

PETUNJUK PRAKTIKUM PATOLOGI KLINIK
BLOK UROPOITIKA DAN REPRODUKSI PERINATOLOGI



LABORATORIUM BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERVITAS MUHAMMADIYAH MALANG
2019

PENDAHULUAN

Pemeriksaan urin rutin adalah pemeriksaan yang bertujuan sebagai skrining ataupun untuk membantu menegakkan diagnosa. Pemeriksaan ini menggunakan bahan urin yang ditampung dalam tempat yang bersih dan kering. Bahan yang edial adalah urin pagi hari setelah bangun tidur (urine pagi), karena lebih kental dan mengandung lebih banyak zat-zat terlarut (solut). Urine yang sangat encer menyebabkan perubahan morfologi dan kerusakan bahan-bahan berbentuk (formed element) dan kelainan atau kadar yang kecil mungkin tidak dapat terdeteksi.

Pemeriksaan harus dilakukan secepat mungkin, sehingga harus sudah diperiksa kurang dari 1 jam. Bila pemeriksaan dilakukan lebih dari waktu yang ditentukan, sample harus disimpan di refrigerator 5^o C.

Sedangkan pemeriksaan urin untuk keperluan mikrobiologi dilakukan dengan cara-cara tertentu dan menggunakan wadah khusus yang steril dan bertutup. Urin diambil dengan menggunakan cara clean mid-stream urine. Pada pria glans penis dibersihkan dengan cairan steril, sedangkan pada wanita orificium urethrae externum dibersihkan dengan cairan steril setelah kedua labia mayora dibuka. Urin aliran pertama dibuang, aliran tengah ditampung ke dalam botol steril, dan aliran terakhir dibuang. Setelah itu botol ditutup rapat, dan segera dikirim ke laboratorium. Bila terpaksa harus ditunda, urin disimpan dalam lemari es (refrigerator).

Pemeriksaan urin rutin meliputi pemeriksaan visual (warna, volume, bau, Kekeruan), pemeriksaan kimiawi dan pemeriksaan mikroskopis. Di samping pemeriksaan kimiawi konvensional, saat ini telah tersedia pemeriksaan kimiawi dengan reagen carik celup (dip-stick test) yang sangat sederhana, cepat dan akurat.

Pemeriksaan urin 24 jam (misalnya proteinuri 24 jam/Esbach), dilakukan dengan pengambilan sample yang harus dijelaskan kepada pasien dengan benar. Pasien diminta untuk menampung semua urinya dalam tempat yang telah disediakan. Sebelum ditampung, pada waktu tertentu (misalnya pk.06.00). Penderita harus mengosongkan kandung seninya dan dibuang. Selanjutnya setiap kali kencing ditampung di dalam wadah botol, dan terakhir tepat pukul 06.00 hari berikutnya. Urin dikocok sampai merata, diukur volomenya, dan diambil sebagian untuk diperiksa.

PEMERIKSAAN FISIK

1. JUMLAH (VOLUME)

Pada orang dewasa normal produksi urine kira-kira 1500 ml/24 jam. Jumlah ini sangat variable tergantung pada luas tubuh, pemakaian cairan, kelembaban udara, suhu udara. Abnormal:

- poliuria (jumlah meningkat) ditemukan pada diabetes mellitus, diabetes insipidus, nefritis khronika, edema yang menyembuh.
- Oliguria (jumlah berkurang) didapatkan pada beberapa penyakit ginjal yang akut, keadaan dehidrasi, cirrhosis hepatic, dan lain-lain.
- Anuria (tidak ada produksi urine) terdapat pada keadaan circulatory collaps (tek.darah systole kurang dari 70 mmHg), kegagalan ginjal mendadak , keracunan sublimite/HgCl₂ dan lain-lain.

II. WARNA

Normal berwarna “kuning muda” terutama karena urochrom.

Perubahan yang nonpatologis disebabkan oleh bahan/obat-obatan yang dimakan.

- Merah : phenolphthalein, protensil, rimactan
- Kuning : carotene, atebirin, riboflavin, santonin
- hijau : acriflavin
- biru : methylen blue

Perubahan-perubahan yang patologis

- kuning coklat (seperti the) : bilirubin , urobilin
- merah : eritrosit, hemoglobin, porfirin
- coklat : hematin, bilirubin, poribilin
- seperti susu : pus, gtah prostat, zat lemak

III.KEJERNIHAN

Urine normal dan baru biasanya jernih.

Kekeruhan dapat disebabkan karena :

- amorf urat, warna putih-merah jambu, terdapat pada urine asam dan hilang pada pemanasan.
- Fosfat amorf, hilang bila diberi asam
- Darah , merah sampai coklat
- Kuman-kuman biasanya tetap keruh setelah disaring/diputar.

IV. BAU

Urine yang masih baru biasanya baunya tidak keras, disebabkan oleh asam-asam yang mudah menguap. Dapat dipengaruhi oleh makanan. Setelah didiamkan agak lama berbau amoniak oleh karena pemecahan ureum. Aceton memberikan bau manis. Kuman-kuman menyebabkan bau busuk.

