. Frekuensi sinyal yang dianalisis berdasarkan sinyal elektromagnetik bertegangan tinggi
   D. Deteksi sinyal fluoresen yang dipendarkan oleh sel darah
   E. Berkas sinar yang ditembakkan ke dalam sel dalam berbagai sudut dan diteruskan untuk ditangkap oleh detector

2) Alat *hematology analyzer* dirancang dengan berbagai macam teknologi. Salah satunya adalah teknologi yang memungkinkan sel darah mengalir satu persatu tanpa bertumpukan pada satu saluran sehingga sel dapat dianalisis satu persatu. Apa jenis teknologi yang dimaksud?
   A. Sheath flow
   B. Flow sitometri
   C. Multi-Angle Polarized Scatter Separation

D. *Forward scatter*
E. *Light scatter*

3) Seorang ATLM menentukan spesifikasi *hematology analyzer* yang hendak digunakan pada laboratorium klinik tempat dia bekerja. Dia memilih teknologi optik *hematology analyzer* dibandingkan impedansi. Apa kelebihan teknologi yang dipilih ATLM tersebut?
A. Lebih murah
B. Mengidentifikasi tiga jenis sel lekosit
C. Menganalisis struktur internal sel
D. Meminimalisir status *error* pada alat
E. Dapat mendeteksi sel imatur

4) Seorang ATLM melakukan analisis dengan sediaan apus darah tepi pada sampel yang berasal dari pasien terduga leukemia. Sampel tersebut sebelumnya sudah dilakukan pemeriksaan dengan *hematology analyzer* teknologi impedansi pada parameter darah rutin (Hb, Ht, Hitung eritrosit, lekosit, trombosit dan hitung jenis lekosit). Mengapa dilakukan hal tersebut?
A. Hitung lekosit terlalu besar
B. Jumlah sel yang dihitung melebihi batas linearitas alat
C. Kemungkinan kualitas sampel tidak sesuai
D. Hitung jenis lekosit yang terbatas
E. *Hematology analyzer* tidak bisa mendeteksi sel abnormal

5) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin pada *hematology analyzer* teknologi *flow* sitometri. Salah satu parameternya adalah hitung jenis lekosit. Bagaimana reaksi yang dihasilkan pada teknologi tersebut untuk menganalisis jenis sel?
A. Sinar fluoresen yang dipendarkan oleh sel tertentu
B. Berkas sinar yang diteruskan dengan berbagai sudut
C. Perubahan arus listrik setiap sel yang melewati elektroda
D. Sinyal elektromagnetik yang diteruskan setiap sel
E. Sinar yang menembus sel darah dari berbagai sudut

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Parameter Pemeriksaan

Dahulu, pemeriksaan darah rutin, atau yang saat ini disebut hematologi rutin, dilakukan dengan metode manual yang sangat memakan waktu dan rentan terjadi kesalahan, terutama penghitungan sel darah dengan bilik hitung. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan *hematology analyzer* yang dapat menganalisis beberapa parameter hematologi rutin dalam waktu sangat cepat. Namun demikian, metode manual dan otomatisasi mempunyai kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Sampai saat ini metode otomatisasi belum sepenuhnya menggantikan metode manual.

Kelebihan penggunaan *hematology analyzer* adalah sebagai berikut.

1. Waktu yang dibutuhkan untuk analisis lebih cepat sehingga dapat menganalisis sampel dengan jumlah banyak.
2. Mempunyai presisi dan akurasi yang baik untuk penghitungan sel darah.
3. Dapat menganalisis beberapa parameter pemeriksaan dalam satu kali kerja.
4. Mengurangi beban kerja di laboratorium.

Kekurangan penggunaan *hematology analyzer* adalah sebagai berikut.

1. Adanya status *flagging* yang menandakan alat tidak dapat menganalisis secara tepat, sehingga mengharuskan untuk dilakukan pemeriksaan konfirmasi manual.
2. Kelainan sel darah belum sepenuhnya dapat dideteksi dengan teknologi *hematology analyer* yang berkembang saat ini.
3. Biaya mahal, sehingga kurang sesuai digunakan pada laboratorium dengan jumlah permintaan pemeriksaan sedikit per-harinya.

Parameter pemeriksaan yang secara umum dianalisis pada *hematology analyzer* adalah hitung sel darah (eritrosit, lekosit dan trombosit), nilai indeks eritrosit (MCV, MCH, MCHC), konsentrasi Hb, Ht, dan hitung jenis lekosit (tiga atau lima jenis lekosit). Parameter pemeriksaan tambahannya adalah *red cell distribution width* (RDW), hitung retikulosit, *mean platelet volume* (MPV), *platelet distribution width* (PDW).

Hasil parameter tersebut didapat dari analisis langsung ataupun analisis kurva atau hasil yang didapat dari perhitungan parameter lainnya. Pada parameter analisis langsung, hasil suatu pemeriksaan didapat dengan mereaksikan sampel dan reagensia pada alat dan dianalisis berdasarkan teknologi pada *hematology analyzer* yang digambarkan dalam bentuk kurva scatter ataupun histogram. Analisis berdasarkan perhitungan ditentukan dari parameter lain yang sebelumnya dilakukan analisis langsung ataupun analisis histogram.

A. PENGUKURAN KADAR HEMOGLOBIN (HB)

Kadar Hb diukur secara langsung dengan mereaksikan sampel darah dengan larutan pengencer yang bersifat melisiskan eritrosit dan meminimalisir terjadinya kekeruhan yang disebabkan sisa membran sel dan adanya lemak dalam plasma. Metode yang direkomendasikan secara internasional adalah cyanmethemoglobin, namun kelemahannya adalah adanya unsur sianida yang terkandung di dalam reagensia yang bersifat racun.

Pada *hematology analyzer* digunakan larutan yang tidak beracun, namun memberikan reaksi yang sesuai dengan metode yang direkomendasikan. Metode ini dinamakan noncyanmethemoglobin, dengan jenis larutan pengencer dapat berupa: sodium lauryl sulphate (SLS), imidazole, sodium dodecyl sulphate, atau dimethyl laurylamine oxide.

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang yang bervariasi, tergantung dari zat warna yang dihasilkan dari berbagai reaksi yang digunakan.

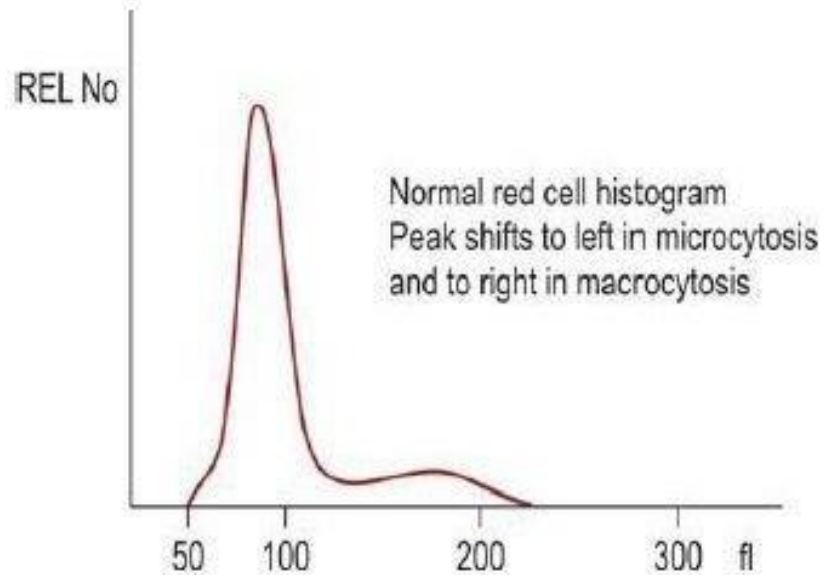
B. HITUNG SEL ERITROSIT DAN VOLUME RERATA ERITROSIT (*MEAN CORPUSCULAR VOLUME*/MCV)

Sel eritrosit dapat dihitung melalui teknologi impedansi ataupun optik. Penghitungan eritrosit pada teknologi tersebut juga disertai dengan analisis indeks eritrosit. Pada teknologi impedansi, hitung eritrosit ditentukan berdasarkan banyaknya sel eritrosit yang terdeteksi pada aliran yang dilewatkan di celah (*aperture*) pada periode tertentu. Sel eritrosit terdeteksi berdasarkan pulsa resistensi yang ditimbulkan, dan diinterpretasikan pada kurva *scatter* ataupun histogram.

Pada teknologi optik, sel eritrosit dihitung berdasarkan sebaran cahaya yang dihasilkan sel eritrosit yang melewati sinar laser yang ditembakkan pada periode tertentu. Sebaran cahaya tersebut ditangkap oleh *photodiode* dan diubah menjadi sinyal elektrik yang dapat dihitung.

Pada kurva histogram, jumlah sel eritrosit akan diplot-kan pada sumbu Y dan volume sel pada sumbu X. Alat menganalisis berdasarkan sumbu X dan Y dan dapat ditentukan volume eritrosit dalam rentang 36 fL – 360 fL. Analisis histogram batas bawah sampai 24 fL memungkinkan deteksi fragmentasi eritrosit, fragmen lekosit dan *large* trombosit. Jika ukuran sel lebih kecil dibandingkan normal, maka kurva akan bergeser ke kiri, jika ukuran sel lebih besar dari normal, maka kurva akan bergeser ke kanan.

Pada kurva histogram, juga dapat dianalisis volume eritrosit rata-rata atau *mean corpuscular volume* (MCV) yang digunakan untuk mengklasifikasikan anemia berdasarkan morfologi eritrosit, yaitu mikrositik, makrositik, dan normositik. Contoh histogram sel eritrosit dapat dilihat pada gambar 5.7 berikut ini.



Sumber: Dayyal, 2018.

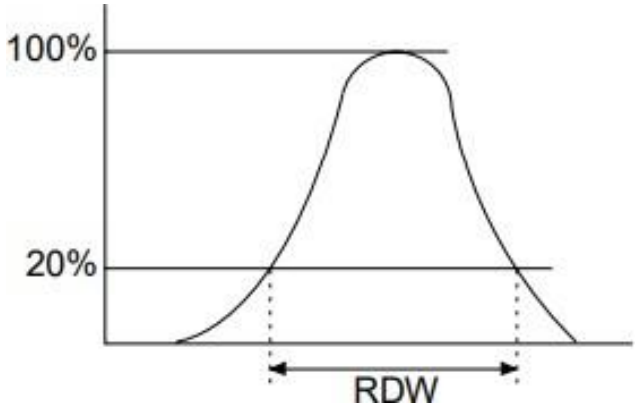
Gambar 5.7

Histogram sel eritrosit normal, yang bergeser ke arah kanan jika jenis sel makrositosis dan histogram bergeser ke kiri jika jenis sel mikrositosis

C. *RED CELL DISTRIBUTION WIDTH* (RDW)

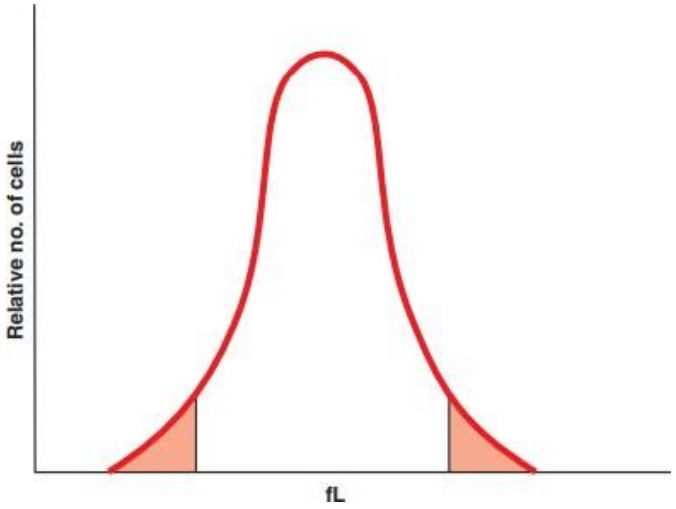
RDW merupakan pengukuran kuantitatif variasi ukuran sel eritrosit dan dinyatakan sebagai koefisien variasi dari distribusi eritrosit. Analisis RDW diperoleh dari analisis histogram sel eritrosit berupa analisis tingginya pulsa dan dipresentasikan dalam bentuk nilai standar deviasi (SD) dalam fL ataupun sebagai nilai koefisien variasi (CV) dalam persen pada pengukuran volume eritrosit.

RDW SD merupakan hasil perhitungan lebar kurva pada area 20% puncak tertinggi dari histogram distribusi ukuran eritrosit (gambar 5.8). RDW (CV)% didapat dari perhitungan (SD/MCV) x 100. Perhitungan berdasarkan kurva histogram dengan ketentuan area kurva di bagian ujung kanan ataupun ujung kiri diekslusi yaitu dikeluarkan dari area yang akan dianalisis (gambar 5.9). Hal ini untuk mencegah kesalahan interpretasi, karena di bagian ujung kiri kurva kemungkinan terdapat gumpalan trombosit dan *large* trombosit dan di ujung kanan kurva, kemungkinan terdapat gumpalan eritrosit.



Sumber: Sysmex, 2000.

Gambar 5.8
Analisis RDW SD



Sumber: Turgeon, 2012

Gambar 5.9. RDW CV

Umumnya *hematology analyzer* menganalisis RDW sebagai nilai SD, namun beberapa *hematology analyzer* seperti merk Sysmex, Beckman Coulter DxH menganalisis nilai SD dan CV RDW. Nilai normal RDW berkisar 11,5% s/d 14,5%. Nilai RDW dapat mengindikasikan gambaran anisositosis yaitu variasi ukuran sel eritrosit. Nilai RDW yang tinggi dapat ditemukan pada anemia defisiensi zat besi, defisiensi vitamin B12, dan defisiensi asam folat, dan dapat meningkat juga pada hemoglobinopati sesuai dengan derajat anemia yang dihasilkan. Kondisi ini memerlukan analisis sediaan apus darah tepi untuk memastikan adanya variasi ukuran eritrosit.

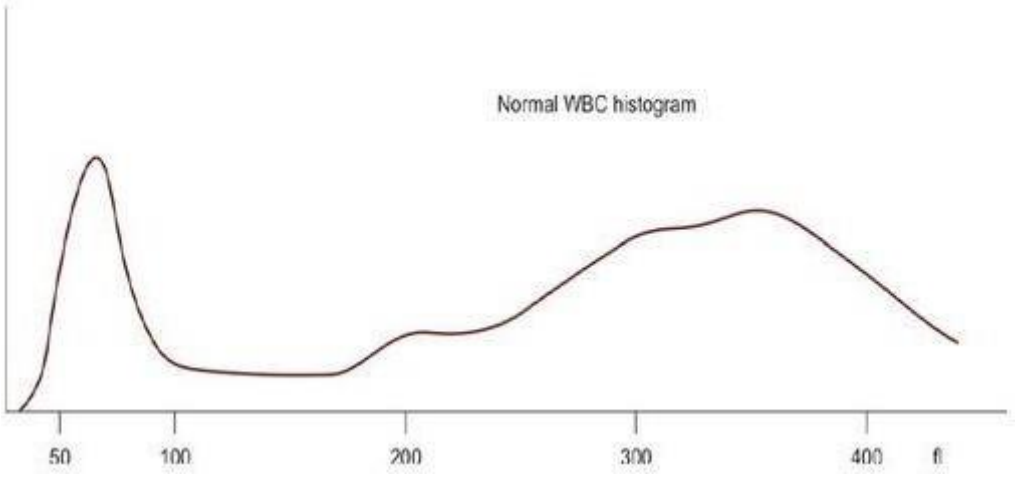
D. HITUNG LEKOSIT

Pada *hematology analyzer*, hitung lekosit dapat dilakukan dengan teknologi impedansi ataupun optik (*light scattering*) maupun keduanya. Hitung sel lekosit pada alat, biasanya dianalisis setelah sel eritrosit dilisiskan, sehingga terdapat alat yang menggabungkan saluran hemoglobin dengan hitung lekosit.

Pada teknologi impedansi, prinsip penghitungan lekosit sama dengan hitung eritrosit. Sel lekosit dikategorikan dengan ukuran sel 35 fL dan di atasnya. Selain itu, analisis sel lekosit pada kurva histogram, mengklasifikasikan jenis sel lekosit berdasarkan ukurannya. Kelemahan hitung lekosit pada *hematology analyzer* dengan teknologi ini adalah terhitungnya sel eritrosit berinti sebagai lekosit. Pada teknologi optik, hitung lekosit disertakan dengan analisis hitung jenis lekosit berdasarkan ukuran dan struktur internal sel.

E. HITUNG JENIS LEKOSIT

Hematology analyzer dapat mengidentifikasi jenis lekosit melalui teknologi impedansi, optic, ataupun *flow* sitometri. Hitung jenis tiga sel lekosit (limfosit, monosit, dan granulosit) dianalisis dengan teknologi impedansi yaitu mengukur volume sel atau ukuran besarnya sel. Pada analisis histogram lekosit, jumlah lekosit diplot-kan pada sumbu Y dan ukuran sel lekosit pada sumbu X. Sel dengan volume 35 – 90 fL (*small cells*) diklasifikasikan sebagai limfosit, volume 90 – 160 fL (*middle cells*) diklasifikasikan sebagai sel mononuklear (monosit), dan volume sel 160 – 450 fL (*large cells*) diklasifikasikan sebagai sel netrofil. Pada beberapa tipe *hematology analyzer* dengan klasifikasi tiga jenis lekosit, dilaporkan kategori jenis lekosit sebagai WBC-*small cell ratio* (setara dengan limfosit), WBC-*middle cell ratio* (setara dengan monosit, eosinofil dan basofil), dan WBC-*large cell ratio* (setara dengan netrofil). Berikut ini adalah klasifikasi tiga jenis lekosit pada kurva histogram.



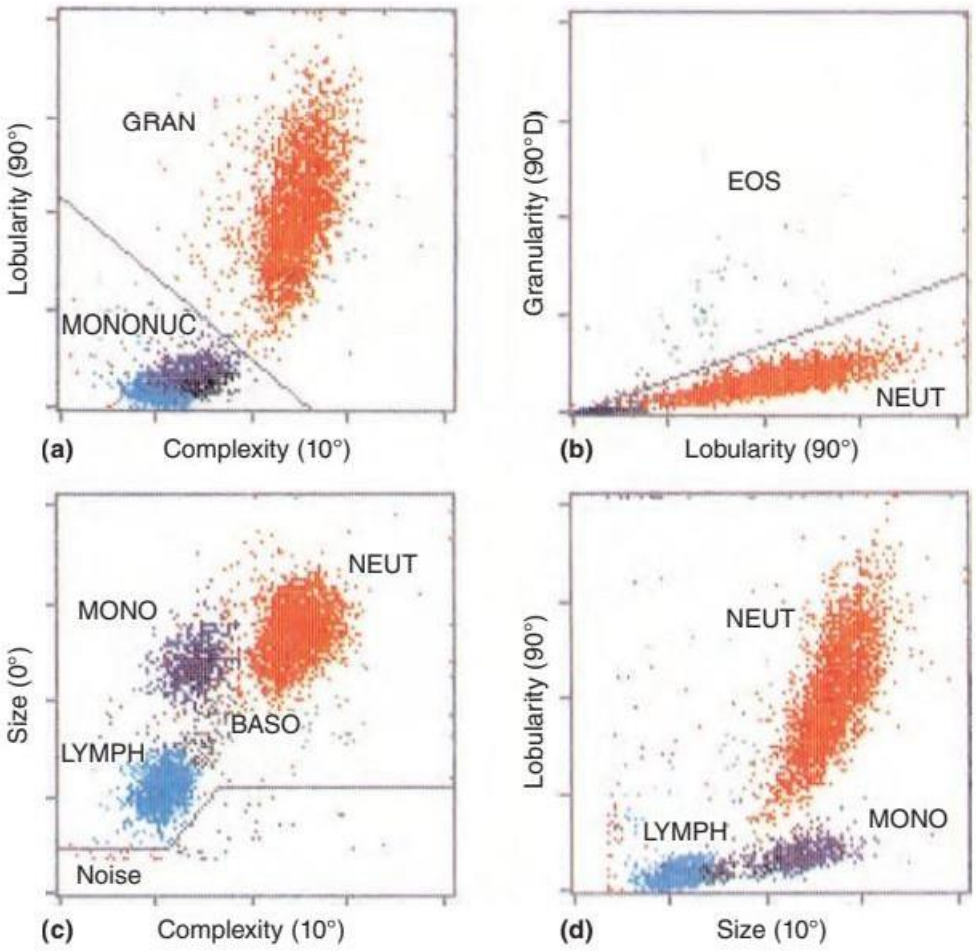
Gambar 5.10

Histogram klasifikasi tiga jenis sel lekosit, berdasarkan ukuran, pada bagian paling kiri merepresentasikan limfosit, area tengah merepresentasikan sel mononuklear dan bagian paling kanan merepresentasikan netrofil

Hematology analyzer dengan pembacaan lima jenis lekosit membutuhkan minimal dua saluran untuk analisis berdasarkan volume sel dan karakteristik sel lainnya yang dapat diidentifikasi melalui pengikatan zat warna terhadap granula atau aktivitas enzim pada sel, seperti peroxidase. Teknologi yang diaplikasikan juga biasanya lebih dari satu teknologi, yang meliputi teknologi impedansi dengan arus elektromagnetik frekuensi rendah dan tinggi, dan teknologi optik. Proses analisis dilakukan sesudah reaksi sitokimia sel terjadi.

Sel yang dianalisis dikelompokkan menjadi beberapa kluster yang membedakan antar jenis sel, dan memungkinkan sel di tiap kelompok dihitung (gambar 5.11). Jumlah sel yang dihitung pada *hematology analyzer* yang khusus dengan teknologi *flow* sitometri lebih besar dibandingkan metode manual, sehingga penghitungan lebih akurat.

Namun demikian, jika *hematology analyzer* tidak dapat mengklasifikasikan sel abnormal seperti sel imatur, maka analisis sediaan mikroskopik perlu dilakukan. Sel yang tidak dapat diklasifikasikan atau alat tidak daapt menganalisisnya dengan tepat, maka akan diberi status "*flagging*" atau *error* pada hasil pemeriksaan. Status tersebut biasanya menandakan adanya sel abnormal ataupun sel imatur.



Sumber: Bain, 2015.

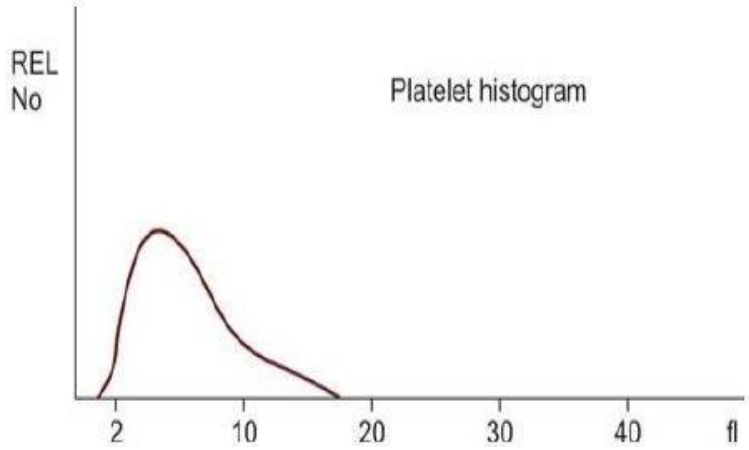
Gambar 5.11

Kurva *scatter* lima jenis lekosit pada Cell-Dyn 3500 *counter* teknologi optik, (a) plot 90^0 terhadap 10^0 memisahkan antara kluster granulosit dari sel mononuklear, (b) plot 90^0 (depolarisasi) terhadap 90^0 memisahkan kluster netrofil dari eosinofil, (c) plot 0^0 terhadap 10^0 kluster sel limfosit, monosit, netrofil dan basofil degranulasi, (d) jenis lekosit diidentifikasi berdasarkan plot 90^0 terhadap 10^0.

