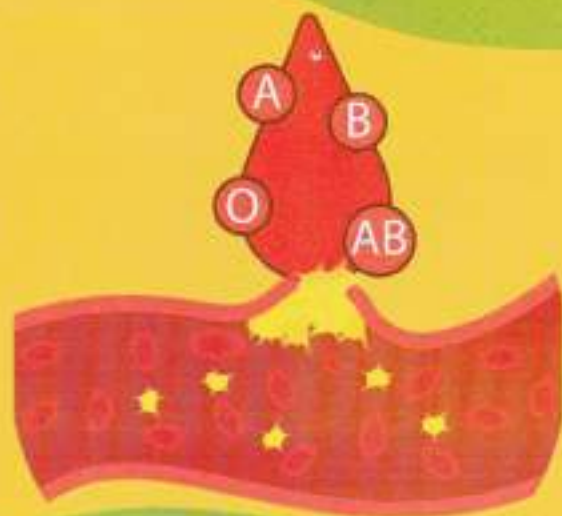


Hematologi dan Hemostasis



Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K)
Dr. dr. Alvina, Sp.PK
dr. Mario, Sp.PK
dr. Yasmine Mashabi, M.Ked (ClinPath), Sp.PK



Penerbit Universitas Trisakti

KREATOR Pusparini (penyusun)

**JUDUL DAN
PENANGGUNG
JAWAB** Hematologi dan hemostasis / Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK,
Subsp. K.V.(K), Dr. dr. Alvina, Sp.PK., dr. Mario, Sp.PK., dr.
Yasmine Mashabl, M.Ked, (ClinPath), Sp.PK ;
penyunting, Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K).

EDISI Cetakan kesatu

PUBLIKASI Jakarta Barat : Penerbit Universitas Trisakti, 2024

IDENTIFIKASI ISBN 978-602-0750-54-5

SUBJEK Hematologi

KLASIFIKASI 616.15 [DDC23]

PERPUSNAS ID <https://isbn.perpusnas.go.id/kdt/viewkdt?id=0324004273>

HEMATOLOGI DAN HEMOSTASIS

Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K)

Dr. dr. Alvina, Sp.PK

dr. Mario, Sp.PK

dr. Yasmine Mashabi, M.Ked (ClinPath), Sp.PK



Penerbit Universitas Trisakti

2024

HEMATOLOGI DAN HEMOSTASIS

TIM PENYUSUN

Penyusun:

Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K)

Dr. dr. Alvina, Sp.PK

dr. Mario, Sp.PK

dr. Yasmine Mashabi, M.Ked (ClinPath), Sp.PK

Penyunting/ Editor:

Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K)

Desain dan Tata Letak:

drg. Monica Dewi Ranggaini, MKG, FICD

Cetakan Ke-1, Tahun 2024

ISBN: 978-602-0750-54-5

Hak Cipta Dilindungi oleh Undang-undang

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari Penerbit

Diterbitkan oleh:

Penerbit Universitas Trisakti

Universitas Trisakti, Kampus A, Gedung R

Jl. Kyai Tapa No. 1, Grogol, Jakarta Barat 11440

Anggota IKAPI, Jakarta

<https://penerbitan.trisakti.ac.id>

Dikeluarkan oleh:

Pusat Pembelajaran, Penerbitan dan Percetakan Digital Trisakti (PP3DT)

Dicetak oleh:

Percetakan Universitas Trisakti, Jakarta

Isi di luar tanggung jawab Percetakan

Isi buku ini menggunakan huruf Cambria, 11pt

viii, 68 hlm, 15,5 x 23 cm

KATA PENGANTAR

Pemeriksaan laboratorium khususnya bidang hematologi dan hemostasis merupakan pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis dan membuat diagnosis banding. Buku ini ditujukan untuk praktisi bidang kesehatan terutama yang bergerak di bidang laboratorium seperti Ahli Teknologi Laboratorium Medis, Perawat, Dokter umum, Dokter gigi serta praktisi kesehatan lain yang memerlukan pengetahuan terkait pemeriksaan di bidang hematologi dan hemostasis yang bersifat rutin. Penguasaan mengenai pemeriksaan di bidang hematologi dan hemostasis ini penting untuk menunjang praktik sebagai tenaga medis di sarana pelayanan kesehatan. Selain itu buku ini juga dapat menunjang tugas praktisi bidang kesehatan sebagai pejabat struktural di suatu institusi seperti Puskesmas, Rumah Sakit maupun Departemen Kesehatan.

Salam,

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vii
BAB 1. HEMOGLOBIN	1
BAB 2. LAJU ENDAP DARAH	21
BAB 3. SEDIAAN APUS DARAH TEPI	31
BAB 4. HITUNG JENIS LEUKOSIT	39
BAB 5. PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH	43
BAB 6. PEMERIKSAAN PERCOBAAN PEMBENDUNGAN CARA RUMPEL LEEDE	51
BAB 7. PEMERIKSAAN MASA PENDARAHAN (CARA IVY)	55
BAB 8. PEMERIKSAAN MASA PEMBEKUAN DARAH (CLOTTING TIME) METODE LEE AND WHITE TEST	59
DAFTAR PUSTAKA	65
BIODATA PENULIS	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur hemoglobin	3
Gambar 2.	Metode Gravimetri untuk menentukan kadar hemoglobin	9
Gambar 3.1.	Cara kerja pemeriksaan Hb metode Tallquist.....	10
Gambar 3.2.	Cara kerja pemeriksaan Hb metode Tallquist.....	10
Gambar 3.3.	Skala Tallquist.....	10
Gambar 4.	Alat dan bahan Pemeriksaan Hb metode Sahli.....	11
Gambar 5.	Mekanisme reaksi metode SLS Hemoglobin.....	18
Gambar 6.	Tiga fase laju endap darah	22
Gambar 7.	Pipet dan rak Westergren	25
Gambar 8.	Cara membuat sediaan apus darah tepi.....	33
Gambar 9.	Hasil apusan darah yang baik pada SADT	33
Gambar 10.	Contoh SADT yang tidak baik.....	34
Gambar 11.	SADT yang diwarnai dengan baik.....	35
Gambar 12.	Sel darah tepi normal yang dapat dilihat pada SADT ..	37
Gambar 13.	Arah penghitungan hitung jenis leukosit	40
Gambar 14.	Kolom untuk menghitung hitung jenis leukosit secara manual dan contoh hasil perhitungan hitung leukosit	41
Gambar 15.	Serum Anti A, Anti B, Anti AB	44
Gambar 16.	Hasil aglutinasi golongan darah A.....	47
Gambar 17.	Hasil aglutinasi golongan darah B.....	47
Gambar 18.	Hasil aglutinasi golongan darah AB	48
Gambar 19.	Hasil aglutinasi golongan darah O	48
Gambar 20.	Hasil tes Rumpel Leede Positif	52

Daftar Gambar

Gambar 21. <i>Disposable</i> lanset.....	55
Gambar 22. Cara melakukan tes <i>Bleeding time</i>	57
Gambar 23. Contoh hasil bercak darah berjumlah 5.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hal yang memengaruhi LED.....	23
Tabel 2.	Perbedaan pemeriksaan LED cara Westergren dan Wintrobe.....	24
Tabel 3.	Ciri-ciri sel-sel darah tepi normal.....	35

BIODATA PENULIS



Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK, Subsp.K.V.(K)

lulus dari Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti pada tahun 1991, kemudian menyelesaikan pendidikan Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2000 dan lulus Program Doktor di bidang Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2011. Menyelesaikan Program Spesialis konsultan bidang kardiovaskular pada tahun 2023. Tenaga Edukatif Tetap di Bagian Patologi Klinik sejak tahun 1995 sampai dengan saat ini. Jabatan Guru Besar diraih pada tahun 2017. Saat ini juga merupakan Deputy Editor in Chief jurnal *Universa Medicina*.



Dr. dr. Alvina, Sp.PK merupakan alumni Fakultas

Kedokteran Universitas Trisakti Jakarta, menyelesaikan pendidikan dokter pada tahun 2003, kemudian menyelesaikan pendidikan Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2009 dan lulus Program Doktor bidang Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2023. Tenaga Edukatif Tetap di Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti sejak tahun 2003 sampai saat ini.



dr. Mario, Sp.PK merupakan alumni Fakultas Kedokteran Universitas Atma Jaya Jakarta, menyelesaikan pendidikan dokter pada tahun 2010, kemudian menyelesaikan pendidikan Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada tahun 2018. Tenaga Edukatif Tetap di Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti sejak tahun 2020 sampai saat ini.



dr. Yasmine Mashabi, M.Ked (ClinPath), Sp.PK merupakan alumni Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti Jakarta, menyelesaikan pendidikan dokter pada tahun 2002, kemudian menyelesaikan pendidikan Spesialis Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara Medan pada tahun 2013. Tenaga Edukatif Tetap di Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti sejak tahun 2021 sampai saat ini.

Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan laboratorium yang paling sering diminta oleh dokter untuk membantu menegakkan diagnosis dan membuat diagnosis banding. Pemeriksaan hematologi meliputi berbagai pemeriksaan antara lain pemeriksaan hemoglobin, hitung leukosit, hitung eritrosit, hematokrit, hitung jenis leukosit, dan nilai eritrosit rata-rata. Selain dapat dilakukan dengan alat hitung otomatis, pemeriksaan hematologi dapat juga dilakukan dengan menggunakan cara konvensional atau cara yang terdahulu digunakan pada saat alat hitung otomatis belum ditemukan. Pemeriksaan manual walaupun memiliki kelemahan dalam hal ketepatan dan keakuratannya, namun tetap diperlukan terutama untuk wilayah Indonesia yang masih banyak pulau terpencil dimana pemeriksaan dengan alat hematologi otomatis tidak tersedia. Selain itu termasuk dalam pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan laju endap darah, sediaan apus darah tepi dan golongan darah. Pemeriksaan laju endap darah merupakan pemeriksaan hematologi yang sederhana, hanya memerlukan alat yang murah untuk dapat mengetahui kecepatan mengendapnya eritrosit dalam tabung panjang. Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya kelainan disisi eritrosit maupun adanya kelainan pada plasma. Pemeriksaan sediaan apus darah tepi juga merupakan pemeriksaan yang dapat membantu menegakkan diagnosa kelainan darah maupun adanya parasit di dalam darah seperti malaria, dan filaria. Golongan darah merupakan pemeriksaan untuk mengetahui golongan darah seseorang, dapat dilakukan dengan cara *forward grouping* maupun *reverse grouping*. Pemeriksaan hemostasis secara manual meliputi beberapa pemeriksaan seperti tes Rumple Leede, *bleeding time*, *clotting time* untuk mengetahui adanya kelainan pada kapiler, trombosit dan faktor-faktor pembekuan darah.

