

Buku Perguruan Tinggi



**Gilang Nugraha, S.Si., M.Si**  
**Imaduddin Badrawi, Amd. AK**

# **Pedoman Teknik Pemeriksaan** **LABORATORIUM** **KLINIK**

*Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medik*



**TIM**

**Pedoman Teknik Pemeriksaan**  
**LABORATORIUM**  
**KLINIK**

Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medik

**Pedoman Teknik Pemeriksaan**  
**LABORATORIUM**  
**KLINIK**

Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medik

**Gilang Nugraha, S.Si., M.Si**  
**Imaduddin Badrawi, Amd. AK.**

**PENERBIT : TRANS INFO MEDIA, JAKARTA**  
Blog : [www.transinfotim.blogspot.com](http://www.transinfotim.blogspot.com)



## Kata Pengantar

**S**egala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan nikmat atas tersusunnya buku ini, salam serta shalawat kami panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW atas ILMU yang sudah disampaikan melaluinya, dan estafet perjuangan pada kekasih Rasulullah yaitu Khulafaurrasyidin.

Buku Laboratorium Klinik ini ditujukan untuk menambah khasanah buku-buku Laboratorium Medik. Buku ini disusun sedemikian rupa agar sesuai dengan kebutuhan Tenaga Laboratorium Medik baik itu Mahasiswa, dan atau yang sudah bekerja diberbagai institusi swasta dan pemerintah.

Buku teks ini bisa dijadikan buku pegangan (*Instructor's Manual*) untuk digunakan bersama-sama dengan buku teks lain. Isi buku ini meliputi dasar teori, prinsip, cara kerja manual maupun semi-otomatis, diagnosa klinis, intervensi dan limitasi pada semua pemeriksaan laboratorium medik. Buku ini menjadi pelengkap bahan ajar bagi setiap kampus dan laboratorium klinik baik laboratorium klinik sederhana dan canggih sekalipun.

Secara hati-hati kami rangkai dengan mengambil dari berbagai sumber untuk mewakili secara garis besar pemeriksaan rutin pada laboratorium klinik. Oleh karena itu, prosedur pemeriksaan pada beberapa parameter terutama yang menggunakan kit reagen dari vendor tertentu dapat memiliki langkah-langkah teknis yang berbeda, sehingga penulis menyarankan tetap mengikuti manual prosedur pada kit reagen yang digunakan.

Kami sangat berterima kasih terhadap rekan dan teman sejawat Ahli Teknologi Laboratorium Medik yang telah membantu mengumpulkan bahan-bahan dalam penyusunan buku teks ini. Akhir kata penulis mengharapkan semoga buku ini dapat bermanfaat, penulis menyadari akan kekurangan yang terdapat dalam buku ini, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis dalam penyempurnaan buku ini.

Penulis, Juli 2018



KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
<b>HEMATOLOGI.....</b>	<b>1</b>
Hematokrit Metode Mikrohematokrit .....	2
Hematokrit Metode Makrohematokrit .....	6
Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin .....	10
Hemoglobin Metode Sahli .....	15
Hitung Jumlah Leukosit .....	20
Hitung Jumlah Eritrosit .....	27
Hitung Jumlah Trombosit .....	32
Laju Endap Darah Metode Westergren .....	38
Laju Endap Darah Metode Wintrobe.....	42
Indeks Eritrosit.....	46

Total Eosinofil .....	50	Tes Toleransi Glukosa Oral .....	150
Hitung Retikulosit.....	56	Kolesterol Total.....	156
Hitung Jenis Leukosit .....	61	Trigliserida.....	161
Resistensi Osmotik Eritrosit .....	67	Kolesterol-HDL .....	166
<b>HEMOSTASIS</b> .....	71	Kolesterol-LDL.....	172
Retraksi Bekuan .....	72	Protein Total.....	177
Rumple Leede.....	76	Albumin Serum.....	182
Waktu Perdarahan Metode Ivy .....	79	Globulin Serum.....	187
Waktu Perdarahan Metode Duke .....	83	Asam Urat .....	191
Waktu Pembekuan Metode Lee and White.....	86	Ureum .....	196
Titer Fibrinogen .....	90	Klirens Ureum.....	201
Prothrombin Time .....	94	Kreatinin .....	207
Activated Partial Thromboplastin Time .....	98	Klirens Kreatinin .....	213
<b>IMUNOHEMATOLOGI</b> .....	103	Bilirubin Total .....	219
Golongan Darah ABO .....	104	Bilirubin Direk.....	225
Golongan Darah Rhesus .....	107	Bilirubin Indirek .....	230
Direct Coombs Test .....	110	Serum Glutamic Oxaloasetic Transaminase.....	234
Indirect Coombs Test .....	115	Serum Glutamic Pyruvic Transaminase.....	240
Crossmatch Mayor.....	120	Gamma-glutamyl Transferase.....	245
Crossmatch Minor.....	125	Alkaline Phosphatase.....	250
<b>KIMIA KLINIK</b> .....	131	Creatine Kinase .....	256
Glukosa Darah Sewaktu.....	132	Creatine Kinase-MB .....	261
Glukosa Darah Puasa.....	138	Lactate Dehydrogenase .....	266
Glukosa Darah Postprandial.....	144		

<b>IMUNOSEROLOGI</b> .....	271
Human Chorionic Gonadotropin.....	272
Venereal Disease Research Laboratory .....	277
Widal .....	281
HBsAg .....	286
Tubex TF .....	290
C-Reactive Protein .....	294
Rheumatoid Factor .....	300
Antistreptolysin O .....	306
<b>BIODATA PENGARANG</b> .....	313
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	315



## Daftar Singkatan

µL	: Mikroliter
Abs	: Absorban
ACTH	: <i>Adrenocorticotropic hormone</i>
AGT	: <i>Antiglobulin test</i>
AHG	: <i>Anti human globulin</i>
ALP	: <i>Alkaline phosphatase</i>
ALAT	: <i>Alanineaminotransferase</i>
ALT	: <i>Alanine transaminase</i>
AMI	: <i>Acute myocardial infarction</i>
AMP	: <i>Adenosine monophosphate</i>
APTT	: <i>Activated partial thromboplastintime</i>
AR	: <i>Artritis reumatoid</i>
ASO/ASTO	: <i>Antistreptolisin O</i>
ASAT	: <i>Aspartate aminotransferase</i>

AST : *Aspartate transaminase*  
 ATP : *Adenosine triphosphate*  
 BA : *Bovine albumin*  
 BCB : *Brilliant cresyl blue*  
 BCG : *Bromcresol green*  
 BSR : *Blood sedimentation rate*  
 BT : *Bleeding time*  
 BUN : *Blood urea nitrogen*  
 CaCl<sub>2</sub> : *Calcium chloride*  
 CCC : *Control cell coombs*  
 CDC : *Centers for disease control and prevention*  
 CE : *Cholesterol esterase*  
 CHF : *Congestive heart failure*  
 CHOD : *Cholesterol oxidase*  
 CK : *Creatine kinase*  
 CLSI : *Clinical and laboratory standards institute*  
 CO : *Cholesterol oxidase*  
 CPK : *Creatine phosphokinase*  
 CRP : *C-reactive protein*  
 CT : *Cloting time*  
 CVA : *Cedera serebrovaskular*  
 DH : *Dehidrogenase*  
 DIC : *Disseminated intravascular coagulation*  
 dL : *Desiliter*

DMSO : *Dimethylsulfoxide*  
 DSA : *Diazotized sulfanilic acid*  
 EDTA : *Ethylenediaminetetraacetic acid*  
 ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*  
 ESR : *Erythrocyte sedimentation rate*  
 FBS : *Fasting blood sugar*  
 FDP : *Fibrin degradation products*  
 fL : *Femtoliter*  
 FSH : *Follicle-stimulating hormone*  
 G : *Gauge*  
 g : *Gram*  
 G6P : *Glukosa-6-fosfat*  
 GDP : *Glukosa darah puasa*  
 GDS : *Glukosa darah sewaktu*  
 GFR : *Glomerular filtration rate*  
 GGT : *Gamma-glutamyl transferase*  
 GK : *Gliserol kinase*  
 GLDH : *Glutamat dehidrogenase*  
 GNPA : *Gamma glutamil p-nitroanilida*  
 GOD : *Glukosa oksidasi*  
 GPO : *Glycerol phosphate oxidase*  
 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : *Hidrogen peroksida*  
 HAV : *Hepatitis A virus*  
 Hb/HGB : *Hemoglobin*



HbCO	: Karboksihemoglobin	LDH	: <i>Lactate dehydrogenase</i>
HbO <sub>2</sub>	: Oksihemoglobin	LDL	: <i>Low density lipoprotein</i>
HBsAg	: <i>Hepatitis B surface antigen</i>	LED	: Laju endap darah
HBV	: <i>Hepatitis B virus</i>	LH	: <i>Luteinizing hormone</i>
hCG	: <i>Human chorionic gonadotropin</i>	LPL	: Lipoprotein lipase
HCl	: Hidrogen klorida	MAO	: <i>Monoamine oxidase</i>
HCT/Ht	: Hematokrit	MCH	: <i>Mean corpuscular hemoglobin</i>
HCV	: <i>Hepatitis C virus</i>	MCHC	: <i>Corpuscular hemoglobin concentration</i>
HDL	: <i>High density lipoprotein</i>	MCI	: <i>Myocard infarct</i>
HDN	: <i>Hemolytic disease of the newborn</i>	MCV	: <i>Mean corpuscular volume</i>
Hi	: Methemoglobin	MDH	: Malat dehidrogenasi
HK	: Heksokinase	Mg	: Magnesium
IFCC	: <i>The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>	mg	: Miligram
Ig	: Immunoglobulin	mm	: Milimeter
IM	: Intramuskular	mmol	: Milimol
IMBI	: <i>Inhibition magnetic binding immunoassay</i>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Natrium fosfat
INH	: Isoniazid	NaCl	: Natrium klorida
INR	: <i>International normalized ratio</i>	NAD	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
ITP	: <i>Idiopathic thrombocytopenic purpura</i>	NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
IU	: <i>International unit</i>	NaF	: Natrium florida
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	: Kalium ferisianida	NaHCO <sub>3</sub>	: Natrium bikarbonat
KCN	: Kalium Sianida	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	: Amonium
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Kalium fosfat anhidrat	nm	: Nanometer
L	: Liter	NMB	: <i>New methylene blue</i>