F. HITUNG TROMBOSIT

Trombosit lebih sulit dihitung dibandingkan sel eritrosit dan lekosit karena ukurannya yang lebih kecil, adanya variasi ukuran, cenderung mengumpul (agregasi), dan dapat terganggu oleh adanya sel eritrosit mikrositik, fragmentasi eritrosit, dan partikel pengganggu lainnya. Oleh karena itu, analisis trombosit pada alat perlu ditetapkan ambang batas untuk memisahkan trombosit dari eritrosit (ambang atas) dan partikel lainnya (ambang bawah).

Pada *hematology analyzer* dengan teknologi impedansi, hitung trombosit dianalisis berdasarkan volume atau ukuran. Partikel yang berada pada volume 2 fL – 20 fL diklasifikasikan sebagai trombosit. Pada teknologi optik, analisis hitung trombosit dilakukan melalui *forward light scatter* yang membedakan antara eritrosit dan trombosit serta distribusi frekuensi sel. Analisis histogram menggambarkan volume trombosit yang diplot pada sumbu X dan frekuensi sel pada sumbu Y. Analisis histogram trombosit normal menunjukkan kurva bergeser ke kiri, seperti terlihat pada gambar 5.12 berikut ini.



Sumber: Dayyal, 2018

Gambar 5.12

Histogram trombosit normal. Jika terdapat fragmentasi ditunjukkan dengan pergeseran pada arah ujung kiri histogram dan jika terdapat *giant* trombosit, ataupun eritrosit mikrositik dalam jumlah banyak, maka puncak kurva bergeser sampai ujung kanan histogram

Pada beberapa kondisi sampel, dapat ditemukan hasil yang tidak sesuai seperti adanya sel eritrosit atau lekosit yang terfragmentasi, *giant* trombosit, adanya trombosit yang bergerombol ataupun trombosit yang berefek satelitism serta gangguan dari partikel lainnya. Teknologi *flow* sitometri digunakan untuk mengatasi hambatan tersebut, dengan menambahkan zat warna ke dalam sampel. Zat warna digunakan untuk mewarnai membran dan granula trombosit, sehingga trombosit dapat dipisahkan dari partikel lainnya, yang tidak termasuk trombosit, berdasarkan warna.

Teknologi ini juga memungkinkan *large* atau *giant* trombosit dapat terhitung. Selain itu, hitung trombosit dapat dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan zat warna fluoresen yang ditempel pada antibodi monoklonal. Antibodi tersebut dapat menempel spesifik pada CD 41 dan CD 61 pada membran trombosit. Metode ini telah diakui oleh *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) sebagai metode referensi.

G. MEAN PLATELET VOLUME (MPV)

Parameter pemeriksaan lainnya yang dapat dianalisis melalui histogram trombosit adalah *mean platelet volume* (MPV). MPV merupakan pengukuran rerata volume trombosit. Nilai MPV sangat bergantung pada masa simpan sampel. Selama proses penyimpanan sampel, sel trombosit mengalami perubahan bentuk karena pembengkakan sel dan menyebabkan nilai MPV meningkat. Idealnya, sampel harus dianalisis dalam waktu kurang dari empat jam.

Parameter MPV menunjukkan rerata ukuran trombosit dengan nilai normal 7 – 10 fL. Nilai MPV yang di atas nilai normal (> 10 fL) dapat mengindikasikan adanya trombosit imatur di darah tepi. Nilai MPV di bawah nilai normal (< 7 fL) mengindikasikan adanya trombosit berukuran kecil karena berkurangnya produksi trombosit.

Pada alat Sysmex, nilai MPV didapat dengan rumus perhitungan sebagai berikut.

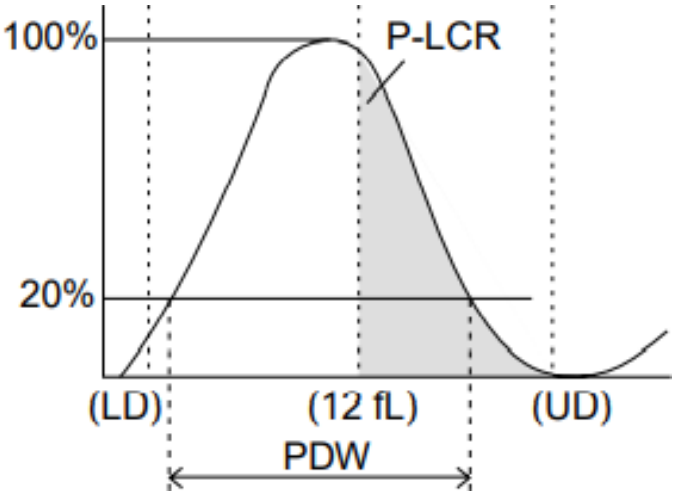
$$\text{MPV (fL)} = \frac{\text{PCT (\%)}}{\text{PLT (x } 10^3/\mu\text{L)}} \text{ x } 1000$$

PCT adalah platelet-crit yang merupakan rasio volume trombosit.

H. P-LCR (*LARGE PLATELET RATIO*) DAN PDW (*PLATELET DISTRIBUTION WIDTH*)

Parameter *platelet distribution width* (PDW) menganalisis keseragaman atau adanya variasi ukuran trombosit (trombosit anisositosis) dengan nilai normal kurang dari 20%. Nilai PDW dianalisis melalui histogram pada area 20% dari puncak kurva, seperti terlihat pada gambar 5.13. Nilai PDW yang lebih dari normal dapat disebabkan karena anemia megaloblastik, leukemia myeloid kronik, dan setelah kemoterapi.

Nilai P-LCR dianalisis melalui perhitungan jumlah trombosit di atas volume 12 fL. Pada histogram trombosit ditentukan berdasarkan perhitungan rasio antara partikel dengan ukuran 12 fL sampai batas diskriminator bagian atas (UD) dengan jumlah partikel pada diskriminator bagian bawah (LD) dan partikel pada UD seperti terlihat pada gambar 5.13. Tingginya nilai P-LCR dan PDW mengindikasikan adanya destruksi trombosit karena reaksi imun.



Sumber: Sysmex, 2000

Gambar 5.13
Histogram Penentuan Nilai PDW dan P-LCR

I. HITUNG RETIKULOSIT

Penghitungan sel retikulosit dengan *hematology analyzer* berdasarkan pada reaksi dengan zat warna fluoresen dan dihitung melalui teknologi *flow* sitometer. Zat warna yang dikombinasikan dengan fluorochrome mewarnai RNA retikulosit. Semakin imatur jenis retikulositnya (kandungan RNA lebih banyak), maka warna fluoresen semakin kuat.

Parameter retikulosit digunakan untuk mengetahui adanya kondisi anemia. Jenis zat warna yang digunakan dapat berbeda pada setiap merk *hematology analyzer*, antara lain, auramine O atau polymethine dengan oxazine (alat Symex), thiazole orange (ABX), dan CD4K 530 (Abbott). Selain itu, pada beberapa *hematology analyzer* digunakan zat warna non-fluoresen, yaitu: oxazine 750 (Siemens), New Methylen Blue (Beckman Coulter, Abbott).

J. HEMATOKRIT (HCT/PCV)

Pada *hematology analyzer*, analisis dan perhitungan sel eritrosit, Hct, dan MCV berkaitan satu sama lain. Banyaknya jumlah pulsa yang dihasilkan *hematology analyzer* berkorelasi dengan jumlah eritrosit dan analisis tinggi pulsa mengindikasikan nilai MCV. Jika hitung eritrosit dan nilai MCV sudah diketahui, maka nilai Hct diperoleh dari perhitungan, sebagai berikut.

$$\text{Hct (\%)} = \text{MCV (fL)} \div \text{Hitung eritrosit } (10^6/\mu L)$$

K. MEAN CORPUSCULAR HEMOGLOBIN (MCH)

Nilai MCH pada *hematology analyzer* didapat dari perhitungan, sama seperti metode manual, yaitu.

$$\text{MCH (pg)} = \text{Hb (g/dL)} \div \text{Hitung eritrosit } (10^6/\mu L)$$

L. *MEAN CORPUSCULAR HEMOGLOBIN CONCENTRATION* (MCHC)

Pada analisis MCHC dengan *hematology analyzer* didapat melalui perhitungan sama seperti metode manual, jika *hematology analyzer* mengukur Hct dan menghitung MCV, yaitu dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{MCHC (g/dL)} = \text{Hb (g/dL)} \div \text{Hematokrit (\%)}$$

Namun, pada *hematology analyzer*, dengan nilai MCV yang diukur langsung dan Hct didapat dari perhitungan, maka rumus perhitungannya adalah sebagai berikut.

$$\text{MCHC (g/dL)} = \frac{\text{Hb}\left(\text{g / dL}\right) \text{x } 1000}{\text{MCV}\left(\text{fL}\right) \text{x hitung eritrosit}\left(\text{x}10^{-12} \text{ / L}\right)}$$

Latihan

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

1) Sebutkan parameter pemeriksaan pada *hematology analyzer* yang ditentukan berdasarkan analisis langsung dan analisis histogram!
2) Jelaskan prinsip pengukuran kadar hemoglobin pada *hematology analyzer*!
3) Jelaskan prinsip pengukuran hitung sel darah pada *hematology analyzer* teknologi impedansi, optik dan flow sitometri!
4) Jelaskan prinsip pengukuran RDW pada *hematology analyzer*!
5) Jelaskan prinsip pengukuran hitung jenis lekosit pada *hematology analyzer*!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembli bagian pendahuluan Topik 2.

2) Pelajari Kembali bagian 1, pengukuran kadar hemoglobin.
3) Pelajari Kembali bagian 2 hitung sel eritrosit.
4) Pelajari kemblia bagian 3 tentang RDW.
5) Pelaajri Kembali bagian 4 tentang hitung lekosit.

Ringkasan

Teknologi analisis sel darah pada *hematology analyzer*, secara garis besar terdiri atas teknologi impedansi, optic, dan *flow* sitometri. Prinsip dasar pengukuran impedansi yaitu menganalisis sel darah berdasarkan pengukuran pulsa resistensi yang dihasilkan pada saat sel darah melewati celah yang dialiri listrik. Teknologi optik menganalisis sel darah berdasarkan jumlah dan karakteristik sinar yang disebarkan oleh sel darah yang ditembakkan oleh sinar laser. Teknologi *flow* sitometri menganalisis sel darah berdasarkan kemampuan unsur sel menyerap zat warna tertentu dan menyebarkan cahaya pada saat sel darah ditembakkan dengan sinar. Hasil pengukuran dianalisis dalam komputer dan diplot-kan dalam kurva *scatter* ataupun histogram.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin dengan *hematology analyzer*. Salah satu jenis parameter yang dilakukan adalah pemeriksaan kadar Hb. Apa jenis reaksi yang digunakan?
   A. Rerata sinyal arus listrik
   B. Absorbansi larutan berwarna
   C. Perhitungan volume dan jumlah eritrosit
   D. Perubahan warna setelah penambahan reagen
   E. Pemisahan sel eritrosit dengan sel darah lainnya

2) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin pada *hematology analyzer*. Apa jenis parameter yang didapat dari rumus perhitungan?
   A. MCV
   B. Nilai Ht
   C. Kadar Hb
   D. Hitung eritrosit
   E. Hitung jenis lekosit

3) Seorang ATLM menganalisis hasil *print out hematology analyzer* dan didapat nilai RDW lebih besar dari nilai normal. Apa indikasi dari parameter tersebut?

A. Ukuran sel eritrosit bervariasi
B. Terdapat kelainan sel eritrosit
C. Hitung sel di atas nilai normal
D. Adanya sel imatur pada sampel
E. Bentuk morfologi sel darah berbeda

4) Seorang ATLM melakukan analisis hasil pemeriksaan pada *print out hematology analyzer.* Salah satu parameternya adalah hitung jenis lekosit. Apa bentuk analisis yang digunakan pada parameter tersebut?

A. Histogram
B. Perhitungan
C. Perubahan arus listrik
D. Perubahan warna tiap jenis sel
E. Pendaran zat fluoresensi pada leukosit

5) Pemeriksaan darah rutin dilakukan oleh ATLM dengan *hematology analyzer*. Salah satu jenis teknologi yang diaplikasikan pada *hematology analyzer* tersebut adalah *flow* sitometer dengan fluoresensi. Apa jenis parameter yang analisisnya sesuai dengan teknologi tersebut?

A. Hematokrit
B. Hemoglobin
C. Hitung lekosit
D. Hitung eritrosit
E. Hitung trombosit

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

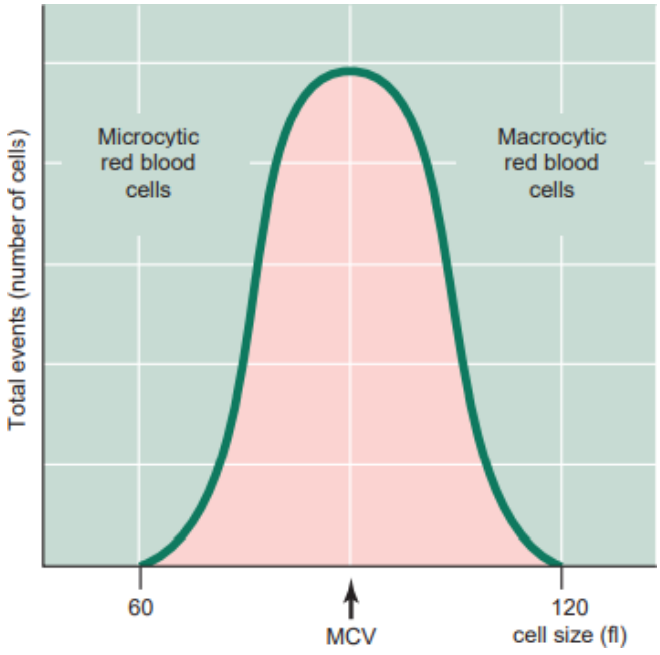
Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 3
Hasil Pemeriksaan

Salah satu kelebihan *hematology analyzer* dalam melakukan pemeriksaan darah rutin adalah dapat menganalisis beberapa parameter dalam satu kali kerja dan dalam jangka waktu kurang dari satu menit hasil pemeriksaan sudah tertera di layar ataupun *printout* hasil. Hasil analisis yang dikeluarkan tergantung pada jenis parameter yang sesuai dengan teknologi yang diaplikasikan. Semakin canggih suatu teknologi, maka hasil analisis menjadi semakin banyak dan lengkap dengan jenis parameter yang lebih spesifik.

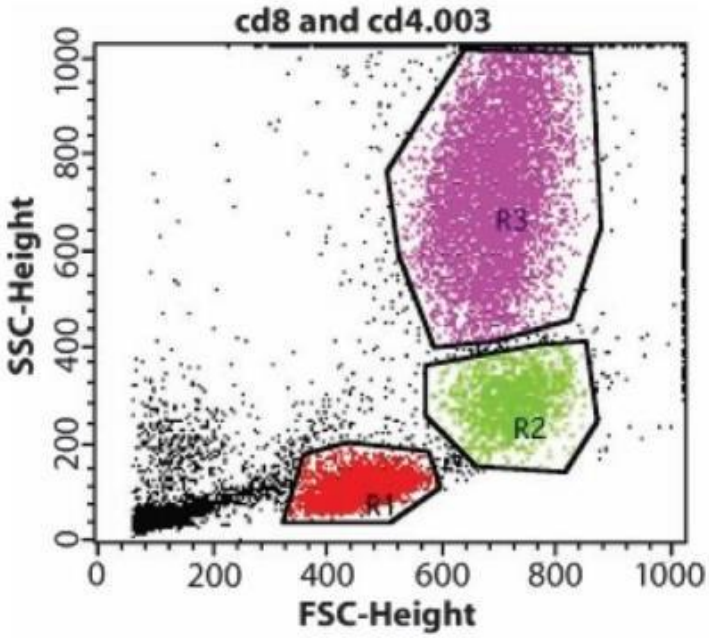
Hasil hitung dan analisis sel darah dapat dilaporkan dalam bentuk angka dan kurva. Jenis kurva yang tertera di *printout* hasil berupa kurva titik (*scatter*), dan histogram. Kurva *scatter* menempatkan jenis sel pada area tertentu dan diidentifikasi serta dipisahkan berdasarkan warna pada satu kluster. Histogram merepresentasikan frekuensi sel dan ukuran sel membentuk kurva distribusi Gaussian. Histogram tidak hanya memberikan informasi frekuensi sel darah dan distribusinya, namun juga menggambarkan adanya sub-populasi. Berikut ini adalah contoh histogram dan kurva *scatter*.



Sumber: Turgeon, 2012.

Gambar 5.14

Histogram sel eritrosit menggambarkan distribusi normal ukuran eritrosit dengan ukuran lebih kecil berada di bagian kiri dan sel dengan ukuran lebih besar berada di bagian kanan kurva



Sumber: Sharral Longanbach, Martha K. Miers, 2013.

Gambar 5.15

Kurva *scatter* yang menunjukkan kluster jenis sel lekosit berdasarkan warna fluoresen dan sel yang tidak terwarnai. Kluster R1 menunjukkan sel limfosit, R2 (monosit) dan R3 (granulosit)

Pada Topik 3 ini, kita akan membahas hasil pemeriksaan melalui *printout* hasil dan memahami cara pembacaan analisis, baik yang tertera dengan angka ataupun melalui kurva histogram dengan disertai beberapa contoh *printout* hasil analisis pada *hematology analyzer* dengan merk sebagai berikut:

1. Sysmex KX-21 N (teknologi impedansi)
2. Beckman Coulter Unicell DxH 800 (teknologi impedansi, konduktivitas, dan optik)
3. Sysmex XN-1000 (teknologi impedansi, optic, dan fluoresensi)

A. *PRINTOUT HEMATOLOGY ANALYZER* SYSMEX KX-21 N (TEKNOLOGI IMPEDANSI)

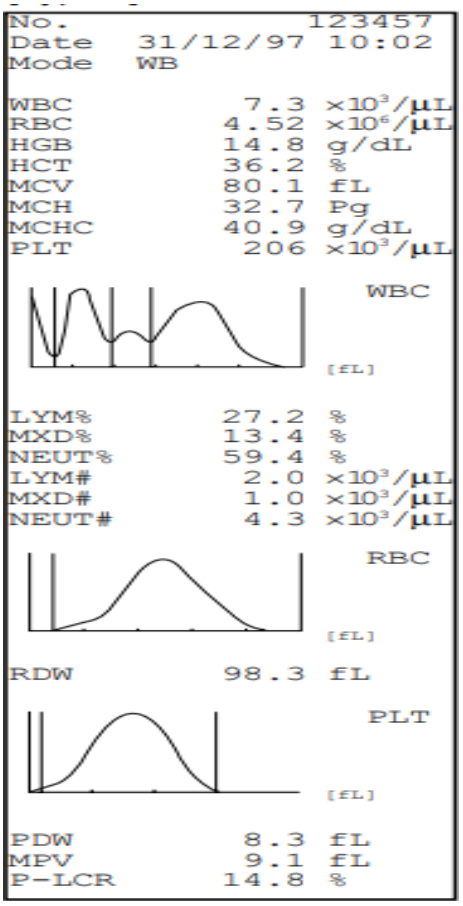
Teknologi impedansi menganalisis sel darah berdasarkan volume dan ukuran sel. Contoh tampilan *printout* hasil *pemeriksaan hematology analyzer* Sysmex KX-21 N berupa angka dan kurva histogram yang dapat dilihat pada Gambar 5.16. Adapun parameter pemeriksaan ditulis dalam bentuk singkatan berikut ini.

Singkatan	Kepanjangan
WBC	*white blood cells count*/hitung lekosit (x10^3/µL)
RBC	*red blood cells count*/hitung eritrosit (x10^3/µL)
HGB	hemoglobin (g/dL)
HCT	hematokrit (%)
MCV	*mean corpuscular volume*/rerata volume eritrosit (fL)
MCH	*mean corpuscular hemoglobin*/hemoglobin eritrosit rata-rata (pg)
MCHC	*mean corpuscular hemoglobin concentration*/ konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata (%)
PLT	*platelet count*/hitung trombosit (x10^3/µL)
LYM%	Limfosit/hitung jenis limfosit (%)
MXD%	*Mixed cells*/hitung jenis lekosit (monosit, basofil dan eosinofil) (%)
NEUT%	neutrophil/hitung jenis netrofil (%)
LYM#	Limfosit absolut/hitung jenis limfosit absolut (x10^3/µL)
MXD#	*Mixed cells absolut*/hitung jenis lekosit absolut (monosit, basofil dan eosinofil) (x10^3/µL)
NEUT#	*neutrophil absolut*/hitung jenis netrofil absolut (x10^3/µL)
RDW	*Red cells distribution width* (fL)
PDW	*Platelet distribution width* (fL)
MPV	*Mean platelet volume* (fL)
P-LCR	*platelet-large cells ratio* (%)

Kurva histogram yang terdapat pada *printout* hasil terdiri atas histogram lekosit (WBC), eritrosit (RBC), dan trombosit (PLT). Pada histogram lekosit menunjukkan sebaran hitung jenis lekosit yang membaca tiga jenis sel lekosit dengan garis vertikal sebagai diskriminator atau batasan antar jenis lekosit. Tiga jenis lekosit tersebut adalah: limfosit (bagian kiri kurva), *mixed cells* (bagian tengah) dan netrofil (bagian kanan kurva). *Mixed cells* dapat menjadi penanda sel monosit, basofil dan eosinofil.

Histogram eritrosit (RBC) menganalisis sel eritrosit berdasarkan ukuran dengan diskriminator (garis vertikal) sebagai batasan volume eritrosit. Kurva normal jika terdapat satu puncak histogram, dan akan menunjukkan terjadinya *error* jika terdapat lebih dari satu puncak. Selain itu, pada kurva dapat dianalisis nilai RDW (Topik 2).

Pada histogram trombosit (PLT), penghitungan berdasarkan tiga diskriminator (garis vertikal) yang menunjukkan volume trombosit. Selain itu, analisis histogram dapat menghasilkan nilai PDW, MPV dan P-LCR (Topik 2). Sebaran volume trombosit menunjukkan normal, jika terdapat satu puncak dengan tidak ada frekuensi *error* di garis diskriminator atas ataupun bawah.



Sumber: Sysmex, 2000.