ISBN 978-602-0750-54-5



BAB 1

HEMOGLOBIN

Hemoglobin merupakan protein utama dalam sel darah merah yang terbentuk dari heme dan globin. Heme terbentuk dari Fe dan Protoporfirin di mitokondria sedangkan globin terbentuk dari asam amino dalam ribosom. Tranferin berfungsi mengangkut Fe dalam bentuk ion fero (Fe^{2+}) ke dalam sel darah merah. Tiap molekul transferin dapat mengikat 2 atom Fe. Transferin akan menempel pada sel darah merah dan kemudian Fe^{2+} masuk melalui membran sel. Sebagian besar Fe akan digunakan untuk sintesa heme dan sisanya akan disimpan dalam sitoplasma sel darah merah dalam bentuk agregat feritin.

Pada orang normal, globin terdiri dari 1 pasang rantai α dan 1 pasang rantai non α yaitu rantai β , γ dan δ . Hemoglobin embrionik terdiri atas Portland, Gower I dan II terdapat pada masa fetal dini, hemoglobin fetal (HbF) dominan sampai masa fetal akhir. Pergantian terjadi pada 3-6 bulan dalam periode neonatal menjadi hemoglobin dewasa normal (Hb A). Kadar HbF($\alpha_2\gamma_2$) yang rendah dan hemoglobin dewasa minor HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) terdapat pada orang dewasa normal. Jadi komposisi hemoglobin dewasa adalah Hb A ($\alpha_2\beta_2$), Hb F ($\alpha_2\gamma_2$), dan Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$).

Hemoglobin berfungsi utama sebagai transport oksigen, membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan. Pelepasan oksigen ke jaringan ini tergantung pada kuatnya ikatan antara hemoglobin dan oksigen. Hemoglobin juga punya fungsi mengangkut CO_2 dari jaringan ke paru-paru. Faktor-faktor yang mempengaruhi

ikatan Hb dengan O₂ adalah peningkatan konsentrasi 2,3 -DPG yang menyebabkan daya ikat Hb dan O₂ rendah, kadar ion H⁺ yang tinggi menyebabkan daya ikat rendah, serta kadar CO₂ yang tinggi juga menyebabkan daya ikat rendah. Pada HbF mempunyai afinitas terhadap O₂ yang lebih tinggi dari pada Hb A, sedangkan Hb sel sabit afinitasnya terhadap O₂ lebih rendah. Hb dapat berubah menjadi pigmen Hb yang abnormal sehingga tidak mampu lagi sebagai pengangkut oksigen dan bila keadaan ini memberat akan mengalami hipoksia atau sianosis.

MACAM PIGMEN HEMOGLOBIN

Pigmen hemoglobin fisiologis :

1) Oksihemoglobin (HbO₂):

Oksihemoglobin ialah Hb yang tiap molekul hemanya berikatan dengan satu molekul oksigen. Oksihemoglobin berwarna merah scarlet

2) Deoksihemoglobin:

Deoksihemoglobin ialah Hb yang tidak berikatan dengan oksigen. Deoksihemoglobin ini Hb tereduksi dan berwarna merah tua.

Pigmen hemoglobin abnormal tidak dapat mengikat oksigen dan bila keadaan memberat akan mengalami hipoksia atau sianosis. Macam Hb yang abnormal:

1. Karboksihemoglobin (CO-Hb)

Karboksihemoglobin terbentuk bila Hb berikatan dengan karbonmonoksida (CO). Daya ikat Hb dengan karbonmonoksida lebih besar dari pada O₂. Pembentukan CO-Hb ini reversible

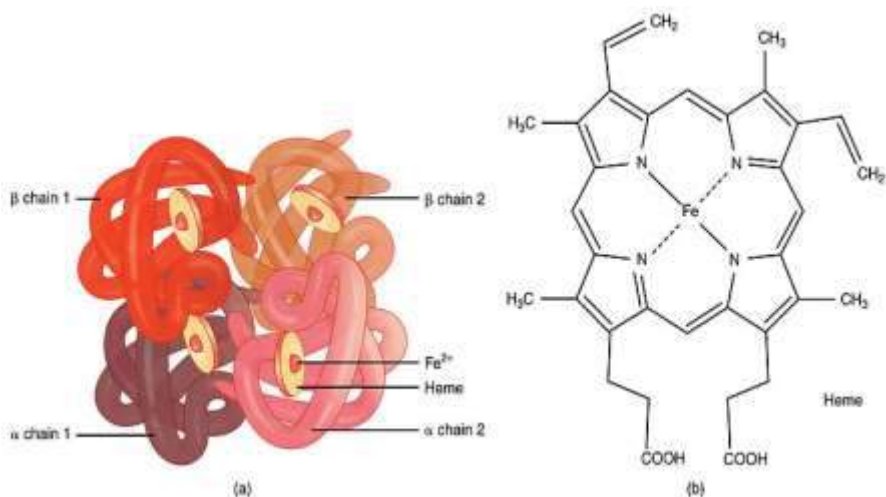
dapat dijumpai pada perokok, Kadar CO-Hb pada darah perokok 2-10%.

2. Methemoglobin

Hemoglobin mengalami oksidasi sehingga ion fero (+2) berubah menjadi feri (+3) yang tidak dapat mengikat oksigen. Met-Hb ini bersifat reversible, kadar dalam darah 1-2%. Peningkatan methemoglobin ini akan berakibat sianosis dan anemia fungsional.

3. Sulfhemoglobin (Sulf Hb)

Sulfhemoglobin adalah hemoglobin abnormal yang dihasilkan oleh kombinasi dari inorganik sulfida dengan hemoglobin *in vivo*. Normalnya sulfhemoglobin tidak ada dalam darah. Bersifat *irreversible* dan tetap berada dalam sel darah merah selama sel tersebut masih hidup. Sulfhemoglobin terbentuk karena pengaruh obat atau bahan kimia seperti sulfonamid atau amin aromatik.



Gambar 1. Struktur hemoglobin

Kadar hemoglobin menurun pada keadaan:

1. Thalassemia:

Gangguan produksi rantai globin secara kuantitatif dimana jumlah salah satu jenis rantai globin menurun

2. Hemoglobinopati:

Gangguan kualitatif rantai globin dimana terjadi perubahan struktur rantai globin akibat penggantian salah satu asam amino dengan asam amino lain.

3. Anemia defisiensi Besi :

Fe merupakan salah satu unsur untuk membentuk hemoglobin, bila Fe turun berakibat terjadinya anemia.

4. Perdarahan akut :

Penurunan kadar Hb karena faktor hilangnya sel darah merah

5. Perdarahan kronis :

Penurunan kadar Hb karena kurangnya Fe

6. Anemia sideroblastik :

Gangguan sintesa heme terutama disebabkan oleh cacat enzim bawaan akibat mutasi gen yang berkaitan antara satu atau lebih enzim untuk sintesis heme sehingga Fe tidak dapat dipakai untuk membentuk heme. Akibatnya Fe menumpuk di sutul dan mengendap dalam sel normoblas sebagai cincin (ring sideroblastik)

7. Leukemia :

Pada leukemia terjadi penekanan eritropoiesis.

8. Infeksi kronis :

- Selama proses fagositosis oleh sel fagosit akan dilepaskan Lactoferin.

- *Lactoferin* bersifat sebagai *Transferin-like binding protein* dan mempunyai reseptor spesifik pada makrofag.
- *Lactoferin* akan mengambil Fe dari transferin yang beredar atau kompetitif inhibitor dengan transferin sewaktu mengambil Fe dari makrofag, sehingga Fe tidak dapat digunakan untuk membentuk heme.

9. Fisiologis:

Terjadi pada kehamilan dimana cairan tubuh relatif lebih banyak sehingga sel darah merah dan hemoglobin akan menurun.

Kadar hemoglobin meningkat pada keadaan:

1. Pada polisitemia terjadi peningkatan jumlah sel darah merah.
2. Pada dehidrasi terjadi peningkatan jumlah hemoglobin dan peningkatan Hb karena jumlah cairan turun.
3. Ketinggian geografis juga berpengaruh pada peningkatan Hb, kadar normal Hb di daerah pegunungan lebih tinggi daripada di dataran rendah karena rangsangan anoksia pada eritropoetin.
4. Posisi tubuh saat phlebotomi.

Kadar Hb, hematokrit, dan jumlah eritrosit akan meningkat 2-3% apabila lengan yang diambil darahnya diletakkan lebih rendah daripada jantung, namun turun 5-8 % setelah berbaring 30 menit.

5. Umur dan jenis kelamin.

Bayi baru lahir mempunyai kadar Hb lebih tinggi dari orang dewasa. Sedangkan pada dewasa, laki-laki mempunyai kadar Hb lebih tinggi daripada perempuan. Ini disebabkan karena pengaruh hormon testosteron pada pria yang meningkatkan eritropoesis dan mungkin juga karena hilangnya darah akibat menstruasi pada wanita. Sedangkan kadar Hb pada lansia lebih rendah daripada orang dewasa yang lebih muda.

6. Variasi diurnal.

Kadar Hb tertinggi didapatkan pada pagi hari.

BAHAN PEMERIKSAAN

Sampel darah yang digunakan adalah darah vena dengan antikoagulan. Darah kapiler dapat digunakan secara langsung tanpa koagulan.

Kadar hemoglobin darah kapiler lebih rendah bila dibandingkan dengan darah vena. Pada penggunaan darah kapiler perlu diperhatikan tetes pertama harus dibuang karena kemungkinan adanya kontaminasi cairan jaringan waktu pengambilan darah yang menyebabkan kadar hemoglobin menjadi lebih rendah dari yang sebenarnya. Sebaiknya darah kapiler yang diambil mengalir dengan lancar dari luka tusukan. Kadar Hb tidak akan berubah selama beberapa hari penyimpanan asal tidak terinfeksi bakteri. Antikoagulan yang digunakan adalah *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), heparin, dan oksalat

HEMOGLOBINOMETRI DARAH

Kapasitas ikatan oksigen dalam darah secara langsung lebih proposional terhadap konsentrasi hemoglobin dibanding jumlah sel darah merah. Oleh karena itu hemoglobinometri penting sebagai uji

skrining untuk membantu menegakkan diagnosa, dan monitoring penyakit tersebut terhadap pengobatan.