NPN : Non protein nitrogen  
NRBC : *Nucleated red blood cell*  
OGTT : *Oral glucose tolerance test*  
PAP : Para Aminofenazon  
PAS : Para amino salisilat  
PCV : *Packed cell volume*  
pg : Pikogram  
PLT : Platelet  
POD : Peroxidase  
PPBS : *Postprandial blood sugar*  
PPOM : Penyakit paru obstruktif menahun  
PT : *Prothrombin time*  
PTA : *Phosphotungstic acid*  
RA : *Rheumatoid arthritis*  
RBC : *Red blood cell*  
RBG : *Random blood glucose*  
RF : *Rheumatoid factor*  
Rh : Rhesus  
RNA : *Ribonucleic acid*  
RPR : *Rapid Plasma Reagin*  
SADT : Sediaan apus darah tepi  
SCID : *Severe combined immunodeficiency disease*  
SGOT : *Serum glutamic oxaloasetic transaminase*  
SGPT : *Serum glutamic pyruvic transaminase*

SHb : Sulfhemoglobin  
SLE : *Systemic lupus erythematosus*  
TG : Triglicerida  
TPHA : *Treponema pallidum hemagglutination*  
TSH : *Thyroid-stimulating hormone*  
TTGO : Tes toleransi glukosa oral  
U : Unit  
USR : *Unheated serum reagin*  
VDRL : *Venereal disease research laboratory*  
VLDL : *Very low density lipoprotein*  
WBC : *White blood cell*  
WHO : *World health organization*

# HEMATOLOGI

# HEMATOKRIT (MIKROHEMATOKRIT)

## Deskripsi

Hematokrit (Ht atau Hct) disebut juga *packed cell volume* (PCV) adalah pemeriksaan volume eritrosit dalam mililiter yang ditemukan dalam 100 ml darah dan dihitung dalam persen (%). Pemeriksaan ini menggambarkan komposisi eritrosit dalam darah di dalam tubuh. Perubahan persentase hematokrit dipengaruhi oleh faktor seluler dan plasma, seperti peningkatan atau penurunan produksi eritrosit, ukuran eritrosit dan kehilangan atau asupan cairan.

Metode mikrohematokrit merupakan *gold standard* pemeriksaan hematokrit. Teknik pemeriksaan mikrohematokrit dapat menggunakan darah vena dan kapiler yang dimasukkan ke dalam pipa kapiler atau tabung mikrohematokrit dengan ukuran 7 cm dan diameter 1 mm. Terdapat dua jenis pipa kapiler. Jika menggunakan darah yang telah diberikan antikoagulan, maka tabung yang digunakan tidak mengandung antikoagulan, yang biasanya tabung disimpan pada wadah biru. Jika menggunakan darah kapiler, maka harus digunakan tabung yang mengandung antikoagulan (heparin), biasanya tabung disimpan pada wadah merah.

Kontrol kualitas pemeriksaan analitik metode mikrohematokrit umumnya dilakukan dengan cara pengerjaan dua kali pada sampel yang sama (duplo) dan harus memiliki selisih pemeriksaan kurang dari 2%, sumber lain malah menyebutkan kurang dari 1%. Tindakan yang harus dilakukan jika hasil pemeriksaan lebih dari 2% adalah mengulang pemeriksaan.

## Metode

Mikrohematokrit.

## Prinsip

Darah disentrifugasi pada kecepatan tinggi dalam waktu tertentu, sehingga sel-sel akan terpisah dari plasmanya. Ruangan yang ditempati sel darah merah diukur dan dinyatakan sebagai persen dari seluruh volume darah.

## Tujuan

1. Memantau volume sel darah merah dalam darah.
2. Memantau perubahan volume plasma darah.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 44 – 46 %
Usia 1 sampai 3 tahun	: 29 – 40 %
Usia 4 sampai 10 tahun	: 31 – 43 %
Pria Dewasa	: 40 – 54 %
Wanita Dewasa	: 36 – 46 %
Nilai Kritis	: <15% dan >60%

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Dehidrasi/hipovolemia, diare berat, polisitemia vera, eritrositosis, diabetes asidosis, emfisema pulmonar (dalam tahap akhir), iskemia serebrum sementara, eklampsia, pembedahan, luka bakar.

- Obat

-

## Penurunan Kadar

- Masalah Klinis

Kehilangan darah akut, anemia (aplastik, hemolitik, defisiensi asam folat, pernisiiosa, sideroblastik, sel sabit), leukemia (limfositik, mielositik, monositik), penyakit Hodgkin, limfosarkoma, malignasi organ, mieloma multipel, sirosis hati, malnutrisi protein, defisiensi vitamin (tiamin, vitamin C), fistula lambung atau duodenum, ulkus peptikum, gagal ginjal kronis, kehamilan, SLE, AR (terutama anak-anak).

- Obat

Anti neoplastik, antibiotik (kloramfenikol, penisilin), obat radioaktif.

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Tabung mikrohematokrit.
2. *Clay, micro burner* atau malam.
3. Sentrifuse mikrohematokrit.
4. Kalkulator mikrohematokrit atau alat pembaca hematokrit (*reading device*).

## Prosedur

1. Masukkan darah ke dalam dua tabung mikrohematokrit sampai 2/3 atau 3/4 bagian tabung.
2. Tutup salah satu bagian tabung menggunakan *clay* atau *micro burner*.
3. Letakan dua tabung mikrohematokrit pada sentrifuse secara bersebrangan, dengan penutup menjauhi bagian tengah sentrifuse.
4. Sentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 11.000-16.000 rpm.
5. Angkat tabung mikrohematokrit setelah sentrifuse berhenti berputar. Hasil yang di dapat dihitung menggunakan kalkulator mikrohematokrit.
6. Hasil sentrifugasi harus memiliki tiga bagian, yaitu bagian eritrosit pada dasar tabung, bagian *buffy coat* pada bagian tengah tabung dan plasma pada bagian atas
7. Hasil selisih hematokrit harus memiliki selisih  $\pm 2\%$ .
8. Jika selisih lebih dari 2% harus dilakukan pemeriksaan ulang.

## Limitasi

Darah lisis, cairan jaringan, bekuan darah, antikoagulan berlebih dan pemeriksaan yang tidak segera dilakukan dapat memberikan hasil yang tidak akurat.

# HEMATOKRIT (MAKROHEMATOKRIT)

## Deskripsi

Pemeriksaan hematokrit menggunakan metode makrohematokrit pada dasarnya sama dengan metode mikrohematokrit, hanya saja metode ini menggunakan tabung Wintrobe. Tabung Wintrobe memiliki bentuk sama seperti tabung sahli dengan panjang sekitar 110 mm dan diameter 2,5 mm dengan skala 0 – 10 mm dan interval skala 1 mm.

Spesimen pemeriksaan yang dapat digunakan untuk pemeriksaan dengan metode hematokrit hanya dapat menggunakan darah vena dengan atikoagulan EDTA atau heparin. Penggunaan darah kapiler tidak memungkinkan karena membutuhkan volume yang lebih banyak dibandingkan metode mikrohematokrit.

Metode makrohematokrit, memiliki akurasi yang kurang baik jika dibandingkan dengan metode mikrohematokrit. Karena, diameter tabung yang terlalu lebar dapat menyebabkan bias pengukuran tinggi eritrosit dalam tabung.

## Metode

Makrohematokrit.

## Prinsip

Darah disentrifugasi pada kecepatan tinggi dalam waktu tertentu, sehingga sel-sel akan terpisah dari plasmanya. Ruangan

yang ditempati sel darah merah diukur dan dinyatakan sebagai persen dari seluruh volume darah.

## Tujuan

1. Memantau volume sel darah merah dalam darah.
2. Memantau perubahan volume plasma darah.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 44 – 46 %
Usia 1 sampai 3 tahun	: 29 – 40 %
Usia 4 sampai 10 tahun	: 31 – 43 %
Pria Dewasa	: 40 – 54 %
Wanita Dewasa	: 36 – 46 %
Nilai Kritis	: <15% dan >60%

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Dehidrasi/hipovolemia, diare berat, polisitemia vera, eritrositosis, diabetes asidosis, emfisema pulmonar (dalam tahap akhir), iskemia serebrum sementara, eklampsia, pembedahan, luka bakar.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Kehilangan darah akut, anemia (aplastik, hemolitik, defisiensi asam folat, perniosis, sideroblastik, sel sabit), leu-

kemia (limfositik, mielositik, monositik), penyakit Hodgkin, limfosarkoma, malignasi organ, mieloma multipel, sirosis hati, malnutrisi protein, defisiensi vitamin (tiamin, vitamin C), fistula lambung atau duodenum, ulkus peptikum, gagal ginjal kronis, kehamilan, SLE, AR (terutama anak-anak).

- **Obat**

Anti neoplastik, antibiotik (kloramfenikol, penisilin), obat radioaktif.

## Spesimen

Darah vena (EDTA atau heparin).

## Alat dan Reagen

1. Tabung Wintrobe.
2. Sentrifuse.

## Prosedur

- 1) Masukkan darah pada tabung Wintrobe sampai batas 0 atau 10.
- 2) Letakan dua tabung Wintrobe pada sentrifuse secara bersebrangan, dengan penutup menjauhi bagian tengah sentrifuse.
- 3) Sentrifuse selama 30 menit dengan kecepatan 3.000 rpm.
- 4) Angkat tabung mikrohematokrit setelah sentrifuse berhenti berputar.
- 5) Hasil yang di dapat dihitung berdasarkan skala yang tertera pada tabung. Nilai hematokrit didapat menggunakan rumus:

$$\text{Hematokrit (\%)} = \frac{\text{Tinggi sel darah merah (mm)}}{\text{Tinggi darah keseluruhan (mm)}} \times 100\%$$

## Limitasi

Darah lisis, cairan jaringan, bekuan darah, antikoagulan berlebih dan pemeriksaan yang tidak segera dilakukan dapat memberikan hasil yang tidak akurat.

# HEMOGLOBIN (SIANMETHEMOGLOBIN)

## Deskripsi

Hemoglobin (Hb atau Hgb) merupakan pemeriksaan kadar hemoglobin dalam darah. Terdapat berbagai macam metode pemeriksaan hemoglobin, tetapi metode yang paling umum dilakukan dalam laboratorium klinik adalah pemeriksaan hemoglobin dengan metode Sahli dan Sianmethemoglobin (*cyanmethemoglobin*). Sampai saat ini, *gold standard* pemeriksaan hemoglobin adalah Sianmethemoglobin.