Gambar 5.16

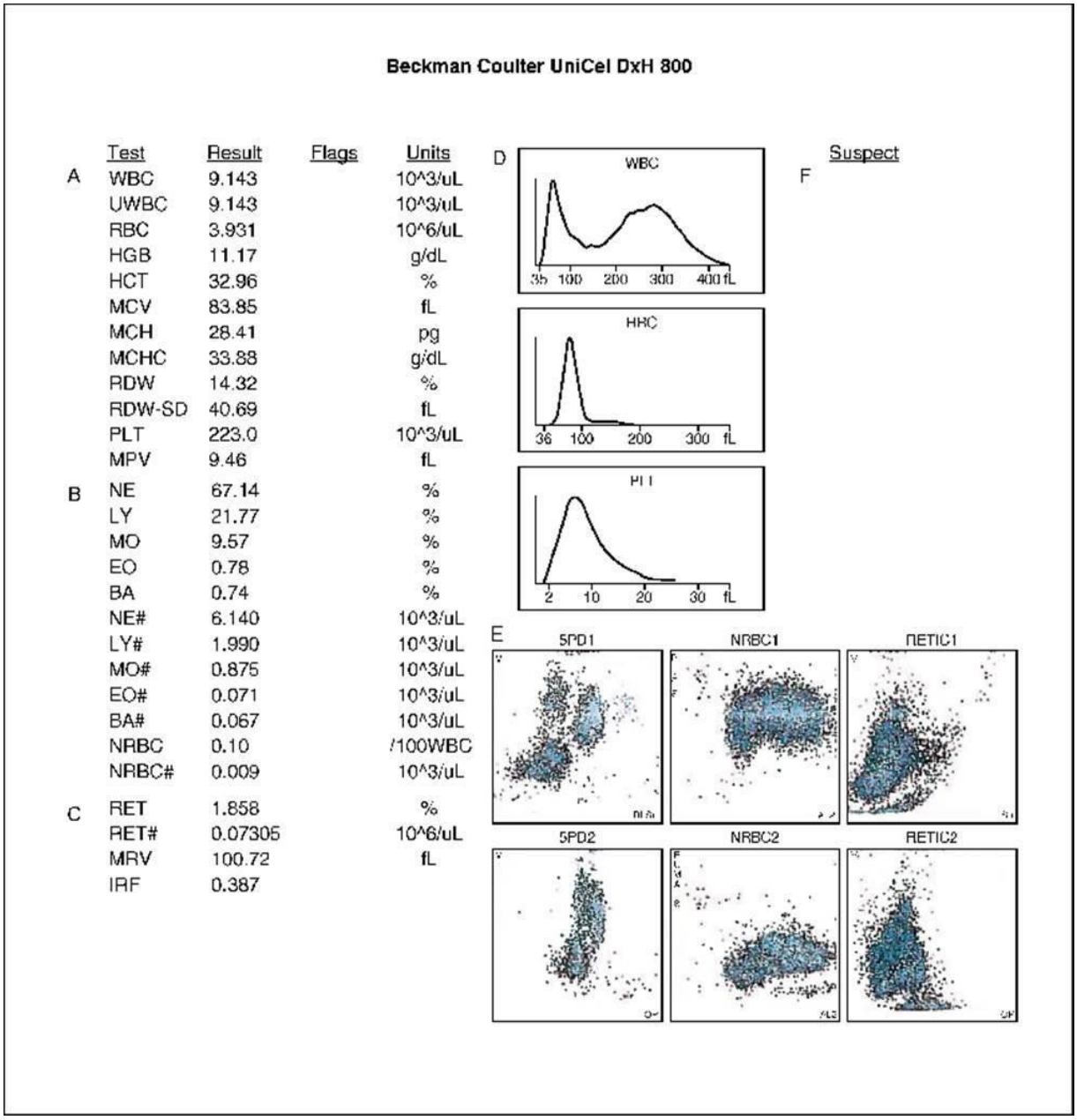
Printout hasil Sysmex KX-21 N

B. *PRINTOUT HEMATOLOGY ANALYZER* BECKMAN COULTER UNICELL DXH 800 (TEKNOLOGI IMPEDANSI, KONDUKTIVITAS, DAN OPTIK)

Pada *printout* hasil *hematology analyzer* Beckman Coulter Unicell DxH 800 dapat dilihat analisis yang lebih kompleks dibandingkan *hematology analyzer* Sysmex KX-21N. Kombinasi dari ketiga teknologi tersebut dapat dilihat melalui kurva histogram dan *scatter*.

Printout hasil menunjukkan hitung sel darah dan analisis darah rutin yang ditambah dengan hitung lima jenis lekosit, retikulosit dan eritrosit berinti. Adapun keterangan parameter pemeriksaan yang terdapat pada printout hasil adalah sebagai berikut.

Singkatan	Kepanjangan
WBC	*white blood cell count*
UWBC	*Uncorrected white blood cell count* (hitung sel lekosit tanpa koreksi
RBC	*red blood cell count*
HGB	hemoglobin
HCT	hematokrit
MCV	*mean corpuscular volume*
MCH	*mean corpuscular hemoglobin*
MCHC	*mean corpuscular hemoglobin concentration*
RDW	*Red cells distribution width*
RDW-SD	*Red cell distribution width standard deviation*
PLT	*platelet count*
MPV	*mean platelet volume*
NE	*neutrophil percent*
LY	*lymphocyte percent*
MO	*monocyte percent*
EO	*eosinophil percent*
BA	*basophil percent*
NE#	*netrouphil absolute number*
LY#	*lymphocyte absolute number*
MO#	*monocyte absolute number*
EO#	*eosinophil absolute number*
BA#	*basophil absolute number*
NRBC	*nucleated red blood cell percent*
NRBC#	*nucleated red blood cell absolute number*
RET	*reticulocyte percent*
RET#	*reticulocyte absolute number*
MRV	mean *reticulocyte volume*
IRF	*Immature reticulocyte fraction*



Sumber: Sharral Longanbach, Martha K.Miers, 2013

Gambar 5.17

Printout hasil *hematology analyzer* Beckman Coulter Unicell DxH 800, (A): data hitung sel darah, (B) data hitung jenis lekosit dengan eritrosit berinti, (C) data retikulosit dan fraksinya, (D) histogram WBC, RBC dan PLT berdasarkan teknologi impedansi, (E) kurva *scatter* terhadap WBC, NRBC dan retikulosit, (F): keterangan jika terdapat status atau *flagging* pada alat

Hematology analyzer pada teknologi ini menganalisis hitung jenis lekosit dan NRBC dalam bentuk persen, dan nilai absolut. NRBC diidentifikasi dari bagian sel lekosit berdasarkan volume, konduktivitas dan sebaran cahaya. Pada *printout* hasil terdapat dua jenis kurva *scatter* pada parameter NRBC yang mem-plot data melalui sumbu X terhadap sudut bagian bawah sebaran cahaya, dan sumbu Y terhadap sudut bagian tengah dan atas sebaran cahaya.

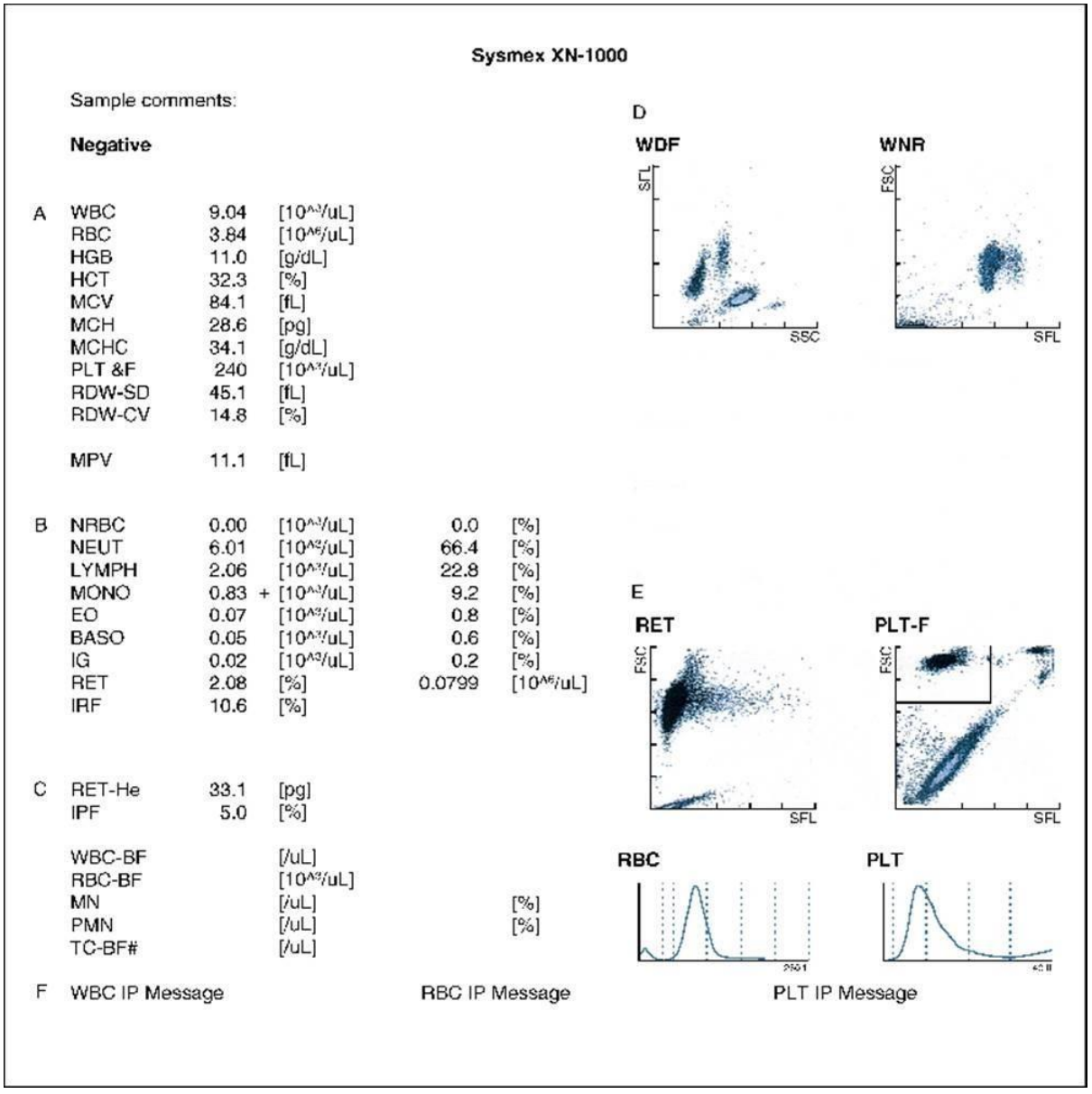
C. *PRINTOUT* HASIL *HEMATOLOGY ANALYZER* SYSMEX XN-1000 (TEKNOLOGI IMPEDANSI, OPTIK, DAN FLUORESENSI)

Pada *printout* hasil *hematology analyzer* Sysmex XN-1000 dapat dilihat parameter darah rutin (hitung sel darah, Hb, Ht, indeks eritrosit, hitung lima jenis lekosit) serta analisis jenis sel lainnya yaitu sel retikulosit, eritrosit berinti, dan sel imatur granulosit. Kelebihan *hematology analyzer* tipe ini juga dapat menganalisis sampel cairan tubuh (*body fluid*).

Pada *printout* hasil (gambar 5.18) dinyatakan dalam angka, kurva *scatter* dan histogram. Interpretasi berdasarkan angka didapat dari analisis hitung langsung berdasarkan salah satu atau ketiga teknologi tersebut maupun berdasarkan analisis kurva. Interpretasi kurva terdiri atas kurva *scatter* dan histogram. Kurva *scatter* menunjukkan hasil analisis menggunakan teknologi *flow* sitometri fluoresensi dan histogram ditunjukkan berdasarkan analisis dengan teknologi impedansi yaitu mengukur volume sel darah. Adapun jenis parameternya adalah sebagai berikut.

Singkatan	Kepanjangan
WBC	*white blood cell count*
RBC	*red blood cell count*
HGB	hemoglobin
HCT	hematokrit
MCV	*mean corpuscular volume*
MCH	*mean corpuscular hemoglobin*
MCHC	*mean corpuscular hemoglobin concentration*
PLT&F	*fluorescent platelet count*
RDW-SD	*Red cell distribution width standard deviation* (SD)
RDW-CV	*Red cell distribution width coefficient variation* (CV)
MPV	*mean platelet volume*
NRBC	*Nucleated red blood cell percent and absolute*
NEUT	*neutrophil* percent and absolute
LYMPH	*lymphocyte percent and absolute*

Singkatan	Kepanjangan
MONO	*monocyte percent and absolute*
EO	*eosinophil percent and absolute*
BASO	*basophil percent and absolute*
IG	*Immature granulocyte percent and absolute*
RET	*reticulocyte percent and absolute*
IRF	*Immature reticulocyte fraction*
RET-He	*Reticulocyte hemoglobin*
WBC-BF	*White blood cell count-Body fluid*
RBC-BF	*Red blood cell count-Body fluid*
MN	*Mononuclear*
PMN	*Polymorfonuclear*
TC-BC	*Thrombocyte-Body fluid*
	keterangan; jika ada status flagging maka muncul: WBC IP Message, RBC IP Message, PLT IP Message



Sumber: Sharral Longanbach, Martha K. Miers, 2013)

Gambar 5.18

Printout hasil *hematology analyzer* Sysmex XN-1000, (A): data hitung sel darah (eritrosit, lekosit dan trombosit), Hb, Ht, Indeks eritrosit; (B): data hitung 5 jenis lekosit, eritrosit berinti, dan retikulosit; (C): data retikulosit dan analisis sel darah pada sampel cairan tubuh (berdasarkan setting alat); (D): kurva *scatter* jenis lekosit berdasarkan saluran; pada saluran WDF mendeteksi dan menghitung sel netrofil, eosinofil, limfosit, monosit, dan granulosit imatur; pada saluran WNR mendeteksi dan menghitung sel total lekosit, basophil, dan eritrosit berinti; (E): Kurva *scatter* analisis retikulosit, dan histogram analisis eritrosit dan trombosit berdasarkan impedansi; (F): keterangan adanya status *flagging* pada alat

Latihan

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

1. Sebutkan hasil pemeriksaan pada *hematology analyzer* teknologi impedansi.
2. Sebutkan parameter tambahan yang dapat dianalisis melalui teknologi *flow* sitometri.
3. Jelaskan perbedaan interpretasi hasil hitung jenis lekosit pada *hematology analyzer* teknologi impedansi dan *flow* sitometri.
4. Apa saja informasi yang didapat dari kurva histogram pada analisis hitung sel darah
5. Jelaskan gambaran hasil hitung jenis lekosit berdasarkan analisis kurva histogram

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari Kembali materi Bagian 1.
2) Pelajari Kembali materi Bagian 2.
3) Pelajari Kembali Bagian 3 dan buat tabel perbedaan interpretasi hasil hitung jenis lekosit pada *hematology analyzer* teknologi impedansi dan *flow sitometri*.
4) Pelajari kembali bagian yang membahas kurva histogram pada analisis hitung sel darah.
5) Pelajari Kembali bagian yang membahas tentang gambaran hasil hitung jenis lekosit berdasarkan analisis kurva histogram.

Ringkasan

Parameter pemeriksaan yang dianalisis pada *hematology analyzer* tergantung kepada teknologi yang digunakan. Untuk menghilangkan kekurangan suatu teknologi, maka dapat diaplikasikan lebih dari satu teknologi pada satu *hematology analyzer*.

Hasil suatu parameter pemeriksaan *hematology analyzer* dapat diperoleh dari pengukuran langsung sesuai dengan teknologi yang diaplikasikan, analisis kurva *scatter* ataupun histogram, dan berdasarkan perhitungan.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Kurva histogram pada *print out hematology analyzer* dianalisis oleh ATLM pada parameter hitung sel darah. Teknologi *hematology analyzer* yang digunakan adalah impedansi. Apa fungsi analisis tersebut?
   A. Mendeteksi jenis sel abnormal
   B. Menganalisis sel berdasarkan ukuran
   C. Mengelompokkan kluster jenis sel darah
   D. Mendeteksi adanya peningkatan sel darah
   E. Melihat kesesuaian hasil dengan riwayat pasien

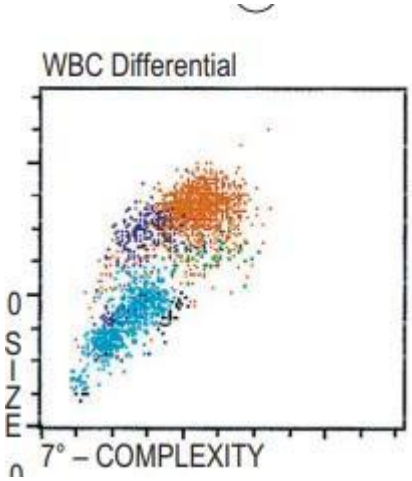
2) Seorang ATLM sedang memverifikasi hasil pemeriksaan sampel yang diuji menggunakan *hematology analyzer* dengan teknologi *flow* sitometri. Salah satu parameter yang dapat terhitung adalah eritrosit berinti. Apa penulisan parameter tersebut yang tertera di layar instrumen?
   A. RBC
   B. RDW
   C. MRV
   D. NRBC
   E. UWBC

3) Hasil pemeriksaan darah rutin diserahkan dari petugas ATLM kepada pasien rawat jalan yang sudah dilakukan pengambilan sampel darahnya satu jam yang lalu. Salah satu parameter pemeriksaannya adalah hitung jenis lekosit dengan nilai absolut. Apa satuan hasil parameter pemeriksaan yang dimaksud?
   A. %
   B. fL
   C. g/dL
   D. $x10^3/\mu L$
   E. sel/mm^3

4) Seorang ATLM mentransfer hasil dari *printout hematology analyzer* ke form hasil pemeriksaan laboratorium. Jenis teknologi *hematology analyzer* yang digunakan adalah *optik light scatter*. Apa hasil pemeriksaan yang hanya terdapat pada teknologi tersebut, namun tidak terdapat di teknologi impedansi?

A. RDW
B. MPV
C. P-LCR
D. UWBC
E. NEUT%

5) Pemeriksaan darah rutin dilakukan dengan *hematology analyzer* teknologi *flow* sitometri. Salah satu parameternya adalah hitung jenis lekosit yang hasilnya tertera di layar berupa kurva *scatter* yang tertera pada gambar berikut. Apa yang digambarkan pada kurva tersebut?



A. Perubahan arus listrik
B. Pengelompokan jenis sel
C. Kompleksitas granula sel
D. Batas sel dengan discriminator ukuran
E. Perhitungan koefisien variasi sel darah

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 4
Status Error atau Flagging

Penggunaan *hematology analyzer* di laboratorium klinik sebagai instrumen yang digunakan rutin membutuhkan suatu evaluasi terhadap metode dan keterbatasan alat. Hal ini dikarenakan setiap teknologi yang diaplikasikan di *hematology analyzer* mempunyai keterbatasannya masing-masing. Oleh karena itu, wajib bagi setiap laboratorium klinik yang menggunakan *hematology analyzer* untuk melakukan verifikasi dan validasi sebagai suatu tahapan proses *quality assurance*.

Pengetahuan ahli teknologi laboratorium medis (ATLM) terhadap keterbatasan alat harus dimiliki terkait dengan status *flagging* yang dapat dijumpai pada kasus penyakit tertentu ataupun sebagai langkah *internal quality control*. Pengetahuan tersebut juga berfungsi sebagai salah satu langkah verifikasi hasil pemeriksaan sebelum diserahkan ke pasien ataupun dokter yang mengajukan permintaan pemeriksaan laboratorium.

Keterbatasan alat untuk menganalisis sampel pada kondisi tertentu umumnya dituliskan pada buku manual alat. Keterbatasan alat dalam menganalisis darah dapat ditandai dengan adanya status *error/flagging*. Hasil pemeriksaan dengan status tersebut dapat berupa garis putus artinya tidak dapat terbaca ataupun dengan simbol tertentu pada *printout* hasil.

Pada Topik 4 ini, kita akan membahas status *error* atau *flagging* yang dapat terjadi pada hasil *hematology analyzer* berdasarkan parameter pemeriksaan, dengan sub-topik sebagai berikut:

1. Hitung lekosit (WBC)
2. Hemoglobin (HGB)
3. Hitung eritrosit (RBC), *mean corpuscular volume* (MCV), dan hematokrit (Hct)
4. Hitung trombosit (PLT)
5. Hitung jenis lekosit

A. HITUNG LEKOSIT (WBC)

Pada *hematology analyzer* dengan teknologi impedansi tidak dapat mendeteksi eritrosit berinti, dan sel tersebut akan terhitung sebagai sel lekosit, yang mengakibatkan hitung lekosit tinggi palsu. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, perlu dilakukan perhitungan koreksi lekosit. Pada *hematology analyzer* dengan teknologi optik, *light scatter* yang dikombinasikan dengan analisis volume sel dapat menganalisis eritrosit berinti, sehingga hitung lekosit dapat secara otomatis terkoreksi. Selain itu adanya agregasi trombosit yaitu trombosit cenderung

mengumpul, juga dapat membuat hasil hitung lekosit tinggi palsu dan hitung trombosit rendah palsu.

Hitung lekosit rendah palsu dapat disebabkan karena adanya efek satelitism yaitu trombosit yang cenderung mengumpul di sekitar membran netrofil, sehingga alat tidak daapt menghitung dengan tepat. Pada kasus tersebut, sampel darah dapat diambil dengan antikoagulan sitrat dibandingkan EDTA, atau dengan menambahkan aminoglikoside untuk menghilangkan gumpalan trombosit yang beragregasi.

Adanya ketidaksesuaian hasil analisis dideteksi dari adanya status *flagging* yang tertera di samping jenis parameter pemeriksaan, atau adanya gambaran abnormal pada kurva *scatter* ataupun histogram.

B. HEMOGLOBIN (HGB)

Pemeriksaan parameter hemoglobin dengan *hematology analyzer* umumnya menggunakan teknologi dan prinsip spektrofotometri, yaitu pengukuran absorbansi berdasarkan perubahan warna reaksi larutan hemoglobin pada panjang gelombang tertentu. Hal yang dapat mempengaruhi adalah kondisi sampel keruh yang disebabkan karena jumlah lekosit yang tinggi ataupun kandungan lemak yang tinggi pada plasma.

Pada kasus dengan jumlah lekosit yang sangat tinggi, dapat diatasi dengan *hematology analyzer* yang mempunyai saluran berbeda untuk hitung lekosit dan hemoglobin, sehingga pada saluran khusus hemoglobin dapat digunakan larutan pelisis yang sangat kuat sehingga seluruh lekosit dapat lisis. Hasil harus diverifikasi dengan metode manual, yaitu dengan perlakuan sentrifugasi hemolisat sebelum pembacaan absorbansi. Hal ini dapat mencegah adanya kekeruhan yang disebabkan oleh sisa-sisa membran sel yang telah dilisiskan.

Pada kasus sampel dengan kekeruhan karena tingginya konsentrasi lemak, dapat diketahui melalui pengamatan plasma setelah proses sentrifugasi sampel atau pengendapan eritrosit. Plasma yang lipemik dapat digunakan sebagai blanko sebelum mengukur kadar Hb pada metode spektrofotometri. Prosedur lainnya adalah, plasma yang keruh dipisahkan dari sel darah dan digantikan dengan larutan isotonik yang ditambahkan ke dalam sel darah dengan volume yang sesuai, setelah itu dilakukan pengukuran dengan *hematology analyzer*.