Konsentrasi hemoglobin dari sebuah larutan dapat diperkirakan dengan mengukur warnanya, kemampuannya dalam mengikat oksigen atau karbonmonoksida, atau dari kadar zat besinya. Kapasitas ikatan oksigen dalam darah adalah 1,34 ml O₂/gHb. Idealnya untuk menilai anemia klinis, seharusnya dilakukan estimasi fungsional Hb dengan mengukur kapasitas oksigen, namun hal itu nyaris tidak praktis di laboratorium hematologi rutin.

Di laboratorium klinik, kadar hemoglobin dapat ditentukan dengan berbagai metode. Akan tetapi semua metode pemeriksaan memiliki keuntungan dan kerugian yang berbeda-beda. *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) menganjurkan pemeriksaan kadar hemoglobin dengan cara cyanmethemoglobin sebagai metode rujukan karena hampir semua senyawa hemoglobin terukur (hemoglobin, methemoglobin, karboksihemoglobin, oxyhemoglobin). Metode Sahli yang berdasarkan pembentukan hematin asam, tidak dianjurkan lagi karena mempunyai kesalahan yang sangat besar, alat tidak dapat distandardisasi dan tidak semua jenis hemoglobin, methemoglobin, dan sulfhemoglobin dapat dideteksi dengan metode Sahli ini.

Secara umum ada lima metode pemeriksaan kadar hemoglobin :

1. Metode Gasometri

Prinsip pemeriksaan ini adalah berdasarkan kemampuan hemoglobin dalam mengikat oksigen (O₂) atau karbonmonoksida (CO). Namun metode ini memiliki beberapa

kelemahan seperti : hasilnya tidak akurat (tidak mampu mengukur Hb yang tidak aktif seperti methemoglobin)

1 gram Hb mampu mengikat 1.34 mL oksigen

2. Metode Kimia

Prinsip pemeriksaan ini adalah metode pengukuran hemoglobin berdasarkan kandungan besi. Metode ini merupakan metode rujukan namun memiliki beberapa kelemahan seperti membutuhkan waktu yang lama dan teknik yang cukup rumit

1 gram Hb mengandung 3.4 mg besi

3. Metode Gravimetri

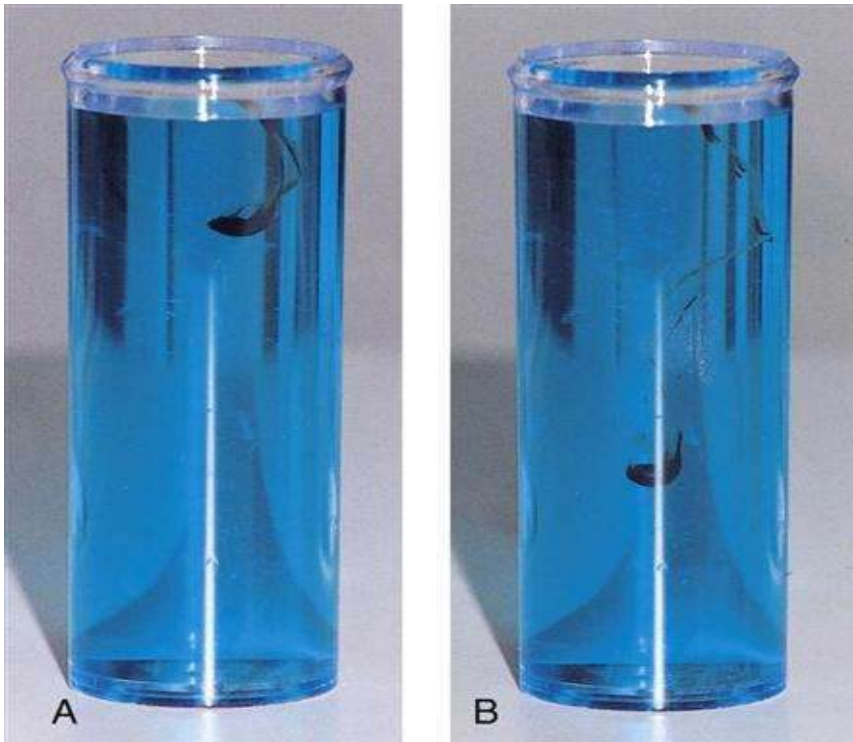
Prinsip dari metode ini adalah metode pengukuran hemoglobin dengan Kupri sulfat berdasarkan berat jenis. Metode ini mempunyai beberapa kelebihan seperti cepat, mudah, dan murah. Tetapi kelemahan dari metode ini adalah hasil yang tidak akurat. Metode ini sering digunakan di Palang Merah Indonesia.

Cara kerja metode Gravimetri adalah :

- Teteskan darah pada ketinggian 1cm ke dalam larutan Kupri sulfat dengan berat jenis 1.053 dan diamati dalam waktu 15-20 detik

Interpretasi :

- Darah tenggelam : tanda (+) artinya kadar Hb lebih dari 12,5 gr%
- Darah melayang : tanda (+/-) artinya kadar Hb 12,5 gr%
- Darah mengapung : tanda (-) artinya kadar Hb kurang dari 12,5 gr%



Gambar 2. Metode Gravimetri untuk menentukan kadar hemoglobin

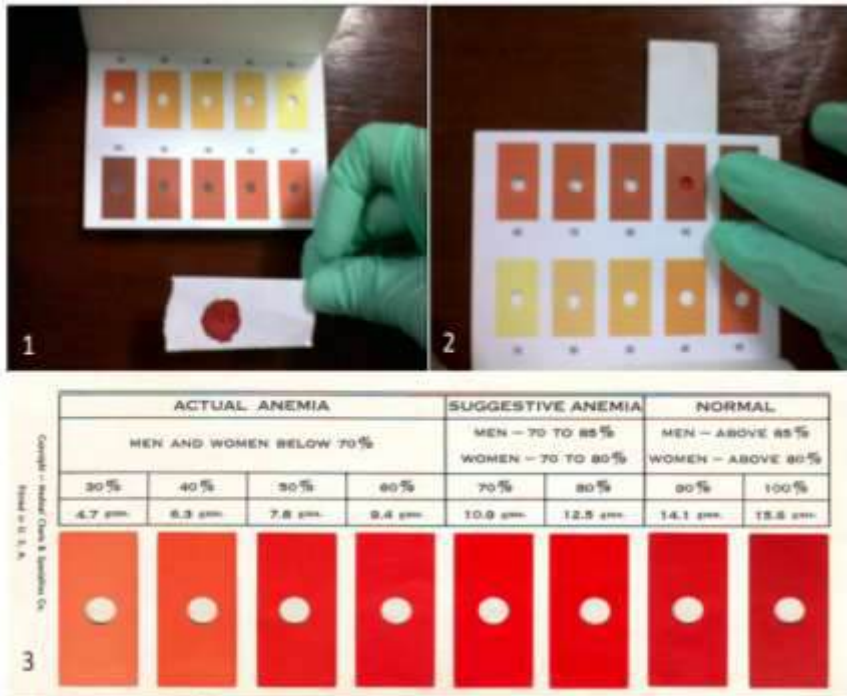
4. Kolorimetri

- *Direct Matching* / Metode Tallquist

Prinsip pemeriksaan *Direct matching* / metode Tallquist : warna merah dari darah segar dibandingkan secara visual dengan warna standar yang menunjukkan kadar Hb yang berbeda-beda

Cara kerja :

1. Teteskan darah pada kertas absorban putih dan biarkan mengering selama beberapa detik
2. Bandingkan warna darah pada kertas absorban dengan lembar skala warna merah di bawah serial (10-100%)



Gambar 3.1 & 3.2 Cara kerja pemeriksaan Hb metode Tallquist.
Gambar 3.3 Skala Tallquist

Kelebihan metode ini :

- Sederhana, tidak membutuhkan banyak alat
- Mudah untuk dilakukan

Kekurangan metode ini :

- Variasi fisiologis dari mata pemeriksa saat mengidentifikasi warna
- Nilai tidak kontinyu (ada nilai dari kadar hemoglobin yang tidak tercantum pada skala Tallquist)
- Hematin Asam / Hb Sahli
Prinsip dari metode hematin asam / Hb Sahli adalah hemoglobin diubah oleh HCl 0,1N menjadi hematin asam

yang berwarna coklat tua. Hal ini bertujuan agar semua pigmen hemoglobin yang mempunyai bermacam-macam warna diubah menjadi satu macam pigmen yaitu hematin asam. Jika kadar HCl yang dipakai $< 0,1$ N maka tidak akan terbentuk hematin asam yang optimal (batas optimal 80-90%), sebaliknya bila HCl $> 0,1$ N maka akan terbentuk presipitat atau clot.



Gambar 4. Alat dan bahan Pemeriksaan Hb metode Sahli
1. Pipet hisap; 2. Pipet Sahli; 3. Batang Pengaduk; 4. Pembersih Tabung; 5. HCl 0,1N; 6. Tabung hemometer; 7. Rak standar; 8. Pipet Pasteur; 9. Aquadest

Cara kerja :

1. Masukkan 5 tetes HCl 0,1N ke dalam tabung hemometer
2. Hisap darah EDTA dengan pipet Sahli samai garis tanda 20 μL
3. Gunakan tissue untuk membersihkan darah yang melekat pada bagian luar dari pipet Sahli
4. Alirkan darah dari pipet Sahli ke dalam tabung hemometer yang berisi HCl 0,1N
5. Campur isi tabung agar darah dan HCL 0,1N bersenyawa membentuk hematin asam yang berwarna cokelat tua
6. Tambahkan aquadest setetes demi setetes (setiap menambahkan aquadest, diaduk dengan batang pengaduk) sampai warnanya sama dengan warna standar pada rak standar
7. Baca kadar Hb dengan satuan g% atau g/dL

Kelebihan metode ini :

- Cepat, murah, dan sederhana
- Mudah dikerjakan

Kekurangan metode ini :

Faktor kesalahan pemeriksaan hemoglobin metode hematin asam / Sahli relatif besar (5-10%). Hal ini dapat disebabkan karena :

- Faktor Alat :
 - o Volume pipet kurang tepat
 - o Warna pada rak standar sudah berubah sehingga perlu dilakukan kalibrasi secara rutin
 - o Kadar HCl kurang tepat (harus dicek berkala)

- Hematin asam bersifat tidak stabil
- Intensitas warna tidak berbanding langsung dengan kadar Hb pada kondisi kadar Hb yang terlalu tinggi atau terlalu rendah
- Faktor Manusia :
 - Kesalahan teknik, seperti ada kotoran, darah di sisi luar pipet, pencampuran yang kurang homogen
 - Penglihatan pemeriksa tidak normal
 - Bias, intensitas sinar saat pembacaan