V. BERAT JENIS

Normal : rata-rata 1.020 (batas yang bisa dicapai : 1.003 – 1.030)

B.J. rendah : banyak minum, udara dingin, diabetes insipidus (lebih rendah 1.005)

B.J. tinggi : dehidrasi, diabetes mellitus, proteinuria dan lain-lain

Tehnik :

- isilah gelas ukur dengan urine sampai tiga perempat penuh
- Letakkan pada tempat datar. Bila berbuih, hilangkan dengan kertas saring atau tetesi setetes ether
- Masukkan urometer sambil diputar pada sumbunya. Perhatikan jangan sampai alat menyentuh dasar dan dinding gelas ukur.
- Baca pada batas meniscus (satu strip berarti 0.001)

Koreksi:

- Tiap urometer ditera pada suhu tertentu(misalnya 20...C). Lihatlah suhu kamar pada waktu itu. Tiap kenaikan 3...ditambah 0.001
- Apabila dibuat pengenceran, kalikanlah dua angka yang terakhir dengan pengenceran
- Jangan mengencerkan urine lebih dari tiga kali

VI. DERAJAD KEASAMAN (pH)

- Dengan kertas lakmus, sangat kasar

Biru : alkalis, merah : asam

- Kertas nitrazin

Masukkan kertas nitrasin kedalam urine (sebaiknya tiga kali). Tunggu satu menit. Cocokkan dengan warna standart.

- Dengan comperator block (lihat biokimia)
- Dengan pH meter

Catatan: Pemeriksaan pH urine harus dilakukan pada urine yang masih baru.

Urine yang sudah lama atau lebih alkalis oleh karena pengaruh kuman-kuman dan perubahan ureum menjadi ammonia.

PEMERIKSAAN CARIK CELUP (DIP-STICK TEST)

Pemeriksaan ini telah banyak digunakan menggantikan pemeriksaan kimiawi urin konvensional. Pemeriksaan dilakukan pada urin sebelum disentrifus. Stik reagen dicelupkan ke dalam urin sampai semua pita (daerah reagen) tercelup, kemudian segera diangkat dengan cara menempelkan pinggirnya pada mulut tabung untuk membuang kelebihan urin. Letakkan stik reagen di atas kertas tissue. Baca hasil sesuai perubahan warna yang terjadi, masing-masing pemeriksaan menurut waktu yang ditentukan, perubahan warna dicocokkan pada kartu warna standart yang telah disediakan. Perubahan warna yang terjadi sesuai dengan kadar bahan yang diperiksa.

1. Specific Gravity (berat jenis/BJ)

Prinsip:

Prinsip pemeriksaan berdasarkan perubahan pKa dari polielektrolit yang telah tersedia, karena konsentrasi ion-ion didalam urin. Bila konsentrasi elektrolit di dalam urin meningkat (high specific gravity), terjadi penurunan pKa polielektrolit pada reagen stik, sehingga menurunkan pH. Perubahan ini dideteksi dengan indikator bromthymol blue yang berubah warna dari biru-hijau menjadi hijau sampai kuning. Perubahan ini sesuai dengan nilai berat jenis. Nilai berat jenis berkisar antara 1,010 – 1,025

Sumber kesalahan:

Pada urin dengan konsentrasi protein antara 100-500 mg/dl, atau ketoasidosis, BJ cenderung meningkat.

2. pH

Prinsip:

pH ditentukan dengan dua indikator methyl red dan bromothymol blue. Kombinasi ini menghasilkan perubahan warna yang terjadi mulai dari oranye ke hijau, sampai biru, pada pH 5-8,5. Perubahan warna dicocokkan dengan kartu warna standart pada waktu yang ditentukan. pH orang normal berkisar 5-6.

Sumber kesalahan:

Bila urin diperiksa terlalu lama dari waktu pengambilan, maka pH akan berubah alkalin (> 7) akibat pertumbuhan bakteri yang merubah urea menjadi amoniak.

3. Glukosa

Prinsip:

Penentuan glukosa berdasarkan reaksi ensimatik. Glucose oxidase mengkatalisa oksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hydrogen peroksida. Peroksida

dengan adanya peroksidase mengoksidasi indikator yang menghasilkan perubahan warna. Gula yang lain (laktosa, fruktosa, galaktosa, pentosa) tidak bereaksi dengan glucose oxidase.

Sumber kesalahan:

Ascorbid acid (vitamin C) dan obat salisilat menyebabkan rendah palsu.

Sisa – sisa deterjen yang mengandung peroksida atau bahan oksidator kuat lainnya pada botol penampung urin menyebabkan positif palsu.

4. **Keton**

Prinsip :

Stik reagen keton mengandung sodium nitroprusside dan buffer alkalin yang akan berubah warna menjadi violet bila bereaksi dengan keton. Perubahan warna yang terjadi sesuai dengan kadar keton dalam urin. Pemeriksaan ini sensitive untuk acetoacetic acid dan acetone, tetapi tidak bereaksi dengan betahydroxybutyric acid.

5. **Protein**

Prinsip :

Pemeriksaan kolorimetrik ini berdasarkan pada kemampuan protein untuk merubah warna dari beberapa indikator asam basa (3',3',5',5' - tetrachlorophenol-3,4,5,6,-tetrabromosulfophtalein tanpa merubah pH.

Sumber kesalahan :

Positif palsu dapat disebabkan selama atau setelah infus polyvinylpyrrolidone (blood substitute), botol penampung yang mengandung sisa desinfektan.

6. **Lekosit**

Prinsip:

Stik reagen mengandung indoxyl. Dengan adanya oksigen dari atmosfer indoxyl dioksidasi menjadi indigo yang berwarna biru dan menyebabkan perubahan warna.

Sumber kesalahan:

Negatif atau rendah palsu dapat disebabkan oleh gross albuminuria dan vitamin C. Penggunaan pengawet urin tidak dianjurkan karena mempengaruhi reaksi.

7. **Nitrit**

Nitrit adalah hasil reduksi nitrat oleh bakteri penyebab infeksi saluran kemih terutama Escherichia coli.