Metode pemeriksaan sianmethemoglobin menggunakan reagen Drabkins yang didasarkan pada pengukuran secara kolorimetri menggunakan spektrofotometer atau fotometer. Metode ini dapat mengukur hemoglobin dalam bentuk fraksi oksihemoglobin ( $\text{HbO}_2$ ), methemoglobin (Hi), karboksihemoglobin ( $\text{HbCO}$ ) karena Drabkin mampu merubah hemoglobin tersebut menjadi sianmethemoglobin kecuali sulfhemoglobin (SHb). Tingkat kesalahan pemeriksaan ini hanya mencapai 2%.

## Metode

Sianmethemoglobin.

## Prinsip

Reagen Drabkins yang mengandung kalium sianida dan kalium ferrisianida jika di tambahkan dengan darah akan membentuk reaksi kimia. Ferrisianida akan merubah Fe dalam hemoglobin dari ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) menjadi ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) membentuk

methemoglobin. Kemudian bergabung dengan kalium sianida membentuk sianmethemoglobin dengan warna yang stabil. Warna yang terbentuk sebanding dengan kadar hemoglobin dalam darah dan di ukur pada fotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

## Tujuan

1. Menentukan kadar hemoglobin dalam darah.
2. Membantu mendiagnosis anemia.
3. Menentukan defisit cairan tubuh akibat peningkatan kadar hemoglobin.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 14 – 24 g/dL
Bayi	: 10 – 17 g/dL
Anak	: 11 – 16 g/dL
Pria Dewasa	: 13,5 – 17 g/dL
Wanita Dewasa	: 12 – 15 g/dL

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Dehidrasi/hemokonsentrasi, polisitemia, daerah dataran tinggi, PPOM, CHF, luka bakar parah.
- **Obat**  
Gentamisin, metildopa (aldomet).



## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Anemia (defisiensi zat besi, aplastik, hemolitik), perdarahan hebat, sirosis hati, leukemia, penyakit Hodgkin, sarkoidosis, kelebihan cairan IV, kanker (usus besar, usus halus, rektum, hati, tulang), talasemia mayor, kehamilan, penyakit ginjal.

- **Obat**

Antibiotik (kloramfenikol, penisilin, tetrasiklin), aspirin, obat anti neoplastik, doksapram (dopram), derivat hidantoin, hidralazin, (apresoline), indometasin (indocin), inhibitor MAO, primakuin, rifampin, sulfonamid, trimetadion (tridione), vitamin A dosis tinggi.

## Spesimen

Darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Tabung Kahn atau serologi.
2. Pipet Sahli atau mikropipet 20 µL.
3. Fotometer atau spektrofotometer.
4. Reagen Drabkins.

Natrium bikarbonat (NaHCO <sub>3</sub> )	1,00 g
Kalium sianida (KCN)	0,05 g
Kalium ferisianida (K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> )	0,20 g
Aquadest	1000 mL

Reagen Drabkins harus disimpan dalam botol coklat dan stabil selama satu bulan.

## Prosedur

### Penetapan Kadar Hemoglobin

1. Pipet 5,0 mL larutan Drabkins ke dalam tabung.
2. Pipet 20 µL darah, hapus sisa darah yang melekat pada bagian luar pipet.
3. Masukkan ke dalam tabung yang telah diisi larutan Drabkins, hisap dan tiup regen ke dalam pipet 3-5 kali untuk mengeluarkan sisa darah dalam pipet.
4. Campurkan darah dan reagen hingga homogen.
5. Inkubasi selama 3 menit pada suhu ruangan.
6. Warna yang terbentuk diukur menggunakan fotometer atau spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dengan larutan Drabkins sebagai blanko.
7. Kadar hemoglobin ditentukan menggunakan kurva kalibrasi atau dihitung menggunakan faktor.

### Membuat Kurva Kalibrasi dan Faktor

1. Buat pengenceran larutan standar dengan larutan Drabkins dengan kadar hemoglobin yang berbeda, paling sedikit 3 larutan standar.
2. Ukur menggunakan fotometer atau spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dengan larutan Drabkins sebagai blanko.
3. Buat kurva dengan absis (sumbu X) adalah konsentrasi kadar hemoglobin dan ordinat (sumbu Y) sebagai absorban standar.

## HEMOGLOBIN (SAHLI)

4. Menentukan kadar hemoglobin sampel dilakukan dengan cara memplotkan absorban standar pada kurva atau absorban sampel dikalikan dengan faktor.
5. Faktor ditentukan dengan menggunakan rumus.

$$\text{Faktor} = \frac{\text{Nilai rerata kadar heoglobin}}{\text{Nilai rerata absorban standar}}$$

### Limitasi

1. Keberadaan HbCO dalam darah dapat menyerap banyak sinar dan mengakibatkan kadar Hb tinggi palsu.
2. Leukositosis, hiperlipidemia, proteinemia dan eritrosit tidak lisis sempurna menyebabkan kadar tinggi palsu.
3. Reagen mengandung sianida yang bersifat racun.

### Deskripsi

Pemeriksaan hemoglobin menggunakan metode Sahli merupakan metode pemeriksaan yang lebih sederhana dan tidak memerlukan instrumen khusus dan besar dalam pemeriksaannya. Metode ini masih banyak digunakan di laboratorium puskesmas bahkan pelayanan kesehatan primer lainnya seperti klinik-klinik kecil terutama di daerah-daerah yang belum terjangkau listrik.

Metode sahli didasarkan pada pembentukan warna dengan menggunakan HCl 0,1 N sebagai pereaksi. Hemoglobin dalam darah akan bereaksi dengan HCl membentuk hematin asam dengan warna coklat tua. HCl tidak mampu bereaksi dengan semua fraksi hemoglobin seperti methemoglobin, sulfhemoglobin dan karboksihemoglobin. Penyimpangan pemeriksaan sahli mencapai 15% sampai 30%.

Pemeriksaan ini menggunakan alat hemometer yang di dalamnya terdapat pipet Sahli, tabung Sahli, rak tabung Sahli (standar), batang pengaduk, aspirator, botol kaca dan sikat tabung. Standar Sahli yang terdapat pada rak tabung merupakan dua buah tabung yang berwarna coklat yang ditempatkan pada rak tabung Sahli, warna tersebut dapat memudar akibat lama pemakaian atau kotor. Oleh sebab itu, harus dilakukan koreksi pada standar Sahli.

## Metode

Sahli.

## Prinsip

Darah yang ditambahkan asam lemah (HCl 0,1N), maka hemoglobin akan dirubah menjadi hematin asam yang berwarna coklat tua. Warna yang terbentuk diencerkan menggunakan aquadest sampai warna yang terjadi sama dengan warna standar.

## Tujuan

1. Menentukan kadar hemoglobin dalam darah.
2. Membantu mendiagnosis anemia.
3. Menentukan defisit cairan tubuh akibat peningkatan kadar hemoglobin.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 14 – 24 g/dL
Bayi	: 10 – 17 g/dL
Anak	: 11 – 16 g/dL
Pria Dewasa	: 13,5 – 17 g/dL
Wanita Dewasa	: 12 – 15 g/dL

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Dehidrasi/hemokonsentrasi, polisitemia, daerah dataran tinggi, PPOM, CHF, luka bakar parah.

- **Obat**

Gentamisin, metildopa (aldomet).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Anemia (defisiensi zat besi, aplastik, hemolitik), perdarahan hebat, sirosis hati, leukemia, penyakit Hodgkin, sarkoidosis, kelebihan cairan IV, kanker (usus besar, usus halus, rektum, hati, tulang), talasemia mayor, kehamilan, penyakit ginjal.

- **Obat**

Antibiotik (kloramfenikol, penisilin, tetrasiklin), aspirin, obat anti neoplastik, doksapram (dopram), derivat hidantoin, hidralazin, (apresoline), indometasin (indocin), inhibitor MAO, primakuin, rifampin, sulfonamid, trimetadion (tridione), vitamin A dosis tinggi.

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Hemometer.
2. Aquadest.
3. Larutan HCl 0,1 N.

## Prosedur

### Penetapan Kadar Hb

1. Masukkan larutan HCl 0,1 N ke dalam tabung Sahli sampai tanda batas 2.
2. Isap darah menggunakan pipet Sahli hingga tanda batas 20 uL.
3. Hapus darah yang melekat pada bagian luar pipet menggunakan tissue secara hati-hati, jangan sampai darah dalam pipet berkurang.
4. Masukkan darah dari pipet ke dalam dasar tabung Sahli yang telah terisi HCl 0,1 N.
5. Hisap dan keluarkan larutan HCl menggunakan pipet Sahli 2-3 kali untuk membilas sisa darah dalam pipet.
6. Inkubasi selama 3-5 menit.
7. Tambahkan aquades tetes demi tetes.
8. Homogenkan dengan cara mengocok tabung atau dengan batang pengaduk, perhatikan jangan sampai ada gelembung udara.
9. Bandingkan warna yang terbentuk dengan warna pada standar. Jika warna masih pekat (lebih gelap dari standar), tambahkan lagi aquadest dan homogenkan kembali sampai warna sama dengan warna standar.
10. Baca skala tabung Sahli pada miniskus bawah larutan, catat dan laporkan sebagai kadar hemoglobin dalam satuan g/dL.

## Faktor Koreksi

Warna standar hemoglobin sahli dapat pudar, sehingga perlu dilakukan koreksi terhadap metode standar seperti Sianmethemoglobin.

1. Lakukan pemeriksaan menggunakan metode Sahli dan Sianmethemoglobin minimal 10 sampel. Pastikan fotometer yang digunakan sudah terkalibrasi.
2. Hitung rata-rata nilai Hb Sahli dan Hb Sianmethemoglobin
3. Faktor koreksi Hb sahli ditetapkan dengan persamaan di bawah ini.

$$F = \frac{\text{Nilai rerata Hb Sahli (g/dL)}}{\text{Nilai rerata Hb Sianmethemoglobin (g/dL)}}$$

4. Tulis Faktor dan tanggal penentuan pada rak tabung Sahli.
5. Maka kadar Hb Sahli yang sebenarnya dapat ditentukan dengan persamaan.

$$\text{Nilai Hb Sahli sebenarnya } \left( \frac{g}{dL} \right) = \text{Nilai Hb Sahli yang terukur (g/dL)} \times F$$

## Limitasi

1. Warna standar memudar.
2. Tidak semua jenis Hb dapat dirubah HCl menjadi asam hematin.
3. Penggunaan batang pengaduk berulang dapat menyebabkan Hb rendah palsu.

