



UMM

www.umm.ac.id

PETUNJUK PRAKTIKUM HEMATOLOGI

BLOK HEMATOLOGI SISTEM LIMFATIK II

NAMA :

NIM :

KELAS :

LABORATORIUM BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

2023

DAFTAR ISI

1. Teknik Flebotomi	7
2. Pengukuran kadar hemoglobin	9
3. Pengukuran laju endap darah.....	12
4. Pengukuran hematokrit (Hct) /packed cell volume (PCV)	13
5. Penghitungan jumlah sel leukosit	14
6. Penghitungan jumlah sel eritrosit.....	16
7. Penghitungan jumlah sel trombosit.....	17
8. Penghitungan jumlah sel retikulosit	18
9. Pengecatan Wright.....	21
10. Evaluasi hapusan darah tepi	22
11. Pemeriksaan bleeding time (masa perdarahan)	24
12. Pemeriksaan clotting time (masa pembekuan)	24
13. Pemeriksaan golongan darah.....	25
14. Pemeriksaan reaksi silang serasi (cross match)	26
15. Pembacaan Darah Lengkap Automatic-Flowcytometri	28
16. Evaluasi Hapusan Darah Abnromal.....	31

JUDUL KETERAMPILAN: PRAKTIKUM HEMATOLOGI

Penulis: dr. Diah Hermayanti, SpPK, Dr.dr. S. Agustini, SpPK

I. Tingkat Kompetensi Keterampilan

Berdasarkan standar kompetensi dokter yang ditetapkan oleh KKI tahun 2020, maka tingkat kompetensi pemeriksaan Hematologi adalah seperti yang tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Tingkat kompetensi ketrampilan pemeriksaan Hematologi (KKI, 2020)

Jenis ketrampilan	Tingkat kompetensi
1. Flebotomi	4
2. Pengukuran kadar hemoglobin	4
3. Pengukuran laju endap darah	4
4. Pengukuran hematokrit	4
5. Hitung sel eritrosit	4
6. Hitung sel lekosit	4
7. Hitung sel trombosit	4
8. Pengecatan wright	4
9. Hitung sel retikulosit	4
10. Evaluasi hapusan darah tepi normal	4
11. Pemeriksaan bleeding time	4
12. Pemeriksaan clotting time	4
13. Pemeriksaan golongan darah	4
14. Pemeriksaan cross match	4
15. Evaluasi hapusan darah tepi abnormal	2

Keterangan:

Tingkat kemampuan 1 Mengetahui dan Menjelaskan

Tingkat kemampuan 2 Pernah Melihat atau pernah didemonstrasikan

Tingkat kemampuan 3 Pernah melakukan atau pernah menerapkan di bawah supervisi

Tingkat kemampuan 4 Mampu melakukan secara mandiri

II. Tujuan Belajar

1. Mahasiswa mampu menjelaskan konsep pengetahuan tentang pemeriksaan Darah lengkap, faal hemostasis, dan transfusi darah
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan :
 1. Tindakan Flebotomi (pengambilan sampel darah vena)
 2. Pengukuran kadar hemoglobin
 3. Pengukuran laju endap darah

4. Pengukuran hematokrit
5. Hitung sel eritrosit
6. Hitung sel lekosit
7. Hitung sel trombosit
8. Pengecatan wright
9. Hitung sel retikulosit
10. Evaluasi hapusan darah tepi
11. Pemeriksaan bleeding time
12. Pemeriksaan clotting time
13. Pemeriksaan golongan darah
14. Pemeriksaan cross match
15. Pemeriksaan mikroskopis kelainan darah

III. Prerequisite knowledge

Sebelum memahami konsep pemeriksaan Hematologi mahasiswa harus:

1. Memahami anatomi vena perifer
2. Memahami Histologi dan fisiologi sel darah

IV. Kegiatan Pembelajaran

Pembelajaran dilakukan dalam tahapan sebagai berikut:

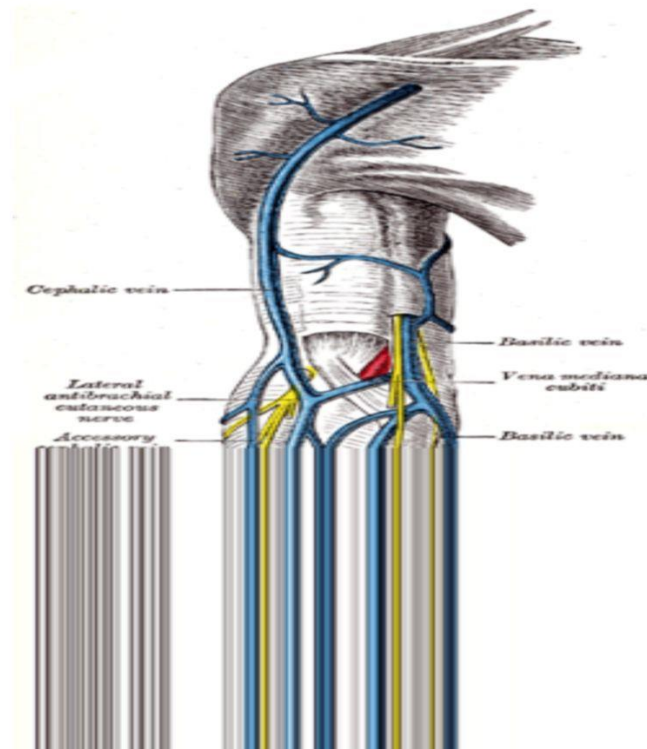
No.	Tahapan pembelajaran	Lama	Metode	Pelaksana/ Penanggung Jawab
1	Flebotomi	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Pengukuran kadar hemoglobin			
	Pengukuran laju endap darah			
	Pengukuran hematokrit			
2	Hitung sel eritrosit	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Hitung sel lekosit			
	Hitung sel trombosit			
3	Pengecatan wright	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Hitung sel retikulosit			
4	Hitung jenis leukosit	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Evaluasi hapusan darah tepi			
5	Pembacaan darah lengkap automatic-flowcytometry	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
6	Pemeriksaan bleeding time	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Pemeriksaan clotting time			
7	Pemeriksaan golongan darah ABO & Rhesus	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK
	Pemeriksaan cross match			
8	Evaluasi hapusan darah abnormal :	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK

	<ul style="list-style-type: none"> - Anemia hipokrom mikrositik - ALL - CLL 			
9	Evaluasi hapusan darah abnormal : <ul style="list-style-type: none"> - AML - CML 	2 x 50 menit	Praktikum	DR.dr. SM. Agustini, SpPK dr. Diah Hermayanti, SpPK

V. Sumber belajar

Anatomi pembuluh darah lengan

Flebotomi direkomendasikan dilakukan pada pembuluh darah vena lengan yang terletak di lipatan siku, terutama di vena mediana cubiti. Vena tersebut mudah terlihat karena berukuran relatif besar, dan berada dalam suatu cekungan sehingga saat dilakukan flebotomi lebih mudah dan terfiksasi dalam cekungan tersebut (tidak bergerak-gerak).



Gambar 1. Anatomi Pembuluh Darah Vena Lengan

Histologi sel

Sel darah manusia terbagi menjadi tiga golongan besar berdasarkan morfologi dan fungsinya, yaitu : eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan trombosit (keping darah). Sedangkan leukosit, merupakan kumpulan sel yang berfungsi dalam pertahanan tubuh, terdiri dari sel : eosinofil, basofil, netrofil, limfosit, dan monosit.

Fisiologi Sel darah

1. Sel eritrosit berfungsi terutama dalam transpor gas darah yaitu oksigen dan karbondioksida. Kemampuan ini dikarenakan sel eritrosit mengandung molekul hemoglobin yang mampu mengikat oksigen dari alveoli paru-paru, yang selanjutnya ditranspor secara sistemik menuju seluruh sel dalam tubuh. Dalam pembuluh darah kapiler selanjutnya oksigen dilepaskan dan berganti mengikat karbondioksida yang akan ditranspor ke paru-paru untuk diekskresikan.
2. Sel leukosit berfungsi dalam pertahanan tubuh sesuai dengan masing-masing jenis leukosit.
 - a. Sel neutrofil
Sel neutrofil berfungsi terutama dalam melawan infeksi dalam tubuh. Granula azurofilik dalam sel tersebut mampu membunuh bakteri yang masuk dalam tubuh.
 - b. Sel limfosit
Sel limfosit ada tiga jenis yang dapat dibedakan berdasarkan pemeriksaan antigen cluster of differentiation (CD) pada permukaan selnya.
 - Sel limfosit T, berperan terutama berfungsi sitotoksik
 - Sel limfosit B, terutama berfungsi memproduksi antibodi
 - Natural killer cell, terutama berfungsi dalam menghentikan sel yang mengalami mutasi atau kerusakan sel.
 - c. Sel monosit
Sel monosit terutama berperan dalam memfagosit benda-benda asing yang menginfeksi tubuh, sekaligus berfungsi sebagai antigen presenting cells (APCs) sehingga mikroba yang menginfeksi dapat dikenali oleh sel Limfosit.
 - d. Sel eosinofil dan Sel basofil
Sel eosinofil dan basofil terutama berperan dalam reaksi alergi. Sel eosinofil juga berperan dalam melawan investasi parasit.
3. Sel trombosit
Sel trombosit terutama berperan dalam hemostasis. Sel ini dibutuhkan untuk mengawali terbentuknya bekuan darah saat terjadi jejas pada vaskuler.