C. HITUNG ERITROSIT (RBC), *MEAN CORPUSCULAR COLUME* (MCV), DAN HEMATOKRIT (HCT)

Hasil yang tidak sesuai pada parameter MCV dan Hct dapat dipengaruhi oleh perubahan volume eritrosit yang meningkat karena efek penyimpanan sampel, terutama pada *hematology analyzer* dengan teknologi impedansi. Nilai MCV yang meningkat dapat terjadi

pada sampel dengan masa simpan 8 - 24 jam, dengan peningkatan volume antara 4 - 8 fL, tergantung dengan suhu penyimpanannya. Peningkatan nilai Hct juga terjadi pada nilai MCV yang meningkat. Hal ini dapat dicegah dengan analisis sampel segera sesuai dengan masa stabilitas sampelnya.

Perubahan sel eritrosit lainnya yaitu adanya ketidakseimbangan osmolalitas plasma yang menyebabkan eritrosit membengkak. Hal ini terjadi pada kasus hipernatremia, uremia, dan hiperglikemia pada penyakit diabetes melitus tidak terkontrol.

Pada kasus sampel dengan *cold agglutinin,* yaitu kondisi sampel membeku pada suhu ruang, sehingga mengakibatkan sel eritrosit tidak dapat terhitung ataupun dianalisis dengan baik, yang berdampak pada perhitungan nilai MCV dan Hct. Hal tersebut dapat diatasi dengan menghangatkan sampel sebelum dianalisis dengan *hematology analyzer*.

Sampel dengan kondisi mikrositosis yang parah, dapat mengakibatkan nilai MCV tinggi. Hal ini dikarenakan beberapa sel eritrosit dengan bentuk mikrositik tidak dapat terhitung pada teknologi impedansi. Jika terjadi analisis yang tidak akurat pada hitung sel eritrosit dan MCV, maka akan berdampak pada penghitungan nilai Hct.

D. HITUNG TROMBOSIT (PLT)

Pada parameter hitung trombosit, umumnya *hematology analyzer* sulit untuk menghitung secara akurat pada kasus trombositopenia (jumlah trombosit di bawah nilai normal). Pada beberapa studi menunjukkan, bahwa teknologi impedansi tidak akurat dalam menghitung trombosit dalam kasus trombositopenia jika dibandingkan dengan *flow* sitometri fluoresensi. Selain itu, kualitas spesimen turut mempengaruhi, seperti pada sampel dengan adanya bekuan walaupun kecil, yang dapat dideteksi pada sebagian jenis *hematology analyzer* melalui deteksi adanya benang fibrin dan diinformasikan dalam status *flagging*.

Adanya trombosit yang beragregasi ataupun efek satelitism, dapat membuat hitung trombosit rendah palsu. Trombosit yang teragregasi dapat disebabkan karena aktivasi pada saat proses pengambilan darah yang sulit. Agregasi trombosit pada sampel yang dianalisis dengan *hematology analyzer* ditunjukkan melalui status *flagging*, gambaran histogram yang abnormal terhadap distribusi trombosit, ataupun gambaran kurva *scatter* yang menunjukkan adanya abnormalitas pada kluster lekosit. Namun demikian, agregasi trombosit pada kasus tersebut tidak dapat dideteksi khusus di saluran trombosit.

Kasus agregasi trombosit tidak semuanya dapat dideteksi sebagai status *flagging* pada alat atau abnormalitas pada kurva *scatter*. Pada kasus agregasi trombosit dengan ukuran yang cukup besar menyamai besar lekosit, maka alat mungkin tidak dapat mengidentifikasi. Oleh karena itu, penting untuk identifikasi melalui sediaan apus darah tepi terhadap adanya kemungkinan benang fibrin, agregasi trombosit, efek satelitism, dan *giant* trombosit.

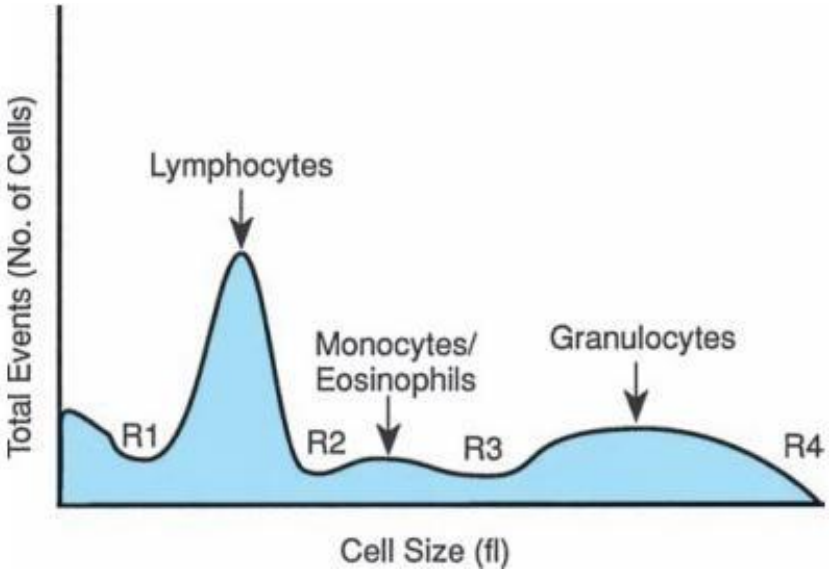
Pada kasus agregasi trombosit karena sensitif terhadap EDTA dapat diatasi dengan penambahan 20 mg kanamycin atau penggunaan MgSO4 sebagai antikoagulan. Penggunaan natrium sitrat juga dapat sebagai alternatif pengganti antikoagulan.

Sel eritrosit mikrositik dalam jumlah besar juga dapat mengganggu hitung trombosit. Pada beberapa alat, hal ini diatasi dengan teknologi zat warna flouresen auramine yang mewarnai RNA trombosit, sehingga dapat dibedakan dari sel eritrosit mikrositik. Sel eritrosit tidak dapat terwarnai dengan zat warna tersebut.

D. HITUNG JENIS LEKOSIT

Parameter hitung jenis lekosit dianalisis melalui *hematology analyzer* berkaitan dengan stabilitas sampel yang dipengaruhi oleh masa simpan dan suhu penyimpanan. Hal ini berkaitan dengan perubahan morfologi sel lekosit selama penyimpanan. Teknologi impedansi sangat terpengaruh oleh perubahan morfologi sel selama penyimpanan dibandingkan teknologi optik dengan pewarnaan sitokimia. Perubahan morfologi sel lekosit dapat diminimalisir jika sampel disimpan pada suhu 4^0C.

Pada *hematology analyzer* dengan teknologi impedansi dengan spesifikasi tiga jenis lekosit, dapat tidak akurat dalam menghitung jenis lekosit pada 30 menit setelah pengambilan darah, terlebih jika sampel darah disimpan lebih dari 6 jam. Pada kondisi tersebut, terjadi penurunan pada hitung sel netrofil dan peningkatan sel mononuklear selama penyimpanan. Selain itu, sel eritrosit berinti, sel imatur granulosit dan limfosit atipikal dapat memberikan status *flagging* pada teknologi impedansi dengan pembacaan tiga jenis lekosit. Contoh gambaran status *flagging* pada histogram parameter hitung jenis lekosit dapat dilihat berikut ini.



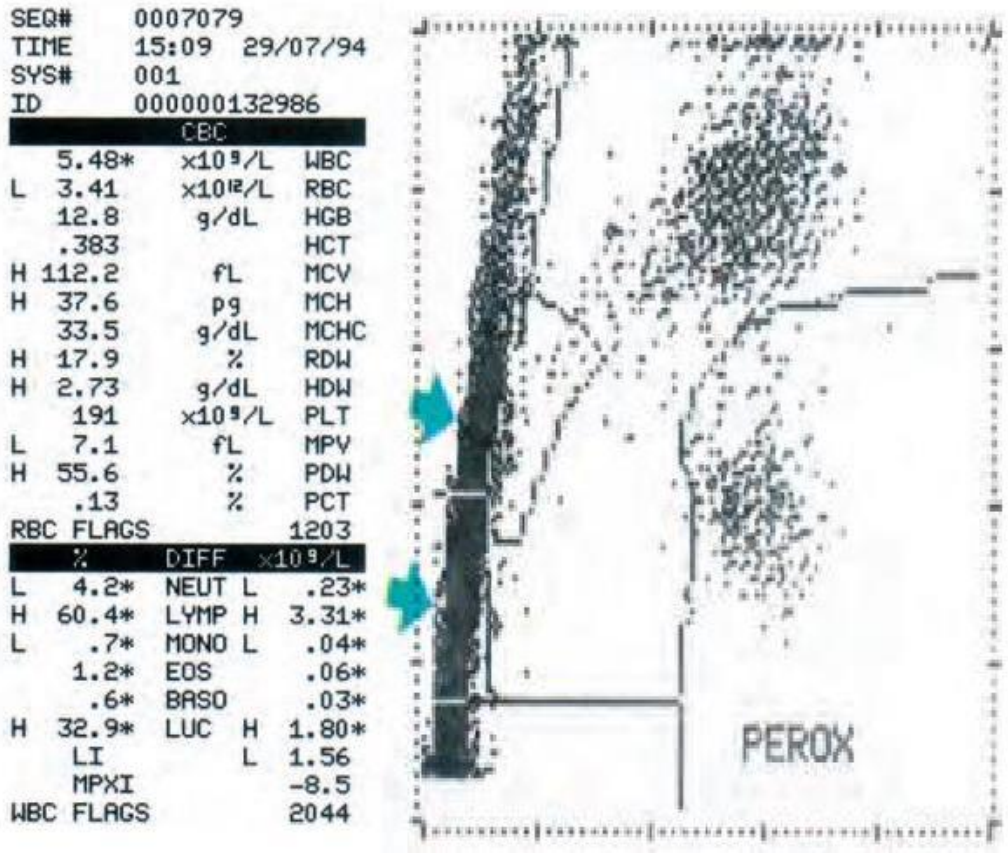
Sumber: Sharral Longanbach, Martha K.Miers, 2013

Gambar 5.19

Histogram lekosit dengan area R1, R2, R3 dan R4 menunjukkan status *flagging*. Area R1 kemungkinan eritrosit berinti, trombosit menggumpal, large trombosit, krioglobulin, limfosit kecil, eritrosit yang tidak lisis. Area R2 kemungkinan limfosit reaktif, limfoblast, basofil, bekuan sampel. Area R3 kemungkinan eosinophilia, monositosis, blast, bekuan sampel. Area R4 kemungkinan granulositosis

Efek penyimpanan sampel terhadap perubahan morfologi sel darah juga dapat menimbulkan penghitungan yang salah pada *hematology analyzer* dengan pembacaan lima jenis lekosit. Sebagai contoh, pada alat Sysmex NE-800 menunjukkan peningkatan sel monosit setelah delapan jam penyimpanan di suhu ruang dan peningkatan netrofil setelah 24 jam masa simpan. Pada alat Cobas Argos menunjukkan peningkatan jumlah limfosit dan penurunan jenis sel lainnya pada 6 - 24 jam masa simpan.

Selain itu, efek penyimpanan juga dapat dipengaruhi jenis sampel patologis. Pada studi hitung jenis lekosit pada pasien HIV dengan alat Sysmex NE-800, didapatkan penurunan jumlah limfosit setelah 24 jam penyimpanan di suhu ruang. Sampel darah dengan karakteristik patologi tertentu dapat memberikan hasil yang tidak akurat pada hitung jenis lekosit dengan *hematology analyzer*. Berikut ini adalah contoh *printout* hasil darah rutin pada *hematology analyzer* yang menunjukkan adanya status *flagging* yang disebabkan adanya eritrosit berinti.



Sumber: Bain, 2015.

Gambar 5.20

Printout hasil *hematology analyzer* Bayer H.2. Pada *printout* angka, menunjukkan status *flagging* atau error pada hitung eritrosit dan lekosit, selain itu pada hitung jenis lekosit juga terdapat tanda bintang yang menunjukkan pembacaan kurang tepat. Pada salah satu saluran peroxidase (deteksi jenis lekosit) didapat gambaran bahwa eritrosit yang tidak lisis (eritrosit berinti) dihitung sebagai limfosit pada plot area LUC (panah biru), dan jumlah netrofil yang sangat sedikit (neutropenia)

Pada saat status *flagging* terdeteksi di *hematology analyzer*, maka harus dipastikan terlebih dahulu riwayat pemeriksaannya, apakah pemeriksaan pertama kali atau ada riwayat pemeriksaan sebelumnya. Jika pemeriksaan pertama kali, maka perlu dikategorikan apakah merupakan pemeriksaan skrining atau kategori khusus yang mengarah pada suatu penyakit. Jika termasuk pemeriksaan skrining, maka status *flagging* yang dilaporkan apakah hanya hitung sel darah. Oleh karena itu, diperlukan analisis sediaan apus darah tepi.

Namun, jika status flagging terdapat pada hasil pemeriksaan dengan riwayat suatu penyakit, maka perlu dilihat keterangan klinis dari dokter yang merawat pasien tersebut terkait dengan kategori jenis penyakitnya. Analisis ulang menggunakan sediaan apus darah

tepi dilakukan pada hasil sampel dengan positif delta check yaitu dibandingkan dengan hasil sebelumnya, adanya status flagging, dan kondisi pasien dengan kelainan darah tertentu, sampel bayi, dan adanya permintaan dari klinisi.

Latihan

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

1) Sebutkan kondisi sampel yang dapat mengakibatkan status flagging pada hitung sel darah!
2) Bagaimana tindakan korektif yang dilakukan jika terdapat status flagging pada hitung sel darah?
3) Jelaskan mengapa teknologi impedansi tidak dapat menganalisis eritrosit berinti dan dilaporkan sebagai status *flagging*!
4) Jelaskan gambaran trombosit yang dapat mengakibatkan status flagging pada *hematology analyzer*!
5) Jelaskan analisis flagging yang tertera di histogram!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali bagian materi yang menerangkan tentang kondisi sampel yang dapat mengakibatkan status flagging pada hitung sel darah.
2) Pelajari kembali bagian materi yang menerangkan tentang tindakan korektif yang dapat dilakukan jika terdapat status *flagging* pada hitung sel darah
3) Pelajari kembali bagian yang menerangkan alasan teknologi impedansi tidak dapat menganalisis eritrosit berinti dan dilaporkan sebagai status *flagging.*
4) Pelajari kembali bagian yang memberikan gambaran trombosit yang dapat mengakibatkan status *flagging* pada hematology analyzer
5) Pelajari kembali bagian yang menguraikan analisis *flagging* yang tertera di histogram

Ringkasan

Status *error* atau *flagging* dapat terjadi pada *hematology analyzer* yang menunjukkan alat tidak akurat dalam menganalisis sel darah dan diperlukan pemeriksaan konfirmasi atau perlakuan lebih lanjut. Hal ini dapat disebabkan karena sampel pada penyakit tertentu seperti penyakit leukemia yang terdapat sel imatur, dan adanya kesalahan dalam pengambilan,

prosesing ataupun penyimpanan sampel, seperti sampel yang disimpan melebihi masa stabilitas ataupun sampel yang berasal dari pasien dengan penyakit autoimun yang terdapat *cold auto antibody*.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin dengan *hematology analyzer* teknologi impedansi. Sampel berasal dari pasien bayi berumur lima bulan. Hasil analisis pada layar monitor menunjukkan adanya status *flagging* pada hitung lekosit dan hitung jenis lekosit. Apa Langkah selanjutnya yang sebaiknya dilakukan oleh ATLM tersebut?
   A. Mengeluarkan hasil tersebut
   B. Mengamati sediaan apus darah tepi
   C. Melakukan hitung lekosit manual bilik hitung
   D. Membandingkan dengan riwayat pemeriksaan sebelumnya
   E. Konsultasi dengan dokter penanggung jawab laboratorium

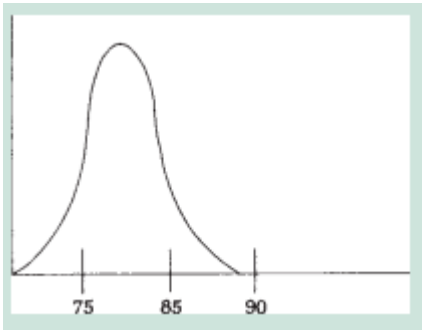
2) Hasil hitung trombosit diketahui mempunyai status *flagging* atau *error* tertera pada layar *hematology analyzer* impedansi. ATLM yang melakukan pemeriksaan, mendapati *giant* trombosit pada sediaan apus darah tepi. Apa Langkah selanjutnya yang harus dilakukan oleh ATLM tersebut?
   A. Mengambil sampel darah ulang
   B. Melihat hasil hitung trombosit sebelumnya
   C. Melakukan hitung trombosit dengan bilik hitung
   D. Mengulang pemeriksaan dengan hematology analyzer
   E. Konfirmasi hitung trombosit melalui sediaan apus darah tepi

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan darah rutin pada sampel yang berasal dari pasien wanita berumur 65 tahun. Teknologi *hematology analyzer* yang digunakan adalah optik. Hasil menunjukkan tidak terhitungnya sel eritrosit serta status *error* pada sebagian besar parameter pemeriksaan. Setelah dilakukan pengamatan, diketahui adanya bekuan pada sampel darah, walaupun pada saat pengambilan darah tidak ada hambatan dan pengambilan sampel dilakukan sesuai dengan SOP. Apa analisis yang sesuai dengan kasus tersebut?
   A. Adanya cold autoantibodi
   B. Terjadi agregasi trombosit yang berlebih

C. Kemungkinan sampel tertukar dengan pasien lainnya
D. Perbandingan sampel dan antikoagulan tidak sesuai
E. Sampel darah mempunyai sifat hipersensitivitas EDTA

4) Sesuai dengan kasus nomor 3, apa langkah yang sebaiknya dilakukan oleh ATLM?
A. Laporkan dengan catatan
B. Buat sediaan apus darah tepi
C. Hangatkan sampel darah di suhu 370 C
D. Ambil darah ulang dengan antikoagulan sitrat
E. Konsultasi dengan dokter penanggung jawab lab

5) Hasil pemeriksaan darah rutin pada sampel seorang wanita berumur 30 tahun sebagai berikut.
HGB : 8,7 g/dL
RBC : 3,2 x 10^{12}/L
HCT : 26%
MCV : 81 fL
MCH : 19 pg
MCHC : 27,2 g/dL
Hasil analisis histogram RBC sebagai berikut.



Apa analisis jenis anemia yang sesuai pada kasus tersebut?
A. Mikrositik
B. Normositik
C. Makrositik
D. Vitamin B12
E. Defisiensi zat besi

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 6. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1) A
2) A
3) C = pilihan A dan B merupakan ciri teknologi impedansi, opsi D tidak disebutkan jenis parameternya dan opsi E, belum semua jenis sel imatur dapat dideteksi dengan *hematology analyzer* yang canggih
4) D = dari jenis parameter yang dilakukan pemeriksaan, hanya satu jenis parameter yaitu hitung jenis lekosit yang tidak dihitung menyeluruh pada *hematology analyzer* teknologi impedansi. Oleh karena itu harus dilakukan hitung manual. Opsi lainnya harus dibutuhkan data pendukung.
5) A

Tes 2

1) A
2) B = opsi lainnya berdasarkan analisis kurva histogram
3) A
4) A
5) E = opsi lainnya dianalisis berdasarkan ukuran sel ataupun struktur internal sel. Trombosit dapat dilakukan analisis dengan teknologi tersebut, namun rentan terjadi kesalahan interpretasi yang dapat disebabkan ukuran yang bervariasi. Hitung trombosit dapat dioptimasi dengan penggunaan antibodi monoklonal dengan zat fluoresen yang menempel spesifik pada glikoprotein trombosit

Tes 3

1) B
2) D = NRBC = *nucleated red blood cells*
3) D = hitung jenis lekosit dengan nilai absolut dilakukan perhitungan sel lekosit dengan satuan x103/µL
4) D = UWBC adalah hitung sel lekosit tanpa koreksi yang disertai dengan parameter hitung sel lekosit yang terkoreksi yang dikeluarkan hasilnya melalui hematology analyzer teknologi optik.
5) D = Kurva scatter dibuat berdasarkan pengelompokan sel, sedangkan untuk histogram berdasarkan batas sel dengan diskriminator yang dianalisis berdasarkan ukuran, opsi A dan C merupakan jenis teknologi hematology analyzer, opsi E merupakan analisis berdasarkan perhitungan.

Tes 4

1) B = jika ada status *flagging* pada *hematology analyzer* di parameter hitung sel, maka langkah awal yaitu pengamatan SADT sebelum ke tahap konfirmasi berikutnya seperti hitung sel manual.
2) C = untuk mengkonfirmasi hasil trombosit, maka dilakukan hitung trombosit manual bilik hitung yang merupakan pengukuran secara langsung, sedangkan pengamatan SADT hanya untuk mengetahui kondisi dan morfologi trombosit.
3) A = jika sampel darah telah dilakukan pengambilan yang sesuai dan berdasarkan SOP, berarti tidak menunjukkan adanya masalah pengambilan sampel, maka hal yang memungkinkan kalau terjadinya bekuan pada sampel adalah kondisi sampel patologis yaitu adanya *cold autoantibody*, dan pilihan B, C, dan E tidak sampai menyebabkan bekuan.
4) C = Menghangatkan sampel pada suhu 37^0C dapat membuat bekuan sampel terurai Kembali.
5) *A* = Analisis kurva menunjukkan pergeseran ke kiri yang menunjukkan berkurangnya volume sel darah, yang menunjukkan ukuran sel lebih kecil. Hal ini juga diperkuat dengan hasil parameter eritrosit lainnya yang berada di bawah nilai normal. Opsi D dan E harus dilihat kondisi dan riwayat klinis pasien.

Glosarium

Istilah	Keterangan
Darah rutin	Parameter pemeriksaan utama pada *hematology analyzer*, yaitu: kadar hemoglobin, hitung sel eritrosit, lekosit, trombosit, hematokrit, indeks eritrosit
Flagging	Status *error* yang tertera pada *hematology analyzer*
Hematology analyzer	Alat pengukuran darah rutin yang bersifat otomatisasi
Histogram	Kurva berbentuk lonceng
Kurva *Scatter*	Kurva titik
Light scatter	Berkas cahaya yang disebarkan setiap sel darah yang ditembakkan oleh sinar pada sudut tertentu

Daftar Pustaka

Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis M, 2017. *Dacie and Lewis Practical haematology.* 12 ed. China: Elsevier.

Bain, B., 2015. *Blood cells a practical guide.* 5th ed. **West** Sussex: Willey & son, Ltd.

Dayyal, D., 2017. *Principles of working of automated hematology analyzer,* s.l.: Bioscience.

Dayyal, D., 2018. *Parameter measured by hematology analyzers,* s.l.: s.n.

Khartabil TA, Frankrijjker MM, de Rijke YB, Russcher H, 2021. The Sysmex XN-L (XN-350) hematology analyzer offers a compact solution for laboratories in niche diagnostics. *Int J Lab Hematol,* Volume 43, pp. 29-39.

Turgeon, M.L., 2012. *Clinical hematology, theory and procedures,* Philadelphia: Lippincott Wiliams & Wilkins.

Mukhtar, Z., 2019. *Optimizing optical technology for automated hematology analyzers,* s.l.: Abbott.

Scoffin, K., 2014. *Hematology analyzers-from complete blood counts to cell morphology,* s.l.: Labcompare.

Sharral Longanbach, Martha K.Miers, 2013. Automated blood cell analysis. In: L. S. J. W. Elaine Keohane, ed. *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications.* s.l.:Elsevier, p. 912.