# HITUNG JUMLAH LEUKOSIT

## Deskripsi

Hitung jumlah leukosit (*white blood cell*, WBC) adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah leukosit dalam 1  $\mu\text{L}$  darah. Satuan yang digunakan untuk hitung jumlah leukosit adalah  $\text{sel}/\text{mm}^3$ ,  $\text{sel}/\mu\text{L}$ ,  $\times 10^3 \text{ sel}/\text{mL}$ ,  $\times 10^6 \text{ sel}/\text{L}$ .

Penentuan jumlah leukosit dapat dilakukan secara manual menggunakan hemositometer (kamar hitung) atau secara otomatis menggunakan alat *hematology analyzer*. Pemeriksaan secara manual dilakukan dengan mengencerkan darah menggunakan reagen Turk dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

Reagen Turk 100 mL mengandung 3 mL asam asetat glasial dan 1 mL gentian violet 1%. Reagen tersebut berperan untuk melisiskan sel selain leukosit dan mewarnai sel yang tidak dilisiskan. Reagen Turk tidak mampu melisiskan eritrosit berinti (*nucleated red blood cell*, NRBC), sehingga dalam pemeriksaan ini NRBC akan terhitung sebagai leukosit. Oleh sebab itu, jika ditemukan lebih dari 5 NRBC maka perlu dilakukan koreksi ulang pemeriksaan dengan cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit dan eritrosit berinti dihitung dalam 100 leukosit.

## Metode

Kamar Hitung.

## Prinsip

Darah akan diencerkan dengan penambahan reagen Turk, asam lemah dalam reagen akan melisiskan sel selain leukosit dan leukosit terwarnai oleh zat pewarna gentian violet sehingga sel mudah dihitung di bawah mikroskop.

## Tujuan

1. Menentukan jumlah leukosit dalam darah.
2. Menentukan adanya infeksi.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 9.000 – 30.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Anak Usia 2 Tahun	: 6.000 – 17.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Anak Usia 10 Tahun	: 4.500 – 13.500 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Dewasa	: 4.500 – 10.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Infeksi akut (pneumonia, meningitis, apendisitis, kolitis, peritonitis, pankreatitis, pielonefritis, tuberkulosis, tonsilitis, divertikulitis, septikemia, demam rematik), nekrosis jaringan (infark miokardial, sirosis hati, luka bakar, kanker organ, emfisema, ulkus peptikum), leukemia, penyakit kolagen, anemia hemolitik dan sel sabit, penyakit parasitik, stres (pembedahan, demam, kekacauan emosional yang berlangsung lama).

- **Obat**

Aspirin, heparin, digitalis, epinefrin, litium, histamin, antibiotik (ampisilin, eritromisin, kanamisin, metisilin, tetrasiklin, vankomisin, streptomisin), senyawa emas, prokainamid (pronestyl), triamteren (dyrenium), alopurinol, kalium iodida, derivatif hidantoin, sulfonamid (aksi lama).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Penyakit hematopoietik (anemia aplastik, anemia perniosa, hipersplenisme, penyakit Gaucher), infeksi virus, malaria, agranulositosis, alkoholisme, SLE, artritis reumatoid.

- **Obat**

Penisilin, sefalotin, kloramfenikol, asetaminofen (tylenol), sulfonamid, propiltiourasil, barbiturat, agen kemoterapi kanker, diazepam (valium), diuretik (furosemid, asam etzkrinat), klordiazepoksid, agenhipoglikemik oral, indometasin (indocin), metildopa (aldomet), rimfampin, fenotiazin.

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Hemositometer Improved Neubauer.
2. Mikroskop.
3. Mikropipet.
4. Tabung Kahn atau serologi.

## 5) Larutan Turk

Asam asetat glasial	3 mL
Gentian violet 1%	1 mL
Aquades	100 mL

## Prosedur

### Persiapan Bilik Hitung

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

### Pengenceran Darah Menggunakan Pipet Thoma

1. Hisap darah sampai tanda batas 0,5 (pengenceran 20 kali) atau sampai tanda batas 1 (pengenceran 10 kali).
2. Bersihkan ujung pipet bagian luar dari sisa darah yang masih menempel, jangan sampai darah dalam pipet berkurang.
3. Hisap reagen Turk sampai tanda batas 11, hindari adanya gelembung udara. Jika terdapat gelembung udara ulangi prosedur dari awal.
4. Jumlah pengenceran dengan pipet Thoma ditentukan dengan persamaan:

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

5. Kocok pipet Thoma 2-3 menit agar darah dalam pipet tercampur sempurna.
6. Buang 3-4 tetes pertama.
7. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan sebanyak 1 tetes pada pinggir kaca penutup.
8. Inkubasi 2-3 menit untuk memberi kesempatan sel menyebar dan diam.

#### Pengenceran Darah Menggunakan Mikropipet

1. Pipet ke dalam tabung reagen Turk sebanyak 90  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 10  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 100 kali).
2. Atau pipet ke dalam tabung reagen Turk sebanyak 95  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 5  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 200 kali).
3. Jumlah pengenceran dengan mikropipet ditentukan dengan persamaan:

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

4. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan pada pinggir kaca penutup.
5. Inkubasi 2-3 menit untuk memberi kesempatan sel menyebar dan diam.

#### Menghitung Sel Leukosit

1. Hitung leukosit di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.
2. Hitung leukosit pada 16 kotak sedang, dengan ukuran 0,25 mm x 0,25 mm yang ada pada sudut bilik hitung.

3. Leukosit dihitung secara zigzag dengan aturan kiri-atas atau kanan-bawah.

#### Perhitungan

$$\text{Jumlah leukosit per mm}^3 = \frac{N \times P}{V} = \frac{N \times P}{0,4}$$

atau

$$\text{Jumlah leukosit per mm}^3 = N \times P \times KV = N \times P \times 2,5$$

Keterangan:

N : Jumlah sel yang di hitung

P : Pengenceran

V : Volume bilik hitung

KV : Koreksi volume bilik hitung

#### Koreksi Hitung Jumlah Leukosit

Jika ditemukan lima atau lebih NRBC dalam 100 leukosit pada pemeriksaan hitung jenis leukosit maka hitung jumlah leukosit harus di koreksi sebagai berikut:

$$\text{Pengenceran} = \frac{\text{Jumlah leukosit terhitung}}{100 + \text{jumlah NRBC dalam 100 leukosit}} \times 100$$

Atau koreksi jumlah leukosit per  $\text{mm}^3$  dengan cara mengurangi jumlah leukosit terhitung teradap jumlah NRBC yang ditemukan dalam  $\text{mm}^3$ .

Jumlah NRBC per  $\text{mm}^3$

$$= \frac{\text{Jumlah eritrosit berinti}}{100 \text{ leukosit} + \text{jumlah eritrosit berinti}} \times \text{hitung jumlah leukosit}$$

Hitung jumlah leukosit terkoreksi adalah:

$$= \text{hitung jumlah leukosit} - \text{konsentrasi eritrosit berinti}$$

## Limitasi

1. Tingginya tingkat kesalahan pada pengenceran menggunakan pipet thoma.
2. Tidak terbuangnya tetesan pertama larutan turk.
3. Keberadaan NRBC yang dapat mengganggu pemeriksaan.
4. Kesalahan perhitungan.

## HITUNG JUMLAH ERITROSIT

### Deskripsi

Hitung jumlah eritrosit (*red blood cell*, RBC) adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah eritorsit dalam 1  $\mu\text{L}$  darah. Satuan yang digunakan untuk hitung jumlah leukosit adalah  $\text{sel}/\text{mm}^3$ ,  $\text{sel}/\mu\text{L}$ ,  $\times 10^3 \text{ sel}/\text{mL}$ ,  $\times 10^6 \text{ sel}/\text{L}$ .

Penentuan jumlah eritrosit pada dasarnya sama dengan hitung jumlah leukosit, sehingga cara yang dapat digunakan yaitu menggunakan hemositometer (kamar hitung) atau secara otomatis menggunakan *hematology analyzer*. Perbedaan terletak pada pengenceran dan penggunaan reagen. Hitung jumlah eritrosit menggunakan reagen Hayem.

Larutan pengencer Hayem tersusun dari berbagai macam garam sehingga menghasilkan kondisi yang isotonis yang dapat mempertahankan eritrosit agar tidak lisis, akan tetapi ketika homogenisasi dengan pengencer, perlu kehati-hatian dalam pengocokan karena eritrosit mudah lisis.

### Metode

Kamar hitung.

### Prinsip

Darah akan diencerkan dengan penambahan reagen Hayem, dalam suasana isotonis eritrosit akan mudah dihitung di bawah mikroskop.



## Tujuan

1. Menentukan jumlah eritrosit dalam darah.
2. Memantau jumlah eritrosit dalam darah.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 4,8 – 7,2 juta sel/mm <sup>3</sup>
Anak	: 3,8 – 5,5 juta sel/mm <sup>3</sup>
Pria Dewasa	: 4,6 – 6,0 juta sel/mm <sup>3</sup>
Wanita Dewasa	: 4,0 – 5,0 juta sel/mm <sup>3</sup>

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Polisitemia vera, hemokonsentrasi/dehidrasi, dataran tinggi, kor pulmonar, penyakit kardiovaskular.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Perdarahan (kehilangan darah), anemia, infeksi kronis, leukemia, mieloma multipel, cairan per intravena berlebih, gagal ginjal kronis, kehamilan, hidrasi berlebihan.

- **Obat**

-

## Spesimen

Darah kapiler atau darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Hemositometer Improved Neubauer.
2. Mikroskop.
3. Mikropipet.
4. Tabung Kahn atau serologi.
5. Larutan Hayem.

Natrium sulfat	5 g
Natrium klorida	1 g
Merkuri klorida	0,5 g
Aqudest ad	200 mL

## Prosedur

### Persiapan Bilik Hitung

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

### Pengenceran Darah Menggunakan Pipet Thoma

1. Hisap darah sampai tanda batas 0,5 (pengenceran 200 kali) atau sampai tanda batas 1 (pengenceran 100 kali).
2. Bersihkan ujung pipet bagian luar dari sisa darah yang masih menempel, jangan sampai darah dalam pipet berkurang.