Panduan Tata Cara Pemeriksaan

Pada pemeriksaan hematologi dengan sampel darah, diperlukan persiapan-persiapan khusus sesuai dengan jenis pemeriksaannya :

1. Pemeriksaan darah lengkap
Pada pemeriksaan ini dipersiapkan tabung yang telah berisi antikoagulan ethilen diamine tetraacetic acid (EDTA). Bila menggunakan bubuk EDTA, dosisnya adalah 1 mg untuk 1 cc

darah. Namun demikian saat ini sudah dikenal tabung vakutainer yang mengandung EDTA (vakutainer bertutup ungu).

2. Pemeriksaan hemostasis (aPTT dan PPT)

Pada pemeriksaan ini dipersiapkan tabung yang telah diisi dengan antikoagulan Ca-sitras 3,8% dengan perbandingan 1 : 9. Namun demikian saat ini sudah d

Hal-hal yang harus diperhatikan pada pemeriksaan Hematologi adalah:

1. Pengambilan sampel darah vena dengan teknik yang benar
2. Identitas pasien dan sampel

Alat-alat dan Bahan yang dibutuhkan :

1. Set alat flebotomi (jarum, holder, tabung vakutainer, torniquet, kapas alkohol, plester, kasa kering)
2. Hemometer sahli
3. Tabung wintrobe
4. Tabung westergren
5. Tabung reaksi
6. Rak tabung reaksi
7. Rak laju endap darah
8. Hematositometer
9. Kamar hitung neubauer
10. Cells counter
11. Object dan cover glass
12. Stik kaca
13. Porselin putih
14. Spuit 5 cc
15. Mikroskop
16. HCN 0,1 N
17. Aquadest
18. NaCl 0,9%
19. Reagen Turk
20. Reagen hayem
21. Reagen ress ecker
22. Cat brilliant cresyl blue dalam methanol 0,1%
23. Cat wright
24. Bufer
25. Reagen antibodi golongan darah

Prosedur untuk pemeriksaan Hematologi :

1. Teknik Flebotomi

Flebotomi adalah tindakan pengambilan sampel darah vena. Banyak pemeriksaan menggunakan sampel yang berasal dari darah vena. Pengambilan dilakukan di pembuluh darah vena bila memerlukan darah lebih dari 5 cc. Hal yang harus diperhatikan adalah pemilihan lokasi vena yang akan ditusuk, desinfeksi kulit, dan teknik pengambilan darahnya. Pembuluh darah yang dipilih adalah pembuluh darah yang besar, direkomendasikan pada vena mediana cubiti.

Pengambilan darah sering menggunakan beberapa tabung sekaligus sesuai dengan pemeriksaan yang diminta. Hal yang harus diperhatikan adalah urutan pengisian tabung harus sesuai urutan yang telah ada, supaya tidak mencemari tabung lainnya.

Urut-urutan pengisian tangung vakutainer sebagai berikut :

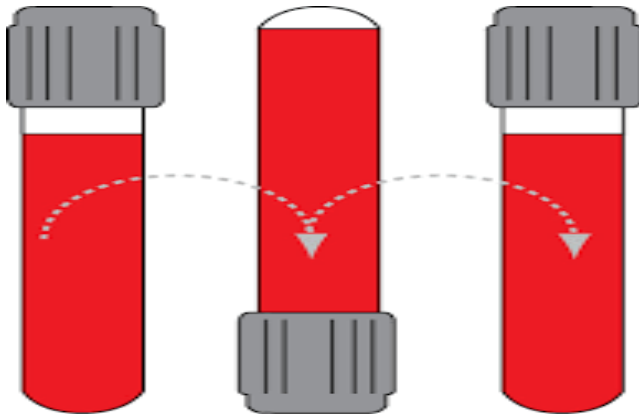
1. Tabung kultur darah (bila ada pemeriksaan kultur)
2. Tabung biru : untuk pemeriksaan PPT an aPTT (berisi antikogulan Ca-sitras 3,8%)
3. Tabung kuning atau merah : untuk kimia darah, elektrolit, dan imunologi (tanpa antikoagulan, hanya berisi clott activator)
4. Tabung ungu : untuk pemeriksaan Darah lengkap (berisi antikoagulan EDTA)



Gambar 2. Peralatan Flebotomi

Langkah-langkah flebotomi :

1. Komunikasi efektif (salam, sapa, perkenalkan diri, dan menjelaskan permintaan darah oleh dokter peminta)
2. Identifikasi pasien (dengan kalimat tanya terbuka)
3. Pastikan persiapan pasien (puasa untuk beberapa pemeriksaan, dan obat yang dikonsumsi)
4. Siapkan peralatan lengkap, dan urutkan tabung sesuai ketentuan
5. Cuci tangan dan pakai sarung tangan
6. Pilih lokasi penusukan (pasang tourniquet dahulu bila vena tidak nampak), lakukan perabaan vena untuk memastikan
7. Desinfeksi dengan alkohol 70% (lepaskan tourniquet terlebih dahulu)
8. Pasang jarum pada holder
9. Pasang kembali tourniquet, pasien diminta untuk mengepalkan tangan (menggenggam)
10. Tusukkan jarum dengan sudut 15-30° (lobang jarum menghadap ke atas)
11. Bila terlihat darah di ujung spuit, masukkan tabung pertama
12. Saat darah mulai mengalir, lepaskan tourniquet (tourniquet tidak lebih dari 1 menit)
13. Lepaskan tabung dan bolak balik tabung untuk supaya darah tercampur merata dengan antikoagulan (tabung ungu 8x, tabung biru 4x)
14. Masukkan tabung berikutnya
15. Bila tabung telah terisi semua, tutup area tusukan dengan kasa kering steril, kemudian cabut jarum.
16. Tekan bekas tusukan tersebut (lengan tidak boleh ditekuk untuk menutup luka)
17. Jarum dibuang pada tempatnya (safety box)
18. Beri label identitas pada tabung
19. Tunjukkan kesesuaian identitas ke pasien
20. Lihat apakah bekas tusukan sudah tidak bersarah. Bila sudah berhenti, bekas tusukan diplester
21. Pamit, dan doakan pasien
22. Lepas sarung tangan dan cuci tangan.



Gambar 3. Cara mencampur darah dengan antikoagulan pada tabung

2. Pengukuran kadar hemoglobin

Kadar hemoglobin dapat diukur dengan berbagai macam metode. Metode yang sering digunakan antara lain metode Sahli dan metode Cyanmethemoglobin. Pemeriksaan terkini direkomendasikan menggunakan metode Cyanmethemoglobin dengan alat hematoanalyzer. Metode ini merupakan metode standar yang ditentukan oleh WHO, oleh karena mempunyai ketelitian yang baik dengan koefisien variasi $\pm 2\%$. Namun demikian pada fasilitas Kesehatan dengan alat yang terbatas seperti pada daerah terpencil, bila tidak terdapat alat hematoanalyzer, dapat dipergunakan metode Sahli.

Prosedur pengukuran hemoglobin

1. Metode Sahli (kolorimetri visual)

Pemeriksaan hemoglobin dengan metode Sahli masih menggunakan cara yang sederhana dan pembacaannya menggunakan tabung standar yang dilihat dengan mata telanjang. Pemeriksaan ini tidak terlalu akurat dan banyak faktor yang menyebabkan tingginya angka ketidakteelitian. Namun pada fasilitas kesehatan yang terpencil dan tidak memiliki peralatan lainnya yang lebih baik, pemeriksaan ini masih dapat dilakukan dengan sangat hati-hati.

Prinsip :

Hemoglobin dirubah menjadi asam hematin oleh larutan HCl 0,1 N.

Kemudian perubahan warna yang terjadi dibandingkan dengan warna batang standar secara visual

Metode sahli merupakan pemeriksaan yang kurang teliti dan tidak standar dengan koefisien variasi $\pm 10\%$. Tetapi metode ini masih dipakai di daerah yang tidak memiliki peralatan fotometer

Bahan & Alat :

- Hemometer sahli
- Larutan HCl 0,1 N

- Aquadest

Prosedur :

- Teteskan HCl 0,1 N ke dalam tabung pengencer sampai tanda 2 g%
- Menghisap darah (kapiler, EDTA) dengan pipet sahli sampai tanda 20 ul
- Hapuslah darah yang melekat pada sebelah luar ujung pipet dengan tissue
- Kelebihan darah dalam pipet dikeluarkan dengan menyentuhkan ujung pipet pada kertas tissue
- Mengalirkan darah dari pipet ke dalam dasar tabung pengencer dengan cara meniup-niupnya. Cegah terjadinya gelembung udara
- Pipet dibilas 2 – 3 kali dengan cara menghisap dan meniup larutan HCl
- Mengocok tabung agar darah dan HCl bersenyawa membentuk asam hematin yang berwarna coklat tua
- Encerkan dengan aquadest sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan pengaduk. Persamaan warna dengan batang standar harus dicapai dalam waktu 3 – 5 menit setelah saat darah dan HCl tercampur
- Kadar hemoglobin ditentukan dengan melihat garis skala pada meniscus bawah dari campuran (gram/dl)
- Nilai normal : pria 13 – 18 g/dl; wanita 12 -16 g/dl

Sumber Kesalahan :

- Pengambilan darah tidak tepat 20 ul
- Sisa darah yang menempel pada ujung pipet tidak dibersihkan
- Pencampuran darah dengan HCl tidak dibilas
- Pengadukan pada saat pengenceran darah tidak sempurna
- Terdapat gelembung udara di permukaan campuran pada saat pembacaan
- Membandingkan warna dengan batang standar pada ruangan yang kurang cahaya



Gambar 4. Alat Hemometer Sahli

2. Metode Cyanmethemoglobin (fotoelektrik)

Prinsip :

Hemoglobin dioksidasi oleh kalium-ferrisianida menjadi methemoglobin, kemudian diubah menjadi cyanmethemoglobin oleh kaliumsianida. Absorbansi larutan diukur pada gelombang 540 nm. Kadar hemoglobin ditentukan dari perbandingan absorbansi larutan dengan absorbansi standar.