Sullivan, E., 2006. Hematology analyzer: from workhorse to thoroughbred. *Labmedicine,* 37(5), pp. 273-278.

Sysmex, 2000. *Sysmex KX-21, Operator's manual automated hematology analyzer.* Kobe: Sysmex.

Sysmex, 2008. Sysmex XE-500: Automated hematology analyzer instruction for use. Kobe: Sysmex.

Bab 6

PASCA-ANALITIK PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

Gilang Nugraha, S.Si., M.Si.

Pendahuluan

Tahap pasca-analitik merupakan kegiatan yang dilakukan setelah proses pemeriksaan. Tahapan ini dimulai dari keluarnya hasil (data) pemeriksaan hingga hasil pemeriksaan diserahkan kepada pasien, termasuk kegiatan penanganan spesimen setelah pemeriksaan. Proses yang dilakukan pada tahap pasca-analitik dapat menyumbangkan frekuensi kesalahan terbesar kedua setelah tahap pre-analitik. Kesalahan yang mungkin terjadi pada tahap pasca-analitik sekitar 13-20%, bahkan ada yang melaporkan 18-47%. Dengan demikian penting untuk melaksanakan kegiatan pasca-analitik ini dengan baik dan benar untuk menghindari kesalahan fatal.

Bab 6 ini membahas berbagai macam tahapan pada pasca-analitik serta kegiatan yang dilakukan. Penyajian materi diharapkan dapat membuka wawasan Anda terkait tahapan yang dilakukan pada pasca-analitik, sehingga dapat menjalankan tugas sebagai seorang ATLM yang profesional. Bab ini membahas empat topik utama sebagai berikut:

1. Pelaporan hasil pemeriksaan
2. Verifikasi hasil pemeriksaan
3. Penyimpanan spesimen
4. Penanganan limbah

Setelah mempelajari Bab 6 ini, Anda akan mampu menguraikan tahapan pasca-analitik pada pemeriksaan hematologi. Secara rinci, Anda akan mampu:

1. menguraikan pelaporan hasil pemeriksaan;
2. menerapkan verifikasi pada hasil pemeriksaan;
3. menjelaskan penyimpanan spesimen; dan
4. menjelaskan penanganan limbah pemeriksaan hematologi.

Mempelajari Bab 6dapat dilakukan jika sudah memahami bab-bab sebelumnya pada buku ajar ini, karena bab ini merupakan tahap lanjut dari pre-analitik pemeriksaan hematologi. Langkah yang dapat ditempuh agar mudah memahami isi bab ini adalah sebagai berikut:

1. bacalah bab 2 Pre-analitik dan Pemeriksaan Hematologi terlebih dahulu;
2. bacalah dengan cermat bagian pendahuluan dan fahami kompetensi yang akan dicapai pada bab 6 ini;
3. bacalah topik-topik pada bab 6 ini secara berurutan, karena masing-masing topik saling berkaitan;
4. bab ini dilengkapi dengan gambar dan tabel sebagai ilustrasi untuk mempermudah pemahaman;
5. bacalah rangkuman untuk memahami garis besar materi pada masing-masing topik;
6. kerjakan latihan setelah mempelajari setiap topik pada bab ini, jangan membaca jawabannya sebelum selesai mencoba setiap latihan, cari jawaban dengan membaca kembali materi yang relevan;
7. jawablah setiap butir tes tanpa melihat kunci jawaban terlebih dahulu, tetapi dengan membaca materi kembali; dan
8. cocokkan jawaban Anda pada setiap tes dengan kunci jawaban, dan menghitung jumlah jawaban benar untuk mengevaluasi perolehan kemampuan Anda terhadap kompetensi di setiap topik.

Topik 1
Pelaporan Hasil Pemeriksaan

Hasil pemeriksaan laboratorium harus disampaikan kepada pasien atau dokter yang merujuk dalam bentuk laporan. Laporan hasil pemeriksaan harus dibuat dengan memperhatikan konten dan tata letak, agar informasi yang tertulis dapat disampaikan dengan baik. Oleh karena itu, laporan hasil pemeriksaan harus dibuat seakurat mungkin, jelas dan tidak membingungkan.

Format laporan pada setiap laboratorium dapat berbeda, karena format laporan tidak ditentukan secara baku akan tetapi tetap mengacu pada standar minimum yang ditetapkan. Selain itu, penulisan hasil pemeriksaan harus tervalidasi untuk memastikan kebenaran penulisan.

A. PENULISAN HASIL PEMERIKSAAN

Hasil pemeriksaan laboratorium harus ditulis dan terbaca tanpa kesalahan, sehingga perlu memperhatikan penggunaan bahasa. Format terpenting dalam hasil pemeriksaan laboratorium yaitu harus ada data administrasi, informasi data pasien, hasil pengukuran, data konfirmasi, dan nilai rujukan. Penambahan kolom komentar diperlukan pada beberapa hasil pemeriksaan, jika penggunaan kolom komentar tidak memberikan nilai tambah pada penulisan hasil pemeriksaan maka dapat dikosongkan.

Penulisan hasil pemeriksaan menurut SNI ISO 15189:2012 harus memenuhi konten minimum pada pelaporan hasil pemeriksaan yang mencakup hal-hal berikut.

1. Identifikasi pemeriksaan yang jelas dan tidak ambigu, apabila perlu dimasukkan prosedur pemeriksaan.
2. Identifikasi laboratorium yang mengeluarkan laporan hasil pemeriksaan.
3. Identifikasi semua pemeriksaan yang telah dilakukan oleh laboratorium rujukan.
4. Identifikasi pasien dan lokasi pasien pada setiap halaman.
5. Nama atau pengenal unik lainnya dari peminta pemeriksaan dan rincian kontaknya.
6. Tanggal pengambilan sampel primer (dan waktu, bila tersedia dan sesuai untuk pengelolaan pasien).
7. Jenis sampel primer.
8. Prosedur pengukuran, bila sesuai/perlu.
9. Hasil pemeriksaan dilaporkan dalam satuan SI, satuan terukur ke SI, atau satuan lain yang sesuai.

10. Rentang acuan biologis, nilai keputusan klinis, atau diagram/nomogram yang mendukung nilai keputusan klinis, bila dapat diaplikasikan.
11. Interpretasi hasil, bila diperlukan.
12. Tanggapan lain seperti catatan peringatan atau penjelasan (misal mutu atau kecukupan dari sampel primer yang dapat rusak/mempengaruhi hasil, hasil/interpretasi dari laboratorium rujukan, penggunaan prosedur yang dikembangkan).
13. Identifikasi pemeriksaan yang dilakukan sebagai bagian program penelitian atau pengembangan di mana tidak ada tuntutan khusus terhadap pengukuran kinerja.
14. Identifikasi orang/beberapa orang yang mengkaji hasil dan berwenang mengeluarkan laporan (jika tidak tercantum dalam laporan, tersedia bila diperlukan).
15. Tanggal dan waktu pengeluaran laporan (jika tidak tercantum dalam laporan, tersedia bila diperlukan).
16. Nomor halaman terhadap judul total halaman (misalnya “Halaman 1 dari 5”, “Halaman 2 dari 5”), dan lain-lain.

Konten pelaporan hasil pemeriksaan juga tertulis dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 43 Tahun 2013 tentang cara penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik. Isi dari konten memiliki kesamaan dengan ISO 15189:2012 dan ada penambahan yang disesuaikan. Konten pelaporan hasil pemeriksaan ini mencakup hal-hal berikut.

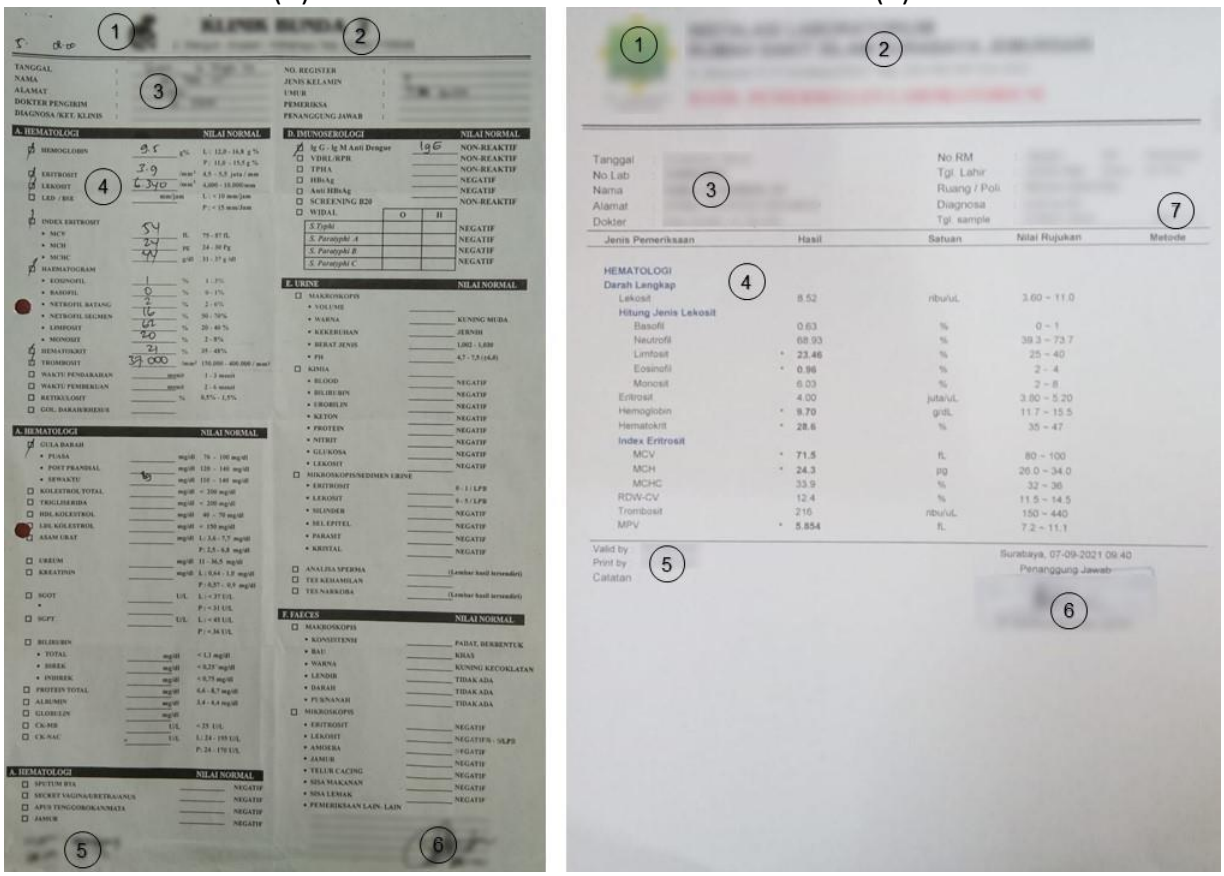
1. Identifikasi dari pemeriksaan yang jelas dan tidak ragu-ragu, termasuk prosedur pengukuran bila perlu.
2. Identifikasi laboratorium yang menerbitkan laporan.
3. Identifikasi khas dan bila mungkin lokasi pasien serta tujuan dari laporan.
4. Nama atau identitas khas lain dari pemohon dan alamat pemohon.
5. Tanggal dan waktu pengumpulan sampel primer, apabila tersedia dan relevan dengan pelayanan pasien, serta waktu penerimaan oleh laboratorium.
6. Tanggal dan waktu penerbitan laporan. Jika tidak tercantum pada laporan, tanggal dan waktu penerbitan laporan harus dapat diperoleh dengan segera jika diperlukan.
7. Sumber dan sistem organ sampel primer, misalnya: darah vena, pus luka.
8. Bila dapat digunakan, hasil pemeriksaan dilaporkan dalam unit Standar Internasional atau tertelusur hingga unit Standar Internasional.
9. Interval acuan biologis, apabila dapat digunakan.
10. Interpretasi hasil, apabila sesuai.
11. Tanggapan lain (misalnya, mutu atau kecukupan dari sampel primer yang dapat merusak hasil, hasil/interpretasi dari laboratorium rujukan, penggunaan dari prosedur yang dikembangkan, dan apabila dapat digunakan, informasi tentang batas deteksi dan ketidakpastian pengukuran). Laporan hendaknya mengidentifikasi pemeriksaan yang

dilakukan sebagai bagian dari suatu program pengembangan (jika demikian halnya, tidak ada syarat untuk kerja pengukuran).

12. Identifikasi dari petugas yang diberi wewenang mengeluarkan hasil.
13. Hasil asli dan hasil yang diperbaiki.
14. Tandatangan atau otorisasi dari petugas yang memeriksa atau menerbitkan laporan.

Penulisan hasil pemeriksaan tidak menyebutkan nama orang yang melakukan pengambilan sampel, penerima sampel, dan ATLM yang melakukan pemeriksaan. Informasi ini cukup tercatat pada lembar dokumen di laboratorium atau pada sistem informasi laboratorium (SIL). Contoh format penulisan hasil pemeriksaan laboratorium dapat dilihat pada gambar 6.1.

(A) (B)



Gambar 6.1

Contoh lembar hasil pemeriksaan laboratorium. (A) laporan dalam format tulis, dan (B) laporan dalam format cetak.

Keterangan gambar 6.1:

1. Logo laboratorium/klinik/rumah sakit
2. Identitas laboratorium (nama, alamat, dan kontak)
3. Identitas pasien
4. Data hasil pemeriksaan
5. Validator dan tanggal validasi
6. Tanda tangan penanggung jawab laboratorium
7. Penunjuk halaman

Hasil pemeriksaan laboratorium dapat disampaikan secara tertulis, cetak, atau elektronik. Penulisan hasil pemeriksaan secara manual baik tulis tangan maupun *input* data ke komputer, perlu kehati-hatian dan perlu ditetapkan prosedurnya untuk memastikan tidak ada kesalahan dalam menuliskan hasil. Kesalahan yang umum ditemukan pada kasus ini yaitu:

1. kesalahan penulisan angka;
2. kesalahan penggunaan tanda titik dan koma;
3. kesalahan penulisan negatif dan positif;
4. kesalahan penulisan satuan;
5. tertukar hasil antar pemeriksaan atau antar pasien; dan
6. tidak melakukan konversi sesuai nilai rujukan

Kesalahan penulisan hasil pemeriksaan secara manual dapat diminimalkan dengan cara menggunakan SIL dan data dari instrumen pemeriksaan ditransfer langsung (otomatis) pada lembar hasil pemeriksaan. Untuk ini, tetap harus terdapat prosedur yang memastikan tidak ada kesalahan dalam penulisan hasil. Misalnya melakukan pengecekan hasil terhadap data primer, yaitu pada alat yang melakukan pengukuran.

Hasil dari kegiatan pasca-analitik tahap ini yaitu berupa lembar hasil pemeriksaan. Kemudian tahapan ini akan dilanjutkan pada tahap evaluasi hasil pemeriksaan yang akan di bahas pada topik selanjutnya.

B. PENYERAHAN HASIL PEMERIKSAAN

Lembar hasil pemeriksaan yang sudah dievaluasi dan dinyatakan valid, harus segera diserahkan. Lembar hasil pemeriksaan harus disampaikan kepada orang yang tepat, karena hasil pemeriksaan harus dijaga sebagai bentuk penjagaan data privasi pasien. Hasil pemeriksaan pasien rawat jalan umumnya akan diambil oleh pasien itu sendiri, atau diambil oleh pihak keluarga, atau bahkan orang lain. Oleh karena itu, laboratorium harus memiliki prosedur dalam penjagaan privasi data pasien tersebut, misalnya dengan menunjukkan

nomor registrasi pendaftaran laboratorium atau dengan membawa surat kuasa. Hasil pemeriksaan pasien rawat inap umumnya akan dikirimkan ke ruangan untuk diserahkan kepada dokter, atau bahkan kepada perawat ruangan yang sedang bertugas.

Terlepas dari pasien rawat jalan maupun rawat inap, laboratorium harus memiliki prosedur pendokumentasian pelepasan hasil pemeriksaan, misalnya menyiapkan buku catatan yang menerangkan siapa yang memberikan dan siapa yang menerima hasil pemeriksaan, tanggal dan jam pengambilan dan tanda tangan bukti pengambilan. Jika seorang dokter meminta sebagian hasil pemeriksaan, maka harus disiapkan mekanisme pelaporan pelepasan hasil pemeriksaan sebagian. Jika hasil pemeriksaan sudah lengkap, maka hasil pemeriksaan harus dikeluarkan ulang sebagai laporan yang lengkap kepada dokter.

Penyerahan hasil pemeriksaan dalam bentuk elektronik misalnya melalui alamat email atau aplikasi pesan online, maka perlu persetujuan pasien karena pelaporan jenis ini tidak terlindungi dari privasi pasien. Oleh karena itu laboratorium harus memiliki prosedur untuk mengkomunikasikan cara pengiriman elektronik tersebut dengan menyampaikan prosedur, risiko dan pernyataan kesediaan. Sebaiknya berikan pilihan penyerahan hasil pemeriksaan kepada pasien, yaitu dalam berupa cetak atau elektronik dengan menjelaskan kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Pastikan laporan hasil pemeriksaan laboratorium yang dirilis secara elektronik harus dalam format "hanya-baca" yang tidak memungkinkan perubahan.

Laboratorium juga harus memiliki mekanisme pencabutan laporan atau hasil pemeriksaan yang sudah diserahkan dengan alasan objektif. Mekanisme ini dilakukan jika terjadi perubahan data pasien atau karena permintaan dokter. Alasan pencabutan harus dijelaskan secara profesional pada yang menerima hasil pemeriksaan dan laboratorium wajib mengarsipkan hasil pemeriksaan laboratorium yang dicabut.

Hasil pemeriksaan laboratorium yang mengalami perubahan data, harus ditunjukkan dengan jelas dan dijelaskan jika hasil pemeriksaan sudah diterima oleh penerima. Hasil asli yang kemudian direvisi harus disimpan pada laporan hasil laboratorium dan harus diberi label dengan jelas.

C. PENGARSIPAN HASIL PEMERIKSAAN

Pengarsipan hasil pemeriksaan digunakan untuk acuan di kemudian hari dan merupakan bagian dokumentasi mutu laboratorium. Pengarsipan dokumen tersebut harus dapat disimpan dalam bentuk tertulis, serta dapat disimpan dalam bentuk elektronik. Pengarsipan harus dipersiapkan secara efisien untuk menghemat uang dan ruang, meningkatkan produktivitas, berbagi informasi dengan cepat, melindungi privasi pasien, dan ramah lingkungan. Pengarsipan dokumen berdasarkan Permenkes RI No. 43 Tahun 2013 tentang cara penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik harus memenuhi prinsip-prinsip berikut.

1. Semua dokumen yang disimpan harus asli dan harus ada bukti verifikasi pada dokumen dengan tanda tangan oleh penanggung jawab/supervisor laboratorium (*hard copy*).
2. Berkas laboratorium disimpan selama 5 tahun, dan untuk kasus-kasus khusus, dipertimbangkan tersendiri jangka waktu penyimpanannya.
3. Berkas pasien anak-anak harus disimpan hingga batas usia tertentu sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
4. Berkas laboratorium pasien dengan kelainan jiwa disimpan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
5. Untuk memudahkan penelusuran pada kasus-kasus tertentu, misalnya dipakai sebagai barang bukti, salinan atau berkas hasil yang dilaporkan harus disimpan sedemikian sehingga mudah ditemukan kembali. Lamanya waktu penyimpanan dapat beragam, tetapi hasil yang telah dilaporkan harus dapat ditemukan kembali sesuai kepentingan medis atau sebagaimana dipersyaratkan oleh persyaratan nasional, regional atau setempat.

Hasil pemeriksaan laboratorium yang dikelola menggunakan SIL dapat diintegrasikan dengan sistem informasi manajemen rumah sakit (SIMRS) sebagai catatan medis pasien yang disimpan. Pengarsipan dokumentasi laboratorium berarti menyimpan semua data dan pemberitahuan penting dan bermakna dalam format yang diberi tanggal dan disertifikasi serta dapat melindungi data untuk jangka waktu minimum. Periode penyimpanan minimum ini bervariasi menurut jenis dokumen.

Hasil pemeriksaan yang telah melebihi batas penyimpanan dapat dilakukan pemusnahan. Akan tetapi, sebelum dimusnahkan harus dilakukan pendataan untuk pengambilan berbagai informasi yang dianggap masih penting. Pelaksanaan pemusnahan harus disertakan berita acara sesuai prosedur yang berlaku dan berisi tanggal dan waktu pemusnahan, serta adanya personil yang bertanggung jawab dalam pemusnahan dokumen.

D. MUTU PASCA-ANALITIK

Upaya pemantauan kualitas pasca-analitik perlu dilakukan untuk mengurangi kesalahan dan risiko terhadap hasil pemeriksaan. Setiap laboratorium harus menentukan indikator kualitas yang akan diterapkan di setiap fase pekerjaan laboratorium. Indikator kualitas minimum yang direkomendasikan untuk fase pasca-analitis meliputi waktu tunggu pemeriksaan atau biasa disebut *turnaround time* (TAT), dokumentasi kesalahan pelaporan, dan pelaporan nilai kritis.

TAT didefinisikan sebagai total waktu yang dibutuhkan dari laboratorium menerima sampel hingga hasil pemeriksaan diserahkan. Pemantauan TAT dapat dinyatakan dalam persentase. Berdasarkan permenkes No. 129/Menkes/SK/II/2008 tentang standar pelayanan minimal rumah sakit, TAT pemeriksaan pada laboratorium patologi klinik termasuk hematologi yaitu kurang dari 140 menit (Menkes RI, 2008). Penentuan waktu TAT tiap laboratorium dapat berbeda, karena laboratorium memiliki wewenang untuk menetapkan nilai TAT di tempatnya sesuai kebutuhan klinis, pemantauan dan analisis berkala. Hal yang terpenting adalah TAT yang ditentukan tidak melebihi batas dari peraturan yang sudah di tetapkan.

Indikator yang lain yang dapat digunakan untuk evaluasi pasca-analitik yaitu pemantauan dan analisis laporan hasil pemeriksaan laboratorium. Persentase laporan uji laboratorium yang salah dapat digunakan sebagai indikator kualitas pada fase pasca-analitik. Pencatatan ini berguna untuk mendeteksi penyebab paling sering dari hasil pemeriksaan yang salah. Alasan dilakukan perbaikan juga harus didokumentasikan pada laporan, serta nama orang yang melakukan koreksi.

Pemberitahuan hasil kritis dapat digunakan sebagai indikator mutu. Kontrol kualitas dapat dinilai dalam hal seberapa cepat nilai-nilai ini dilaporkan kepada tenaga medis yang sesuai. Indikator ini dapat dinyatakan sebagai waktu rata-rata yang diperlukan untuk pelaporan, atau sebagai jumlah atau proporsi hasil penting yang dilaporkan dalam jangka waktu tertentu. Semua prosedur yang terkait dengan pelaporan hasil kritis harus dicatat dan data dianalisis secara berkala.