3. Hisap reagen Hayem sampai tanda batas 101, hindari adanya gelembung udara.
4. Tentukan pengenceran dengan pipet Thoma menggunakan rumus:

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

5. Kocok pipet Thoma 2-3 menit agar darah dalam pipet tercampur sempurna.
6. Buang 3-4 tetes pertama.
7. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan sebanyak 1 tetes pada pinggir kaca penutup.
8. Inkubasi 2-3 menit untuk memberi kesempatan sel menyebarkan dan diam.

#### Pengenceran Darah Menggunakan Mikropipet

1. Pipet ke dalam tabung reagen Hayem sebanyak 990  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 10  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 100 kali).
2. Atau pipet ke dalam tabung reagen Hayem sebanyak 995  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 5  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 200 kali).
3. Pengenceran dengan mikropipet ditentukan menggunakan rumus:

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

4. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan pada pinggir kaca penutup.
5. Inkubasi 2-3 menit untuk memberi kesempatan sel menyebarkan dan diam.

#### Menghitung Sel Eritrosit

1. Hitung eritrosit di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.
2. Hitung eritrosit pada 16 kotak kecil, dengan ukuran 0,05 mm x 0,05 mm pada 5 kotak sedang eritrosit dengan ukuran 0,20 mm x 0,20 mm (bagian tengah kamar hitung). Bagian kotak sedang yang dihitung adalah kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah dan tengah.
3. Eritrosit dihitung secara zigzag dengan aturan kiri-atas atau kanan-bawah.

#### Perhitungan

$$\text{Jumlah eritrosit per mm}^3 = \frac{N \times P}{V} = \frac{N \times P}{0,02}$$

atau

$$\text{Jumlah eritrosit per mm}^3 = N \times P \times KV = N \times P \times 50$$

Keterangan:

N : Jumlah sel yang di hitung

P : Pengenceran

V : Volume bilik hitung

KV : Koreksi volume bilik hitung

#### Limitasi

1. Tingginya tingkat kesalahan pada pengenceran menggunakan pipet thoma.
2. Tidak terbuangnya tetesan pertama larutan turk.
3. Kesalahan perhitungan.

# HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

## Deskripsi

Hitung jumlah trombosit (*platelet*, PLT) adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah trombosit dalam 1  $\mu\text{L}$  darah. Satuan yang digunakan untuk hitung jumlah trombosit adalah  $\text{sel}/\text{mm}^3$ ,  $\text{sel}/\mu\text{L}$ ,  $\times 10^3 \text{ sel}/\text{mL}$ ,  $\times 10^6 \text{ sel}/\text{L}$ .

Penentuan jumlah trombosit pada dasarnya sama dengan hitung jumlah eritrosit, sehingga cara yang dapat digunakan yaitu menggunakan hemositometer (kamar hitung) pada kotak eritrosit atau secara otomatis menggunakan *hematology analyzer*. Pengenceran yang digunakan sama dengan hitung jumlah eritrosit, perbedaan terletak pada penggunaan reagen.

Terdapat dua jenis reagen yang dapat digunakan dalam pemeriksaan hitung jumlah trombosit, yaitu reagen Rees Ecker atau Brecher Cronkite. Perbedaan reagen tersebut terletak pada kemampuan melisiskan sel selain trombosit dan kemampuan mewarnai sel trombosit.

Reagen Rees Ecker mengandung pewarna *brilliant cresyl blue* (BCB), sehingga reagen ini dapat mewarnai sel trombosit tetapi tidak melisiskan sel selain trombosit. Tingkat kesalahan pemeriksaan menggunakan reagen Rees Ecker berkisar dari 16% sampai 25%. Reagen Brecher Cronkite dipasarkan sebagai larutan amonium oksalat 1% karena reagen tersebut mengandung amonium oksalat 1% yang digunakan sebagai larutan pengencer dan berfungsi melisiskan sel. Hasil penggunaan amonium oksalat 1% memberikan hasil tanpa adanya sel eritrosit karena dilisiskan dan trombosit tampak jernih. Tingkat

kesalahan pengencer ini lebih kecil dibandungkan reagen Rees Ecker karena hanya berkisar antara 8% sampai 10%.

## Metode

Kamar hitung.

## Prinsip

Darah diencerkan dengan penambahan reagen BCB (*brilliant cresyl blue*), trombosit terwarnai oleh zat pewarna BCB sehingga sel berwarna biru terang dan mudah dihitung di bawah mikroskop.

## Tujuan

1. Menentukan jumlah trombosit.
2. Memantau jumlah trombosit selama pengobatan.

## Nilai Rujukan

Prematur	: 100.000 – 300.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Bayi Baru Lahir	: 150.000 – 300.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Bayi	: 200.000 – 475.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$
Dewasa	: 150.000 – 400.000 $\text{sel}/\text{mm}^3$

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Polisitemia vera, trauma (pembedahan, fraktur), pasca-splenektomi, kehilangan darah akut (memuncak pada 7 sampai 10 hari), karsinoma metastatik, embolisme pulmonar, dataran tinggi, tuberkulosis, retikulosis, latihan fisik berat.

- **Obat**  
Epinefrin (adrenalin).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**  
ITP, mieloma multipel, kanker (tulang, saluran gastrointestinal, otak), leukemia (limfositik, mielositik, monositik), anemia (aplastik, defisiensi zat besi, pernisirosa, defisiensi asam folat, sel sabit), penyakit hati (sirosis, hepatitis aktif kronis), SLE, DIC, penyakit ginjal, eklampsia, demam rematik akut.
- **Obat**  
Antibiotik (kloromisetin, streptomisin), sulfonamid, aspirin (salisilat), quinidin, quinin, asetazolamid (diamox), amiodopirin, diuretik tiazid, meprobatam (equanil), fenilbutazon (butazolidin), tolbutamid (orinase), injeksi vaksin, agen kemoterapeutik.

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Hemositometer Improved Neubauer.
2. Mikroskop.
3. Mikropipet.
4. Tabung Kahn atau serologi.

5. Larutan BCB
 

<i>Brilliant cresyl blue</i>	0,1 gram
Formaldehid 37%	0,2 mL
Aquades	100 mL

## Prosedur

### Persiapan Bilik Hitung

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

### Pengenceran Darah Menggunakan Pipet Thoma

1. Siapkan cawan petri lembab dengan cara memasukan kapas basah ke dalam cawan petri.
2. Hisap darah sampai tanda batas 0,5 (pengenceran 200 kali) atau sampai tanda batas 1 (pengenceran 100 kali).
3. Bersihkan ujung pipet bagian luar dari sisa darah yang masih menempel jangan sampai darah dalam pipet berkurang.
4. Hisap reagen BCB sampai tanda batas 101, hindari adanya gelembung udara.
5. Tentukan pengenceran dengan pipet Thoma menggunakan rumus:

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

6. Kocok pipet Thoma 2-3 menit agar darah dalam pipet tercampur sempurna.
7. Buang 3-4 tetes pertama.
8. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan sebanyak 1 tetes pada pinggir kaca penutup.
9. Inkubasi 15 menit di dalam cawan petri lembab untuk memberi kesempatan sel menyebar dan diam tanpa terjadi penguapan.

#### Pengenceran Darah Menggunakan Mikropipet

1. Pipet ke dalam tabung reagen BCB sebanyak 990  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 10  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 100 kali).
2. Atau pipet ke dalam tabung reagen BCB sebanyak 995  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 5  $\mu\text{L}$  darah lalu homogenkan (pengenceran 200 kali).
3. Tentukan pengenceran dengan mikro pipet menggunakan rumus:

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

4. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan pada pinggir kaca penutup.
5. Inkubasi 15 menit di dalam cawan petri lembab untuk memberi kesempatan sel menyebar dan diam tanpa terjadi penguapan.

#### Menghitung Trombosit

1. Hitung trombosit di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.
2. Hitung trombosit pada 16 kotak kecil, dengan ukuran 0,05 mm x 0,05 mm pada 10 kotak sampai dengan 25 kotak sedang eritrosit dengan ukuran 0,20 mm x 0,20 mm.
3. Trombosit dihitung secara zigzag dengan aturan kiri-atas atau kanan-bawah.

#### Perhitungan

$$\text{Jumlah trombosit per mm}^3 = \frac{N \times P}{V} = \frac{N \times P}{25}$$

atau

$$\text{Jumlah trombosit per mm}^3 = N \times P \times KV = N \times P \times 250$$

Keterangan:

N : Jumlah sel yang di hitung

P : Pengenceran

V : Volume bilik hitung

KV : Koreksi volume bilik hitung

#### Limitasi

1. Tingginya tingkat kesalahan pada pengenceran menggunakan pipet thoma.
2. Tidak terbuangnya tetesan pertama larutan pengencer.
3. Kesalahan perhitungan.

# LAJU ENDAP DARAH (WESTERGREN)

## Deskripsi

Laju endap darah (LED), *erythrocyte sedimentation rate* (ESR) atau *blood sedimentation rate* (BSR) digunakan untuk menentukan kecepatan eritrosit mengendap dalam darah. Pemeriksaan LED merupakan pemeriksaan non-spesifik, peningkatan LED menandakan adanya inflamasi akut.

LED pertama kali diperkenalkan pada tahun 1921 oleh Dr. R. Fahraeus dan Dr. A. Westergren. Metode Westergren merupakan pemeriksaan baku emas (*gold standard*) untuk LED. Pemeriksaan ini menggunakan pipet Westergren yang memiliki panjang 300 mm dengan diameter bagian dalam tabung 2,6 mm dan memiliki skala 0 – 200 mm. Tabung tersebut dipasang pada rak tabung secara vertikal.

Proses pengendapan eritrosit terdiri dalam tiga tahap. Tahap pertama berlangsung dalam waktu 10 menit yang merupakan fase pengendapan lambat akibat pembentukan *rouleaux*, proses kedua berlangsung selama 40 menit yang merupakan fase pengendapan cepat karena terjadi proses sedimentasi akibat terbentuknya *rouleaux*, dan tahap ketiga berlangsung dalam 10 menit yang merupakan fase pengendapan lambat akibat proses pengisian celah-celah kosong tumpukan eritrosit atau pematatan.