Prinsip:

Nitrat bereaksi dengan aromatic amine sulfanilamide dalam medium buffer asam membentuk garam diazonium yang akan berikatan dengan 3-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro -7,8-benzoquinoline membentuk warna azo. Intensitas warna merah ini sebanding dengan konsentrasi nitrit.

Sumber kesalahan:

Peningkatan diuresis disertai frekuensi miksi yang sering, pengenceran urin (terlalu banyak minum) menyebabkan negative palsu. Kelaparan,puasa,pasein yang mendapat fed intravenously, diet tanpa sayuran, vitamin C dosis tinggi, menyebabkan negative palsu juga. Pemeriksaan yang dikerjakan terlalu lama menyebabkan negative palsu ataupun positif palsu. Positif palsu akibat kontaminasi bakteri, sedangkan negative palsu karena nitrit direduksi oleh bakteri menjadi nitrogen. Positif palsu disebabkan oleh terapi obat phenazopyridine.

8. Urobilinogen

Prinsip:

Garam diazonium (4-methoxybenzenediazonium fluoborate) bereaksi dengan urobilinogen dalam medium buffer asam menghasilkan warna merah diazo. Intensitas warna merah sebanding dengan konsentrasi urobilinogen.

Sumber kesalahan:

Negatif palsu disebabkan oleh urobilinogen yang teroksidasi bila urin terlalu lama disimpan terutama bila terkena matahari, keracunan formaldehyde, terapi dosis tinggi methenamine, atau bila urin diawetkan dengan formalin. Positif palsu disebabkan oleh obat-obatan yang menyebabkan urin berwarna merah (phenazopyridine).

9. Bilirubin

Garam diazonium (2-6-dichlorobenzenediazonium fluoborate) bereaksi dengan bilirubin dalam buffer asam menghasilkan warna red-violet azo yang mempengaruhi perubahan warna menjadi violet. Intensitas perubahan warna sebanding dengan konsentrasi bilirubin.

Sumber kesalahan:

Negatif palsu disebabkan karena vitamin C dosis tinggi, nitrit pada urin (infeksi saluran kencing) dan pemaparan terhadap sinar matahari. Positif palsu disebabkan karena obat yang mempengaruhi warna urin menjadi merah (phenazopyridine)

10. Darah

Prinsip :

Hemoglobin dan myoglobin mengkatalisa oksidasi dari berwarna (organic hydroperoxide) menjadi warna hijau kebiruan.

Sumber kesalahan:

Negatif palsu disebabkan karena nitrit (>10 mg/ml), dan pemakaian pengawet formalin. Proteninuria > 5 g/l melemahkan reaksi di atas. Positif palsu disebabkan oleh deterjen yang mengkontaminasi tempat sample kelemahan dari tes ini karena tidak hanya mendeteksi eritrosit yang mengandung hemoglobin saja, tetapi myoglobin juga terdeteksi (pada kerusakan atau trauma otot)

PEMERIKSAAN KIMIAWI KONVENSIONAL

I. Protein

Sebelum pemeriksaan, urine harus disaring atau diputar lebih dahulu untuk menghilangkan pengaruh bagian-bagian berbentuk (formed-element umpama sel-sel darah, bakteri, torak) yang dapat memberikan reaksi positif semu (false positif)

A. Percobaan Rebus

Prinsip: Protein yang ada dalam keadaan koloid ditambah asam acetate akan tercapai atau mendekati titik iso-elektrik protein, pemanasan selanjutnya mengadakan denaturasi dan terjadilah presipitasi.

Cara pemeriksaan:

1. Putarlah 10 ml urine, tuangkan supernatannya kedalam tabung reaksi kira-kira 3 ml.
2. Panaskan sampai mendidih dengan api kecil, bila timbul endapan mungkin oleh karena fosfat.
3. Tetesi 2-3 tetes asam cuka 6%. Rebus lagi sampai mendidih
4. biarkan dingin, lalu baca hasilnya.
 - a. negative : tetap jernih (bandingkan dengan control)
 - b. positif : terlihat kekeruhan yang minimal (kwantitatif) :
(+ 1) : 0.01 – 0.05 gr %. Hurup cetak pada kertas masih dapat dibaca menembus kekeruhan ini.
+ 2 : kekeruhan nyata dengan butir-butir halus
Garis tebal dibaliknya masih terlihat.

Kwantitatif kira-kira 0,05-0.2 gr%

+3: terlihat gumpalan yang nyata.

Kwantitatif kira-kira 0.2-0.5gr%

+4:gumpalan-gumpalan besar atau membeku.

Kwantitatip lebih dari 0.5 gr %.

B. Dengan asam sulfosalisilat

Prinsip : protein + as.Sulfosalisilat-+denaturasi- + presipitasi

Cara :

1. Dua tabung reaksi diisi masing – masing dengan 2 ml urine jernih (supernatannya).
2. Pada salah satu tabung ditambahkan 8 tetes asam sulfosalisilat 20%. kocoklah.
3. Bandingkan isi tabung pertama dengan kedua
Negatif :kedua isi tabung sama jernih
Positif :penilaian sama dengan percobaan rebus.
4. Jika tabung pertama lebih keruh daripada yang kedua (+) panasilah tabung pertama itu diatas nyala api sampai mendidih dan kemudian di dinginkan kembali, maka jika:
 - a. Kekeruhan tetap ada pada waktu pemanasan dan tetap ada juga setelah dingin kembali, test terhadap protein positif.
 - b. Kekeruhan itu hilang pada waktu pemanasan, tetapi muncul lagi setelah dingin, maka kemungkinan adanya protein Bence Jones perlu diselidiki lebih lanjut.

C.Protein kwantitatif menurut Esbach

Prinsip : Asam pikrat dapat mengendapkan protein. Endapan ini dapat diukur secara kwantitatif.