Yang perlu diperhatikan pada metode Sahli ini adalah :

- Warna pada rak standar Hb meter Sahli dapat berubah jika sudah lama digunakan. Warna bisa berubah lebih pucat karena pengaruh sinar matahari. Oleh karena itu perlu dikalibrasi dengan metode *Cyanmethemoglobin* sebagai metode acuan dan dihitung faktor koreksi dan dicantumkan pada rak standar Hb meter Sahli.
- Ada Hb yang bersifat resisten terhadap asam dan basa yaitu HbF, sehingga tidak berubah menjadi Hematin Asam.
- Cara menentukan faktor koreksi adalah periksa kadar hemoglobin dari minimal 10 sampel darah dengan metode Sahli dan metode *Cyanmethemoglobin* dengan alat yang sudah dikalibrasi. Kemudian dihitung rata-rata kadar Hb dengan masing-masing metode. Bila ternyata Hb Sahli lebih tinggi daripada Hb Cyanmethemoglobin, maka berarti tinggi palsu sehingga faktor koreksinya $(F) < 1$, dan bila Hb Cyanmethemoglobin lebih tinggi dari

Hb Sahli maka berarti rendah palsu, sehingga faktor koreksinya $(F) > 1$

- Rumus faktor koreksi $(F) = \text{Nilai Hb Cyanmeth (Y)} / \text{Nilai Hb Sahli (X)}$

- Hematin Alkali

Prinsip pemeriksaan Hemoglobin dengan hematin alkali adalah hemoglobin diubah menjadi hematin alkali oleh NaOH, lalu absorban dibaca dengan fotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Terdapat dua metode pada pemeriksaan hematin alkali, yaitu:

- a. Metode baku (larutan standardnya dari Gibson dan Harison)

0,05 ml darah ditambahkan pada 4,95 ml larutan NaOH 0,1 N kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama tepat 4 menit. Setelah itu segera dinginkan sampel dengan air dingin dan dibaca dengan fotometer pada panjang gelombang 540 nm.

- b. Metode alkali asam

Pada metode baku, larutan Hb dalam alkali harus dipanaskan untuk menjamin denaturasi yang lengkap. Prosedur ini dapat dihilangkan bila darah mula-mula dikumpulkan dalam HCl dibiarkan 20-30 menit. Selanjutnya alkali dalam jumlah cukup ditambahkan untuk menetralkan asam dan merubah hematin asam dan merubah hematin asam menjadi hematin alkali.

0.05 ml darah dimasukkan dalam 4 ml larutan HCl 0,1 N dan dicampurkan segera. Setelah tabung dibiarkan 20-30 menit, tambahkan 0,95 ml NaOH 1 N dan balik-balikan tabung beberapa kali. 2 menit kemudian dibaca dengan fotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Kelebihan metode ini :

- Bebas sianida
- Larutan alkali kuat akan menghasilkan campuran lipid dan protein yang lebih homogen daripada metode hematin asam, sehingga menghasilkan pengukuran hemoglobin yang lebih akurat
- Derivat hemoglobin inaktif (CO-Hb, methemoglobin, sulfhemoglobin) turut diubah menjadi hematin, sehingga mengurangi kesalahan akibat ketidaklarutannya dalam asam.

Kekurangan metode ini :

- Lebih rumit dibandingkan metode Cyanmethemoglobin atau HbO₂
 - Beberapa bentuk Hb tertentu (Khususnya HbF) resisten terhadap denaturasi alkali. Namun hal ini dapat diatasi dengan memanasi larutan dalam air mendidih selama 4 menit.
- Cyanmethemoglobin
Prinsip pemeriksaan dengan metode ini adalah Larutan Drabkins mengoksidasi Hemoglobin menjadi Methemoglobin (Hi) kemudian Methemoglobin diubah oleh Potassium Cyanida (KCN) dalam larutan Drabkins menjadi

Cyanmethemoglobin (HiCN). Perubahan warna diperiksa dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dan dibandingkan dengan larutan Hb standar.

Kelebihan metode ini :

- Akurasi cukup baik, cepat, dan akurat
- Hampir semua senyawa hemoglobin terukur (Hb, Hi, CO-Hb, HbO₂) kecuali SulfHb. SHb akan diubah menjadi ShiCN sehingga tidak terukur melalui metode ini.
- Pembacaan absorban tidak harus dilakukan segera setelah pengenceran. Hal ini karena HiCN adalah senyawa Hb yang stabil (dapat bertahan beberapa tahun)

Kekurangan metode ini :

- Pengenceran yang tinggi (1:251) mempengaruhi presisi
- Larutan Drabkins mengandung sianida. Reagen tidak boleh terpapar dengan asam karena akan menghasilkan HCN yang berbahaya.
- Reaksi memakan waktu lama , terutama untuk mengubah HbCO menjadi HiCN (memakan waktu 1 jam)
- Hiperproteinemia, hiperlipidemia, leukositosis, eritrosit yang gagal lisis dapat menyebabkan kekeruhan dan mengganggu proses pembacaan.
- Beberapa bentuk Hb tertentu (Khususnya HbF) resisten terhadap denaturasi alkali. Namun hal ini dapat diatasi dengan memanasi larutan dalam air mendidih selama 4 menit.

- Sodium Lauril Sulfat Hemoglobin (SLS-Hb)

SLS bersifat stabil dan nontoksik .SLS mengikat protein dan memiliki aktivitas surfaktan. Surfaktan merupakan bahan aktif permukaan yang bekerja menurunkan tegangan permukaan cairan. Dengan menambahkan SLS ke larutan hemoglobin terbentuk SLS-methemoglobin yang memiliki kurva absorsi karakteristik.

Prinsip Mekanisme Respon Metode SLS-Hb:

SLS adalah surfaktan anionik dan kelompok lauril. SLS bersifat hidrofobik, berikatan kuat dengan protein .Reaksi ini memiliki empat tahap ,yaitu:

1. Hemolisis eritrosit

Surfaktan melisiskan membran sel darah merah sehingga melepaskan hemoglobin.

2. Perubahan molekul globin.

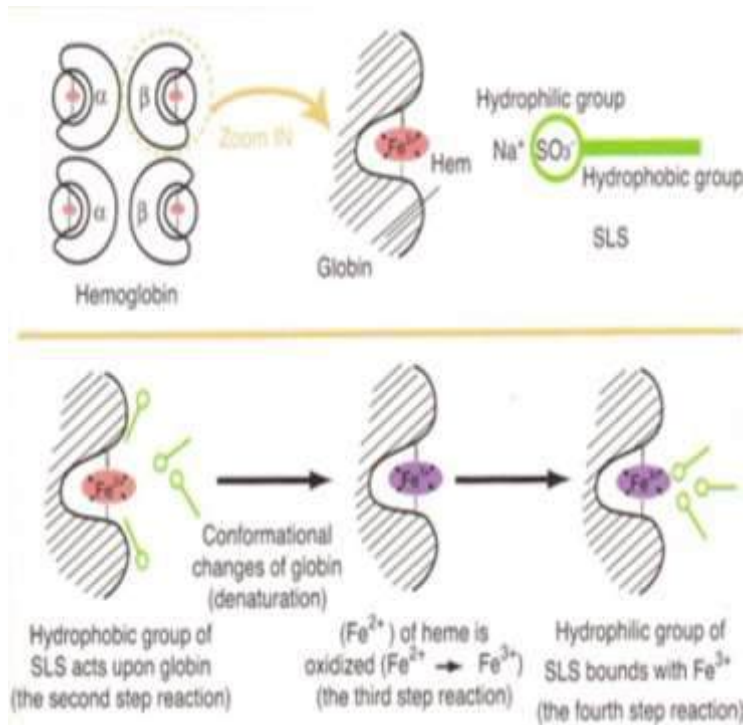
Kelompok globin dari molekul hemoglobin berubah dengan grup alkil hidrofilik dari sodium lauryl sulfat.

3. Oksidasi Fe.

Akibat dari perubahan pada molekul globin tersebut yang memancing konversi hemoglobin dari ferro (Fe^{2+}) teroksidasi ke keadaan ferri (Fe^{3+})

4. Pembentukan SLS-Hb.

Tahap pembentukan methemoglobin yang menggabungkan SLS menjadi molekul kompleks SLS-Hb yang kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 555 nm.



Gambar 5. Mekanisme reaksi metode SLS Hemoglobin

Kelebihan metode ini :

- Bebas dari sianida (tidak beracun)
- Reaksi sangat cepat (sekitar 10 detik), menguntungkan untuk otomatisasi
- Cocok untuk pemeriksaan spektrofotometri manual dan otomatis

Kekurangan metode ini :

- Sulfhemoglobin tidak terukur
- SLS-Hb hanya stabil untuk beberapa jam (dapat bertahan sampai 3 minggu pada suhu 4°C)

Tanggal praktikum :

Lembar Kerja Hasil Pemeriksaan Hb Cara Sahli

Nama	Hasil Pekerjaan (Tuliskan hasil pemeriksaan Hb Sahli)
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan

BAB 2

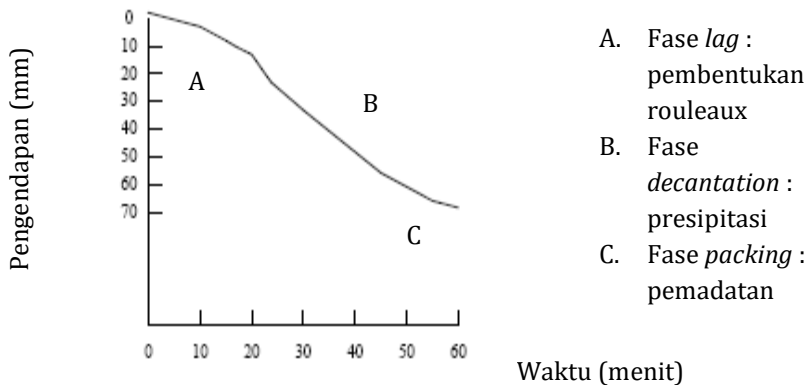
LAJU ENDAP DARAH

Laju endap darah (LED) merupakan suatu pemeriksaan laboratorium yang sederhana, murah dan sering diminta oleh para klinisi. LED mengukur kecepatan menurunnya darah yang telah diberi antikoagulansia pada tabung vertikal dalam waktu 1 jam.