Bahan & Alat :

- Spektrofotometer
- Pipet sahli 20 ul
- Pipet volume 5 ml
- Larutan Drabkin :

- NaHCO ₂	1
- KCN	0,05
- K ₃ Fe(CN) ₆	0,2
- Aquadest	ad 1 L

Prosedur :

- Memipet 5 ml larutan drabkin ke dalam tabung reaksi
- Memipet darah dengan pipet sahli 20 ul, permukaan luar pipet dibersihkan dengan tissue, kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibilas 2-3 kali
- Mencampur isi tabung
- Diamkan 5 menit pada suhu kamar
- Membaca absorbannya pada spektrofotometer pada gelombang 540 nm dengan larutan drabkin sebagai blanko

Kadar hemoglobin ditentukan dari perbandingan absorbansi larutan dengan absorbansi standar sianmethemoglobin.

3. Pengukuran laju endap darah

Prinsip :

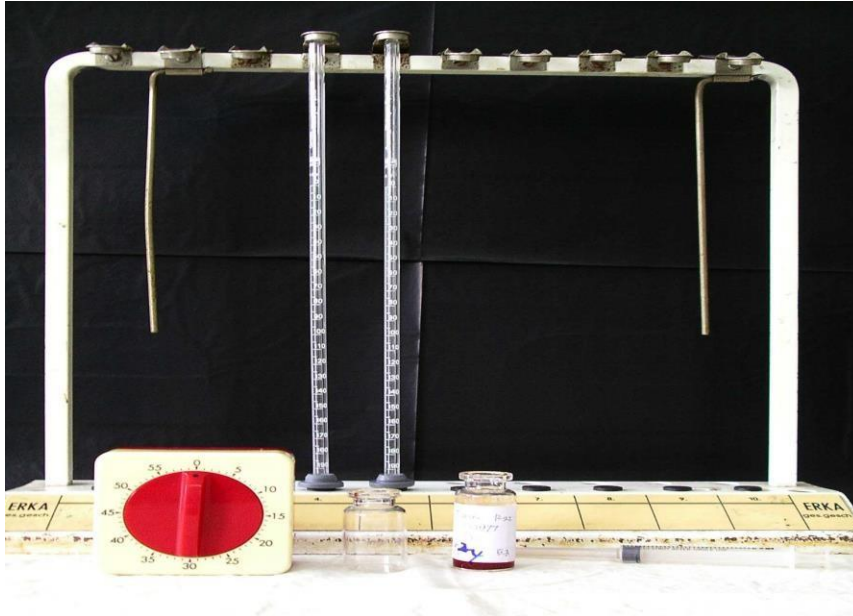
Laju endap darah adalah kecepatan endap darah setelah darah dengan antikoagulan diletakkan di dalam tabung tertentu dengan posisi vertical dalam waktu tertentu. Dengan perlakuan tersebut sel-sel eritrosit akan mengendap dan plasma berada di lapisan atas. Kecepatan ini dipengaruhi oleh sel eritrositnya sendiri dan oleh kandungan albumin, globulin dan fibrinogen.

Bahan & Alat :

- Tabung westergren (panjang 300 mm; diameter 2,5 mm; skala 0-200 mm)
- Rak tabung
- Larutan NaCl 0,9%
- Botol

Prosedur :

- Mengencerkan darah EDTA dengan larutan NaCl 0,9% (salin) dengan perbandingan 1 volume salin untuk 4 volume darah
- Menghisap darah yang sudah diencerkan ke dalam tabung westergren sampai garis 0 mm
- Meletakkan tabung tabung tersebut pada rak dengan posisi vertical selama 1 jam
- Besarnya laju endap darah dilihat dari penurunan meniscus eritrositnya
- Hasilnya dilaporkan dalam satuan mm/jam
- Nilai normal : pria < 10 mm/jam; wanita < 15 mm/jam



Gambar 5. Tabung dan rak laju endap darah (Westergren)

4. Pengukuran hematokrit (Hct) /packed cell volume (PCV)

Prinsip :

Hematokrit adalah prosentase pengendapan eritrosit setelah darah dengan antikoagulan ditaruh dalam tabung tertentu dan diputar dengan kecepatan dan waktu yang tertentu

Pemeriksaan ini dapat dilakukan secara makro maupun mikro, tetapi di dalam buku ini hanya dibahas metode pemeriksaan secara makro.

Alat :

- Tabung wintrobe (panjang 100 mm; diameter 2,5 mm; skala 0-100 mm)
- Sentrifuge
- Pipet Pasteur

Prosedur :

- Memipet darah (EDTA) ke dalam tabung wintrobe sampai tanda 100 di atas
- Tabung dipusingkan dalam sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit
- Nilai hematokrit ditentukan dengan melihat prosentase pengendapan eritrosit dari skala yang tertera dan dilaporkan dalam %

- Perhatikan tebalnya lapisan putih di atas eritrosit (buffy coat), lapisan ini terdiri dari lekosit dan trombosit. Ketebalan buffy coat 1 mm setara dengan 10.000 lekosit/cmm. Lapisan ini menebal pada kasus leukositosis atau leukemia.
- Nilai normal : pria 40-48 %; 37-43 %



Gambar 6. Tabung hematokrit (Wintrobe)

5. Penghitungan jumlah sel lekosit

Bahan & Alat :

- Pipet thoma lekosit (pengaduk putih dengan skala 0,5; 1; 11)
- Kamar hitung improved neubauer
- Mikroskop
- Larutan pengencer, terdapat 3 macam pilihan :
 - Turk : - gentian violet 1 % 1 ml
 - asam asetat glacial 1 ml
 - aquadest ad 100 ml

Larutan turk disamping berfungsi sebagai pengencer juga

berfungsi untuk melisis eritrosit dan memberi warna inti lekosit

- HCl 2 %
- Asam asetat 2 %

Prosedur :

- a. Pengisian Pipet Thoma Lekosit :
 - Menghisap darah dengan pipet thoma lekosit sampai tanda 0,5
 - Kelebihan darah pada ujung dan bagian luar pipet thoma dibersihkan
 - Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan turk dengan posisi 45°, kemudian larutan turk dihisap perlahan-lahan sampai tanda 11. Jangan sampai sampai ada gelembung udara

- Angkatlah pipet dan tutup ujungnya dengan ujung jari, kemudian lepaskan karet penghisapnya
 - Mengocok pipet selama 2 menit. Bila tidak segera diperiksa pipet diletakkan dalam posisi horizontal
- b. Pengisian Kamar Hitung :
- Kamar hitung yang telah terpasang kaca penutupnya, diletakkan di atas meja
 - Mengocok pipet yang telah terisi selama 3 menit
 - Membuang cairan di ujung pipet 3 – 4 tetes, kemudian sentuhkan ujung pipet dengan posisi 30° pada pinggir kaca penutup dari kamar hitung. Biarkan kamar hitung terisi dengan sendirinya dengan daya kapilaritasnya
 - Tunggu 2 – 3 menit agar lekosit mengendap
- c. Penghitungan Jumlah Sel
- Sel lekosit dihitung dalam kamar hitung lekosit yaitu 4 bujur sangkar yang berada di keempat pojok kamar hitung (lihat lampiran), menggunakan lensa obyektif 10 x.
- Tinggi kamar hitung adalah = 0,1 mm
- Volume 4 kotak lekosit = $4 (1 \times 1 \times 0,1) = 0,4 \text{ mm}^3$
- Pengenceran darah = 20 kali
- Jumlah lekosit pada 4 kotak = N
- Jumlah lekosit /mm³ = $1 : (0,4 \times 20 \times 20 \times N) = 50 N$
- d. Dengan metode ini, pada keadaan di mana dijumpai normoblas (eritrosit yang masih berinti) di darah tepi, maka normoblas terhitung sebagai lekosit. Pada kondisi ini harus dilakukan koreksi hitung lekosit dengan prosentase normoblas yang dijumpai di darah tepi.
- e. Penyebab Kesalahan :
- volume darah yang dihisap tidak tepat
 - pengenceran tidak tepat
 - tidak mengocok pipet setelah menghisap larutan turk
 - tidak mengocok pipet sebelum mengisi kamar hitung
 - tidak membuang beberapa tetesan isi pipet sebelum mengisi kamar hitung



Gambar 7. Pipet Thoma dan kamar hitung neubaueur, beserta reagen Turk

6. Penghitungan jumlah sel eritrosit

Bahan & Alat :