Reagens Esbach :

- | | |
|---------------|--------|
| - asam pikrat | 10 |
| - asam sitrat | 20 |
| - aquadest ad | 1000ml |

Cara pemeriksaan :

1. urine 24 jam dikumpulkan dan diukur volumenya.
Aduklah perlahan-lahan henigga merata

2. ambil urine secukupnya, tetesi beberapa tetes asam cuka hingga pH dibawah 6, lalu saring sampai jernih
3. isi tabung Esbach dengan urine sampai " U "
4. tambahkan reagens Esbach sampai tanda " R "
5. tutup dengan gabus, bolak balikkan beberapa kali (12) dan diamkan selama 24 jam
6. baca hasilnya (tinggi endapan yang terjadi). Angka-angka menunjukkan jumlah protein dalam "gram/liter"

Catatan

Apabila hasil pembacaan lebih dari 4 gr/liter, biasanya kurang tepat, oleh karena itu jika percobaan rebus +2, atau lebih, encerkan urine terlebih dahulu 5 – 20 kali. Untuk mengetahui total protein dalam 24 jam, angka terbaca dikalikan volume urine dalam

Liter, menghasilkan jumlah gr/24 jam. Apabila pada dasar tabung Esbach ditambahkan sedikit bubuk Barium Sulfat pengendapan akan dipercepat dan pembacaannya dapat dilakukan setelah 30 menit.

D. Protein Bence Jones

Prinsip: protein Bence Jones adalah suatu proteose yang mengendap pada suhu 40⁰- 60⁰.

Cara pemeriksaan :

1. Tetesi 10 ml urine yang jernih dengan beberapa tetes asam acetat 10%
2. Panaskan sampai mendidih, saring, filtrate yang terjadi harus jernih (bebas dari protein serum)
3. Biarkan beberapa saat, sampai suhu kira-kira 50⁰ C akan terjadi endapan putih apabila protein Bence Jonse Positif.

Catatan:

- c. Lebih baik dipanaskan dalam penangas air. Pada suhu 40⁰ akan terjadi endapan dan apabila dipanaskan terus, setelah melampaui 60⁰ C akan melarut lagi.
- d. Protein ini terdapat pada:
 1. Multiple myeloma (sering)
 2. Tumor tulang
 3. Leukemia khronis

4. Empyema
5. Hyper-parathyroidism
6. Nefritis khronis dengan hipertensi dan edema
7. Kadang pada orang dengan hipertensi.

II.REDUKSI

Prinsip : Zat-zat yang mempunyai gugusan aldehyde merupakan reduktor yang akan mereduksi cupri menjadi cupro, yang selanjutnya CuO_2 yang terjadi akan mengendap dan berwarna merah. Zat-zat reduktor antara lain:

- | | | |
|-------------------|-------------|-----------------|
| e. Glucose | -Vitamin | -streptomycine |
| f. Lactose | - galaktose | - amidopyrin |
| g. asam salisilat | - formalin | - dan lain-lain |

A. Cara Fehling

Reagensia : Fehling A : Cupri sulfat	69,3
Aquadest ad	1000 ml
Fehling B : K Na tartrat	346
Na hidroksida	100
Aquadest ad	1000 ml

Cara pemeriksaan:

1. Kedalam sebuah tabung campurlah 2 ml Fehling A dan 2 ml Fehling B.Tambahkan 1 ml urine (biasanya terlebih dahulu sudah disediakan campuran fehling A dan B, dalam hal ini campurlah satu bagian urine dengan empat bagian reagens)
2. Panaskan dengan api kecil sampai mendidih
3. Biarkan dingin dan baca hasilnya

Negatif : tetap biru atau hijau jernih

- + 1 : keruh warna hijau agak kuning
- + 2 : Kuning kehijauan dengan endapan kuning
- + 3 : kuning kemerahan dengan endapan kuning merah
- + 4 : merah jingga sampai merah bata

B.Cara Benedict

Reagens : $CuSO_4$ 5 aq	17,3
Na-sitrat	173
Na- carbonat	100

Cara pemeriksaan:

1. 5 ml reagens ditambah 8 tetes urine (dapat juga 2,5 ml reagens dengan 4 tetes urine)
2. Dipanaskan dengan api kecil sampai mendidih, atau masukkan dalam penangas air dengan air mendidih selama 5 menit. Dinginkan
3. Baca hasilnya seperti pada Fehling

III.ACETON DAN DIACETIC ACID (ACETO-ACETIC ACID)

Cara Rothera (satu modifikasi)

Prinsip : Na-nitroprusida dalam suasana alkalis terpecah menjadi $\text{Na}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, NaNO_2 dan $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Bahan ini dapat mereduksi aceton dan diacetic acid dan memberi warna ungu.

Reagens :

- a. Reagens Rothera : - Na-nitroprusida 5 gr
- Ammonium sulfat 200 gr (kristal)
- b. NH_4OH 28%

Cara pemeriksaan :

1. Satu gram kristal reagen Rothera ditambah 5ml urine, kocok sampai kristal menjadi larut.
2. Peganglah tabung dalam sikap miring dan tambahkan 1-2 ml NH_4OH 28% melalui dinding tabung sehingga terbentuk dua lapisan.
3. Letakkan tabung dalam sikap tegak, bacalah hasilnya setelah tiga menit.

Negatif : tidak terlihat perubahan warna pada perbatasan kedua lapisan

Positif : terlihat cincin ungu tipis

Positif kuat : cincin ungu segera timbul dan lebar.