Pada pemeriksaan LED terdapat 3 fase yaitu :

1. Pertama, fase *lag/fase agregasi* (A) : fase ini merupakan fase eritrosit membentuk rouleaux; pada fase ini hanya sedikit sekali terjadi sedimentasi. Fase ini membutuhkan waktu kira-kira 20 menit.
2. Ke dua, fase *decantation /fase presipitasi* (B) : pada fase ini terjadi percepatan sedimentasi. Fase ini berlangsung dari menit ke dua puluh sampai menit ke empat puluh lima.
3. Ke tiga, fase *packing* (C) : fase pemadatan. Fase ini berlangsung dari menit ke empat puluh lima sampai menit ke enam puluh.

Ketiga fase tersebut bila digambarkan akan membentuk kurva sigmoid (gambar 6)



Gambar 6. Tiga fase laju endap darah (dimodifikasi dari NCCLS)⁴

Pada pemeriksaan LED banyaknya fibrinogen di darah mempengaruhi LED. Faktor lain yang memengaruhi pemeriksaan LED adalah perbedaan BJ antara eritrosit dengan plasma, rasio eritrosit dan plasma, hematokrit, viskositas plasma, kemiringan tabung LED, diameter dari tabung LED dan faktor pengenceran.

Bila diperhatikan pada fase proses LED maka pada fase awal LED tergantung dari kemampuan eritrosit untuk membentuk rouleaux, sehingga bila terdapat kondisi yang menghambat pembentukan rouleaux maka LED akan terlihat normal. Contohnya adalah variasi pada bentuk eritrosit seperti acantositosis, sel sabit, sferostosis, adanya hemoglobin abnormal seperti hemoglobin C disease, sickling hemoglobin, thalassemia. Bila dijumpai keadaan anisositosis yang meningkat maka akan terjadi peningkatan agregasi dari ukuran sel yang berbeda sehingga pembentukan rouleaux tidak terjadi dan eritrosit tetap berada pada supernatan kolom LED. Hal seperti ini yang disebut sebagai *veil sedimentation*. Dari penjelasan tersebut dapat diambil kesimpulan bila kita mendapatkan seorang pasien

anemia tetapi LED menunjukkan hasil yang normal maka patut dicurigai adanya kelainan bentuk eritrosit.

Tabel 1. Hal yang memengaruhi LED

Faktor yang meningkatkan LED	Faktor yang menurunkan LED	Faktor yang tidak terbukti secara klinis mempunyai efek terhadap LED atau masih tanda Tanya
Usia tua	Leukositosis berat	Obesitas
Perempuan	Polisitemia	Temperatur tubuh
Kehamilan	Sferositosis	Postprandial
Anemia makrositosis	Acantositosis	Aspirin
	Mikrositosis	NSAID
Faktor teknik :		
<i>Overdilation</i>	<i>Overdilation</i>	
Peningkatan suhu specimen	<i>Mixing</i> darah yang inadekuat	
Kemiringan tabung LED	Tabung LED yang pendek	
Peningkatan kadar fibrinogen :		
Infeksi	Getaran selama pemeriksaan :	
Inflamasi	Hipofibrinogenemia	
keganasan	Hipogamaglobulinemia	
	Dysproteinemia	

NSAID : non steroid anti inflammatory drugs (dikutip dari Alao³)

Terdapat dua macam pemeriksaan LED yaitu menurut Westergren dan Wintrobe. Pemeriksaan yang dianjurkan oleh *World Helth Organisation* (WHO) / *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) adalah metode Westergren

Tabel 2. Perbedaan pemeriksaan LED cara Westergren dan Wintrobe

	Westergren	Wintrobe
Panjang tabung antikoagulansia	200 mm EDTA / Na sitrat 0,38%	100 mm Oksalat seimbang/EDTA
Pipet yang digunakan	Westergren	Wintrobe
Perbandingan darah dan antikoagulansia	4 : 1	Tidak ada pengenceran
Nilai normal	Laki-laki 0 – 10 mm Perempuan 0-15 mm	Laki-laki 0-10 mm Perempuan 0 – 20 mm
Penggunaan tabung	Hanya untuk pemeriksaan LED	Dapat digunakan untuk pemeriksaan LED, hematokrit, <i>buffi coat</i> dan ikterus indeks

Cara Westergren :

Prosedur :

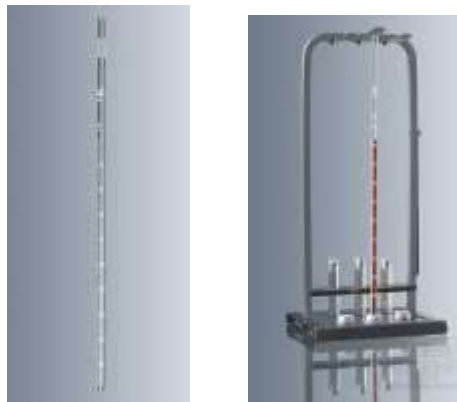
1. Siapkan peralatan yang diperlukan yaitu :
 - a. tabung Westegren
 - b. rak tabung Westergren
 - c. balon pengisap
 - d. Antikoagulansia EDTA / Na sitrat 3,8 %
 - e. NaCl
2. Siapkan darah dengan antikoagulansia EDTA atau Na sitrat 3,8%
3. Bila menggunakan antikoagulansia EDTA maka lakukan pengenceran dengan menggunakan Na Cl dengan perbandingan darah EDTA : NaCl= 4 : 1
4. Bila menggunakan antikoagulansia Na sitrat 3,8 % maka lakukan pengenceran antara darah : Na sitrat dengan perbandingan 4 : 1.
5. Isap darah sampai garis tanda 0

6. Letakkan tabung di rak tabung Westergren dalam sikap tegak lurus dan diamkan selama 1 jam
7. Baca setelah 1 jam batas antara plasma darah dan sel darah merah dalam millimeter, laporkan sebagai hasil pemeriksaan laju endap darah.

Nilai normal :

laki-laki : 0 - 10 mm/ jam

Perempuan : 0 – 15 mm/jam



Gambar 7. pipet dan rak Westergren

Cara Wintrobe :

Prosedur :

1. Siapkan peralatan yang diperlukan yaitu :
 - a. tabung Wintrobe
 - b. rak tabung Wintrobe
 - c. Pipet Wintrobe
 - d. Antikoagulansia EDTA / oksalat seimbang
2. Siapkan darah dengan antikoagulansia EDTA atau darah oksalat seimbang
3. Tidak ada pengenceran yang dilakukan

4. Ambil pipet Wintrobe, isi darah ke dalam pipet dan masukkan pipet ke dasar tabung wintrobe dan tarik perlahan-lahan ke atas sedikit demi sedikit sambil mengeluarkan darah ke tabung Wintrobe sampai tanda 0.
Catatan : pada tabung Wintrobe terdapat dua tanda 0 yaitu : pertama, tanda 0 di bagian atas tabung digunakan untuk pemeriksaan laju endap darah dan kedua, tanda 0 di bagian dasar tabung digunakan untuk pembacaan pemeriksaan hematokrit.
5. Hindari terbentuknya gelembung atau busa (akan menyulitkan pembacaan / tidak akurat).
6. Letakkan tabung di rak Wintrobe dalam sikap tegak lurus dan diamkan selama 1 jam
7. Baca setelah 1 jam batas antara plasma darah sel darah merah dalam millimeter dan laporkan sebagai hasil laju endap darah.

Nilai normal :

Pria : < 10mm / jam

Perempuan : < 20 mm/ jam

Hal yang perlu diperhatikan mengenai penggunaan klinis LED :

1. LED merupakan pemeriksaan yang murah untuk inflamasi kronik.
2. Indikasi pemeriksaan LED menurun bila dibandingkan dengan pemeriksaan laboratorium lainnya seperti C reaktif protein (CRP).
3. LED meningkat sejalan dengan meningkatnya usia, hal ini mungkin disebabkan banyaknya penyakit yang diderita pada

lanjut usia. LED juga meningkat pada wanita hamil dan anemia.

4. Penggunaan LED untuk skrining pada pasien yang asimtomatis tidak dianjurkan karena sensitivitas dan spesifisitas yang rendah.
5. Peningkatan LED merupakan kriteria diagnosis untuk polimialgia reumatik dan arteritis temporalis, tetapi bila dijumpai LED normal tidak meniadakan diagnosis keduanya.
6. Bila terdapat penyakit yang dicurigai maka peningkatan LED dapat dikategorikan sebagai indeks kesakitan.
7. Peningkatan LED yang ekstrim (> 100 mm) biasanya dihubungkan dengan adanya infeksi sistemik berat, keganasan, cirrhosis, penyakit kolagen atau arteritis temporalis.
8. Peningkatan LED ringan sampai sedang tanpa etiologi yang diketahui sebaiknya disikapi dengan mengulang pemeriksaan LED beberapa bulan mendatang dari pada dengan melakukan pemeriksaan lanjutan yang mahal untuk menyelidiki penyakit yang tersembunyi.

Tanggal Praktikum :

Lembar Kerja Hasil Praktikum LED Westergreen

Nama	Hasil Pekerjaan
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

Tanggal Praktikum :

Lembar Kerja Hasil Praktikum LED Wintrobe

Nama	Hasil Pekerjaan
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

BAB 3

SEDIAAN APUS DARAH TEPI

Tujuan:

Mahasiswa diharapkan dapat membuat sediaan apus darah tepi secara baik dan benar serta dapat membaca sel-sel darah yang terdapat pada sediaan apus darah tepi.