- Pipet thoma eritrosit (pengaduk merah dengan skala 0,5; 1; 101)
- Kamar hitung improved neubauer
- Mikroskop
- Larutan pengencer ada dua pilihan :
 - larutan hayem :

- HgCl ₂	0,25	g
- NaCl	0,5	g
- Na ₂ SO ₄	2,5	g
- aquadest	100	ml
 - larutan NaCl 0,9%

Prosedur :

- a. Pengisian Pipet Thoma Eritrosit:
 - Menghisap darah dengan pipet thoma eritrosit sampai tanda 0,5
 - Kelebihan darah pada ujung dan bagian luar pipet thoma dibersihkan
 - Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan hayem dengan posisi 45°, kemudian larutan hayem dihisap perlahan-lahan sampai tanda 101. Jangan sampai ada gelembung udara
 - Angkatlah pipet dan tutup ujungnya dengan ujung jari, kemudian lepaskan karet penghisapnya

- Mengocok pipet selama 2 menit. Bila tidak segera diperiksa pipet diletakkan dalam posisi horizontal
- b. Pengisian Kamar Hitung
Seperti pada hitung lekosit
- c. Penghitungan Jumlah Sel
Sel eritrosit dihitung pada kotak eritrosit yaitu kotak di tengah pada 5 bujur sangkar (A, B, C, D, E) yang masing-masing terdiri dari 16 bujur sangkar kecil. Sel eritrosit dihitung dengan menggunakan lensa obyektif 45 x.
Tinggi kamar hitung adalah = 0,1 mm
Volume 5 bujur sangkar = $5 (1/5 \times 1/5 \times 0,1) = 1/50 \text{ mm}^3$
Pengenceran darah = 200 kali
Jumlah eritrosit pada 5 kotak = N
Jumlah eritrosit /mm³ = $50 \times 200 \times N = 10.000 N$

7. Penghitungan jumlah sel trombosit

Bahan & Alat :

- Pipet thoma eritrosit (pengaduk merah dengan skala 0,5; 1; 101)
- Kamar hitung improved neubauer
- Mikroskop
- Petridisk dengan kasa basah
- Larutan pengencer ada tiga pilihan :
 - Larutan Rees Ecker :

- Brilliant cresyl blue	0,1	g
- Natrium sitrat	3,8	g
- formaldehyde 40%	0,2	g
-Aquadest ad	100	ml
 - Larutan Becher-cronkite
 - Larutan Dacie

Prosedur :

- A. Pengisian Pipet Thoma Trombosit:
 - Menghisap darah dengan pipet thoma eritrosit sampai tanda 0,5
 - Kelebihan darah pada ujung dan bagian luar pipet thoma dibersihkan
 - Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Rees Eker dengan posisi 45°, kemudian larutan Rees Eker dihisap perlahan-lahan sampai tanda 101. Jangan sampai sampai ada gelembung udara

- Angkatlah pipet dan tutup ujungnya dengan ujung jari, kemudian lepaskan karet penghisapnya
- Mengocok pipet selama 2 menit. Bila tidak segera diperiksa pipet diletakkan dalam posisi horizontal

B. Pengisian Kamar Hitung

- Membuang 3 – 4 tetes, kemudian mengisi kamar hitung
- Kamar hitung dimasukkan ke dalam petridish yang telah diisi kasa basah, kemudian dibiarkan 10 menit agar trombosit mengendap

C. Penghitungan Sel

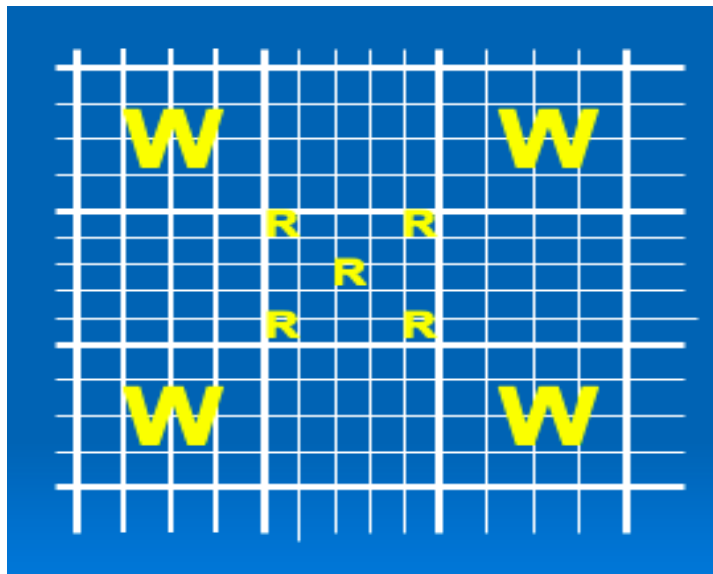
Sel Trombosit dihitung pada kotak bujur sangkar besar di tengah dengan Lensa obyektif 45 x

Volume kotak hitung $1 \text{ mm}^2 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3$

Pengenceran darah = 200 kali

Jumlah trombosit yang terhitung = N

Jumlah trombosit per $\text{mm}^3 = 2.000 \text{ N}$



Gambar 8. Skema kamar hitung improved neubauer

8. Penghitungan jumlah sel retikulosit

Retikulosit adalah erosit muda yang masih mengandung sisa-sisa asam ribonukleat (RNA) dalam sitoplasmanya. Benang-benang RNA ini terlihat berwarna biru tua pada pengecatan supravital brilliant cresyl blue atau new methylene blue.

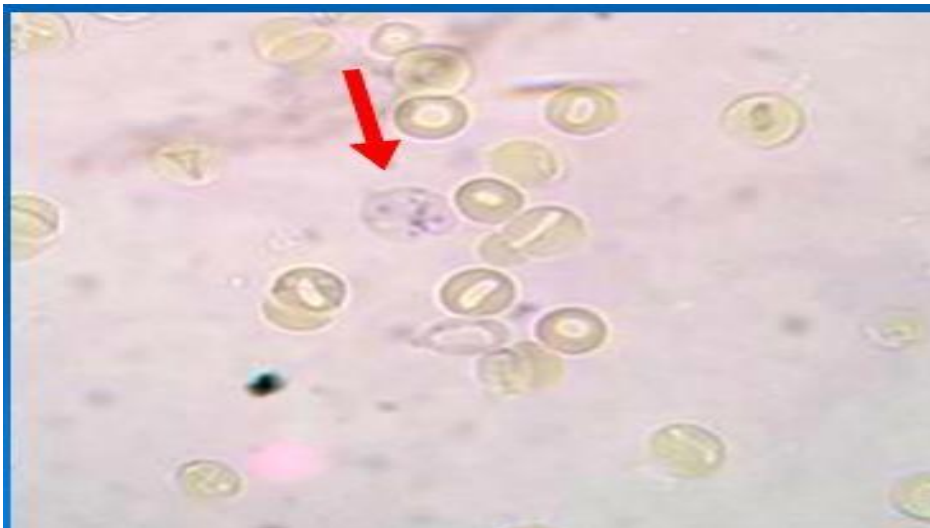
Bahan & Alat :

- Gelas obyek
- Gelas penutup

- Mikroskop
- Pewarna Brilliant cresyl blue (BCB)
- Kertas tissue

Prosedur :

- Meneteskan 1 tetes darah EDTA pada gelas penutup
- Meneteskan pewarna BCB pada gelas obyek dan meratakannya, dan menunggu beberapa saat sampai pewarna berubah warna dari biru menjadi keunguan
- Letakkan gelas penutup yang telah ditetesi darah pada gelas obyek di atas.
- Tekan beberapa saat dengan kertas tissue
- Tunggu beberapa menit, kemudian dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x memakai minyak imersi
- Hitung retikulosit (sel eritrosit dengan benang-benang retikulin yang berwarna kebiruan) dalam 1000 sel eritrosit, dan dilaporkan dalam promil atau persen.
- Nilai normal : 0,5 – 1,5 %



Gambar 9. Foto sel retikulosit

A. Teknik pembuatan dan pengecatan hapusan darah

a. Pembuatan hapusan darah

Bahan dan alat :