Catatan:

- h. Karena diacetic acid mudah menjadi acetone, sedang reaksi ini lebih sensitive terhadap acetic acid, dan acetone mudah menguap, maka reaksi ini harus segera dikerjakan.
- i. Apabila pada pemeriksaan glucose +++ atau ++++ sebaiknya juga dikerjakan reaksi acetone meskipun tidak diminta.

IV.BILIRUBIN

Cara Harrison

Prinsip: Bilirubin diabsorpsi dengan $BaCl_2$ kemudian dioksidasi dengan $FeCl_3$, dalam larutan asam trichloroasetat menjadi biliverdin dan bilipurpurin berwarna hijau sampai hijau biru.

Regansia : 1. Larutan $BaCl_2$ 10%

11. Fouchet : asam trichloroasetat 25 gr dalam 100 ml
Aquadest ditambah 10 ml $FeCl_3$ 10%.

Cara pemeriksaan :

1. Urine 3 ml dicampur $BaCl_2$ 10% ana
2. Endapan di saring dan filtrat ditampung dalam tabung reaksi lain (simpan filtratnya untuk pemeriksaan urobilin)
3. Kertas saring diambil dan endapan ditetesi dengan 1-2 tetes reagens fouchet.
4. Hasil :
Negatif : tidak ada perubahan warna atau coklat
Positif : terjadi warna hijau yang makin lama makin jelas

Catatan:

- Urine yang mengandung bilirubin biasanya pada pemeriksaan fisis berwarna kuning coklat seperti the dan apabila dikocok akan memberikan buih yang berwarna kuning
- Bilirubin dalam larutan tidak stabil, oleh karena itu pemeriksaan harus dikerjakan segera.

V.UROBILIN

Prinsip : Urobilin dengan Zn acetate atau Zn Chlorida akan terbentuk senyawa yang memberikan fluoresensi hijau

Regansia:

1. Reagens Schlesinger : suspensi Zn acetate jenuh dalam alcohol
2. Lugol 1%

Cara pemeriksaan:

1. 3 ml filtrate dari pemeriksaan bilirubin (Harrison), dicampur dengan reagen Schlesinger ana.
2. Ditambah 1-2 tetes lugol 1%
3. Disaring sampai jernih. Filtrat dilihat ditempat terang dengan latar belakang hitam.

4. Hasil positif jika terjadi fluoresensi hijau.

Catatan:

- pemeriksaan ini subyektif
- urine yang masih segar mengandung urobilinogen, untuk mengubah secara cepat menjadi urobilin perlu ditambah jodium (oksidator)

PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS (SEDIMEN)

Cara membuat sediment:

- Campurlah urine sampai merata
- Masukkan 8 ml urine itu kedalam tabung sentrifuge dan pusinglah selama 5 menit pada 1500-2000 rpm.
- Tuangkan supernatannya, tinggalkan ½ ml.
- Campurlah sisa ½ ml tadi dengan mengocok pelan-pelan, ambillah setetes dan letakkan pada gelas obyek, lalu tutup dengan gelas penutup (tetesan jangan terlalu tebal).
- Letakkan pada meja mikroskop dalam posisi mendatar, diamkan sebentar.
- Periksa dengan sinar yang lemah (dengan menggunakan kondensor, diafragma agak tertutup).

Pengamatan

Dengan menggunakan pembesaran kecil (obyek 10) periksa seluruh lapangan sepintas lalu, perhatikan bila ditemukan:

- kristal
- silinder
- gerombolan lekosit/eritrosit

Kemudian dengan pembesaran obyektif 45 dan hitunglah:

- jumlah lekosit/lpb
- jumlah eritrosit/lpb yang paling sedikit dan paling banyak.
- jumlah parasit/lpb

Laporan:

Silinder dilaporkan jumlah rata-rata/lpb (lapangan pandang kecil = obyek 10)

Lekosit, eritrosit, parasit dilaporkan jumlah rata-rata/lpb (lapangan pandang besar = obyektif 45).

Epitel, kristal dilaporkan : +1 : ada
 +2 : banyak

+3 :banyak sekali

Identifikasi unsure –unsur sedimen urine

1. Sel eritrosit

Tampak sebagai bulatan yang berwarna hijau pucat dan jernih.

Bila urine tidak baru, warnanya lebih pucat atau bahkan berwarna karena Hb terlarut. Pada urine yang pekat sel tersebut keriput.

Harus dibedakan dengan:

- gelombang udara, sangat membias, batasnya sangat tajam, tidak berwarna, besarnya bermacam-macam.
- Butir-butir lemak, besarnya tidak tertentu, lebih membias cahaya dapat menghisap zat warna sudan III.
- Sel ragi, umumnya lebih besar, didalamnya terlihat struktur, tidak jernih, kadang – kadang terlihat budding (menunjukkan bintik tunas)

2. Lekosit

Tampak sebagai bulatan lebih besar dari eritrosit, warnanya putih didalamnya terdapat bintik-bintik inti sel.