Laju endap darah dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu eritrosit, plasma dan teknis. LED yang dipegaruhi oleh faktor eritrosit dan plasma pada umumnya disebabkan karena kondisi pa-

tologis, sedangkan faktor teknis merupakan penyumbang kesalahan dalam pemeriksaan LED.

## Metode

Westergren.

## Prinsip

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

## Tujuan

1. Menentukan seberapa cepat eritrosit mengendap selama satu jam.
2. Membandingkan hasil pemeriksaan laboratorium lain guna mendiagnosis kondisi inflamasi.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 0 – 2 mm/jam
Anak	: 0 – 10 mm/jam
Pria Dewasa <50 tahun	: 0 – 15 mm/jam
Wanita Dewasa <50 tahun	: 0 – 20 mm/jam
Pria Dewasa >50 tahun	: 0 – 20 mm/jam
Wanita Dewasa >50 tahun	: 0 – 30 mm/jam

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

AR, demam rematik, MCI akut, kanker (lambung, kolon, payudara, hati, ginjal), penyakit Hodgkin, mieloma multipel, limfosarkoma, endokarditis bakterial, gout, hepatistis, sirosis hati, penyakit inflamasi panggul akut, sifilis, tuberkulosis, glomerulonefritis, SLE, penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (eritroblastosis fetalis), kehamilan, trimester kedua dan ketiga).

- **Obat**

Dextran, metildopa (aldomet), metilsergid (sansert), penisilamin (cuprimine), prokainamid (proestyl), teofilin, kontasepsi oral, vitamin A.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Polisitemia vera, CHF, anemia sel sabit, mononukleosis infeksius, defisiensi faktor V, artritis degeneratif, angina pectoris.

- **Obat**

Etambutol (myambutol), kinin, salisilat (aspirin), kortison, prednison.

## Spesimen

1. Darah vena (Na-Sitrat 3,8%) dengan perbandingan 4 bagian darah dan 1 bagian Na-Sitrat 3,8%.
2. Darah vena (EDTA) yang ditambahkan NaCl 0,85% dengan perbandingan 4 bagian darah dan 1 bagian NaCl 0,85%.

## Alat dan Reagen

1. Pipet Westergren.
2. Rak tabung Westergren.
3. Bulb (karet penghisap).

## Prosedur

1. Lakukan pemipetan spesimen darah menggunakan pipet Westergren sampai tepat pada tanda batas 0. Pastikan spesimen darah yang dipipet tidak terdapat gelembung udara.
2. Letakan tabung pada rak tabung pipet Westergren dengan posisi tegak lurus.
3. Biarkan selama 1 jam. Hindari dari guncangan.
4. Ukur tinggi plasma dalam mm, dari tanda batas 0 sampai tanda batas eritrosit mengendap.

## Limitasi

Saat pemasangan pipet pada rak untuk menegakan pipet Westergren, sampel rentan tumpah.

# LAJU ENDAP DARAH (WINTROBE)

## Deskripsi

Laju endap darah (LED) metode Wintrobe pada dasarnya sama dengan metode Westergren, yaitu digunakan untuk menentukan kecepatan eritrosit mengendap dalam darah dan merupakan pemeriksaan non-spesifik, peningkatan LED menandakan adanya inflamasi akut. Perbedaan metode Wintrobe terletak pada penggunaan alat, metode ini menggunakan tabung Wintrobe yang memiliki panjang 110 mm dengan diameter 2,5 mm dan berskala 0-10 mm. Karena terdapat perbedaan dalam ukuran dan diameter tabung yang digunakan, pemeriksaan LED metode Wintrobe memiliki nilai normal tersendiri.

Berbeda dengan LED metode Westergren, spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan LED metode Wintrobe hanya menggunakan darah vena dengan antikoagulan EDTA dan tidak diencerkan menggunakan NaCl fisiologis. Metode ini jarang diterapkan dalam pelayanan laboratorium klinik.

## Metode

Wintrobe.

## Prinsip

Darah EDTA dalam tabung Wintrobe yang didiamkan tegak lurus dalam waktu tertentu, maka sel-sel darah akan mengendap karena perbedaan berat jenis. Jumlah milimeter

darah merah yang mengendap selama 1 jam dinyatakan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.

## Tujuan

1. Menentukan seberapa cepat eritrosit mengendap selama satu jam.
2. Membandingkan hasil pemeriksaan laboratorium lain guna mendiagnosis kondisi inflamasi.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 0 – 2 mm/jam
Anak	: 0 – 10 mm/jam
Pria Dewasa <50 tahun	: 0 – 9 mm/jam
Wanita Dewasa <50 tahun	: 0 – 15 mm/jam
Pria Dewasa >50 tahun	: 0 – 9 mm/jam
Wanita Dewasa >50 tahun	: 0 – 15 mm/jam

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

AR, demam rematik, MCI akut, kanker (lambung, kolon, payudara, hati, ginjal), penyakit Hodgkin, mieloma multipel, limfosarkoma, endokarditis bakterial, gout, hepatistis, sirosis hati, penyakit inflamasi panggul akut, sifilis, tuberkulosis, glomerulonefritis, SLE, penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (eritroblastosis fetalis), kehamilan, trimester kedua dan ketiga).



- **Obat**

Dextran, metildopa (aldomet), metilsergid (sansert), penisilamin (cuprimine), prokainamid (proestyl), teofilin, kontasepsi oral, vitamin A.

## **Penurunan Kadar**

- **Masalah Klinis**

Polisitemia vera, CHF, anemia sel sabit, mononukleosis infeksius, defisiensi faktor V, artritis degeneratif, angina pektoris.

- **Obat**

Etambutol (myambutol), kinin, salisilat (aspirin), kortison, prednison.

## **Spesimen**

Darah vena (EDTA).

## **Alat dan Reagen**

1. Tabung Wintrobe.
2. Rak tabung Wintrobe.
3. Pipet.

## **Prosedur**

1. Masukkan darah ke dalam tabung Wintrobe sampai tanda batas 0 atau 10.
2. Letakan tabung Wintrobe dengan posisi tegak lurus pada rak tabung.

3. Setelah 1 jam, ukur tinggi plasma dalam mm. Catat dan laporkan sebagai nilai LED dalam satuan mm/jam.

## **Limitasi**

Peningkatan laju endap darah yang tidak terlalu tinggi, sulit di deteksi dengan metode Wintrobe.

# INDEKS ERITROSIT

## Deskripsi

Pemeriksaan indeks eritrosit adalah pemeriksaan yang bertujuan untuk menentukan nilai *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH) dan *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC). Pemeriksaan indeks eritrosit pertama kali dikenalkan pada tahun 1929 oleh Wintrobe. Nilai-nilai pemeriksaan tersebut berguna dalam menjelaskan etiologi anemia.

Nilai MCV mendefinisikan ukuran eritrosit dan dinyatakan dalam satuan femtoliter (fL), MCH mengkuantifikasi jumlah hemoglobin per sel darah merah dan dinyatakan dalam satuan pikogram (pg) dan MCHC menunjukkan jumlah hemoglobin persatuan volume dan dinyatakan dengan satuan gram per desiliter (g/dL). Berbeda dengan dengan MCV, MCHC menghubungkan kadar hemoglobin dengan volume sel. Indeks eritrosit dapat dihitung jika nilai hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit diketahui.

## Metode

Perhitungan.

## Prinsip

Indeks eritrosit ditetapkan berdasarkan perhitungan dari hasil pemeriksaan hematokrit menggunakan metode mikrohematokrit, kadar hemoglobin menggunakan metode sianmethemoglobin dan jumlah eritrosit menggunakan bilik hitung.

## Tujuan

1. Memantau hitung jumlah eritrosit.
2. Membedakan antara komponen indeks eritrosit guna menentukan masalah klinis.

## Nilai Rujukan

### Bayi Baru Lahir

MCV	: 96 – 108 fl
MCH	: 32 – 34 pg
MCHC	: 32 – 33 %

### Anak

MCV	: 82 – 92 fl
MCH	: 27 – 31 pg
MCHC	: 32 – 36 %

### Dewasa

MCV	: 80 – 98 fl
MCH	: 27 – 31 pg
MCHC	: 32 – 36 %
RDW	: 11,5 – 14,5 %

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

MCV: Anemia makrositik (aplastik, hemolitik, pernisiiosa), penyakit hati kronis, hipotiroidisme (miksedema). MCH: Anemia makrositik.

- **Obat**

MCV: Defisiensi vitamin B12, antikonvulsan, antimetabolik.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

MCV: Anemia mikrositik (defisiensi zat besi), malignasi, artritis reumatoid, hemoglobinopati (talasemia, anemia sel sabit, hemoglobin C), keracunan timbal, radiasi. MCH: Anemia mikrositik, anemiahipokromik. MCHC: Anemia hipokromik, anemia defisiensi zat besi, talasemia.

- **Obat**

-

## Spesimen

Darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Alat-alat yang digunakan untuk pemeriksaan hematokrit metode mikrohematokrit.
2. Alat-alat yang digunakan untuk pemeriksaan hemoglobin metode sianmethemoglobin.
3. Alat-alat yang digunakan untuk menghitung jumlah eritrosit menggunakan bilik hitung.

## Prosedur

1. Hitung kadar hematokrit, hemoglobin dan hitung jumlah eritrosit.
2. Tentukan indeks eritrosit dengan perhitungan sebagai berikut.

$$MCV (fL) = \frac{\text{Hematokrit (dalam satuan \%)} \times 10}{\text{Hitung eritrosit (dalam satuan juta)}}$$

$$MCH (pg) = \frac{\text{Hemoglobin (dalam satuan g/dL)} \times 10}{\text{Hitung eritrosit (dalam satuan juta)}}$$

$$MCHC = \frac{MCH}{MCV} \times 100\% \text{ atau } MCHC = \frac{Hb}{Ht} \times 100\%$$

## Limitasi

Sumber kesalahan hasil pemeriksaan indeks eritrosit disebabkan karena kesalahan pada pemeriksaan hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit.

# TOTAL EOSINOFIL

## Deskripsi

Pemeriksaan total eosinofil adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah eosinofil (nilai absolut) dalam 1  $\mu\text{L}$  darah. Satuan yang digunakan untuk hitung jumlah eosinofil adalah  $\text{sel}/\text{mm}^3$ ,  $\text{sel}/\mu\text{L}$ ,  $\times 10^3 \text{ sel}/\text{mL}$ ,  $\times 10^6 \text{ sel}/\text{L}$ .