Latihan

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

1) Sebutkan konten minimum pada pelaporan hasil pemeriksaan laboratorium menurut SNI ISO 15189!
2) Sebutkan kesalahan yang umum ditemukan dalam menuliskan hasil pemeriksaan laboratorium!
3) Jelaskan cara melakukan penyerahan hasil pemeriksaan!
4) Sebutkan prinsip-prinsip pengarsipan dokumen berdasarkan Permenkes RI No. 43 Tahun 2013!
5) Jelaskan indikator mutu pasca-analitik!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi konten minimum pada pelaporan hasil pemeriksaan menurut SNI ISO 15189.
2) Pelajari kembali materi kesalahan yang umum ditemukan dalam menuliskan hasil pemeriksaan laboratorium.
3) Pelajari kembali materi penyerahan hasil pemeriksaan.
4) Pelajari kembali materi prinsip-prinsip pengarsipan dokumen berdasarkan Permenkes RI No. 43 Tahun 2013 tentang cara penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik.
5) Pelajari kembali materi mutu pasca-analitik.

Ringkasan

Hasil pemeriksaan laboratorium harus disampaikan kepada pasien dan dokter dalam bentuk laporan yang dapat disampaikan dengan baik. Format hasil pemeriksaan laboratorium perlu memuat data administrasi, informasi data pasien, hasil pengukuran, data konfirmasi, dan nilai rujukan. Format penulisan tersebit dapat merujuk SNI ISO 15189:2012 atau Permenkes RI No. 43 Tahun 2013.

Lembar hasil pemeriksaan harus disampaikan kepada orang yang tepat untuk menjaga data privasi pasien. Pengambilan hasil pemeriksaan laboratorium oleh pihak ketiga, harus melalui prosedur yang tetap menjaga privasi data pasien. Setiap penyerahan hasil pemeriksaan, perlu disiapkan buku catatan untuk pendokumentasian serah terima hasil pemeriksaan.

Selain hasil pemeriksaan diserahkan pada pasien atau dokter, hasil pemeriksaan juga harus dilakukan pengarsipan untuk acuan di kemudian hari dan bagian mutu laboratorium. Pengarsipan harus dipersiapkan secara efisian untuk menghemat uang dan ruang, meningkatkan produktivitas, berbagi informasi dengan cepat, melindungi privasi pasien, dan ramah lingkungan.

Pengendalian mutu pasca-analitik perlu diterapkan guna mengurangi kesalahan dan risiko hasil terhadap hasil pemeriksaan. Upaya minimum yang dapat dilakukan yaitu melalui penentuan *turnaround time* (TAT), dokumentasi kesalahan pelaporan, dan pelaporan nilai kritis.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang ditugaskan penanggung jawab laboratorium untuk membuat format laporan hasil pemeriksaan laboratorium yang baru. Format yang dibuat mengikuti konten minimum yang ditetapkan oleh kementrian kesehatan.
   Apa acuan format yang digunakan ATLM tersebut?
   A. ISO 17025.
   B. SNI ISO 15189.
   C. Perpres No. 8 Tahun 2012.
   D. Permenkes No. 43 Tahun 2012.
   E. Permenkes No. 46 Tahun 2013.

2) Suatu laboratorium beberapa bulan terakhir dilaporkan mengalami peningkatan kesalahan pada pasca-analitik. Laboratorium tersebut melakukan pelaporan hasil pemeriksaan secara manual dan tulis tangan. Sehingga ATLM mengusulkan untuk membuat pelaporan hasil dari alat yang langsung di intergrasikan pada komputer dan langsung tersaji sebagai bentuk laporan hasil pemeriksaan.
   Apa sistem yang diusulkan pada kasus tersebut?
   A. Server komputer.
   B. *Artificial intelligence*.
   C. Kartu sehat elektronik.
   D. Sistem informasi laboratorium.
   E. Sistem informasi manajemen rumah sakit.

3) Seorang ATLM menerima permintaan hasil pemeriksaan dikirim secara elektronik. Pasien tersebut meminta hasil pemeriksaan dikirim melalui alamat email. ATLM tersebut melakukan pengaturan dokumen hasil pemeriksaan elektronik untuk menghindari perubahan data hasil pemeriksaan laboratorium.
   Apa tindakan yang dilakukan ATLM tersebut?
   A. Menambahkan kata sandi.
   B. Mengirimkan dokumen hasil *scan*.
   C. Mengubah format dokumen ke pdf.
   D. Menggunakan format “hanya-baca”.
   E. Menjadikan pesan email terbaca satu kali.

4) Seorang pasien datang ke laboratorium meminta hasil pemeriksaan laboratorium. Akan tetapi dokumen yang diminta berupa hasil pemeriksaan pada tahun 2010. Laboratorium tersebut menggunakan manajemen pengarsipan dokumen berdasarkan Permenkes RI No. 43 Tahun 2013.

Apa tindakan yang harus ATLM lakukan pada pasien tersebut?

A. Meminta bukti pemeriksaan.
B. Melakukan pencentakan ulang dengan SIL.
C. Mengirimkan dokumen dalam bentuk elektronik.
D. Menolak permintaan pasien karena hasil sudah tidak disimpan.
E. Membatalkan permintaan karena sudah masuk arsip laboratorium

5) Seorang ATLM sedang melakukan pemantapan mutu pada pasca-analitik. Pemantauan dilakukan dengan mengukur waktu total yang dibutuhkan dari laboratorium menerima sampel hingga hasil pemeriksaan di serahkan.

Apa indikator yang sedang di ukur oleh ATLM tersebut?

A. Nilai kritis
B. Kesalahan hasil
C. Turnaround time
D. Presisi dan akurasi
E. Tidak puasan pelanggan

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 2
Verifikasi Hasil Pemeriksaan

Semua hasil pemeriksaan laboratorium yang dihasilkan pada tahap analitik harus dievaluasi untuk memastikan kebenaran hasil. Terdapat dua kegiatan evaluasi hasil pemeriksaan, yaitu validasi analitis hasil pemeriksaan dan verifikasi hasil pemeriksaan. Kegiatan validasi dan verifikasi terkadang tumpang tindih dan saling berkaitan, oleh karena itu kadang sulit dibedakan di dalam laboratorium.

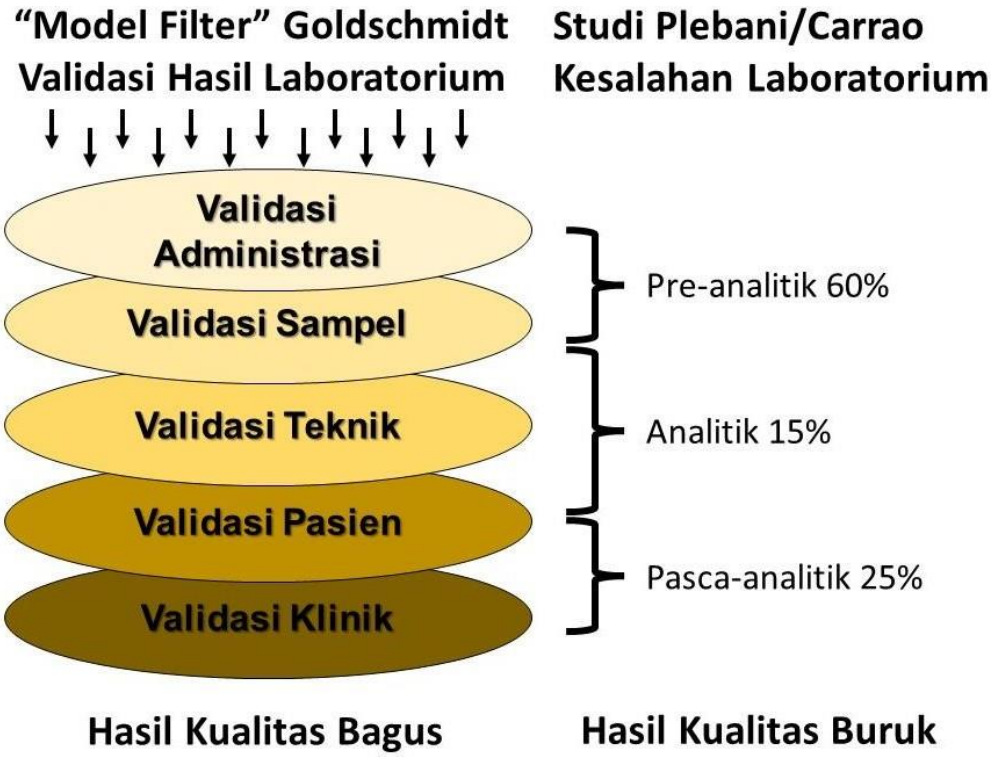
Kewenangan seorang ahli madya (D-III) teknologi laboratorium medik sebatas melakukan kegiatan verifikasi, sedangkan kegiatan validasi dilakukan oleh seorang sarjana terapan (D-IV) teknologi laboratorium medik. Kenyataan di lapangan, seorang ahli madya teknologi laboratorium medik tetap dapat melakukan validasi walau masih sebatas validasi dasar.

Evaluasi hasil pemeriksaan dimulai dengan membandingkan hasil pemeriksaan dengan nilai rujukan dan/atau hasil kritis, jika tersedia dibandingkan dengan diagnosis dan hasil tes sebelumnya. Setelah tahapan tersebut, hasilnya akan dikonfirmasi dan jika tidak sesuai maka dilanjutkan dengan prosedur tambahan.

A. KONSEP DASAR VERIFIKASI

Verifikasi analitis hasil pemeriksaan didefinisikan sebagai tindakan kaji ulang yang dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan yang mengacu pada baku mutu yang ditetapkan. Menurut kamus besar bahasa Indonesia (KBBI), verifikasi adalah pemeriksaan tentang kebenaran laporan, pernyataan, perhitungan uang, dan sebagainya. Sedangkan menurut *Oxford dictionary*, verifikasi adalah tindakan yang menunjukkan atau memeriksa sesuatu yang benar dan akurat.

Goldschmidt dkk. mengusulkan serangkaian filter (model filter) seperti pada gambar 6.2 untuk memvalidasi seluruh rangkaian pemeriksaan di laboratorium medik melalui 5 fase atau filter. Dengan demikian kegiatan pasca-analitik ini mampu mengevaluasi seluruh rangkaian kegiatan dari pre-analitik, analitik, dan pasca-analitik di laboratorium.



Gambar 6.2

Model filter Goldschmidt dalam memvalidasi hasil pemeriksaan laboratorium

1. Validasi administrasi yaitu validasi yang dimulai dari pemilihan dan pemesanan tes yang tepat, pengumpulan informasi yang tepat untuk memahami konteks pemeriksaan, serta validasi kondisi pasien yang tepat, persiapan yang tepat, dan lain-lain.
2. Validasi sampel berkaitan dengan memperoleh spesimen yang tepat pada waktu yang tepat pada pasien yang tepat, pemrosesan dan pengangkutan sampel yang tepat, dan penggunaan yang tepat dari sampel tersebut untuk pengukuran analitik.
3. Validasi teknis berkaitan dengan memperoleh jawaban yang tepat tentang kualitas pemeriksaan, memvalidasi presisi dan akurasi proses pemeriksaan, merancang prosedur *quality control* yang tepat, dan menerapkan prosedur pengukuran dan kontrol dengan benar.
4. Validasi pasien mensyaratkan bahwa hasil pemeriksaan yang benar dilaporkan dengan benar ke catatan pasien yang tepat dan mempertimbangkan apakah hasil pemeriksaan itu konsisten dengan informasi kondisi pasien, hasil pemeriksaan lain pasien, variasi yang diharapkan dari masing-masing pasien dan kelompok populasi, serta hubungannya dengan nilai kritis, dan konsistensi dengan populasi pasien.

5. Validasi klinis berkaitan dengan pasien yang menerima perawatan klinis (pengobatan) yang tepat berdasarkan hasil dan layanan uji laboratorium. Validasi klinis melampaui apa yang biasanya dianggap sebagai validasi hasil pemeriksaan.

Model filter Goldschmidt ini kemudian digunakan menjadi acuan verifikasi analitik hasil pemeriksaan. Terdapat dua kegiatan verifikasi yang dilakukan, yaitu verifikasi data pra-analitik dan verifikasi data analitik. Kedua kegiatan verifikasi tersebut di rinci pada tabel 6.1. Penggunaan standar mutu pada masing-masing laboratorium dapat berbeda, acuan yang digunakan dapat bersifat global seperti ISO, nasional seperti SNI, dan lokal seperti standar mutu yang ditetapkan oleh laboratorium itu sendiri.

Tabel 6.1

Rincian Kegiatan Verifikasi Pra-Analitik dan Analitik

Verifikasi Pra-analitik	Verifikasi Analitik
1. Kesesuaian kelengakapan permintaan pemeriksaan labratorium dengan standar mutu. 2. Pengecekan reagen dengan standar mutu. 3. Pengecekan suhu penyimpanan reagen dan suhu ruangan dengan standar mutu. 4. Pengecekan dokumen keterterimaan sampel pemeriksaan.	1. Pengecekan data hasil pemantapan mutu internal. 2. Pengecekan formulir pemeriksaan, fungsi alat/instrumen, dan pemeliharaan alat. 3. Pengecekan hasil pemeriksaan. 4. Pengecekan data hasil pemeriksaan SIL pada laboratorium yang sudah menggunakan sistem informasi.

B. MEMBANDINGKAN DENGAN NILAI RUJUKAN

Nilai rujukan merupakan bagian yang harus tertulis dalam laporan hasil pemeriksaan laboratorium, karena digunakan sebagai acuan interpretasi klinik dalam pengambilan keputusan diagnosis. Oleh karena itu, setiap laboratorium harus menentukan nilai interval referensi biologis yang akan digunakan sebagai nilai rujukan. Hasil pemeriksaan yang dipengaruhi oleh variasi biologis, harus dikelompokkan sesuai pengelompokan dari pengaruh variasi biologis tersebut. Misalnya pengelompokan nilai rujukan berdasarkan umur dan jenis kelamin.

Penggunaan nilai rujukan juga digunakan untuk evaluasi seluruh proses pemeriksaan laboratorium. Proses evaluasi dilakukan dengan membandingkan hasil pemeriksaan yang didapat dengan nilai rujukan, hasil pemeriksaan di luar batas nilai referensi akan menjadi perhatian khusus untuk dievaluasi kebenaran hasilnya.

C. MEMBANDINGKAN DENGAN NILAI SEBELUMNYA

Teknik lain yang dapat digunakan untuk mengevaluasi proses pemeriksaan dapat dilakukan dengan *delta ceck*. Penggunaan *delta ceck* ini dilakukan dengan cara membandingkan hasil pemeriksaan saat ini terhadap hasil pemeriksaan sebelumnya. Laboratorium yang menerapkan SIL, penggunaan *delta ceck* harus menjadi bagian yang terintegrasi.

Perbedaan hasil pemeriksaan *delta ceck* menunjukkan perubahan signifikan dalam kondisi klinis pasien, atau masalah dengan sampel. Permasalahan sampel mencerminkan kesalahan dalam prosedur laboratorium yang tidak teridentifikasi dalam prosedur kontrol kualitas sebelumnya, seperti ketidakcocokan sampel atau kesalahan identifikasi, kontaminasi sampel dengan cairan intravena (IV), perolehan atau penanganan sampel yang tidak tepat (volume sampel tidak mencukupi, sampel yang menggumpal), atau kualitas sampel yang buruk (hemolisis, lipemia, ikterus). Beberapa analit dapat bervariasi dalam satu hari karena variasi biologis harian, sehingga ATLM harus memahami karakteritstik variasi biologis pada masing-masing analit.

Penggunaan *delta ceck* adalah metode pasca-analitik yang memastikan bahwa kesalahan pemeriksaan di laboratorium tidak mengarah pada hasil yang salah. Dengan demikian laboratorium harus menetapkan metode untuk melakukan tindakan yang harus diambil ketika *delta ceck* melebihi hasil nilai target. Tindakan yang disarankan ketika nilai *delta ceck* melebihi nilai target adalah sebagai berikut.

1. Meninjau data klinis (diagnosis klinis, intervensi terapeutik),
2. Pengujian ulang sampel sampel, jika tersedia dengan sampel sebelumnya,
3. Memeriksa adanya hemolisis, lipemia, ikterus, bekuan atau kesalahan pelabelan tabung sampel,
4. Jika semua tindakan sudah dilakukan, tinjau ulang validitas analitik/instrumen yang digunakan melalui verifikasi data pemantapan mutu internal (PMI).

D. PROSEDUR TAMBAHAN

Prosedur tambahan diperlukan untuk menganalisis hasil yang tidak sesuai dengan nilai rujukan, nilai *delta ceck* melebihi nilai target atau tidak memenuhi kriteria laboratorium yang

ditetapkan. Prosedur yang paling umum dilakukan yaitu pengenceran sampel dan pemeriksaan ulang (duplo).

Pemeriksaan yang menggunakan alat otomatis umumnya diprogram dalam rentang pengukuran analitik untuk mendapatkan nilai yang valid, jika hasil pemeriksaan melebihi rentang yang ditentukan dapat memberikan hasil yang kurang valid. Dengan demikian sampel harus diencerkan agar masuk pada rentang pemeriksaan. Saat ini sudah banyak alat yang dapat melakukan pengenceran sendiri. Jika alat pengenceran otomatis tidak tersedia, maka ATLM harus melakukan pengenceran secara manual dan hasil yang didapat harus dikalikan dengan faktor pengenceran.

Tidak ada pedoman tentang pengenceran sampel maksimal yang dipublikasikan. Dengan demikian rekomendasi teknik pengenceran adalah melalui laboratorium yang menentukan dan menetapkan protokol pengenceran berdasarkan prosedur pengukuran dan kisaran hasil pemeriksaan. Jika hasil pemeriksaan didapat dengan pengenceran, maka ATLM harus melaporkannya pada catatan hasil pemeriksaan.

E. PEMERIKSAAN ULANG

Pemeriksaan ulang atau duplo umumnya dilakukan pada pemeriksaan hematologi otomatis ketika hasil pemeriksaan terdapat *flagging* dan hasil pemeriksaan di luar nilai rujukan. Pemeriksaan ulang dapat berdampak waktu tunggu pemeriksaan (*turn around time*) memanjang dan meningkatkan beban biaya laboratorium.

Laboratorium harus menetapkan aturan untuk pemeriksaan ulang. Pengambilan sampel baru daapt terjadi jika hasil pemeriksaan tidak sesuai dengan kondisi pasien atau dengan hasil sebelumnya. Demikian pula jika ATLM memiliki keraguan tentang hasil pemeriksaan. Disarankan setiap laboratorium menetapkan aturan untuk mengulang hasil tertentu.

F. NILAI KRITIS

Kondisi yang perlu mendapatkan perhatian khusus yaitu ketika ditemukan hasil pemeriksaan laboratorium pada nilai kritis, karena kondisi tersebut dapat berpengaruh terhadap perawatan pasien bahkan dapat mengancam jiwa sehingga perlu tindakan pelaporan hasil segera. Setiap laboratorium harus menyusun daftar nilai kritis pemeriksaan laboratorium.

Penentuan batas ini harus ditetapkan dengan berkonsultasi dengan dokter yang menggunakan layanan laboratorium. Laboratorium juga harus mengevaluasi nilai kritis yang telah ditetapkan dan harus memiliki prosedur khusus dalam pelaporan hasilnya. Laboratorium

juga dapat memisahkan batas nilai kritis berdasarkan jenis perawatan (rawat jalan atau rawat inap), kebutuhan dokter, pasien, tingkat layanan laboratorium, dan jenis perawatan. Batas nilai kritis hasil pemeriksaan hematologi dapat dilihat pada Tabel 6.2.

Tabel 6.2

Batas Nilai Kritis Hasil Pemeriksaan Hematologi

No	Parameter	Nilai	Catatan
1	Hematokrit	<18%	Suplai oksigen miokard tidak memadai.
		>61%	Hiperviskositas darah, resistensi tinggi dalam sirkulasi darah, risiko tinggi gagal jantung.
2	Hemoglobin	<6,6 g/dL	Suplai oksigen miokard tidak memadai.
		>19,9 g/dL	Hiperviskositas darah, resistensi tinggi dalam sirkulasi darah, risiko tinggi gagal jantung.
3	Jumlah leukosit	<2 x 10^3/µL	Risiko infeksi tinggi.
		>38 x 10^3/µL	Reaksi leukemia.
4	Jumlah trombosit	<20 x 10^3/µL	Risiko perdarahan.
		>1.000 x 10^3/µL	Risiko trombosis

Hasil kritis harus dilaporkan dalam waktu 30 menit setelah terkonfimasi, tidak perlu menunggu pengujian ulang (validasi pemeriksaan), karena akan menunda pelaporan hasil. Hanya ATLM yang berwenang yang dapat melaporkan hasil tersebut. Pelaporan hasil kritis dapat dilakukan secara lisan, dan pembacaan hasil harus diulang beberapa kali untuk menghindari kesalahan pendengaran. Selain itu, penyampaian hasil tersebut diikuti dengan laporan tertulis. Poin-poin penting dari pelaporan hasil kritis meliputi hal-hal berikut.

1. Nama dan keluarga pasien, nama departemen dan nomor identifikasi laboratorium,
2. Hasil kritis,
3. Nama orang yang melaporkan hasil kritis,
4. Waktu pelaporan,
5. Nama penerima pemberitahuan hasil nilai kritis.

Personil yang menerima laporan hasil pemeriksaan kritis yaitu dokter yang memeriksa atau tenaga medis lainnya yang berwenang (perawat atau bidan) ketika tidak ada dokter atau dokter sulit dihubungi. Sangat jarang bahkan tidak mungkin, hasil pemeriksaan nilai kritis ini dilaporkan ke pasien atau keluarga karena kasus kejadian terbanyak terjadi di luar pelayanan rawat jalan.

Latihan

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

1) Jelaskan definisi verifikasi analitis hasil pemeriksaan!
2) Sebutkan 5 fase atau filter pemeriksaan di laboratorium medik menurut Goldschmidt!
3) Sebutkan saran ketika nilai *delta ceck* melebihi nilai target!
4) Sebutkan batas nilai kritis hasil pemeriksaan hematokrit, hemoglobin, jumlah leukosit dan jumlah trombosit!
5) Sebutkan poin-poin penting dari pelaporan hasil kritis!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali definisi dan pengertian verifikasi analitis hasil pemeriksaan.
2) Pelajari kembali materi Model filter Goldschmidt dalam memvalidasi hasil pemeriksaan laboratorium.
3) Pelajari kembali materi membandingkan dengan Nilai Sebelumnya.
4) Pelajari kembali materi nilai kritis.
5) Pelajari kembali materi nilai kritis.

Ringkasan

Hasil pemeriksaan laboratorium harus dievaluasi dengan tujuan memastikan kebenaran hasil. Seorang ahli madya (D-III) Teknologi Laboratorium Medik memiliki kewenangan untuk melakukan verifikasi hasil pemeriksaan. Verifikasi adalah tindakan kaji ulang yang dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan yang mengacu pada baku mutu yang ditetapkan. Kegiatan verifikasi meliputi verifikasi data pra-analitik dan verifikasi data analitik.

Nilai rujukan dan *delta ceck* dapat digunakan untuk mengevaluasi seluruh proses pemeriksaan laboratorium. Penggunaan nilai rujukan menjadi acuan jika hasil pemeriksaan di luar nilai referensi, karena perlu mendapatkan perhatian khusus. Penggunaan *delta ceck* ini

dilakukan dengan cara membandingkan hasil pemeriksaan saat ini terhadap hasil pemeriksaan sebelumnya. Perbedaan hasil pemeriksaan *delta ceck* menunjukkan perubahan signifikan dalam kondisi klinis pasien, atau masalah dengan sampel.