3. Epitel

Sel besar dan trasnparan, berinti satu jelas,lebih besar dari lekosit

4. Silinder (torak,cast)

Torak adalah suatu bentukan yang merupakan cetakan dari lumen tubuli yang terjadi dari koagulasi protein. Oleh karena itu bentuknya bulat panjang,massif, tepinya sejajar, panjangnya tidak tertentu ujungnya tumpul atau terputus. Dapat terlihat jelas pada **sinar yang minimal**.

a. Torak hyaline

Homogen tidak berwarna, semitrasparan. Biasanya ujungnya bulat

b. Torak berbintik (granular cast)

Torak hyaline yang berisi bintik–bintik berasal dari sisa-sisa sel epitel tubuli yang rusak

1. Finely granular cast (torak berbintik halus). Merupakan torak hyaline yang berisi bintik-bintik halus, warna abu-abu kadang-kadang kuning pucat.
2. Coarsely granular cast (torak berbintik kasar)
Bintik-bintiknya lebih besar, warnanya lebih gelap, kadang-kadang berwarna coklat tua karena sisa – sisa pigmen darah.

c. Waxy cast (torak lilin)

Lebih membias cahaya , tidak berwarna ,atau agak abu-abu,lebih lebar dari torak hyaline, lebih padat, tepinya seolah-olah beruas ujungnya terputus terjal.

d. Fibrinous cast (torak fibrin)

Seperti waxy cast, hanya warnanya kuning atau coklat

e. Epithelial cast (torak epitel)

Hyalin cast yang berisi sel-sel epitel

f. Blood cast (torak darah = silinder erytrosit)

Torak hyaline yang penuh dengan sel-sel darah merah

g. Pus cast (torak nanah = silinder leukosit)

Torak hyaline yang berisi sel-sel darah putih

h. Fatty cast (torak lemak)

Torak yang berisi butir-butir lemak yang sangat membias cahaya, besarnya tidak sama. Dapat menghisap cat Sudan III.

5. Benang-benang mucous

Seperti Hyaline, lebih langsing, umamnya panjang berombak-ombak.

6. Cylindroid (torak semu)

Mempunyai torak hyaline, tetapi ujungnya meruncing dan umumnya lebih panjang dan berbelok-belok

7. Oval fat bodies

Sel epitel tubuli yang penuh dengan bintik-bintik lemak.

Sangat membias cahaya, dapat menghisap cat Sudan III

8. Bentuk lain-lain

A. Bahan-bahan amorf

1. Pada urine asam : Kalium, Natrium – Urat amorf (kadang-kadang garam Ca atau Mg). Bentuknya tidak tertentu, seringkali berupa bintik yang berwarna merah bata atau coklat.

Hilang pada pemanasan atau diberi basa. Tidak mempunyai arti klinik.

2. Pada urine alkalis : Fosfat amorf (dari garam-garam Mg.Ca). Bentuknya tidak tertentu, tidak berwarna. Tidak hilang dengan pemanasan atau pemberian basa. Klinis tidak penting

B. Kristal-kristal

1. Pada urine asam :

- a. Asam urat : warna kuning coklat, pipih berbentuk romboid atau seperti rosete
 - b. Na-urat : tak berwarna atau agak kuning, berbentuk prisma langsing memanjang. Tersusun seperti kipas
 - c. Calcium Sulfat : berbentuk prisma memanjang ujungnya tumpul, tidak berwarna
2. Pada urine netral atau agak alkalis
- a. Calcium oksalat : berbentuk seperti amplop, tidak berwarna
 - b. Asam hippurat : seperti prisma halus menyerupai jarum
3. Pada urine alkalis, netral atau agak asam:
- a. Amm.Mg.Phosphat (triple Phosphat) : berbentuk seperti peti mayat, tidak berwarna
 - b. Dicalcium phosphate : berbentuk prisma, tidak berwarna, tersusun seperti bintang atau rosete.
4. Pada urine yang alkalis :
- a. Calcium carbonat : berbentuk butir-butir, tidak berwarna
 - b. Ammonium biurat : berbentuk bulat berwarna kuning dan terdapat tonjolan-tonjolan radier

TES SEROLOGI HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG)

Pendahuluan :

Tes hCG merupakan tes aglutinasi latex untuk menentukan hormon chorionic gonadotropin pada urine manusia secara kualitatif. Tes ini bertujuan untuk deteksi dini kehamilan. Hormon hCG di sekresi oleh plasenta setelah terjadi fertilisasi dan akan terjadi peningkatan yang tinggi (100.000 IU/ml) sampai tri semester I kehamilan.

Prinsip tes:

Partikel latex yang telah dilapisi antibodi monoklonal terhadap hCG, bila ditambahkan dengan urine yang mengandung hormon hCG maka akan terjadi aglutinasi atau hasilnya positif. Bila aglutinasi tidak terjadi, dikatakan hasilnya negatif.

Reagen:

1. Reagen latex yang dilapisi antibodi monoklonal hCG (mouse) dalam buffer dan 0,1 % sodium azide.
2. Kontrol positif berisi hCG dalam buffer dan 0,1 % sodium azide.
3. Kontrol negatif berisi buffer dan 0,1 % sodium azide

Pengumpulan spesimen:

Spesimen urine harus di tempatkan dalam tempat plastik atau gelas yang bersih dan kering. Urine pagi hari umumnya mengandung hormon hCG dengan konsentrasi paling tinggi. Urine dapat disimpan dalam suhu 2 – 8°C sampai 3 hari dan apabila akan dilakukan pemeriksaan, harus dibiarkan dalam temperatur kamar.

Material yang diperlukan:

1. Reagen latex
2. Kontrol positif
3. Kontrol negatif
4. Pipet
5. Slide kaca

Prosedur pemeriksaan:

1. Pada slide kaca teteskan 1 tetes urine
2. Teteskan 1 tetes kontrol positif dan kontrol negatif
3. Tambahkan masing-masing 1 tetes reagen latex
4. Campur dengan cara memutar dengan menggunakan pengaduk plastik dan goyang
5. Baca hasilnya

Interpretasi:

- Tes negatif : aglutinasi tidak terjadi dalam 2 menit
- Tes positif : terjadi aglutinasi dalam 2 menit.