Alat:

1. Kaca objek yang permukaan bening, datar dan halus. Kaca objek harus bersih, tidak berdebu, tidak berlemak, tidak berair dan tidak ada goresan.
2. Kaca penggeser atau *spreader* dengan tepi yang lebih sempit dari kaca objek dan permukaan halus.
3. Pipet untuk mengambil dan meneteskan tetesan darah.
4. Rak kaca objek

Bahan:

Jenis spesimen atau bahan yang dapat dipakai untuk membuat sediaan apus darah tepi:

1. Darah kapiler atau darah vena tanpa antikoagulan.
2. Darah vena dengan antikoagulan EDTA

Reagen Pewarnaan:

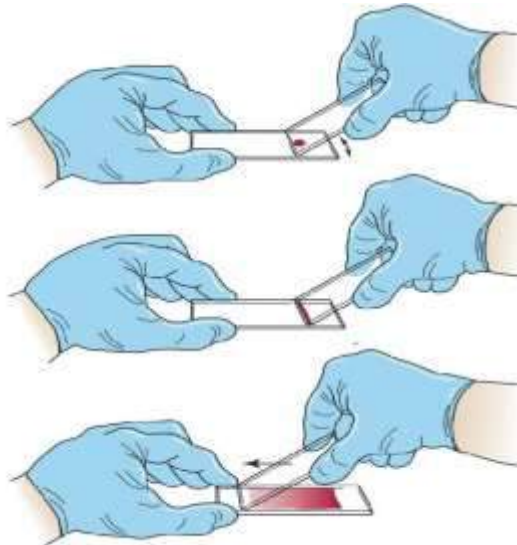
1. Wright
2. Buffer pH 6,8
3. Metanol

Cara Kerja:

1. Teteskan satu tetes darah pada 2-3 mm dari ujung kaca objek.

2. Letakkan kaca penggeser/*spreader* didepan tetesan darah membentuk sudut 30-45 derajat.
3. Tarik kaca penggeser ke belakang hingga menyentuh tetesan darah hingga darah menyebar pada tepi kaca penggeser.
4. Dorong kaca penggeser sampai membentuk apusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek. Ketebalan apusan dapat diatur dengan mengubah sudut dan kecepatan. Makin besar sudut atau makin cepat gerakan menggeser maka apusan darah akan makin tipis.
5. Sediaan apus dibiarkan kering sebelum difiksasi dan dilakukan pewarnaan.
6. Letakkan sediaan diatas rak kaca objek, selanjutnya setelah sediaan kering sempurna dapat difiksasi dengan menggunakan methanol absolut selama minimal 30 detik.
7. Selanjutnya dapat dilakukan pewarnaan dengan menggunakan Wright. Tambahkan zat warna Wright dan biarkan selama 3-5 menit.
8. Tambahkan larutan buffer keatas sediaan dengan jumlah yang sama dengan zat warna Wright, dan biarkan selama 5-10 menit.
9. Selanjutnya dapat dibilas dengan air ledeng untuk menghilangkan semua kelebihan zat warna.
10. Letakkan sediaan dalam posisi tegak dan biarkan sampai mengering.
11. Setelah sediaan benar-benar kering dapat dilanjutkan dengan melihat sediaan dibawah mikroskop.

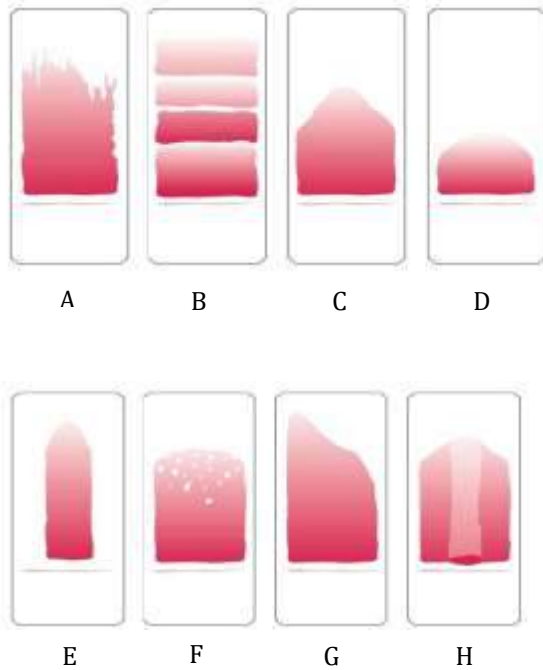
12. Pemeriksaan menggunakan mikroskop dimulai dengan menggunakan lensa objektif pembesaran kecil (10x) untuk melihat dan mencari daerah lapang pandang, selanjutnya secara bertahap menggunakan pembesaran yang lebih tinggi. Pembacaan sediaan apus dengan lensa objektif 100x harus menggunakan minyak imersi.
13. Laporkan sediaan apus darah tepi meliputi keaddan eritrosit (size, shape, staining), keadaan leukosit (jumlah dan morfologi), keadaan trombosit (jumlah dan morfologi).



Gambar 8. Cara membuat sediaan apus darah tepi⁽²⁾



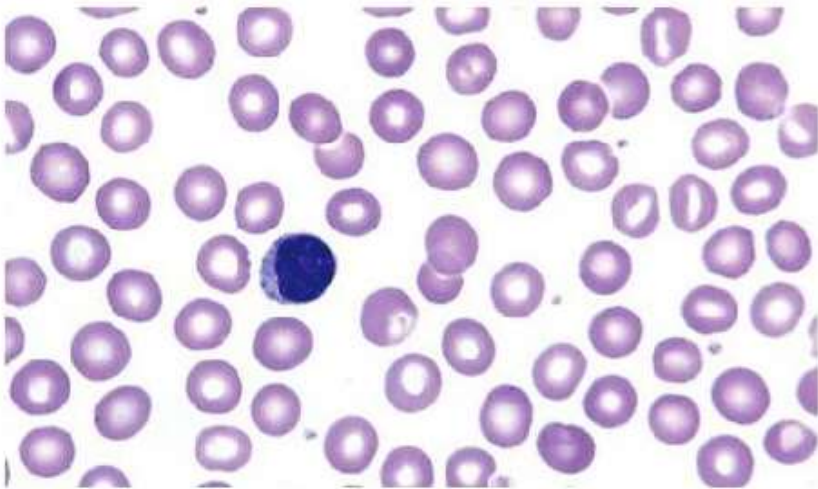
Gambar 9. Hasil apusan darah yang baik pada SADT⁽²⁾



Gambar 10. Contoh SADT yang tidak baik⁽²⁾

- A. Tepi apusan terkelupas karena bagian tepi kaca penggeser yang kasar.
- B. Keragu-raguan dalam mendorong maju kaca penggeser
- C. Kaca penggeser didorong terlalu cepat
- D. Tetesan darah terlalu sedikit
- E. Tetesan darah tidak tersebar diseluruh lebar kaca objek

- F. Adanya kotoran atau minya pada kaca objek
- G. Tekanan yang tidak merata pada kaca pendorong
- H. Tetesan darah mulai mengering



Gambar 11. SADT yang diwarnai dengan baik (menunjukkan area/daerah yang baik untuk melakukan hitung jenis leukosit dan penilaian eritrosit serta trombosit). Pada gambar 11 terlihat eritrosit berdekatan tetapi tidak saling menumpuk.

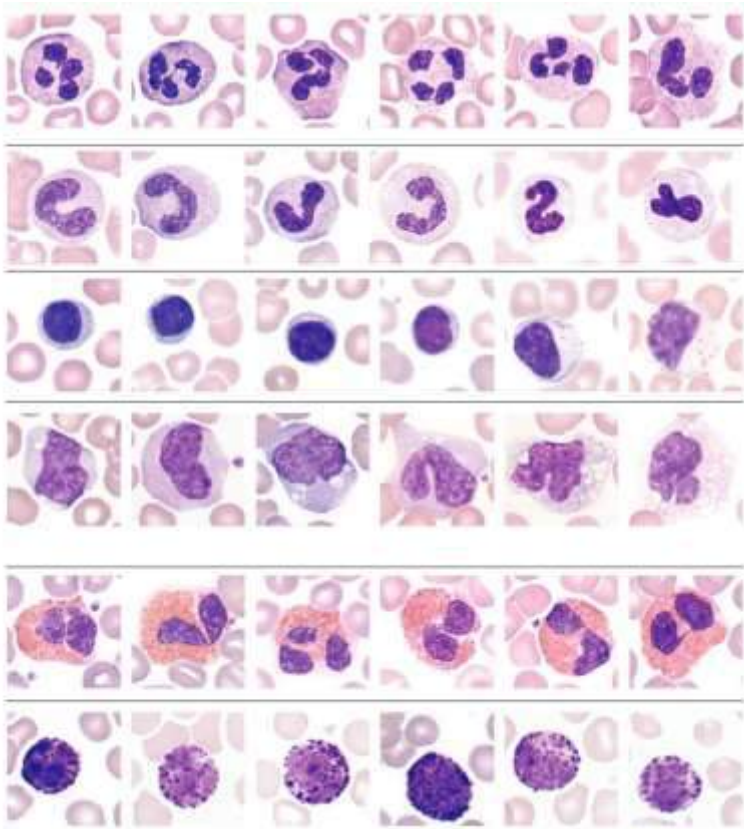
Ciri-ciri sediaan apus darah yang baik:

1. Ukuran panjang apusan darah adalah $\frac{2}{3}$ – $\frac{3}{4}$ panjang kaca objek.
2. Tepi sisi apusan tidak menyentuh tepi kaca objek.
3. Permukaan apusan halus, regular, tidak berlubang-lubang, tidak bergaris garis
4. Ada bagian yang tipis untuk dilihat di bawah mikroskop.

Tabel 3. Ciri-ciri sel-sel darah tepi normal

Jenis sel	Ukuran (μm)	Nukleus	Kromatin	Sitoplasma	Granula	%
Netrofil Segmen	10-15	2-5 lobus yang dihubungkan dengan benang filamen	kasar	Merah muda pucat, atau tidak bewarna	Jarang /sedikit, tersebar tidak merata	50-70
Netrofil batang	10-15	Berbentuk seperti huruf U atau S	kasar	Biru pucat sampai merah jambu	Jarang /sedikit tersebar tidak merata	0-5
Limfosit	7-18	Bulat ke oval, kadang sedikit berlekuk	padat	Sedikit sampai sedang, warna biru langit	Tidak bergranula / sedikit granula azurofilik	20-40
Monosit	12-20	Bervariasi, bisa bulat,	Tidak terlalu padat,	kebiruan	Tidak bergranula	3-11

		berbentuk tapal kuda, berbentuk ginjal	seperti girus otak			
Eosinofil	12-17	2-3 lobus yang dihubungkan dengan benang filamen	kasar	Merah jambu	Bulat, oranye kemerahan, tersebar merata	0-5
Basofil	10-14	Biasanya 2 lobus yang juga dihubungkan dengan benang filamen	kasar	Lavender sampai tidak bewarna	Biru kehitan menutupi kromatin inti	0-1



Gambar12. Sel darah tepi normal yang dapat dilihat pada SADT
 A. Netrofil segmen; B. Netrofil batang; C. Limfosit;
 D. Monosit; E. Eosinofil; F. Basofil

Tanggal Praktikum

Lembar Kerja Hasil Praktikum SADT

Nama	Hasil Pekerjaan
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

BAB 4

HITUNG JENIS LEUKOSIT

Hitung jenis leukosit adalah suatu pemeriksaan yang digunakan untuk mengetahui persentase masing-masing jenis leukosit yang dihitung dalam 100 leukosit. Jadi jumlah total hitung jenis leukosit harus seratus.