Penentuan jumlah eosinofil pada dasarnya sama dengan hitung jumlah leukosit, sehingga cara yang dapat digunakan yaitu menggunakan hemositometer (kamar hitung) hanya saja sel dihitung pada seluruh kotak kamar hitung. Pengenceran yang digunakan sama dengan hitung jumlah leukosit, perbedaan terletak pada penggunaan reagen yaitu menggunakan larutan Von Dungern.

Larutan Von Dungern mengandung eosin yang berwarna merah muda, sehingga eosinofil dapat terwarnai dan dapat dibedakan dengan sel lain. Pemeriksaan ini umumnya dilakukan pada pasien yang diduga menderita infeksi parasit dan alergi.

## Metode

Kamar hitung.

## Prinsip

Eosinofil memiliki granula yang bersifat eosinofilik, dengan pemberian larutan Von Dungern dalam darah, sel selain eosinofil akan lisis dan granula eosinofil berwarna merah.

## Tujuan

1. Menentukan jumlah eosinofil dalam darah.
2. Menegakan diagnosis pada masalah klinis infeksi parasit dan alergi.

## Nilai Rujukan

Dewasa dan Anak : 50 – 350  $\text{sel}/\text{mm}^3$ .

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Alergi, penyakit parasitik, kanker (tulang, ovarium, testis, otak), flebitis, tromboflebitis, asma, emfisema, penyakit ginjal (gagal ginjal, sindrom nefrotik).

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Stres (luka bakar, syok), reaksi hipersensitivitas.

- **Obat**

Kortison, ACTH.

## Spesimen

Darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Hemositometer Improved Neubauer.
2. Mikroskop.
3. Cawan petri.
4. Larutan Von Dungern.

Eosin 1%	10 mL
Aseton	10 mL
Aquadest	80 mL

Simpan larutan dalam lemari es dan tahan dalam 1 minggu. Sebelum digunakan reagen disaring terlebih dahulu.

## Prosedur

### Persiapan Bilik Hitung

- 1) Siapkan bilik hitung dan kaca penutup dalam kondisi bersih dan kering.
- 2) Basahi dengan sedikit air pada kedua tanggul bilik hitung.
- 3) Pasang kaca penutup di atas bilik hitung.
- 4) Geser ke atas dan ke bawah secara berulang hingga terbentuk cincin Newton (pelangi) pada kedua tanggul.

### Pengenceran Darah Menggunakan Pipet Thoma

1. Siapkan cawan petri lembab dengan cara memasukan kapas basah ke dalam cawan petri.
2. Hisap darah sampai tanda batas 0,5 (pengenceran 20 kali) atau sampai tanda batas 1 (pengenceran 10 kali).

3. Bersihkan ujung pipet bagian luar dari sisa darah yang masih menempel, jangan sampai darah dalam pipet berkurang.
4. Hisap reagen Von Dungern sampai tanda batas 11, hindari adanya gelembung udara.
5. Tentukan pengenceran dengan pipet Thoma menggunakan rumus:

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

6. Kocok pipet Thoma 2-3 menit agar darah dalam pipet tercampur sempurna.
7. Buang 3-4 tetes pertama.
8. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan sebanyak 1 tetes pada pinggir kaca penutup.
9. Inkubasi 15 menit dalam cawan petri lembab untuk memberi kesempatan sel menyerap zat warna, menyebar dan diam.

### Pengenceran Darah Menggunakan Mikropipet

1. Siapkan cawan petri lembab dengan cara memasukan kapas basah ke dalam cawan petri.
2. Pipet ke dalam tabung reagen Von Dungern sebanyak 90  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 10  $\mu\text{L}$  darah (pengenceran 10 kali) lalu homogenkan.
3. Atau pipet ke dalam tabung reagen Von Dungern sebanyak 95  $\mu\text{L}$  dan tambahkan 5  $\mu\text{L}$  darah (pengenceran 20 kali) lalu homogenkan.
4. Pengenceran dengan mikropipet ditentukan menggunakan rumus:

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

5. Masukkan dalam bilik hitung dengan cara mengalirkan pada pinggir kaca penutup.
6. Inkubasi 15 menit dalam cawan petri lembab untuk memberi kesempatan sel menyerap zat warna, menyebar dan diam.

### Menghitung Sel Eosinofil

1. Hitung eosinofil di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.
2. Hitung eosinofil pada 9 kotak besar, dengan ukuran 1 mm x 1 mm.
3. Eosinofil dihitung secara zigzag dengan aturan kiri-atas atau kanan-bawah.

### Perhitungan

$$\text{Jumlah eosinofil per mm}^3 = \frac{N \times P}{V} = \frac{N \times P}{0,9}$$

atau

$$\text{Jumlah eosinofil per mm}^3 = N \times P \times KV = N \times P \times \frac{10}{9}$$

Keterangan:

- N : Jumlah sel yang di hitung  
P : Pengenceran  
V : Volume bilik hitung  
KV : Koreksi volume bilik hitung

### Limitasi

1. Tingginya tingkat kesalahan pada pengenceran menggunakan pipet thoma.
2. Tidak terbuangnya tetesan pertama larutan pengencer.
3. Kesalahan perhitungan.

# HITUNG RETIKULOSIT

## Deskripsi

Pemeriksaan hitung jumlah retikulosit adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah retikulosit dalam darah. Pemeriksaan jumlah retikulosit yang rutin dilakukan di laboratorium yaitu menggunakan secara manual menggunakan apusan darah atau menggunakan alat otomatis. Pemeriksaan jumlah retikulosit menggunakan apusan darah dilakukan dengan pewarnaan supravital dan dinyatakan dalam satuan persen (%) atau permil (‰).

Terdapat dua jenis zat warna yang digunakan dalam pewarnaan supravital, yaitu *new methylene blue* (NMB) dan *brilliant cresyl blue* (BCB). Proses pewarnaan supravital dilakukan dengan cara mewarnai sel dalam kondisi hidup dan melakukan pembuatan hapusan, pemeriksaan dilakukan dengan cara menghitung retikulosit dalam 1000 eritrosit. Retikulosit adalah eritrosit imatur yang masih mengandung sisa RNA dan organel seperti mitokondria dan ribosom tanpa nukleus, umumnya menghabiskan 2 hari dalam sumsum tulang dan 1 hari dalam darah perifer sebelum menjadi eritrosit. Oleh karena itu, hasil pewarnaan supravital akan mewarnai RNA dan sisa organel.

## Metode

Pewarnaan supravital.

## Prinsip

Sel darah yang masih hidup diwarnai dengan pewarnaan supravital, sisa RNA dalam retikulosit akan terwarnai dengan adanya zat warna BCB atau NMB, sehingga RNA tampak seperti filamen berwarna dalam sel.

## Tujuan

1. Menentukan jumlah retikulosit.
2. Membantu mendiagnosis anemia.

## Nilai Rujukan

Bayi Baru Lahir	: 2,5 – 6,5%
Bayi	: 0,5 – 3,5%
Anak	: 0,5 – 2,0 %
Dewasa	: 0,5 – 1,5 %

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Anemia (hemolitik, sel sabit), talasemia mayor, perdarahan kronis, pascaperdarahan (3 sampai 4 hari), leukemia, eritroblastosis fetalis, penyakit hemoglobin C dan D, kehamilan.

- **Obat**

Pengobatan anemia (defisiensi zat besi, vitamin B12, asam folat).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Anemia (pernisiosa, defisiensi asam folat, aplastik), terapi radiasi, efek iradiasi sinar X, hipofungsi adrenokortikal, hipofungsi hipofisis anterior, sirosis hati (alkohol menyerupai retikulosit).

- **Obat**

-

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Tabung serologi atau Kahn.
2. Pipet.
3. Kaca objek dan kaca penutup.
4. Mikroskop.
5. Larutan pewarna supravital

BCB (*brilliant cresylblue*)

*Brilliant cresyl blue*      1,0 g

NaCl 0,85%                  99 mL

Larutkan pewarna dalam sedikit pemanasan.

NMB (*new methylene blue*)

*New methylene blue*      0,5 g

NaCl                            0,8 g

Kalium oksalat              1,4 g

Aquadest                      100 mL

## Prosedur

### Cara Basah

1. Letakan 1 tetes larutan supravital di tengah kaca objek.
2. Letakan 1 tetes darah di atas zat pewarna.
3. Campurkan kedua tetesan sampai homogen.
4. Tutup campuran tersebut dengan kaca penutup hingga lapisan dasarnya menjadi benar-benar tipis.
5. Inkubasi dalam cawan petri lembap selama beberapa menit.
6. Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali.
7. Pilih area dimana eritrosit tersebar merata, hitung jumlah retikulosit dalam 1000 eritrosit.
8. Tentukan hasilnya dengan menggunakan perhitungan berikut.

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

### Cara Kering

1. Masukkan 3 tetes zat warna supravital ke dalam tabung serologi.
2. Tambahkan 3 tetes darah ke dalam tabung berisi zat warna tersebut.
3. Kocok hingga kedua campuran tersebut homogen.
4. Pipet dan teteskan sebanyak 1 tetes dalam kaca objek.
5. Buat sediaan apus dan biarkan kering di udara.
6. Periksa sediaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali.



- Pilih area dimana eritrosit tersebar merata, hitung jumlah retikulosit dalam 1000 eritrosit.
- Tentukan hasilnya dengan menggunakan perhitungan berikut.

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

### Koreksi Retikulosit

Spesimen darah yang memberikan hasil hematokrit rendah, persentase retikulosit dapat meningkat palsu karena spesimen mengandung eritrosit yang jumlahnya lebih kecil. Oleh karena itu perlu dilakukan koreksi hitung retikulosit dengan faktor dan rata-rata hematokrit normal yang digunakan adalah 45%.

$$\text{Koreksi Hitung Retikulosit} = \frac{\text{Nilai Hematokrit Pasien}}{\text{Nilai Hematokrit Normal}} \times \text{Hitung Retikulosit}$$

### Limitasi

- Penghitungan berulang jumlah eritrosit atau tidak terhitungnya eritrosit dalam lapang pandang dapat mempengaruhi akurasi pemeriksaan.
- Pemeriksaan dipengaruhi oleh nilai hematokrit.

## HITUNG JENIS LEUKOSIT

### Deskripsi

Hitung jenis leukosit disebut juga *white blood cell differential* atau lebih familiar disebut *diff count*, adalah pemeriksaan untuk menentukan jumlah dari jenis leukosit yang dinyatakan dalam persen (%) dari total seluruh leukosit yang dihitung.