Prosedur tambahan dilakukan untuk menganalisis ketidaksesuaian hasil setelah dilakukan evaluasi terhadap nilai rujukan dan *delta ceck*. Penggunaan prosedur tambahan ini digunakan untuk mengevaluasi validitas pemeriksaan sebelumnya. Prosedur yang umum dilakukan yaitu pengenceran sampel dan duplo.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang melakukan evaluasi hasil pemeriksaan. Kegiatan yang dilakukan berupa kaji ulang dalam upaya pencegahan terjadinya kesalahan dengan mengacu baku mutu yang ditetapkan. ATLM tersebut memiliki kualifikasi pendidikan D-III.
   Apa nama kegiatan yang sedang dilakukan ATLM tersebut?
   A. Validasi
   B. Verifikasi
   C. Akreditasi
   D. Quality assurance
   E. Quality management system

2) Seorang ATLM sedang ditugaskan untuk melakukan verifikasi. Pengecekan dilakukan dengan data hasil pemantapan mutu internal, formulir pemeriksaan, alat pemeriksaan, pemeliharaan alat, dan hasil pemeriksaan.
   Pada tahapan apa kegiatan tersebut dilakukan?
   A. Analitik
   B. Pre-analitik
   C. Pasca-analitik
   D. Verifikassi klinik
   E. Verifikasi pasien

3) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hemoglobin, hasil pemeriksaan didapat 12,6 g/dL. ATLM tersebut kemudian mengevaluasi dengan hasil pemeriksaan sebelumnya yaitu 11,9 g/dL. Spesimen berasal dari pasien perempuan 23 tahun yang dirawat inap.
   Apa tindakan verifikasi yang sedang dilakukan ATLM tersebut?

A. Duplo
B. Delta ceck
C. Prosedur tambahan
D. Pengenceran sampel
E. Membandingkan dengan nilai rujukan

4) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit menggunakan *hematology analyzer*, hasil pemeriksaan didapat 110 x 103 /µL. Setelah dilakukan pengecekan pada alat, terdapat pemberitahuan bahwa hasil melebihi batas linier.
Apa tindakan yang harus ATLM lakukan?
A. Memeriksa ulang
B. Mengeluarkan hasil
C. Merujuk pemeriksaan
D. Mengambil darah ulang
E. Melakukan pengenceran

5) Seorang ATLM melakukan pemeriksaan jumlah trombosit, didapat hasil pemeriksaan 16 x 103 /µL. Spesimen berasal dari pasien laki-laki 7 tahun dengan diagnosa demam berdarah.
Berapa lama hasil pemeriksaan boleh dilaporkan?
A. 30 menit
B. 60 menit
C. 120 menit
D. 140 menit
E. 180 menit

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	=	baik sekali
	80	-	89%	=	baik
	70	-	79%	=	cukup
		<	70%	=	kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Bab 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 3
Penyimpanan Spesimen

Setelah melakukan pemeriksaan, sampel harus segera disimpan pada tempat yang sesuai untuk menghindari rusaknya analit. Penyimpanan tersebut bertujuan untuk memastikan ketersediaan spesimen untuk pemeriksaan ulang (ketertelusuran) atau mengakomodir pemeriksaan tambahan. Dengan demikian ATLM harus terlatih baik tentang penyimpanan dan pengujian yang dapat di ulang.

Laboratorium harus memiliki prosedur dalam mengidentifikasi, mengumpulkan, menandai, mengakses, menyimpan, dan membuang sampel dengan aman. Laboratorium juga harus menentukan jangka waktu penyimpanan untuk spesimen tersebut.

A. KONDISI DAN DURASI PENYIMPANAN

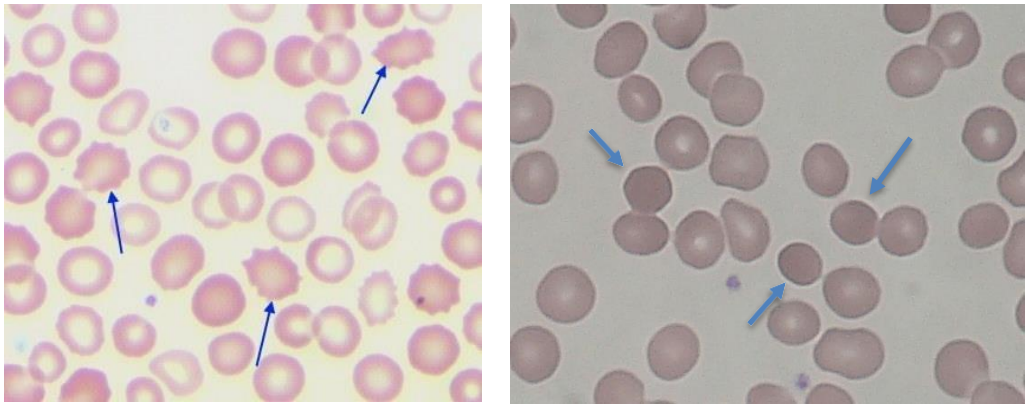
Kondisi dan durasi penyimpanan optimal dapat berbeda tergantung dari jenis sampel dan analit yang diperiksa. Umumnya pada suhu ruang, darah EDTA (*whole blood*) stabil hingga 24 jam untuk pemeriksaan hematologi rutin, kecuali pemeriksaan hitung jenis leukosit. Stabilitas pemeriksaan LED sabil dalam 12 jam dan pemeriksaan retikulosit sabil hingga 6 jam. Penyimpanan spesimen pada suhu 2°C sampai dengan 8°C pada pemeriksaan hematologi rutin dapat stabil hingga 72 jam, kecuali hitung jenis leukosit hingga 8 jam.

Untuk pemeriksaan hematologi rutin sebaiknya harus segera dilakukan pemeriksaan ketika sampel darah sudah didapat. Jika pemeriksaan terpaksa ditunda maka waktu yang paling baik yaitu sebelum lewat 4 jam pada suhu ruangan, dan pemeriksaan hitung jenis leukosit sebelum lewat 1 jam dari saat sampel didapat. Jika pemeriksaan akan tertunda lebih lama, simpan pada suhu 2°C sampai dengan 8°C dan hindari kontak langsung dengan pendingin atau es jika penyimpanan dilakukan pada kotak pendingin. Darah EDTA jangan didinginkan di bawah -2°C, karena akan melisiskan sel darah.

Suhu pada penyimpanan sampel harus dikontrol dengan cara yang sama untuk lemari es yang membawa sampel yang sudah dianalisis dan untuk lemari es yang menyimpan sampel sebelum pengujian, reagen, standar kalibrasi, dan sampel kontrol. Kontrol suhu harus dipantau secara teratur baik otomatis/elektronik atau manual dengan memeriksa termometer secara langsung. Hasil pengontrolan suhu harus tercatat dan terdokumentasi dengan baik sebagai bentuk penjaminan kualitas dalam pengontrolan suhu.

B. STABILITAS MORFOLOGI SEL

Stabilitas pemeriksaan dapat berubah karena sel darah mengalami perubahan morfologi, yang akan mempengaruhi hasil pemeriksaan hematologi. Eritrosit mengalami perubahan morfologi 6 jam setelah pengambilan darah pada suhu ruang, dengan bentuk morfologi yang dominan yaitu sel krenasi dan sferis (Gambar 6.3). Perubahan morfologi tersebut akan mempengaruhi penurunan pada pemeriksaan hematokrit, MCV dan RDW.

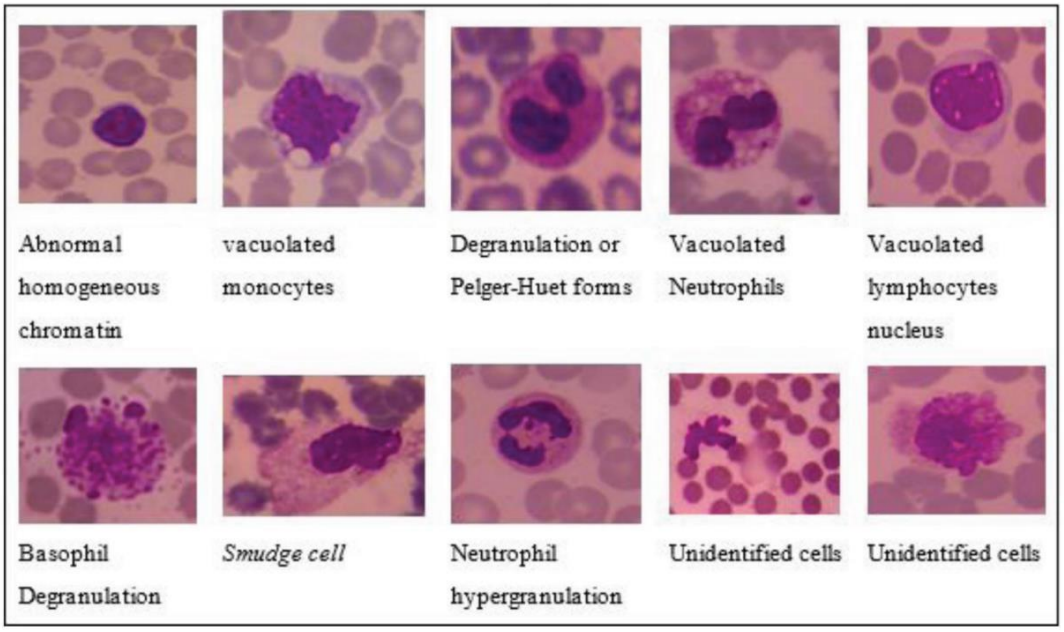


A B

Gambar 6.3
Gambaran morfologi eritrosit pada penundaan sampel.
(A) Sel krenasi. (B) Sel sferis

Perubahan morfologi pada leukosit terjadi 1 jam setelah pengambilan darah pada suhu ruang. Neutrofil mengalami perubahan kromatin, hilangnya struktur lobus, pembentukan vakuola, dan hilangnya granula. Sedangkan monosit dan limfosit mengalami pembentukan vakuola serta lobulasi nukleus yang tidak teratur (Gambar 6.4).

Perubahan morfologi tersebut dapat menyulitkan ATLM dalam menginterpretasikan jenis leukosit pada pemeriksaan manual menggunakan hapusan darah. Sedangkan pada penggunaan alat otomatis dapat mempengaruhi kekeliruan pembacaan hasil pemeriksaan, dengan akibat dapat diinterpretasikan sebagai sel leukosit jenis lain, sel abnormal, bahkan dapat tidak terbaca sama sekali.



Gambar 6.4
Gambaran Morfologi Leukosit pada Penundaan Sampel

Perubahan morfologi pada trombosit terjadi 6 jam setelah pengambilan darah pada suhu ruang dan mencolok setelah 24 jam. Penundaan dapat mengubah platelet menjadi sferis dan pembengkakan sehingga teridentifikasi sebagai *giant platelet*. Secara teori, platelet yang membengkak akan pecah dan menimbulkan fragmen yang dapat mengakibatkan hitung jumlah trombosit meningkat palsu.

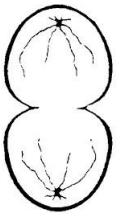
C. PEMBUANGAN SAMPEL

Sampel yang sudah melewati batas penyimpanan harus segera di buang dengan aman berdasarkan peraturan yang berlaku dari pemerintah maupun laboratorium tempat pemeriksaan. Spesimen darah dapat menimbulkan bahaya bagi orang yang menangani limbah, karena spesimen dapat mengandung patogen yang dapat menularkan penyakit. Dengan demikian spesimen darah dimasukkan sebagai limbah *biohazard*.

Sampel darah tidak boleh langsung dibuang ke dalam tempat sampah, pastikan terlebih dahulu tempat sampang sudah diberikan pelapis plastik. Plastik yang digunakan untuk membungkus pembuangan sampel darah harus berwarna kuning, penggunaan warna pembungkus ini memiliki makna tergantung dari jenis limbah yang ditampung (Tabel 6.3). Oleh karena itu, tempat sampah yang digunakan pun harus menyesuaikan agar mempermudah ATLM dalam mengidentifikasi jenis tempat pembuangan dan tambahkan label.

Tabel 6.3

Jenis Wadah dan Label Limbah Medis

No	Kategori	Warna Kantong Plastik	Lambang	Keterangan
1	Radioaktif	Merah		Kantong boks timbal dengan simbol radioaktif
2	Sangat Infeksius	Kuning		Kantong plastik kuat, anti bocor, atau kontainer yang dapat disterilisasi dengan otoklaf
3	Limbah infeksius, patologi dan anatomi	Kuning		Kantong plastik kuat dan anti bocor, atau kontainer
4	Sitotoksis	Ungu		Kontainer plastik kuat dan anti bocor
5	Limbah kimia dan farmasi	Coklat	-	Kantong plastik atau kontainer

Limbah spesimen darah tersebut tidak boleh dibiarkan dalam tempat sampah lebih dari 1 x 24 jam. Selain itu jika tempat sampah sudah terisi penuh hingga 2/3 bagian kantong, maka limbah harus segera dibuang. Oleh karena itu tempat sampah harus memiliki volume dan jumlah yang memadai. Tempat sampah juga harus dilakukan pembersihan secara berkala menggunakan air dan disinfektan. Tempat sampah yang rusak, harus diganti dengan tempat sampah yang baru dengan tetap memperhatikan ketentuan syarat tempat sampah limbah *biohazard*.

Spesimen darah yang dibuang melalui westafel, sebaiknya harus didisinfeksi terlebih dahulu dengan menggunakan disinfektan sebelum dibuang. Begitu pula dengan peralatan yang digunakan dalam pengolahan atau pemeriksaan yang kontak dengan darah, sebelum dilakukan pencucian maka harus dilakukan disinfeksi terlebih dahulu dan setelah itu darah dapat dibersihkan dari peralatan.

Latihan

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

1) Sebutkan stabilitas pemeriksaan hematologi pada suhu ruang dan suhu 2-8°C!
2) Sebutkan perubahan morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit pada spesimen darah yang di tunda!
3) Sebutkan lama stabilitas morfologi leukosit pada suhu ruang!
4) Jelaskan proses pembuangan spesimen darah!
5) Jelaskan syarat pembuangan spesimen darah pada tempat sampah!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi kondisi dan durasi penyimpanan.
2) Pelajari kembali materi stabilitas pemeriksaan.
3) Pelajari kembali materi stabilitas pemeriksaan.
4) Pelajari kembali materi pembuangan sampel.
5) Pelajari kembali materi pembuangan sampel.

Ringkasan

Penyimpanan yang tepat dapat menghindari kerusakan analit, sehingga spesimen dapat digunakan kembali untuk ketertelusuran atau pemeriksaan tambahan. Darah EDTA dalam suhu ruang masih stabil 24 jam untuk pemeriksaan hematologi rutin, 12 jam untuk pemeriksaan LED, 6 jam untuk retikulosit dan 1 jam untuk hitung jenis leukosit. Penyimpanan spesimen pada suhu 2 - 8°C pada pemeriksaan hematologi rutin bisa stabil hingga 72 jam, kecuali hitung jenis leukosit hingga 8 jam.

Perubahan hasil pemeriksaan tersebut dapat disebabkan perubahan morfolologi, yaitu eritrosit mengalami perubahan 6 jam pada suhu ruang dengan kecenderungan menjadi sferis atau sel krenasi. Perubahan morfologi leukosit terjadi setelah 1 jam pada suhu ruang. Neutrofil mengalami perubahan kromatin, hilangnya struktur lobus, pembentukan vakuola dan hilangnya granula. Monosit dan limfosit mengalami pembentukan vakuola dan lobulasi nukleus yang tidak teratur. Trombosit terjadi 6 jam pada suhu ruang dan mencolok setelah 24 jam dengan kecenderungan sferis dan *giant platelet*.

Spesimen yang melebihi batas penyimpanan harus di buang pada tempat sampah dengan pembungkus plastik berwarna kuning dan berlogo *biohazard*. Sampah tidak boleh dibiarkan lebih dari 1 x 24 jam atau ketika tempat sampah penuh hingga 2/3 bagian. Spesimen darah yang dibuang harus didisinfeksi terlebih dahulu.

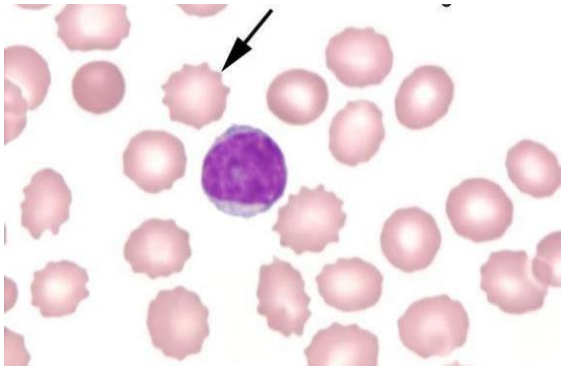
Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang bertugas melakukan pemeriksaan hematologi di Puskesmas. Karena banyaknya pasien, beberapa pemeriksaan hematologi terpaksa ditunda. Pemeriksaan baru dapat dilakukan setelah 90 menit dari pengambilan darah. Selama penundaan spesimen disimpan pada suhu ruang.
   Parameter pemeriksaan apa yang tidak stabil pada kasus tersebut?
   A. LED
   B. Hematologi rutin
   C. Hitung retikulosit
   D. Hitung jenis leukosit
   E. Hitung jumlah trombosit

2) Seorang ATLM baru saja menyelesaikan pemeriksaan hematologi. Sisa spesimen disimpan pada refrigerator dengan tujuan untuk menstabilkan parameter pemeriksaan hematologi.
   Berapa suhu yang dapat digunakan pada kasus tersebut?
   A. 25°C
   B. 4°C
   C. -2°C
   D. -20°C
   E. -80°C

3) Seorang ATLM sedang melakukan pengamatan terhadap morfologi eritrosit. Spesimen berupa darah EDTA yang telah disimpan pada suhu ruang selama 2 hari. Spesimen dibuat dari hapusan darah dan di warnai dengan Giemsa. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran objektif 100 kali. Sel yang diamati diberi petunjuk panah.



Apa nama sel tersebut?

A. Sel sferis
B. Sel target
C. Sel krenasi
D. Sel fragmen
E. Sel akantosit

4) Seorang ATLM sedang melakukan pengamatan leukosit pada apusan darah. Spesimen berasal dari darah EDTA yang sudah di simpan selama 6 jam pada suhu ruang. Ditemukan adanya perubahan sel pada neutrofil.

Bagaimana gambaran perubahan pada kasus tersebut?

A. Hilangnya integritas sel dan nukleus.
B. Pembentukan hipersegmentasi nukelus.
C. Perubahan sitoplasma yang mengalami demarkasi.
D. Pembentukan vakuola dan lobulasi nukleus yang tidak teratur.
E. Hilangnya struktur lobus dan granula, serta pembentukan vakuola.

5) Seorang ATLM ditugaskan untuk merapikan spesimen darah pada refrigerator. Satu rak spesimen telah melebihi batas penyimpanan, sehingga ATLM harus membuang spesimen tersebut pada tempat sampah yang sesuai standar.

Apa warna tempat sampah tersebut?

A. Hijau
B. Ungu
C. Coklat
D. Kuning
E. Merah

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 3 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 3.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan ke Topik 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

Topik 4
Penanganan Limbah

Pada Topik 3 telah dijelaskan tentang pembuangan limbah sampel darah, akan tetapi kegiatan pemeriksaan hematologi di laboratorium tidak hanyanya menghasilkan limbah tersebut. Limbah lain yang dapat dihasilkan yaitu limbah kimia, limbah biologis, dan limbah benda tajam. Oleh karena itu, pengelolaan dan pembuangan limbah harus menjadi perhatian dan tanggung jawab ATLM karena dapat menimbulkan bahaya.

Topik ini membahas secara rinci tentang strategi mengelola limbah dengan tujuan untuk memaksimalkan keselamatan dan meminimalkan dampak lingkungan. Tanggung jawab ini harus dimiliki oleh seorang ATLM, oleh karena itu ATLM harus mengetahui sifat kimia dan fisika dari bahan yang telah digunakan.

Terdapat empat tingkatan pengelolaan limbah untuk mengurangi dampak lingkungan: pencegahan polusi dan pengurangan sumber; penggunaan kembali atau pendistribusian kembali bahan surplus yang tidak diinginkan; pengolahan, reklamasi, dan daur ulang bahan di dalam sampah; dan pembuangan melalui pembakaran, pengolahan, atau penguburan dalam tanah.

A. LIMBAH BAHAN KIMIA

Penanganan limbah kimia dapat dilakukan dengan mengurangi tingkat bahaya dari limbah tersebut. Upaya pengurangan bahaya dari bahan kimia tersebut dapat dilakukan dengan mengurangi volume atau karakteristik bahaya dari bahan kimia dengan melakukan reaksi. Prosedur ini sangat cocok untuk penanganan limbah bahan kimia yang sulit dibuang.

Karena pengelolaan dan pembuangan limbah laboratorium yang tepat memerlukan informasi tentang sifat dari zat kimia tersebut, sangat penting seorang ATLM secara akurat dan lengkap mengidentifikasi dan memberi label dengan jelas pada semua wadah bahan kimia dan limbah di laboratorium, serta menjaga label agar tetap utuh dan tidak rusak. Simbol bahan kimia dapat dilihat pada Tabel 6.4.

Tabel 6.4

Simbol Bahan Kimia

No	Nama	Lambang	Simbol	Arti
1	Iritan	Xi		Bahan yang dapat menyebabkan iritasi, gatal-gatal dan dapat menyebabkan luka bakar pada kulit.
2	Beracun	T		Bahan yang bersifat sangat beracun dan lebih sangat berbahaya bagi kesehatan yang juga dapat menyebabkan sakit kronis bahkan kematian.
3	Korosif	C		Bahan yang bersifat korosif, dapat merusak jaringan hidup, dapat menyebabkan iritasi pada kulit, gatal-gatal dan dapat membuat kulit mengelupas.
4	Mudah terbakar	F		Bahan kimia yang mempunyai titik nyala rendah, mudah terbakar dengan api bunsen, permukaan metal panas atau loncatan bunga api.
5	Mudah meledak	E		Bahan kimia yang mudah meledak dengan adanya panas atau percikan bunga api, gesekan atau benturan.
6	Pengoksidasi	O		Bahan kimia bersifat pengoksidasi, dapat menyebabkan kebakaran dengan menghasilkan panas saat kontak dengan bahan organik dan bahan pereduksi.
7	Berbahaya bagi lingkungan	N		Bahan kimia yang berbahaya bagi satu atau beberapa komponen lingkungan. Dapat menyebabkan kerusakan ekosistem.

Limbah juga dapat di dikelompokkan sesuai karakteristiknya sesuai sifat kimia limbah. Limbah mudah terbakar yaitu limbah yang memiliki bahaya mudah terbakar dengan salah satu atau lebih karakteristik berikut:

1. cairan yang memiliki titik nyala kurang dari 60°C (140°F) atau karakteristik lain yang berpotensi menyebabkan kebakaran;
2. bahan selain cairan yang mampu, di bawah suhu dan tekanan standar, menyebabkan kebakaran dengan gesekan, penyerapan uap air, atau perubahan kimia spontan dan, ketika dinyalakan, terbakar dengan kuat dan terus-menerus sehingga menimbulkan bahaya;
3. gas terkompresi yang mudah terbakar, termasuk yang membentuk campuran yang mudah terbakar; dan
4. oksidator yang merangsang pembakaran bahan organik.