Prosedur hitung jenis leukosit :

Alat yang diperlukan :

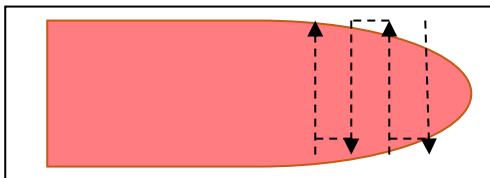
1. Sediaan hapus darah tepi (SADT) yang sudah diwarnai dengan pewarnaan Wright/ Giemsa
2. Mikroskop
3. Alat hitung jenis

Prosedur :

1. Pasang sediaan hapus yang akan dihitung ke mikroskop. Mikroskop harus digunakan dengan cahaya seluas-luasnya yaitu kondensor harus dinaikkan dan diafragma dibuka selebar-lebarnya.
2. Lihat preparat SADT dengan lensa objektif 10 x untuk menilai tempat yang layak untuk dibaca yaitu di tempat eritrosit berdekatan tetapi tidak saling menumpuk, biasanya terletak di ujung hapusan, bukan pada tempat kita meneteskan darah.
3. Tetesi minyak imersi ke sediaan dan tutup dengan kaca penutup bila ingin melihat sediaan dengan lensa objektif 40 x dan tanpa kaca penutup bila ingin melihat sediaan dengan lensa objektif 100 x. Untuk mahasiswa kedokteran atau yang

baru belajar membaca SADT disarankan menggunakan lensa objektif 100 x.

4. Setelah preparat siap dibaca, maka mulailah membaca leukosit dengan arah dari ujung kiri / kanan atas sediaan ke bawah kemudian diteruskan ke samping kanan/kiri tergantung awal pembacaannya dan ke arah atas lagi dilanjutkan ke kanan / kiri sampai akhirnya didapatkan 100 leukosit (Gambar 13). Cara seperti ini digunakan untuk menghindari satu leukosit dihitung lebih dari satu kali. Setiap kali menemui satu jenis leukosit kita menekan alat hitung jenis sampai akhirnya pada hitungan ke 100 alat hitung jenis akan memberi tanda bahwa jumlah leukosit yang dihitung sudah mencapai seratus dengan memberi bunyi seperti kring atau tii....it. Bila kita tidak memiliki alat hitung jenis maka kita dapat membuat kolom seperti pada gambar 13.



Gambar 13. Arah penghitungan hitung jenis leukosit

Jenis leukosit	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	jumlah	Nilai normal (%)
Basofil	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 – 1
Eosinofil	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1 – 3
Neutrofil batang	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	4	2 – 6
Neutrofil segmen	5	0	7	6	9	7	9	8	7	0	58	50 – 70
Limfosit	4	9	2	3	0	2	0	1	2	9	32	20 – 40
Monosit	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	4	2 – 8
Jumlah	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100	

Gambar 14. Kolom untuk menghitung hitung jenis leukosit secara manual dan contoh hasil perhitungan hitung leukosit

Keterangan : Proses penghitungan dilakukan dengan melidi bukan dengan menuliskan angka seperti di atas.

Nama :

NIM :

Tanggal Praktikum :

Lembar Kerja Hasil Praktikum Hitung jenis Leukosit (hitung dengan melidi)

Nama :											
NIM :											
Jenis sel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	jumlah
Basofil											
Eosinofil											
Batang											
Segmen											
limfosit											
Monosit											
jumlah	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

Tuliskan hasil hitung jenis anda di bawah ini :

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

BAB 5

PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH

Pemeriksaan golongan darah sistem ABO pada manusia ditentukan berdasarkan adanya jenis antigen di permukaan eritrosit dan antibodi di serum. Golongan darah A mempunyai antigen A dan anti B, golongan darah B mempunyai antigen B dan anti A, golongan darah AB mempunyai antigen A dan antigen B tetapi tidak mempunyai antibodi, sedangkan golongan darah O tidak mempunyai antigen tetapi mempunyai anti A dan anti B.

Tujuan:

Mahasiswa dapat melakukan pemeriksaan golongan darah secara baik dan benar serta dapat menginterpretasi hasil pemeriksaan golongan darah.

Alat:

1. Objek glass/kartu golongan darah



2. Tusuk gigi



3. *Soft click disposable*



4. Kapas alkohol swab



Bahan:



Gambar 15. Serum Anti A, Anti B, Anti AB

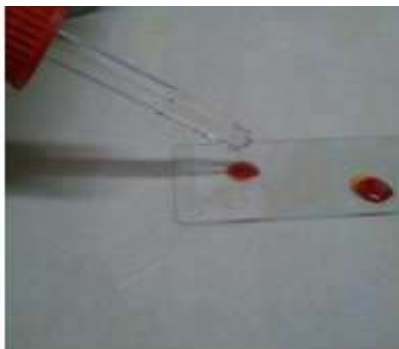
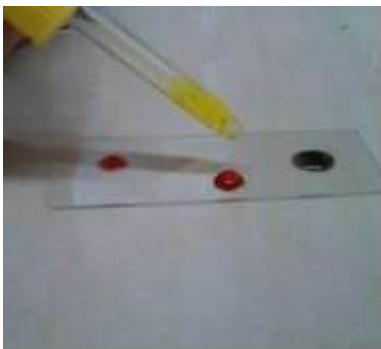
Cara Kerja:

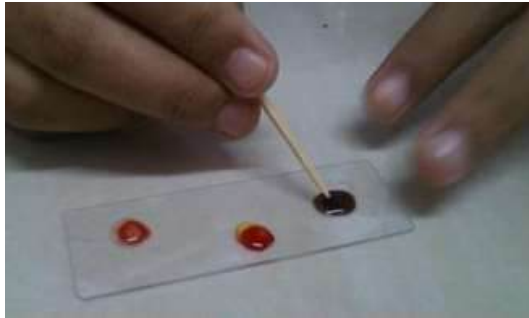
1. Sediakan obyek glass yang bersih
2. Bersihkan ujung jari telunjuk/ jari tengah dengan menggunakan kapas alkohol swab

3. Tusuk jari telunjuk/ jari tengah yang telah dibersihkan tadi menggunakan jarum lancet



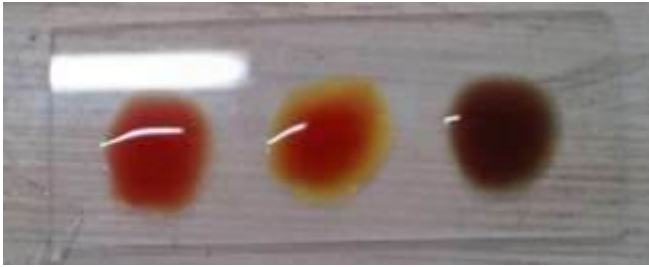
4. Setelah darah keluar, letakkan tiga tetes kecil darah pada obyek glass
5. Tetesi tetesan darah pertama dengan anti A lalu aduk dengan ujung tusuk gigi
6. Tetesi tetesan darah kedua dengan anti B lalu aduk dengan ujung tusuk gigi
7. Tetesi tetesan darah ketiga dengan anti AB lalu aduk dengan ujung tusuk gigi





8. Amatilah apakah terjadi reaksi aglutinasi atau tidak pada tetesan darah yang telah dicampur dengan anti
9. Lalu tentukan golongan darahnya





Apabila darah yang diuji memberikan reaksi aglutinasi (penggumpalan) pada serum anti A dan anti AB serta tidak memberikan aglutinasi pada serum anti B maka disimpulkan golongan darah tersebut adalah A.

Berikut adalah tabel golongan darah berdasarkan aglutinasi:

Golongan darah	Anti A	Anti B	Anti AB
A	+	-	+
B	-	+	+
AB	+	+	+
O	-	-	-

+ : menggumpal/ aglutinasi

- : tidak menggumpal/tidak terjadi aglutinasi



Gambar 16.. Hasil aglutinasi golongan darah A



Gambar 17. Hasil aglutinasi golongan darah B



Gambar 18. Hasil aglutinasi golongan darah AB



Gambar 19. Hasil aglutinasi golongan darah O

Tanggal Praktikum ;

Lembar Kerja Hasil Pemeriksaan golongan darah

Nama :		
NIM :		
	Hasil Pemeriksaan	Interpretasi Golongan Darah
	Anti A : Anti B: Anti AB: Anti Rh:	

Nama Instruktur Praktikum

Tanda tangan :

BAB 6

PEMERIKSAAN PERCOBAAN PEMBENDUNGAN CARA RUMPEL LEEDE

Percobaan pembendungan adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui daya tahan kapiler darah bila dilakukan pembendungan.

Tujuan : - mengetahui prosedur pemeriksaan percobaan pembendungan.
- dapat mengetahui hasil pemeriksaan yang normal dan abnormal.

Peralatan : 1. Tensimeter/sfigmomanometer
2. Stetoskop
3. Stopwatch
4. Spidol
5. Kertas catatan identitas pasien dan laporan hasil pemeriksaan

Prosedur :

1. Siapkan seluruh peralatan yang akan digunakan untuk pemeriksaan.
2. Catat identitas pasien (minimal dua identitas yaitu nama dan usia)
3. Ukur tekanan darah orang yang akan diperiksa dengan tensimeter dan stetoskop.
4. Misalnya hasilnya adalah sistole 120 mmHg/diastole 80mmHg.

5. Tensimeter dipasang proximal fosa cubiti pada tekanan $(120+80\text{mmHg})/2 = 100\text{mmHg}$. (antara sistole dan diastole)
6. Tekanan 100mmHg dipertahankan selama 10 menit.
7. Buat lingkaran dengan spidol dengan diameter 5cm.
8. Setelah 10 menit tensimeter dilepas.
9. Dinilai setelah tangan kiri kanan (yang dibendung dan tak dibendung sama seperti semula). Baru dihitung bintik perdarahan/petechiae yang ada. Bila di dalam lingkaran kurang dari 10 petechiae, hasilnya negatif. Bila lebih dari 10, hasil positif. Bilamana di dalam lingkaran menunjukkan hasil normal (di bawah 10), tetapi distal dari area percobaan menunjukkan banyak petechiae, maka hasil dinyatakan positif.