- Gelas obyek
- Stik kaca
- Darah EDTA

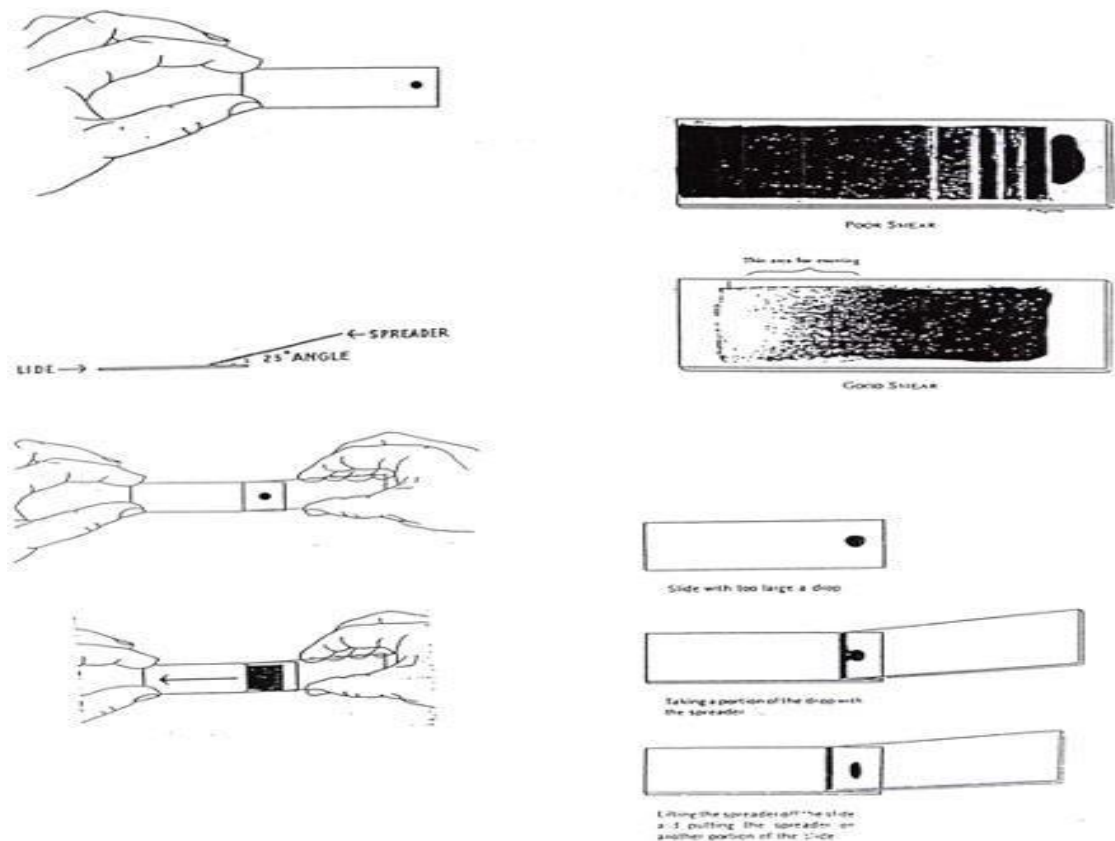
Prosedur :

- Sample darah EDTA dikocok terlebih dahulu supaya merata

- Meneteskan satu tetes darah pada ujung gelas obyek dengan memakai stik kaca
- Meletakkan gelas obyek yang lain (sebagai penggeser) di depan gelas obyek di atas dan menunggu beberapa saat sampai darah menyebar pada tepi gelas penggeser tersebut
- Menggeser gelas penggeser ke arah ujung yang lain dengan sudut $25 - 30^{\circ}$
- Mengeringkan sediaan di udara
- Setelah kering, sediaan diberi nama dan tanggal pembuatan memakai pensil pada bagian ujung yang tebal

Penilaian sediaan hapusan yang baik :

- Panjang sediaan $\frac{1}{2}$ sampai dengan $\frac{2}{3}$ panjang gelas obyek
- Terdapat bagian yang cukup tipis dimana eritrosit tidak saling bertumpukan (*area counting*)
- Hapusan merata dan tanpa ada lobang-lobang
- Lekosit menyebar merata, tidak boleh bergerombol di ujung sediaan



Gambar 10. Pembuatan hapusan darah

b. Pengecatan hapusan darah

9. Pengecatan Wright

Bahan dan alat :

- Pewarna wright
- Larutan buffer / penyangga dengan Ph 6,4
- Rak pengecatan

Prosedur :

- Sediaan hapusan yang telah kering diletakkan pada rak pengecatan (lapisan yang akan dicat menghadap ke atas)
- Meneteskan 15 tetes cat wright di atas sediaan tersebut, dan biarkan selama 2 menit
- Meneteskan larutan buffer sama banyak, kemudian ditiup dengan hati-hati supaya cat dan buffer tercampur dengan baik, dan biarkan 20 menit
- Menyiram sediaan tersebut dengan air untuk membuang cat, dengan posisi sediaan tetap di atas rak
- Hapusan dikeringkan di udara atau dengan pengering rambut (bila jumlah sediaan banyak)

i. Pengecatan Giemsa

Bahan dan alat:

- Larutan pokok giemsa
- Methanol absolute
- Larutan buffer / penyangga

Prosedur :

- Menyiapkan larutan giemsa encer (1 volume giemsa pokok + 9 volume larutan penyangga). Larutan hanya bertahan selama 24 jam
- Meletakkan sediaan hapusan darah pada rak pengecatan
- Meneteskan larutan methanol absolute di atas sediaan sehingga menutupi hapusan darah dan biarkan selama 5 menit
- Buang sisa methanol tersebut di atas

- Menetesi larutan giemsa sehingga menutupi permukaan sediaan hapusan darah, biarkan selama 20 menit
- Menyiram sediaan dengan air untuk membuang cat, dengan posisi mendatar (tetap di atas rak pengecatan) kemudian keringkan

10. Evaluasi hapusan darah tepi

Evaluasi hapusan darah tepi bertujuan untuk mengevaluasi sel eritrosit, lekosit dan trombosit. Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan alat mikroskop. Langkah pertama memeriksa sediaan hapusan darah dengan pembesaran obyektif 10x, kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 100x.

a. Pemeriksaan dengan lensa obyektif 10x :

1. Penilaian kualitas sediaan hapus. Hapusan dikatakan baik bila :
 - Tidak mengandung endapan cat
 - Daerah penghitungan (*area counting*) cukup, yaitu daerah dengan sel eritrosit yang tidak saling menumpuk dan penyebaran lekosit rata
 - Sel eritrosit dan lekosit tercatat dengan baik
2. Penaksiran jumlah sel lekosit (normal, turun, atau meningkat) :
 - Jumlah lekosit perlapangan pandang 20-30 setara dengan 5.000 sel/cmm
 - Jumlah lekosit perlapangan pandang 40-50 setara dengan 10.000 sel/cmm

b. Pemeriksaan dengan lensa obyektif 100x (pada *area counting*) :

1. Evaluasi eritrosit :

- Ukuran sel
 - Normal : berdiameter sebanding dengan inti sel limfosit kecil
 - Makrositik : eritrosit berukuran lebih besar dari pada inti sel limfosit kecil
 - Mikrositik : eritrosit berukuran lebih kecil dari pada inti sel limfosit kecil
- Bentuk sel
 - Normal : eritrosit berbentuk normal (bulat dengan *central pallor*)
 - Poikilositosis : bila bentuk eritrosit beraneka ragam
- Kromasi
 - Normokrom : bila diameter area pucat (*central pallor*) eritrosit kira-kira 1/3 diameter sel
 - Hipokrom : bila diameter area pucat (*central pallor*) eritrosit kira-kira lebih dari 1/3 diameter sel

- Polikromasi : bila terdapat banyak sel eritrosit yang tercat kebiru-biruan (sel eritrosit yang relative lebih muda)

2. Evaluasi trombosit

Jumlah sel trombosit dapat diperkirakan dari sediaan hapusan darah, bila dalam kondisi normal terlihat rata-rata 8-10 trombosit perlapangan pandang. Dapat pula menggunakan rumus sebagai berikut : jumlah sel trombosit dalam 10 lapangan pandang dikalikan dengan angka 2000. Bila jumlahnya berkurang dari normal dikatakan kesan jumlah menurun, dan bila jumlahnya meningkat dikatakan kesan jumlah meningkat.

3. Evaluasi lekosit

Dengan pembesaran 1000x dilakukan hitung jenis lekosit (differential count), yaitu penghitungan prosentase (dalam 100 sel lekosit) masing-masing jenis sel lekosit. Pemeriksaan dilakukan dengan alur zig-zag. Jenis lekosit yang dihitung adalah : eosinofil, basofil, netrofil stab, netrofil segmen, limfosit, dan monosit. Harga normal hitung jenis sebagai berikut :

Eos / Ba / Stab / Seg / Li / Mo = 1-6% / <1% / 3-5% / 40-75 % / 20-45 % / 2-8 %.

Demikian juga dilaporkan bila ada bentukan lekosit yang abnormal, atau adanya sel lekosit yang muda.

Table 1. Hitung Jenis Lekosit

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
Eos	/						/				2
Baso							/				1
Stab	/	/		/		//					5
Segm	###	////	###	###	###	###	###	###	###	###	65
			///	//	/	//		///	/	///	
Lim	//	////	//	//	///	/	///	//	////	/	23
Mono	/	/			/					/	4
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

Pelaporan hasil sebagai berikut :

Eos / Bas / Stab / Seg / Li / Mo = 2 / 1 / 5 / 65 / 23 / 4

11. Pemeriksaan bleeding time (masa perdarahan)

Metode Duke

Alat :

- Lancet steril
- Kertas saring
- Kapas alcohol 70%
- Stopwatch

Prosedur :

- Melakukan disinfeksi pada cuping telinga dengan kapas alcohol 70%
- Cuping telinga dipegang di antara ibu jari dan telunjuk
- Menusuk pinggir cuping telinga dengan lancet sedalam 2 mm
- Saat titik darah terlihat, segera hidupkan stopwatch
- Darah yang keluar dihisap dengan kertas saring setiap 30 detik dengan tidak menyentuh lukanya
- Stopwatch dihentikan bila darah telah berhenti

Catatan :

- Nilai normal : 1 – 3 menit
- Bila darah tidak keluar, kemungkinan tusukan kurang dalam dan dilakukan tusukan ulang pada cuping telinga yang lain
- Bila perdarahan lebih dari 5 menit, segera hentikan dengan menekan luka menggunakan kapas alcohol 70% dan diplester

12. Pemeriksaan clotting time (masa pembekuan)

Pemeriksaan clotting time mengukur waktu pembekuan darah yang terjadi mulai darah mengalir ke dalam semprit sampai darah mengalami pembekuan.