Limbah korosif yang umumnya limbah berbentuk cair dan memiliki pH kurang dari 2 atau lebih dari 12,5. Asam dan basa laboratorium adalah zat kimia yang paling umum bersifat korosif. ATLM harus menyadari bahwa bahan tersebut sangat berbahaya bagi kulit dan mata dan harus ditangani dengan tepat. Limbah reaktif yaitu limbah yang mencakup zat yang tidak stabil, bereaksi hebat dengan air, meledak jika terkena sumber pemicu, atau menghasilkan gas beracun. Limbah toksik ditentukan berdasarkan uji prosedur toksisitas limbah. Proses penentuan toksisitas tersebut biasanya ditentukan oleh laboratorium lingkungan.

Pembuangan limbah zat kimia melalui westafel menjadi pilihan yang sering dilakukan. Bahan kimia yang diperbolehkan untuk dibuang ke saluran pembuangan merupakan zat kimia yang harus mudah terurai dan larutan yang memiliki toksisitas sangat rendah. Keputusan pembuangan zat tersebut harus memperhatikan peraturan pemerintah setempat.

Pembuangan zat kimia melalui penguapan dapat dilakukan tetapi tidak dapat diterima, karena pelepasan zat kimia ke atmosfer dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu, saluran atau cerobong pembuangan harus di lengkapi filter untuk menangkap zat kimia berbahaya, sehingga senyawa yang dilepaskan ke udara sudah dalam kondisi aman.

Pembakaran (insinerasi) menjadi metode pemusnahan yang umum digunakan. Insinerasi dilakukan pada suhu tinggi, biasanya 1.200 hingga 1.400°F. Sehingga limbah akan hancur secara total dan mengalami penyusutan volume. Beberapa bahan seperti merkuri atau kadmium tidak boleh insinerasi karena berisiko mencemari udara dengan uap beracun.

Peraturan menteri kesehatan Republik Indonesia nomor 7 tahun 2019 tentang kesehatan lingkungan rumah sakit dan limbah zat kimia yang tidak dapat diolah secara mandiri. Dengan demikian limbah harus diserahkan kepada perusahaan pengelola limbah. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengolahan limbah zat kimia yaitu sebagai berikut.

1. Limbah kimia cair harus ditampung dalam kontainer yang kuat dari sifat limbah.
2. Bahan kimia toksik jangan dibuang melalui jaringan pipa karena dapat mengganggu proses biologi dalam pengolahan air limbah.
3. Limbah bahan pelarut dalam volume banyak terutama yang mengandung klorin atau florin, jangan diolah menggunakan insenerator, kecuali isenerator dilengkapi dengan alat pembersih gas.
4. Mengembalikan bahan kimia tersebit ke distributornya.
5. Limbah kimia yang memiliki komposisi berbeda, maka harus dipisahkan untuk menghindari terjadinya reaksi kimia yang tidak diinginkan.
6. Limbah kimia dalam jumlah besar tidak boleh ditimbun di atas tanah, karena dapat mencemari air tanah.
7. Limbah kimia disinfektan dalam jumlah besar ditempatkan dalam kontainer yang kuat karena sifat yang korosif dan mudah terbakar.

B. LIMBAH BIOLOGIS

Limbah biologis pada pemeriksaan laboratorium hematologi didominasi oleh spesimen darah atau olahannya seperti serum atau plasma. Potensi bahaya dari limbah biologis yaitu patogen menular seperti *human immunodeficiency virus* (HIV), *hepatitis B virus* (HBV), dan patogen lainnya. Dekontaminasi limbah adalah metode pengolahan untuk mengendalikan atau menghilangkan bahaya pada limbah sebelum limbah dibuang.

Limbah biologis yang tercampur zat kimia berbahaya, misalnya bersumber dari reagen pemeriksaan, maka perlu adanya prosedur khusus yang melibatkan prosedur netralisasi zat kimia berbahaya dan menghilangkan karakteristik *biohazard*. Autoklaf dan dekontaminasi kimia adalah metode yang cukup baik untuk limbah *biohazard*. Tidak tepat melakukan proses autoklaf terhadap limbah yang mengandung bahan kimia mudah menguap, karena dapat menyebabkan pelepasan bahan kimia ke lingkungan.

Peraturan menteri kesehatan Republik Indonesia nomor 7 tahun 2019 tentang kesehatan lingkungan rumah sakit, untuk pengolahan limbah infeksius dapat dilakukan dengan cara berikut.

1. Limbah agen infeksius seperti biakan dan persediaan agen infeksius dari laboratorium harus disterilisasi dengan pengolahan panas dan basah sebelum dilakukan pengolahan.
2. Limbah infeksius dapat diolah dengan insenerator.
3. Abu yang dihasilkan dari pengolahan limbah menggunakan insenerator harus diperlakukan sebagai limbah B3, dan dapat dibuang setelah melalui proses solidifikasi.

C. LIMBAH BENDA TAJAM

Limbah benda tajam pada pemeriksaan laboratorium hematologi di dominasi oleh jarum suntik. Peralatan tersebut umumnya digunakan untuk pengambilan darah, sehingga pengolahan limbah harus memenuhi standar untuk menghindari paparan patogen yang ditularkan melalui darah. Secara umum, limbah benda tajam dapat diinsinerasi dengan limbah biologis.

Limbah jarum suntik harus dimasukkan ke dalam wadah pengumpulan limbah yang tahan tusukan dan tahan air (Gambar 6.5). Pemusnahan benda tajam dilakukan dengan insinerasi atau penggilingan, jarum yang terkontaminasi zat kimia dalam jumlah rendah tetap dapat dilakukan insinerasi. Jarum dan benda tajam lainnya yang terkontaminasi dengan bahan kimia beracun dan agen infeksi atau darah dapat diautoklaf atau didesinfeksi di tempat (lihat tindakan pencegahan yang telah diuraikan sebelumnya), dan kemudian dikelola sebagai limbah kimia. Simbol dan tanda *biohazard* wadah limbah harus dihilangkan setelah autoklaf atau disinfeksi untuk menunjukkan bahwa limbah telah disterilkan.

(A) **(B)**

Sumber: Pongnas dan Onemed

Gambar 6.2
Wadah pembuangan jarum.
(A) Bahan plastik. (B) Bahan kardus

Pengolahan limbah benda tajam menurut peraturan menteri kesehatan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2019 tentang kesehatan lingkungan rumah sakit sama dengan pengolahan limbah infeksius. Pengolahan limbah benda tajam disarankan untuk dimusnahkan dengan insenerator.

Latihan

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

1) Sebutkan empat tingkatan pengelolaan limbah untuk mengurangi dampak lingkungan!
2) Sebutkan dan jelaskan simbol bahan kimia!
3) Sebutkan beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengolahan limbah zat kimia!
4) Jelaskan pengolahan limbah infeksius!
5) Jelaskan pengolahan limbah jarum suntik!

Petunjuk Jawaban Latihan

1) Pelajari kembali materi pendahuluan pada bab ini.
2) Pelajari kembali materi limbah bahan kimia.
3) Pelajari kembali materi beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengolahan limbah zat kimia.
4) Pelajari kembali materi pengolahan limbah infeksius.
5) Pelajari kembali materi limbah benda tajam.

Ringkasan

Seorang ATLM harus memiliki rasa tanggung jawab dalam pengelolaan dan pembuangan limbah di laboratorium, karena limbah yang dihasilkan dapat menimbulkan bahaya. Tingkatan pengelolaan limbah dibagi menjadi empat, yaitu: pencegahan polusi dan pengurangan sumber; penggunaan kembali atau pendistribusian kembali bahan surplus yang tidak diinginkan; pengolahan, reklamasi, dan daur ulang bahan di dalam sampah; dan pembuangan melalui pembakaran, pengolahan, atau penguburan tanah.

Limbah bahan kimia ditangani melalui pengurangan bahaya dari limbah. Oleh karena itu pemahaman sifat zat kimia harus dikuasai oleh ATLM. Pembuangan limbah zat kimia harus disesuaikan dengan sifat kimia dan dapat dilakukan melalui saluran air, penguapan, dan insinerasi.

Limbah biologis memiliki sumber bahaya berupa patogen menular. Penanganan limbah dilakukan dengan dekontaminasi untuk mengeliminasi bahaya patogen. Limbah biologi yang tercemar kimia, harus dilakukan penanganan netralisasi zat kimia dan dekontaminasi patogen.

Limbah benda tajam dapat dimusnahkan melalui insinerasi. Sebelum pembakaran limbah harus disimpan pada wadah yang tahan tusukan dan air. Benda tajam yang terkontaminasi zat kima berbahaya dan agen infeksi, maka perlu dilakukan disinfeksi dan limbah diberlakukan sebagai limbah kimia.

Pengolahan limbah pada ketiga jenis tersebut diatur juga dalam peraturan menteri kesehatan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2019 tentang kesehatan lingkungan rumah sakit.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ATLM sedang bertugas menangani limbah di laboratorium. Saat melakukan pengecekan pada wadah limbah, terdapat simbol seperti gambar berikut.

Apa nama simbol tersebut?

A. Iritan
B. Korosif
C. Beracun
D. Mudah terbakar
E. Mudah meledak

2) Seorang ATLM sedang mengelompokkan dan mengidentifikasi limbah. Limbah yang diidentifikasi memiliki ciri titik nyala kurang dari 60°C.

Apa jenis limbah tersebut?

A. Limbah korosif.
B. Limbah biologis.
C. Limbah zat kima.
D. Limbah radioaktif.
E. Limbah mudah terbakar.

3) Seorang ATLM sedang melakukan pembuangan limbah. Sebelum dibuang, limbah didisinfeksi menggunakan disinfektan. Setelah itu limbah dibuang pada tempat sampah. Apa jenis limbah tersebut?

A. Limbah korosif.
B. Limbah biologis.
C. Limbah zat kima.
D. Limbah radioaktif.
E. Limbah mudah terbakar.

4) Seorang ATLM melakukan penanganan limbah. Limbah berupa jarum suntik yang digunakan untuk pengambilan darah. Sebelum dibuang, jarum sudah disemprot menggunakan disinfektan.
Bagaimana pengolahan limbah yang tepat pada kasus tersebut?

A. Diautoklaf.
B. Dilakukan insinerasi.
C. Ditimbun dalam tanah.
D. Direndam pada larutan disinfektan.
E. Dibuang pada tempat pembuangan.

5) ATLM diminta menyusun SOP dalam pengolahan limbah di laboratorium. Penyusunan dilakukan berdasarkan regulasi yang berlaku di Indonesia.
Apa peraturan yang mengatur tersebut?

A. Permenkes RI No. 7 Tahun 2019.
B. Permenkes RI No. 37 Tahun 2012.
C. Permenkes RI No. 43 Tahun 2013.
D. Permenkes RI No. 27 Tahun 2013.
E. Permenkes RI No.411 Tahun 2010.

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 4 yang terdapat di bagian akhir bab ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Topik 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:	90	-	100%	= baik sekali
	80	-	89%	= baik
	70	-	79%	= cukup
		<	70%	= kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat mengikuti Ujian Akhir Semester (UAS). **Selamat!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi pada Topik 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes

Tes 1

1) D
2) D
3) D
4) D
5) C

Tes 2

1) B
2) A
3) B
4) E
5) A

Tes 3

1) D
2) B
3) C
4) E
5) D

Tes 4

1) A
2) E
3) B
4) B
5) A

Glosarium

Istilah	Keterangan
Delta Ceck	Pembandingan hasil pemeriksaan yang didapat dengan hasil sebelumnya secara statistik.
Hasil Kritis	Hasil pemeriksaan yang mengancam jiwa/nyawa.
Interval Acuan Biologis	Nilai yang digunakan untuk pengambilan keputusan klinis.
Pasca-analitik	Proses laboratorium yang dilakukan setelah pemeriksaan/analisis.
Sistem Informasi Laboratorium	Manajemen laboratorium yang dilakukan secara komputerisasi.
Sistem Informasi Manajemen Rumah Sakit	Manajemen rumah sakit yang dilakukan secara komputerisasi.
SNI ISO	Standar Manajemen Mutu.
Toksik	Bahan kimia beracun.

Daftar Pustaka

Badan Standardisasi Nasional (2012) *SNI ISO 15189:2012 - Laboratorium Medik Persyaratan Mutu dan Kompetensi*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional. Available at: www.bsn.go.id

van Balveren, J. A. *et al.* (2017) 'Effects of time and temperature on 48 routine chemistry, haematology and coagulation analytes in whole blood samples'. *Annals of Clinical Biochemistry*. SAGE Publications Ltd, 54(4), pp. 48–462. doi: 10.1177/0004563216665868

Gounden, V., Bhatt, H. and Jialal, I. (2020) *Renal Function Tests*, *StatPearls*. StatPearls Publishing. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29939598 (Accessed: 23 July 2020)

Hammerling, J. A. (2012) 'A Review of Medical Errors in Laboratory Diagnostics and Where We Are Today', *Laboratory Medicine*. Oxford Academic, 43(2), pp. 41–44. doi: 10.1309/LM6ER9WJR1IHQAUY

Hawkins, R. (2012) 'Managing the Pre- and Post-analytical Phases of the Total Testing Process', *Annals of Laboratory Medicine*. Korean Society for Laboratory Medicine, 32(1), p. 5. doi: 10.3343/ALM.2012.32.1.5

Kemenkes (2019) *Permenkes RI No. 7 Tahun 2019 Tentang Kesehatan Lingkungan Rumah Sakit*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI

Krleza, J. L. *et al.* (2019) 'Post-analytical laboratory work: national recommendations from the Working Group for Post-analytics on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine'. *Biochemia Medica*. Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, 29(2), pp. 228–261. doi: 10.11613/BM.2019.020502

Menkes RI (2008) *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 129 Tahun 2008 Tentang Standar Pelayanan Minimal Rumah Sakit*. Jakarta. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004

Nugraha, G. *et al.* (2021) 'Stabilitas Pemeriksaan Hematologi Rutin pada Sampel Darah yang Didiamkan pada Suhu Ruang Menggunakan Cell-Dyn Ruby'. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 4(1)

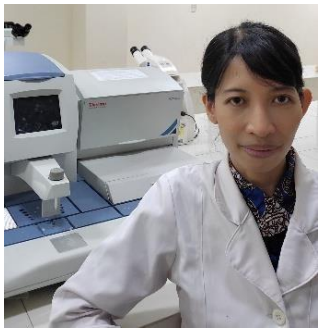
Rahmanitarini, A., Hernaningsih, Y. and Indrasari, Y. N. (2019) 'The stability of sample storage for complete blood count (CBC) toward the blood cell morphology'. *Bali Medical Journal*, 8(2), p. 482. doi: 10.15562/bmj.v8i2.1369

Zini, G. (2014) 'Stability of complete blood count parameters with storage: Toward defined specifications for different diagnostic applications'. *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 111–113. doi: 10.1111/ijlh.12181

Biografi Penulis

Dr. Betty Nurhayati, M.Si. Lahir di Bandung pada Juni 1966. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Menengah Analis Kesehatan Depkes Bandung tahun 1985, S1 Jurusan Kimia MIPA Universitas Jenderal Achmad Yani tahun 2001, S2 Jurusan Biologi MIPA ITB tahun 2005 dan S3 Farmako Kimia Sekolah Farmasi ITB tahun 2015. Penulis saat ini aktif sebagai Dosen di Program Studi D3 dan Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung. Penulis juga aktif melakukan penelitian dan pengabdian masyarakat khususnya pada bidang hematologi dan pemantapan mutu laboratorium klinik. Beberapa hasil penelitian telah dipublikasi dalam jurnal nasional dan internasional. Penulis telah memiliki Sinta ID : 5999375. Dalam penyusunan bahan ajar untuk Teknologi Laboratorium Medis (TLM) penulis dan tim mendapat kesempatan dari BPPSDM Kesehatan Kemenkes RI menyusun dengan judul Biologi Sel dan Molekuler pada tahun 2017. Penulis memperoleh kesempatan berpartisipasi di organisasi profesi (Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik Indonesia/ PATELKI) dan asosiasi pendidikan (Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia/ AIPTLMI).

Dewi Astuti, S.Si., M.Biomed. Lahir di Jakarta pada Desember 1983. Penulis menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Jakarta III pada tahun 2004 dan menyelesaikan pendidikan Sarjana bidang Biomedik di Universitas Nasional Jakarta pada tahun 2009. Penulis memenyelesaikan pendidikan Magister di Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia tahun 2013 dan saat ini aktif sebagai Dosen di Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Sebelumnya penulis pernah bekerja sebagai Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) di Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dari 2004 hingga 2006 serta di laboratorium klinik mandiri di tahun yang sama. Penulis juga aktif melakukan penelitian dan pengabdian masyarakat khususnya pada bidang hematologi, dan sains transfusi. Beberapa hasil penelitian telah dipublikasikan dalam bentuk publikasi jurnal, prosiding dan buku. Saat ini penulis merupakan salah satu Pengurus Pusat Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI), anggota Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (PATELKI) dan anggota Himpunan Kimia Klinik Indonesia (HKKI).



Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed. Penulis adalah dosen di Jurusan Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Poltekkes KemenKes Jakarta III. Gelar Ahli Madya Analis Kesehatan didapat setelah menempuh pendidikan di Poltekkes KemenKes Jakarta 3 tahun 2003. Penulis melanjutkan pendidikan ke Fakultas Biologi Universitas Nasional program Biologi Medik, dari tahun 2008 dan lulus di tahun 2010. Setelah itu memperoleh gelar Magister Biomedik kekhususan Sains Transfusi dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2013. Pengalaman bekerja, di laboratorium patologi klinik RS Mitra Keluarga Bekasi Timur (2004 – 2006) dan di Poltekkes KemenKes Jakarta III (2006 s/d saat ini). Penulis aktif melakukan penelitian di bidang hematologi dan transfusi darah. Karya yang sudah dihasilkan berupa modul dan e-atlas yang tercatat di HKI, jurnal penelitian, buku ajar hematologi dan imunohematologi serta video pembelajaran. Penulis juga aktif terlibat dalam kegiatan organisasi profesi dosen sebagai pengurus regional 3 Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI) di tahun 2019 s/d saat ini.

Gilang Nugraha, S.Si., M.Si. Lahir pada Juli 1990 di Serang Banten. Penulis lulusan D-III Analis Kesehatan di Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung tahun 2011, S1 Biomedik Universitas Nasional Jakarta tahun 2013, S2 Kedokteran Laboratorium Universitas Airlangga Surabaya tahun 2014 dan saat ini sedang menempuh pendidikan S3 Ilmu Kedokteran di Universitas Airlangga Surabaya yang didanai oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP). Pengalaman kerja penulis pernah menjadi Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) di laboratorium klinik Biofit dan Rumah Sakit Ibu dan Anak Limijati Bandung tahun 2011 – 2012, asisten dosen di Prodi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung tahun 2013 dan Prodi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Rajawali Bandung pada tahun 2014, dosen di D-IV Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Binawan Jakarta tahun 2017 - 2018 dan saat ini menjadi dosen tetap di Prodi D-IV Analis Kesehatan Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya dari tahun 2016. Penulis juga aktif melakukan berbagai penelitian dan pengabdian kepada masyarakat di bidang laboratorium medik. Beberapa hasil luarannya telah publikasikan dan dapat diakses melalui Google Scholar dengan ID MOqW6AEAAAAJ atau melalui Shinta ID 167739. Penulis juga aktif terlibat dalam berbagai macam organisasi, saat ini menjabat sebagai Pengurus Pusat Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI), Wakil Ketua Umum II Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (PATELKI) dan anggota Himpunan Kimia Klinik Indonesia (HKKI) kota Surabaya. Selain itu penulis juga menjadi editor

dan reviewer pada beberapa jurnal Analis Kesehatan atau Teknologi Laboratorium Medik di Indonesia.

dr. Lucia Sincu Gunawan, M.Kes Lahir di Surakarta pada Desember 1974. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 Kedokteran Umum pada tahun 1997 dan diambil sumpah profesi dokter pada tahun 1999 dari Fakultas Kedokteran Umum Universitas Sebelas Maret. Penulis memulai karir sebagai dosen sekaligus tetap menjalankan peran profesi dokter, dengan bergabung dengan Akademi Analis Kesehatan Nasional Surakarta pada tahun 2004. Pendidikan magister ditempuh penulis di Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret, bidang ilmu Kedokteran Keluarga dan lulus dengan predikat cumlaude pada tahun 2012. Dengan pengalaman kerja sebagai praktisi rumah sakit dan praktek mandiri, didukung dengan pengembangan keilmuan di bidang kedokteran serta laboratorium, penulis berkarya sebagai dosen tetap pada Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi D4 Analis Kesehatan Universitas Setia Budi sejak tahun 2015. Penulis aktif melaksanakan Tridharma Perguruan Tinggi dengan mengajar mata kuliah anatomi fisiologi, hematologi dasar, hematologi klinis, hemostasis, imunohematologi dan bank darah serta melaksanakan penelitian dan pengabdian masyarakat khususnya pada bidang hematologi, kimia klinik, dan imunoserologi.

Sri Ujiani, S.Pd., M.Biomed. Lahir di Sukarejo, Lampung pada bulan Januari tahun 1973. Penulis menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan di Akademi Analis Kesehatan pada tahun 1994 dan menyelesaikan pendidikan Sarjana Pendidikan Kimia di Universitas Lampung pada tahun 1998. Selanjutnya, penulis mengambil pendidikan Magister bidang Kedokteran Dasar Program Megister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2009 dan menyelesaikannya pada tahun 2011. Penulis saat ini aktif sebagai Dosen dan Ketua Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Sebelumnya penulis pernah bekerja sebagai Analis Kesehatan di Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah Pringsewu Lampung, Laboratorium Klinik Graha Medika Pringsewu Lampung dari tahun 1994 sampai 2002. Pada tahun 1996 penulis menjadi guru pada Sekolah Menengah Analis Kesehatan (SMAK) Lampung. Selain itu penulis juga menjadi dosen pada Akademi Perawat Muhammadiyah Pringsewu tahun 2001, dosen pada Akademi Perawat Baitul Hikmah Bandar Lampung dari tahun 2001 sampai 2009, dosen pada Akademi Kebidanan Muhammadiyah Pringsewu Lampung tahun 2005, dosen pada Akademi Kebidanan

Alifa Pringsewu Lampung dari tahun 2006 sampai 2012. Penulis juga aktif melakukan berbagai macam penelitian dan pengabdian masyarakat khususnya pada bidang hematologi dan bakteriologi. Beberapa hasil penelitian dan pengabdian masyarakat telah disebarluaskan dalam bentuk publikasi jurnal dan prosiding yang dapat diakses secara gratis melalui Google Scholar dengan ID 2g3b85cAAAAJ. Disela kesibukan sebagai dosen, penulis juga terlibat dalam berbagai macam organisasi. Saat ini menjabat sebagai Pengurus Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (PATELKI) Wilayah Lampung, anggota Asosiasi Institusi Perguruan Tinggi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI), anggota Perkumpulan Pemberantasan Penyakit Parasitik Indonesia (P4I) Lampung, dan anggota Asosiasi Dosen Indonesia (ADI). Selain itu penulis juga menjadi editor pada Jurnal Analis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang yang terakreditasi SINTA 4

HEMATOLOGI

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
Badan Pengembangan dan Pemberdayaan
Sumber Daya Manusia Kesehatan

Jl. Hang Jebat III Blok F3,
Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120
Telp. (021) 725 5429
Fax. (021) 739 8950