PUSTAKA

- Chernecky CC, Berger BJ (2008). Laboratory Tests and Diagnostic Procedures, 5th ed. St. Louis: Saunders.
- Fischbach FT, Dunning MB III, eds. (2009). Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Fritz MA, Speroff L (2011). Male infertility. In Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 8th ed., pp. 1249-1292. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Pagana KD, Pagana TJ (2010). Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests, 4th ed. St. Louis: Mosby.

PETUNJUK PRAKTIKUM ANALISA SPERMA

Pemeriksaan analisa sperma atau semen dikerjakan dengan tujuan untuk menginvestigasi laki-laki pasangan infertil untuk mengetahui apakah laki-laki tersebut normal atau mempunyai kelainan pada sperma atau semennya; dan mengevaluasi keberhasilan dari tindakan vasektomi.

a. Metode pengambilan sampel

1. Masturbasi, yaitu cairan semen dikeluarkan sendiri oleh pasien. Kemudian semen ditampung pada botol bersih
2. Intercourse, yaitu dilakukan dengan berhubungan sexual dengan pasangannya, dan pasien tersebut menggunakan collection condom untuk menampung cairan tersebut
3. Coitus interruptus, yaitu dengan berhubungan sexual dengan pasangannya, kemudian ejakulasi dilakukan di luar genetalia pasangannya, dan cairan ditampung pada botol

b. Parameter yang diperiksa :

1. Volume , volume normal semen adalah 2-5 ml perejakulasi
2. Waktu likuefaksi (mencair), yaitu waktu yang diperlukan semen yang kental hingga mencair atau menjadi encer. Waktu normal likuefaksi adalah 20-30 menit setelah pengambilan. Bila memanjang, diduga dapat disebabkan karena suatu infeksi
3. pH, pH normal semen adalah 7,1-8. PH yang rendah ataupun tinggi dapat membunuh sperma, ataupun mempengaruhi kemampuan gerak sperma atau penetrasinya ke ovum.
4. Jumlah sperma. Klasifikasi menurut WHO (2010) sebagai berikut :
 - Normospermia : > 15 juta/ml
 - Oligozoosperma : < 15 juta/ml
 - Azoospermia : sama sekali tidak dijumpai sperma
5. Motilitas (pergerakan). Motilitas sperma harus diperiksa <60 menit setelah pengambilan sampel. Menurut WHO motilitas sperma yang normal adalah 50% dari sperma dapat bergerak maju. Sedangkan Vitalitas yang normal bila 60% dapat bergerak maju dari yang normal.

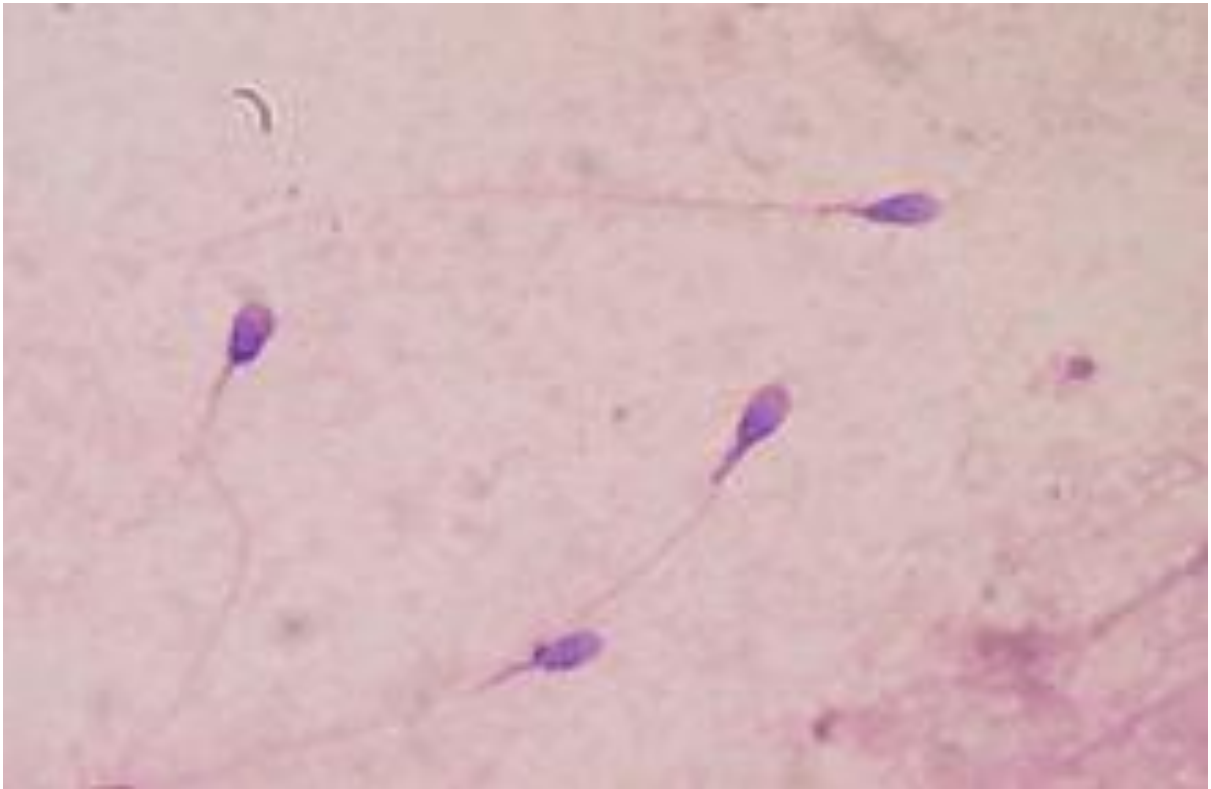
Derajat motilitas :