Alat :

- Tiga buah tabung berdiameter 8 mm
- Stopwatch
- Semprit 5 ml
- Rak tabung

Prosedur :

- Meletakkan tiga tabung di atas pada rak tabung
- Melakukan tourniquet dan desinfeksi pada vena mediana cubiti

- Melakukan punksi vena, hidupkan stopwatch saat darah mengalir ke dalam semprit.
- Setelah darah terhisap sebanyak 5 ml, hentikan punksi
- Melepas jarum dari semprit dan mengalirkan 1 ml darah ke dalam setiap tabung di atas
- Biarkan selama 4 menit
- Setiap 30 detik tabung pertama diangkat dari rak dan dimiringkan untuk melihat apakah sudah terjadi pembekuan
- Mencatat waktu pembekuannya
- Kemudian hal ini diteruskan pada tabung kedua dan ketiga
- Masa pembekuan adalah penjumlahan waktu ketiga tabung tersebut dibagi tiga (waktu rata-rata)
- Nilai normal : 5 – 15 menit

13. Pemeriksaan golongan darah Metode Cell Grouping (Metode Slide)

Pemeriksaan golongan darah menggunakan metode ini bertujuan memeriksa antigen golongan darah pada permukaan eritrosit menggunakan antisera yang sudah diketahui jenisnya.

Bahan & Alat :

- Antisera – A, antisera-B, antisera-AB
- Porselen putih atau gelas obyektif
- Stik pengaduk
- Darah pasien

Prosedur :

- Setelah darah membeku segera pisahkan eritrosit dari serum menggunakan sentrifus. Buanglah serumnya
- Mencuci eritrosit dengan salin satu kali, kemudian disentrifus dan supernatannya dibuang
- Membuat suspensi eritrosit 10% dalam salin
- Menyiapkan porselin / gelas obyektif, dan tetesi dengan antisera-A di pinggir sebelah kiri, antisera-B di bagian tengah, dan antisera-AB di pinggir sebelah kanan
- Masing-masing antisera ditetesi dengan satu tetes suspensi eritrosit 10%
- Masing-masing diaduk dengan pengaduk membentuk lingkaran

- Menggoyang porselin / gelas obyek selama 2 menit dengan gerakan melingkar
- Melihat ada tidaknya aglutinasi atau hemolisis (dengan mata biasa), bias juga diperiksa di bawah mikroskop
- Golongan darah ditentukan dari campuran yang menggumpal (aglutinasi)

Tabel. Penetapan Golongan Darah ABO

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

Catatan : (+) : ada aglutinasi / hemolisis

(-) : tidak ada aglutinasi / hemolisis

Tabel Penetapan Golongan darah Rhesus (Rh)

Anti-Rh (D)	Gol.darah rhesus
+	+
-	-

Catatan : (+) : ada aglutinasi / hemolisis

(-) : tidak ada aglutinasi / hemolisis

14. Pemeriksaan reaksi silang serasi (cross match)

Pemeriksaan reaksi silang serasi adalah pemeriksaan wajib yang dilakukan sebelum melakukan tindakan transfusi darah. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan apakah darah donor sesuai dan aman untuk resipien.

Terdapat tiga fase pemeriksaan, yaitu :

Fase I : reaksi silang dalam medium salin

Fase II : reaksi silang dalam medium albumin bovine 22%

Fase III : reaksi silang dalam medium Coombs

Bahan & Alat :

- Salin (NaCl 0,9%)
- Albumin bovine 22 %
- Reagen Coombs
- Contoh darah pasien / resipien
- Contoh darah donor
- Tabung reaksi 10x75 mm

- Rak tabung
- Gelas obyektif
- Inkubator
- Pipet Pasteur
- Mikroskop

Prosedur :

Fase I (reaksi silang dalam medium salin)

- Memisahkan eritrosit dan serum darah pasien dan darah donor dengan disentrifus terlebih dahulu
- Membuat suspensi eritrosit 5% dalam salin pada darah donor dan pasien
- Menyiapkan dua buah tabung dan diberi label :
 - I untuk Reaksi mayor,
 - II untuk Reaksi minor
- Tabung I : memipet 1 tetes suspensi eritrosit donor dan 2 tetes serum pasien (reaksi mayor)
- Tabung II : memipet 1 tetes suspensi eritrosit pasien dan 2 tetes serum donor (reaksi minor)
- Mengocok kedua tabung
- Memutar kedua tabung pada sentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit
- Mengamati reaksi pada tabung I & II sambil diresuspensi perlahan
- Hasil :
 - Positif : terdapat aglutinasi / hemolisis (darah donor inkompatibel untuk pasien)
 - Negatif : tidak ada aglutinasi / hemolisis (darah donor kompatibel untuk pasien)

Fase II (Reaksi silang dalam medium albumin bovine 22%)

- Menambahkan 2 tetes albumin bovine 22% pada tabung I & II di atas
- Mengocok kedua tabung
- Menginkubasi kedua tabung pada suhu 37⁰ C selama 15 menit
- Memutar kedua tabung pada sentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit
- Mengamati reaksi pada tabung I & II sambil diresuspensi perlahan
- Hasil :
 - Positif : terdapat aglutinasi / hemolisis (darah donor inkompatibel untuk pasien)

- Negatif : tidak ada aglutinasi / hemolisis (darah donor kompatibel untuk pasien). Dilanjutkan dengan mengerjakan reaksi silang fase II

Fase III (reaksi silang medium Coombs) :

- Mencuci eritrosit pada tabung I & II di atas dengan salin sebanyak tiga kali
- Meneteskan dua tetes reagen Coombs pada masing-masing tabung tersebut
- Mengocok kedua tabung tersebut
- Memutar kedua tabung dengan sentrifus kecepatan 1000 rpm satu menit
- Mengamati hasil reaksi pada kedua tabung sambil meresuspensi perlahan
- Pemeriksaan dapat dikonfirmasi di bawah mikroskop dengan meneteskan pada gelas obyek
- Hasil :
 - Positif : terdapat aglutinasi / hemolisis (darah donor inkompatibel untuk pasien)
 - Negatif : tidak ada aglutinasi / hemolisis (darah donor kompatibel untuk pasien).

15. PEMBACAAN DARAH LENGKAP AUTOMATIC-FLOWCYTOMETRI

Pemeriksaan darah lengkap disebut juga darah rutin, dengan autoanalyzer merupakan pemeriksaan laboratorium yang banyak digunakan untuk menghitung jumlah dan diferensiasi leukosit (jenis sel) mempunyai peran sebagai tes skrining, indikasi terhadap penyakit hematologi antara lain:

- Kelainan hemoglobin (Hb)& sel2 hematopoiesis
- Synthesis dan Fungsi
- Kelaian Darah yang lain (Anemia, Leukemia, abnormal Perdarahan & Pembekuan
- Inflammation
- Infection
- Inherited disorders → *pada Red blood cells (RBC); White blood cells (WBC); Platelets (Plt)*

Informasi baru yang tersedia dengan parameter tambahan ini dapat membantu dokter (klinisi) dan laboratorium dalam skrining dan diagnosis berbagai keadaan penyakit, sehingga diperoleh hasil kadar Hb, RBC, WBC dan platelets normal atau abnormal, bisa meningkat atau menurun dari nilai range (nilai normal) dan tergantung dari alat *autonalizer flowcytometry* yang digunakan (merk dan spesifitasnya) yang ditunjukkan pada hasil print out alat analisis hematologik otomatis yang akan ditunjukkan dengan bintang memudar (flagging) (*)

Sampel yang digunakan adalah: darah vena + antikoagulan EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) dengan teknis pengambilan darah vena secara *Phlebotomy* → ditampung dalam tabung dengan tutup berwarna ungu, seperti gambar dibawah ini



Progressive improvement in automated hematology → penghitungan dan evaluasi sel darah dengan akurasi, presisi, dan kecepatan yang tinggi dengan biaya yang sangat rendah (tgt parameter yg digunakan), menggunakan alat *AUTOMATIC-FLOWCYTOMETRI*, menghitung ke tiga (3) sel darah yaitu:

- *Red blood corpuscles (Red blood cells or RBCs)*
- *White blood corpuscles (White blood cells or WBCs)*
- *Platelets= Thrombocyte*

Peranan masing-masing sel darah adalah:

- **Red Blood Corpuscles (RBC)= erythrocytes** → *RBC carries oxygen from the lungs to all the cells of the body*
- **White Blood Corpuscles (WBC) = leukocytes** → *They fights with infection and protect us from diseases (sistem pertahanan tubuh.)*
- **Blood platelets = thrombocytes** → *the coagulation of blood (clotting of blood) in a cut or wound, due to which bleeding stops*