Gambar 20. Hasil tes Rumpel Leede Positif (bintik perdarahan di 3 jari di bawah lipat siku lebih dari 10)

Tanggal Praktikum

Lembar Kerja Hasil Praktikum percobaan pembendungan cara Rumpel
Leede

Nama	Hasil Tes Rumpel Leede
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

BAB 7

PEMERIKSAAN MASA PENDARAHAN (CARA IVY)

Pengertian : Masa pendarahan adalah pemeriksaan untuk menguji fungsi trombosit dan fungsi vaskuler dalam mengatasi perdarahan kecil

Tujuan :

- mengetahui prosedur pemeriksaan.
- dapat menentukan hasil pemeriksaan yang normal dan abnormal.
- dapat menentukan apakah seorang pasien memenuhi persyaratan untuk dilakukan tindakan pembedahan.

Peralatan : 1. Tensimeter/sfigmomanometer

2. Kapas

3. Alkohol 70%

4. Kertas saring

5. *disposable* lanset



Gambar 21. *Disposable* lanset

6. Stopwatch/jam yang ada menitnya
7. Kertas catatan identitas pasien dan laporan hasil pemeriksaan

Prosedur :

Tahap Persiapan :

1. Siapkan seluruh peralatan yang akan digunakan.
2. Identitas pasien dicatat (minimal menggunakan 2 identitas pasien yaitu nama dan usia/ tanggal lahir)
3. Pasang tensimeter proximal fosa cubiti pada tekanan 40 mmHg dan dipertahankan dengan cara mengunci knop pompa pada sfigmomanometer.
4. Lakukan tindakan aseptis pada area 3 jari distal dari fosa cubiti dengan kapas alkohol dengan gerakan melingkar.
5. Tusukan dengan disposable lanset pada tempat area tersebut (hindari daerah yang dilewati vena).
6. Biarkan darah mengalir selama setengah menit lalu diserap dengan kertas saring. Selanjutnya, setiap setengah menit, darah diserap dengan kertas saring sampai darah tidak keluar lagi.
7. Cara laporan hasil pemeriksaan: lihat gambar 23

Contoh : jumlah bercak darah hasil pemeriksaan 5 bercak.

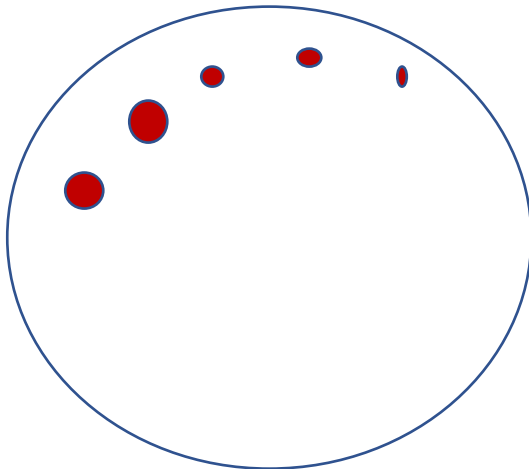
Hasil bleeding time : $5/2 = 2 \frac{1}{2}$ menit.

Nilai normal : 1-6 menit

Kesimpulan : hasil normal



Gambar 22. Cara melakukan tes Bleeding time



Gambar 23. Contoh hasil bercak darah berjumlah 5 (hasil tes *bleeding time*)

Nilai *bleeding time* 5 : 2 = 2 ½ menit

Catatan :

1. Salah satu bercak darah harus berukuran minimal 5 mm.
2. Bila bercak darah semuanya melebihi 5 mm dan berjumlah lebih dari 20 bercak, tes *bleeding time* harus diulangi karena kemungkinan tertusuk vena.
3. Bila bercak darah yang keluar hanya 2 bercak atau kurang kemungkinan penusukan dengan lanset kurang dalam, tes harus diulangi.

Tanggal Praktikum

Lembar Kerja Hasil Praktikum masa perdarahan cara Ivy

Nama	Hasil Tes masa perdarahan Ivy
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

BAB 8

PEMERIKSAAN MASA PEMBEKUAN DARAH (CLOTTING TIME) METODE LEE AND WHITE TEST

PENGERTIAN

Masa pembekuan darah adalah suatu pemeriksaan yang digunakan untuk mengetahui berapa lama darah membeku di luar tubuh. Tes masa masa pembekuan menurut Lee - White merupakan tes yang paling tua yang paling dan kurang ketelitiannya . Tes ini mengukur waktu yang diperlukan oleh darah lengkap untuk membeku di dalam tabung.

Metode Lee - White menggunakan 4 tabung masing - masing terisi 1 ml darah lengkap. Tabung perlahan - lahan dimiringkan setiap 30 detik supaya darah bersentuhan dengan dinding tabung sekaligus melihat sudah terjadinya pembekuan. Darah normal membeku 4 - 10 menit dalam suhu 37⁰ C atau 9-12 menit pada suhu ruangan. Defisiensi faktor pembekuan dari ringan sampai sedang belum dapat dideteksi dengan metode ini, defisiensi faktor pembekuan yang berat baru dapat dideteksi.

TUJUAN

- Mengetahui prosedur penggunaan darah vena untuk pemeriksaan masa pembekuan.
- Dapat menentukan hasil normal dan abnormal pada pemeriksaan masa pembekuan darah.

- Dapat digunakan untuk menggantikan pemeriksaan PT dan APTT bila pemeriksaan PT dan APTT tidak tersedia
- Heparin memperpanjang masa pembekuan sehingga dapat digunakan untuk memantau terapi dengan heparin.

PERALATAN

- Torniket
- 4 buah tabung kecil dengan rak
- Spuit 5mL (Disposable)
- Stopwatch (jam)
- Alkohol 70%
- Kapas dan plester
- Sarung tangan
- Kasa steril
- Kertas laporan pemeriksaan

PROSEDUR

Pra Analitik

- Persiapan pasien
Tidak memerlukan persiapan khusus
- Persiapan sampel
Darah vena

Analitik

Cara kerja :

1. Siapkan seluruh peralatan yang akan digunakan untuk pemeriksaan.
2. Identitas pasien dicatat (minimal menggunakan 2 identitas yaitu nama dan usia)
3. Lakukan tindakan vena fungsi (flebotomi) : diambil darah 4 mL tanpa anti koagulan dan catat kapan darah keluar. Segera jalankan stop watch pada saat darah tampak di dalam jarum. misalnya jam 9
4. Masukkan darah ke dalam 4 tabung setiap tabung sebanyak 1mL darah.
5. Setelah 30 detik mulailah mengamati tabung 1. Angkat tabung lalu miringkan, perhatikan apakah darah masih bergerak atau tidak (membeku). Lakukan hal ini pada tabung 1 setiap selang waktu 30 detik sampai terlihat darah dalam tabung sudah tidak bergerak (darah sudah membeku). Atau darah yang ada di dalam tabung tidak ikut miring), tabung I selesai diperiksa dan dicatat waktu kapan darah di tabung I membeku
6. Setelah setengah menit tabung I membeku, tabung ke II diangkat dan dimiringkan setiap setengah menit. Bila membeku dicatat jam berapa membeku; misalnya, tabung II membeku: jam 9.10 ;Dilanjutkan ke tabung ke III angkat dan miringkan setiap 30 detik. Bila membeku dicatat waktu pembekuan; misalnya, Tabung III membeku: jam 9.12 ;Lalu, setengah menit kemudian pindah ketabung ke IV. Angkat dan miringkan setiap setengah menit. Bila membeku, catat jam berapa; Misalnya, Tabung IV membeku: jam 9.14

7. Catat selang waktu dari saat pengambilan darah sampai darah membeku sebagai masa pembekuan.

8. Perhitungan hasil :

Darah keluar jam 09.00

Tabung II membeku jam 09.10, jadi membeku dalam 10 menit

Tabung III membeku jam 09.12, jadi membeku dalam 12 menit

Tabung IV membeku jam 09.14, jadi membeku dalam 14 menit

Jumlah Waktu pembekuan: 36 menit

Jadi. masa pembekuan adalah $36/3 = 12$ menit

Pasca Analitik

Nilai rujukan : 9 – 12 menit

Kesimpulan

Hasil pemeriksaan dalam batas normal

Tanggal Praktikum

Lembar Kerja Hasil Praktikum masa pembekuan metode Lee and White

Nama	Hasil Tes masa pembekuan metode Lee and White
NIM	

Nama Instruktur Praktikum :

Tanda tangan :

DAFTAR PUSTAKA

1. Dacie and Lewis Practical Haematology (12th edition) By B. J. Bain, I. Bates, M.A. Laffan, Elsevier, London, 2017.
2. Rodak's Hematology ; Clinical principles and applications (5th edition) By Keohane EM, Smith LJ, Walenga JM. Elsevier, London, 2015
3. Hamaguchi Y, Kondo T, Nakai R, Ochi Y, Okazaki T, et al. Overview and features of the automated hematology analyzer XN-L series. Sysmex Journal International Vol.25 No.1 (2015)
4. Gandasoebrata R. 2013. Penuntun Laboratorium Klinis. Jakarta. Dian Rakyat
5. Bhaskaram P, Balakrishna N, Radhakrishna KV, Krishnaswamy K: Validation of hemoglobin estimation using Hemocue. Indian J Pediatr 2003, 70(1):25-28.
6. Stone JE, Simmons WK, Jutsum PJ, Gurney JM. An evaluation of methods of screening for Anaemia. Bull World Health Organ. 1984; 62: 115-120.
7. Elwood PC, Jacobs A. Haemoglobin estimation: a comparison of different techniques. BR Med J. 1966; 1: 20-24.
8. Alao OO. Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. J Clin Med Res 2010;2:119-24.
9. NCCLS. Reference and selected procedure for the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test : Approved standard. 4th ed. USA. 2000.
10. Rahman I, Darmawati S, Kartika AI. Penentuan golongan darah sistem ABO dengan serum dan reagen anti sera metode

- slide. Gaster 2019;17(1): 77-85. DOI: <https://doi.org/10.30787/gaster.v17i1.330>
11. Carr JH. Intoduction to peripheral blood film examination. In: Carr JH. Clinical hematology atlas. 6thed. Missouri: Elsevier; 2022.p.1-10
 12. Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium Indonesia. Panduan evaluasi dan standardisasi pelaporan sediaan apus darah tepi. 2018
 13. Russeau AP, Vall H, Manna B. Bleeding time. Statperals (internet). Diunduh 23 April 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537233/>.
 14. Tourniquet test. [https://www.cdc.gov/dengue/training/cme/ccm/tourniquet%20test f.pdf](https://www.cdc.gov/dengue/training/cme/ccm/tourniquet%20test%20f.pdf).