- a. Sperma dengan motilitas yang progresif, kencang, dan linier ke depan

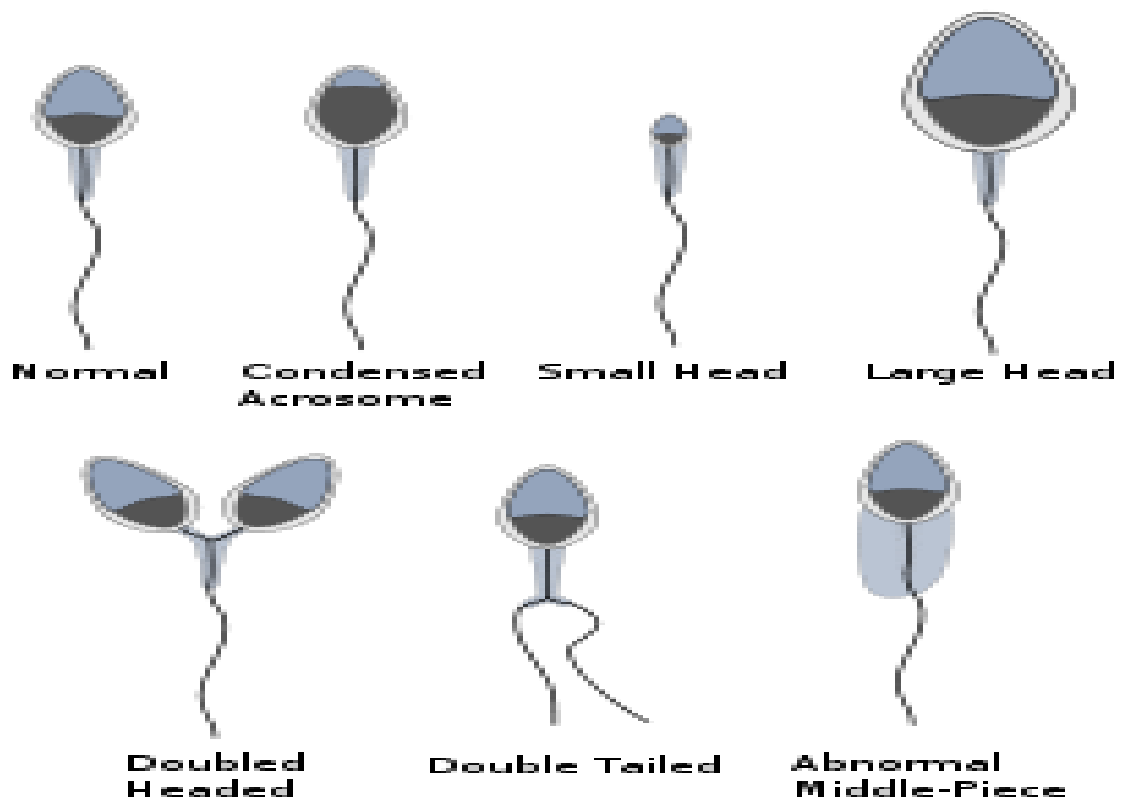
- b. Sperma dengan pergerakan ke depan tetapi tidak linier (curved atau crooked motion)
 - c. Sperma tidak bergerak ke depan tetapi melingkar
 - d. Sperma tidak bergerak
6. Morfologi. Dari bentuk-bentuk sperma diklasifikasikan sebagai berikut :
- Normal : > 30% morfologi normal. Bila memakai Kruger criteria 14% morfologi normal
 - Abnormal : morfologi abnormal anatara lain 2 ekor, atau 2 kepala, atau ekornya pendek, dll
7. Lekosit . Pada semen yang normal tidak dijumpai sel lekosit ataupun bakteri. Bila dijumpai lekosit, kemungkinan terdapat infeksi
8. Kadar fruktosa. Kadar frukstosa pada semen adalah 3 mg/ml. Kadar yang abnormal kemungkinan dapat disebabkan karena kelainan pada seminal vesicle.
- c. Prosedur pemeriksaan morfologi sperma :
1. Teteskan sperma dengan pipet pada obyek glass, kemudian tutup dengan cover glass.
 2. Periksa morfologi sperma di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyektif 10x dan 40x
- d. Prosedur pemeriksaan jumlah sperma :
1. Siapkan kamar hitung neubauer
 2. Buat campuran 20 ul semen ditambah dengan 500 ul NaHCO_3 . Teteskan pada kamar hitung neubauer yang telah ditutup dengan cover glass. Periksa di bawah mikroskop di daerah kamar hitung eritrosit.

Sperma normal menurut guidelines WHO 2009, sebagai berikut :

- Semen volume : 1,5 ml
- Total sperma pada ejakulat: 39 juta
- Sperma per ml : 15 juta
- Vitalitas : 58 % hidup
- Motilitas progresif : 32 %
- Motilitas total : 40%
- Morfologi normal : 4%



Gambar sperma



PUSTAKA

Chernecky CC, Berger BJ (2008). Laboratory Tests and Diagnostic Procedures,
5th ed. St. Louis: Saunders.

Fischbach FT, Dunning MB III, eds. (2009). Manual of Laboratory and Diagnostic Tests,

LAPORAN HASIL PRAKTIKUM

Nama Mahasiswa : _____

NIM : _____

Kelompok : _____

Judul Praktikum : _____

Hasil Pengamatan :

Diskusi :

Kesimpulan :

Pembimbing,

()

LAPORAN HASIL PRAKTIKUM

Nama Mahasiswa : _____

NIM : _____

Kelompok : _____

Judul Praktikum : _____

Hasil Pengamatan :

Diskusi :

Kesimpulan :

Pembimbing,

()