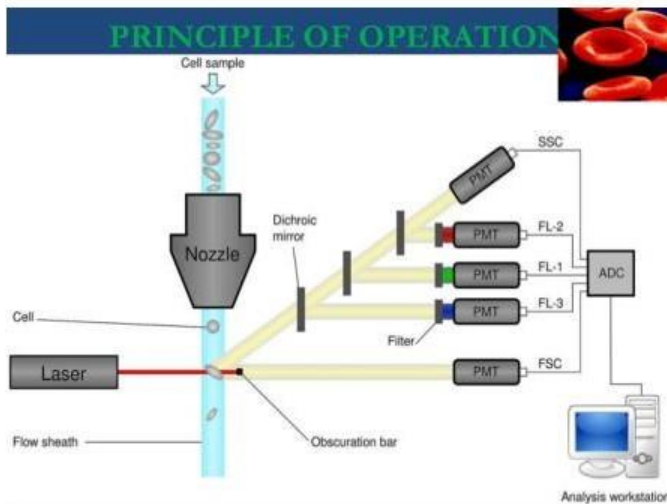
Komponen sel-sel darah yang dapat diukur dari alat *automated hematology* secara rinci pemeriksaan DL= *Complete Blood Count (CBC)*

1. *Red blood cell count (RBC)*
2. *Hemoglobin (Hb): component RBC*
3. *Hematocrit (Hct): mengukur masa RBC*
4. *Red blood cell index* → *(MCV; MCHC;MCH)*
5. *Red blood cell distribution width (RDW)*
6. *Stained red cell examination (blood smear)*
7. *White blood cell count (WBC)*

8. *Differential white blood cell count (Diff)*

9. *Platelet count*

Alat *automated hematology* sebagai berikut:

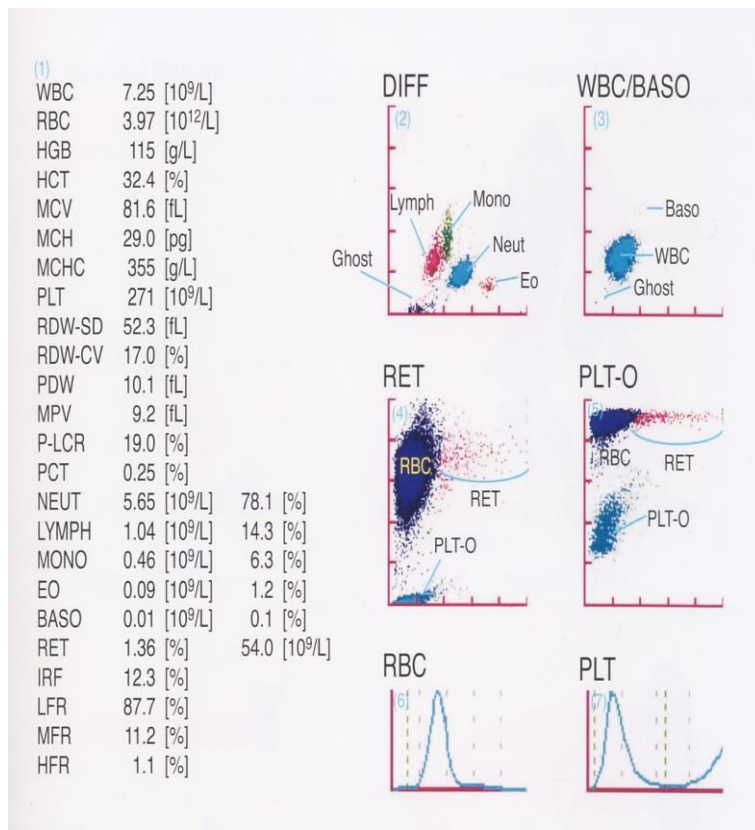


Prinsip dan teknik *Automated hematology analyzers* merupakan alat yang menggunakan teknik *electrical impedance*, *radiofrequency conductivity*, *light scatter*, *fluorescent scatter*, and *cytochemistry*

Alat *Automated hematology analyzers* ini digunakan laboratorium medis untuk memberikan informasi tentang sel-sel dalam darah seseorang.

CBC menunjukkan jumlah, konsentrasi dari komponen: *eritrosit*, *leukosit* dan *Platelets* = *Thrombocyte* hemoglobin, hematocrit, dan Indeks sel darah merah, diferensial *leukosit*.

Hasil *print out* dari alat *hematology autonalizer flowcytometry*, sebagai berikut



16. EVALUASI HAPUSAN DARAH ABNOMAL

1. Evaluasi apusan darah tepi (EADT) adalah satu pemeriksaan hematologi dasar yang penting untuk penapisan, diagnosis, dan pemantauan perjalanan penyakit dan respon terapi. EADT memiliki nilai yang sangat besar untuk diagnosis berbagai penyakit darah baik primer atau sekunder Indikasi klinis:

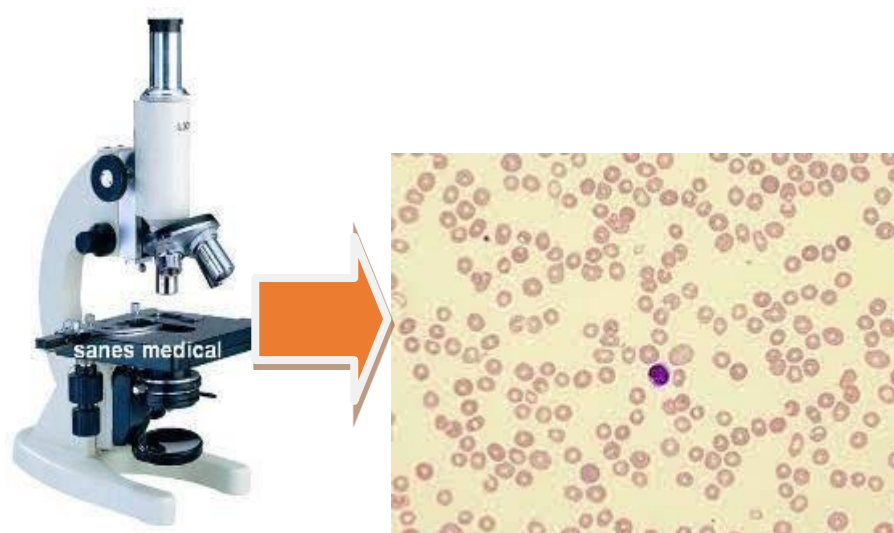
- A. investigasi bila ditemukan sitosis/sitopenia
- B. B. diagnosis dan pemantauan penyakit
- C. Gejala klinis yang mencurigai : anemia, neutropenia atau trombositopenia → pucat, ikterik yang tidak jelas penyebabnya, perdarahan, dan ekimosis pada tubuh
- D. Splenomegali, limfadenopati, penurunan berat badan, gejala sistemik, atau ada curiga kelainan hematologi dsb

2. Indikasi Laboratorium:

- A. Mengkonfirmasi kelainan kuantitatif dari pemeriksaan *hematology analyzer* (hasil DL) → Hb turun/ meningkat tajam; leukopenia/ leukositosis; trombositopenia/ thrombositosis
- B. Adanya tanda peringatan (Flag) dari *hematology analyzer* (hasil DL)
- C. Mengetahui hitung jenis leukosit dari hasil *hematology analyzer* (hasil DL) yang abnormal

Tahapan pemeriksaan : adalah dimulai dari pre-analitik, yaitu indentitas pasien, kesesuai data klinis dan bahan sampel darah vena + EDTA, segera dibuat sediaan apus darah tepi

Tahap analitik: membuat apusan darah dan pengecatan → sesuai dengan prosedur halaman 10, setelah jadi smear atau apusan darah, dilanjutkan dengan pengecatan menggunakan metode Romanowsky seperti pada sediaan apus darah yang normal pada halaman 10), kemudian setelah pengecatan selesai dan apusanya kering, dilakukan pemeriksaan mikroskop, dengan memperhatikan kualitas sediaan agar dapat di evaluasi sediaan hapusan n darah, morfologi sel-sel darah dengan memenuhi standar mutu yaitu:



Evaluasi Hapusan Darah Tepi

Eritrosit:

- Makrositosis
- Anisositosis (+)
- Ditemukan adanya Normoblast 2/100 Leukosit

Leukosit:

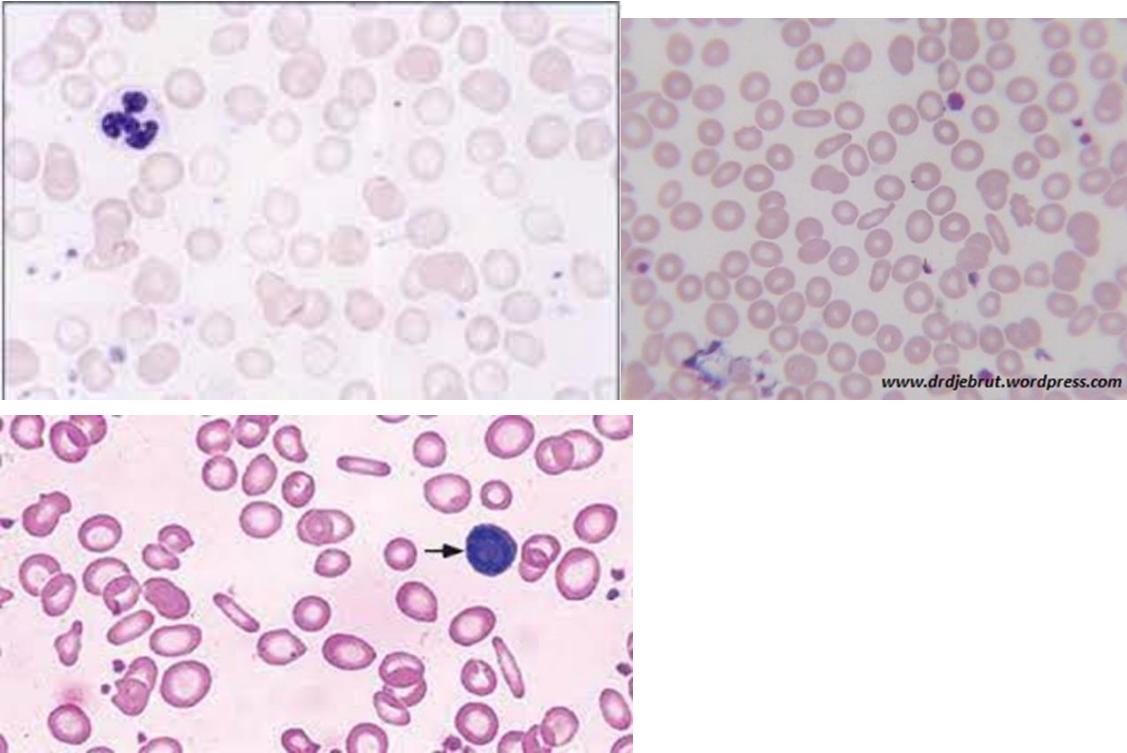
- Diff Count Manual = Eo/Ba/Stab/Seg/Lym/Mo= -/-/5/10/15 ; sel muda: 70%
- Kesan jumlah sangat meningkat
- Ditemukan adanya Auer rod (+)

Thrombosit:

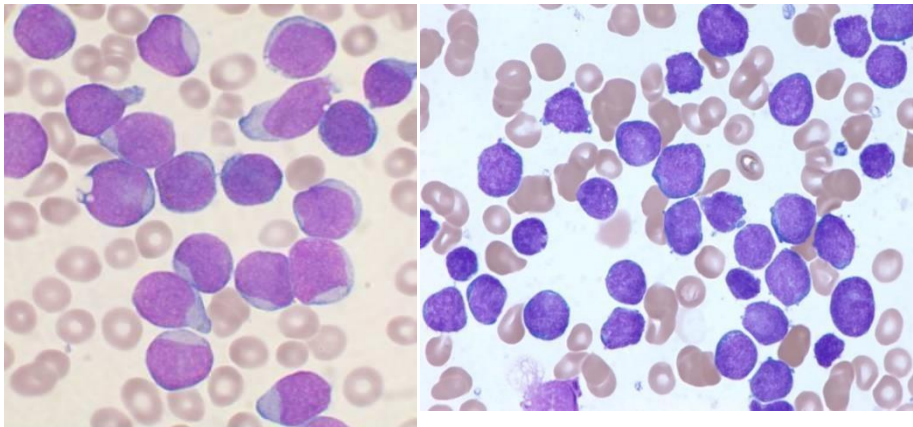
- Kesan jumlah sangat menurun

a. Kasus kelainan darah :

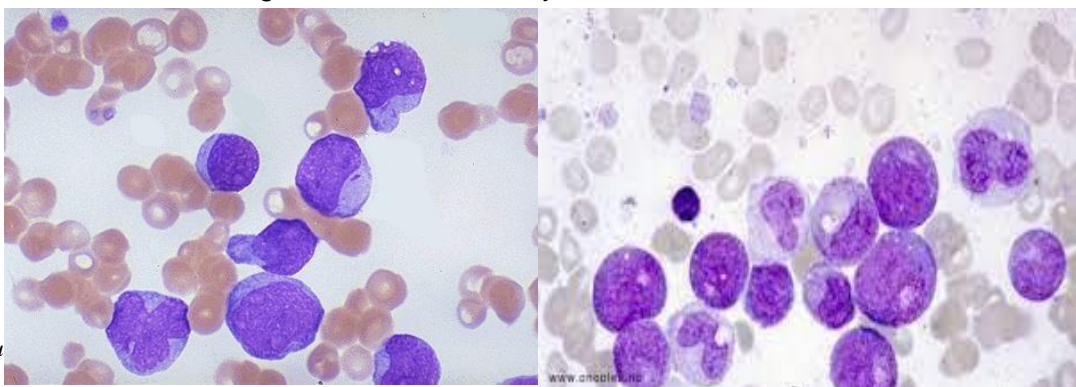
1. **Anemia defisiensi besi** → Gambaran morfologi anemia defisiensi besi dilihat dengan pembesaran 1000x → Ukuran eritrosit berbeda-beda cenderung lebih kecil dari normal (mikrositik), terlihat juga hipokrom; morfologi sel eritrosit: bentuknya gepeng berbentuk seperti pensil (pencil cells atau *cigar cells*)



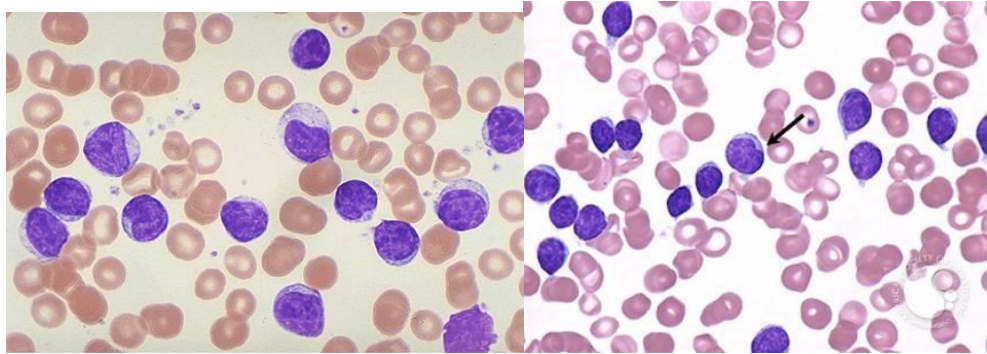
2. **Acute lymphoblastic leukemia** → gambaran apus darah tepi mempunyai karakteristik sebagai berikut: sel blas atau immature cell > 20 %



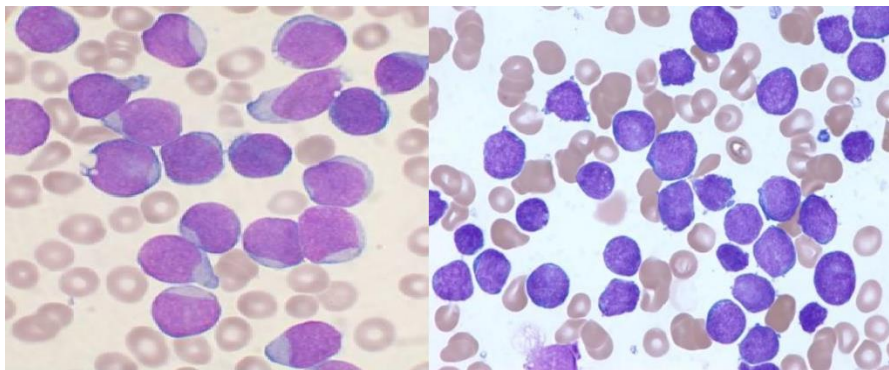
3. **Acute myeloblastic leukemia** → gambaran apus darah tepi mempunyai karakteristik sebagai berikut: sel blas myeloid atau immature cell > 20 %



4. **Chronic myelocytic leukemia** → gambaran apus darah tepi mempunyai karakteristik sebagai berikut: sel blas lymphoid atau immature cell < 20 %, berlangsung lama



5. **Chronic lymphocytic leukemia** → gambaran apus darah tepi mempunyai karakteristik sebagai berikut: sel blas Lymphoid atau immature cell < 20 %, berlangsung lama



KRITERIA PENILAIAN

No	MATERI	BOBOT	RUBRIK PENILAIAN	
			0	1
			Menjawab salah	Menjawab benar
1	Flebotomi	1		
2	Pengukuran kadar hemoglobin	1		
3	Pengukuran laju endap darah	1		
4	Pengukuran hematokrit	1		
5	Hitung sel eritrosit	1		
6	Hitung sel lekosit	1		
7	Hitung sel trombosit	1		
8	Pengecatan wright	1		
9	Hitung sel retikulosit	1		
10	Evaluasi hapusan darah tepi	1		
11	Pemeriksaan bleeding time	1		
12	Pemeriksaan clotting time	1		

13	Pemeriksaan golongan darah	1		
14	Pemeriksaan cross match	1		
15	Pemeriksaan mikroskopis kelainan darah	1		
	Total	15		Jumlah jawaban benar /15X100%

	KETENTUAN PENILAIAN UJIAN PRAKTIKUM
c	jumlah betul per kategori soal : total soal per kategori
d	hasil (c) x bobot
e	(jumlah semua kategori : 15)x 100%

NILAI AKHIR PRAKTIKUM

No	PENILAIAN	BOBOT
1	UJIAN PRAKTIKUM	80 %
2	LAPORAN PRAKTIKUM	10 %
3	PRE-TEST	10 %

DAFTAR PUSTAKA

Bain BJ, Bates I, Laffan MA, 2017, Dacie and Lewis, Pratical Haematology 12th ed, Elsevier

Greer JP, Rodgers GM, Glader B, et all, 2019, Wintobe's Clinical Hematology 14th ed, Wolters Kluwer