Pemeriksaan manual menggunakan apusan darah sel dapat ditentukan menjadi enam jenis leukosit, yaitu eosinofil, basofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit dan monosit. Pada alat otomatis, leukosit dapat dibedakan menjadi tiga jenis (*3-part diff*) atau lima jenis (*5-part diff*). Alat otomatis *3-part diff* membedakan jenis leukosit limfosit, neutrofil dan campuran (monosit, basofil dan eosinofil), sedangkan alat otomatis *5-part diff* membedakan jenis leukosit eosinofil, basofil, neutrofil, limfosit dan monosit tanpa memisahkan jenis neutrofil batang dan segmen.

Pemeriksaan *diff count* dilakukan dengan tahap pembuatan sediaan apusan darah tepi yang dilanjutkan dengan pewarnaan Romanowsky, hasil pewarnaan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Melalui pemeriksaan ini perubahan jumlah jenis leukosit yang meningkat lebih spesifik untuk menegakan diagnosis.

Peningkatan jumlah leukosit secara signifikan mempengaruhi akurasi pemeriksaan *diff count*, untuk meningkatkan akurasi pemeriksaan disarankan menghitung sedikitnya 200 sel jika jumlah leukosit lebih dari  $40 \times 10^9/L$  ( $40.000 \text{ sel/mm}^3$ ). Jika jumlah leukosit  $100 \times 10^9/L$  ( $100.000 \text{ sel/mm}^3$ ) atau lebih, jumlah sel yang dihitung sedikitnya 300 atau 400 sel.

## Metode

Giemsa.

## Prinsip

Setiap jenis leukosit memiliki kecenderungan menyerap zat warna yang berbeda tergantung sifat sel dan komponennya. Giemsa yang mengandung dua zat warna akan mewarnai sel berdasarkan kecenderungannya bereaksi dengan salah satu zat warna pada pewarna Giemsa tersebut, sehingga bentuk sel mudah dilihat dan dapat dibedakan dengan leukosit lain.

## Tujuan

1. Untuk dapat membedakan berbagai jenis leukosit.
2. Mengetahui jenis leukosit yang menyebabkan kenaikan jumlah leukosit.
3. Menduga masalah kesehatan dari jenis leukosit yang meningkat.

## Nilai Rujukan

JENIS LEUKOSIT	DEWASA		ANAK (sama dengan dewasa, kecuali)
	%	µL	
Eosinofil	1 – 3	100 – 300	
Basofil	0 – 1	40 – 100	
Neutrofil batang	0 – 5	0 – 500	
Neutrofil segmen	50 – 65	2500 – 6500	Bayi baru lahir : 61%. Usia 1 tahun 32 %
Limfosit	25 – 35	1700 – 3500	Bayi baru lahir : 34%. Usia 1 tahun : 60%. Usia 6 tahun : 42%. Usia 12 tahun : 38%.
Monosit	4 – 6	200 – 600	Usia 1 – 12 tahun : 4 – 9%

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

*Eosionofil:* Alergi, penyakit parasitik, kanker (tulang, ovarium, testis, otak), flebitis, tromboflebitis, asma, emfisema, penyakit ginjal (gagal ginjal, sindrom nefrotik).  
*Basofil:* Proses inflamasi, leukemia, tahap penyembuhan infeksi atau inflamasi, anemia hemolitik didapat.  
*Neutrofil:* Infeksi akut (lokal dan sistemik), penyakit inflamasi (arthritis reumatoid, gout, pneumonia), kerusakan jaringan (infark miokardial akut, luka bakar, cedera tabrakan, pembedahan), penyakit Hodgkin, leukemia mielositik, penyakit hemolitik pada bayi baru lahir, kolesistitis akut, apendisitis akut, pankreatitis akut.  
*Limfosit:* Leukemia limfositik, infeksi virus, (mononukleosis infeksius, hepatitis, parotitis, rubela, pneumonia virus, pertusis), infeksi kronis, penyakit Hodgkin, mieloma multipel, hipofungsi adenokortikal.  
*Monosit:* Penyakit virus (mononukleosis infeksius, parotitis, herpes zoster), penyakit parasitik (demam bintik Rocky Mountain, toksoplasmosis, bruselosis), leukemia monositik, kanker (esofagus, lambung, kolon, hati, tulang, prostat, uterus, otak, kandung kemih), anemia (sel sabit, hemolitik), penyakit kolagen (SLE), arthritis reumatoid, kolitis ulseratif.

### • Obat

*Neutrofil:* Epinefrin, digitalis, heparin, sulfonamid, litium, kortison, ACTH.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

*Eosinofil:* Stres (luka bakar, syok, hiperfungsi adrenokortikal). *Basofil:* Stres, reaksi hipersensitifitas, kehamilan, hipertiroidisme. *Neutrofil:* Penyakit virus, leukemia (limfositik dan monositik), agranulositosis, anemia defisiensi zat besi dan anemia aplastik. *Limfosit:* Kanker, leukemia, hiperfungsi adrenokortikal, agranulositosis, anemia aplastik, sklerosis multipel, gagal ginjal, sindrom nefrotik, SLE. *Monosit:* Leukemia limfositik, anemia aplastik.

- **Obat**

*Eosinofil:* Kortison, ACTH. *Neutrofil:* terapi antibiotik, agen immunosupresif.

## Spesimen

Darah vena (EDTA) atau darah kapiler.

## Alat dan Reagen

1. Pewarna Giemsa (Giemsa stock)

Azur II eosin            3,0 gram

Azur II                    0,8 gram

Gliserin                 250 mL

Metanol (absolut, bebas aseton)    250 mL

2. Larutan Buffer

Larutan 1

Kalium fosfat anhidrat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,067 M    9,1 gram

Aquadest                                    1 L

Larutan 2

Natrium fosfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,067 M    9,5 gram

Aquadest                                    1 L

Campurkan 50,8 mL larutan 1 dengan 49,2 mL untuk menghasilkan pH 6,8 atau dapat juga menggunakan aquadest dengan pH yang sama dengan larutan buffer.

3. Giemsa Kerja

Larutkan 1 tetes *Giemsa stock* ke dalam 19 tetes buffer pH 6,8 atau aquadest dengan pH 6,8 atau perbandingan zat warna dan pengencer dapat dilihat pada wadah reagen masing-masing.

4. Metanol 96%.

5. Rak pewarna.

## Prosedur

### Teknik Pewarnaan

1. Letakan preparat SADT di atas rak pewarna, bagian apusan menghadap ke atas.
2. Teteskan metanol pada SADT hingga menggenangi seluruh apusan darah.
3. Biarkan metanol menggenangi selama 5 menit atau hingga metanol mengering.
4. Jika ada kelebihan metanol, buang dan biarkan sampai sediaan mengering di udara.
5. Teteskan larutan Giemsa kerja di atas SADT hingga menggenangi apusan darah.
6. Biarkan selama 20 menit.

7. Bilas dengan aquadest.
8. Keringkan preparat di udara.

### Menghitung Jenis Leukosit

1. Amati SADT di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali menggunakan minyak imersi.
2. Tentukan wilayah perhitungan pada bagian eritrosit yang tersebar merata.
3. Hitung jenis leukosit pada tiap lapang pandang SADT secara zigzag dari arah ekor menuju kepala.
4. Catat hasil pada tabel di bawah ini.

JENIS LEUKOSIT	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	%
Eosinofil											
Basofil											
Netrofil Batang											
Netrofil Segmen											
Limfosit											
Monosit											
Jumlah	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

### Limitasi

1. Akurasi pemeriksaan lebih rendah dibandingkan alat otomatis.
2. Salah penentuan area penghitungan dapat berdampak pada distribusi jenis leukosit.

## RESISTENSI OSMOTIK ERITROSIT

### Deskripsi

Pemeriksaan resistensi osmotik eritrosit disebut juga pemeriksaan fragilitas osmotik (*osmotic fragility*) atau fragilitas eritrosit (*erythrocyte fragility*) adalah pemeriksaan untuk menguji ketahanan dinding eritrosit terhadap larutan hipotonis yang dapat melisis eritrosit. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara memasukan darah kedalam larutan NaCl dengan berbagai macam konsentrasi. Eritrosit yang lisis melepaskan hemoglobin pada larutan salin, ditandai dengan perubahan larutan salin menjadi merah jernih setelah sentrifugasi. Jumlah eritrosit yang lisis diukur menggunakan spektrofotometer dan ditetapkan dalam persen (%).

Kemampuan eritrosit normal untuk menahan larutan hipotonis dari bentuk bikonkaf, mengakibatkan sel meningkatkan volumenya hingga 70% sebelum membran permukaan meregang. Bila batas ini tercapai maka akan terjadi lisis sel. Bila terdapat dugaan hemolisis intravaskular, pemeriksaan resistensi osmotik digunakan untuk menentukan apakah eritrosit mengalami peningkatan kerapuhan (cenderung lisis saat diberikan larutan NaCl yang lebih tinggi) atau penurunan kerapuhan (cenderung lisis dalam konsentrasi NaCl rendah).

### Metode

Fotometrik.

## Prinsip

Dalam larutan hipotonik, eritrosit akan lisis dan melepaskan hemoglobin sehingga larutan berwarna merah jernih. Warna merah yang larut diukur menggunakan spektrofotometer, intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan eritrosit yang lisis.

## Tujuan

1. Menentukan ketahanan osmotik dinding eritrosit terhadap larutan hipotonik.
2. Menegakan diagnostik hemolitik intrafaskuler.

## Nilai Rujukan

Anak dan Dewasa

% SALIN (NaCl)	% HEMOLISIS	
	Darah Segar (<3 jam)	Inkubasi Suhu 37° C (Darah 24 Jam)
0,30	97 – 100	85 – 100
0,35	90 – 98	75 – 100
0,40	50 – 95	65 – 100
0,45	5 – 45	55 – 95
0,50	0 – 5	40 – 85
0,55	0	15 – 65
0,60	0	0 – 40

Hemolisis dimulai pada NaCl 0,5%

Hemolisis lengkap pada NaCl 0,3%

## Peningkatan Ketahanan Osmotik

- **Masalah Klinis**

Sferositosis herediter, transfusi (inkompatibilitas-ABO dan Rh), anemia hemolitik yang didapat (autoimun), penyakit hemoglobin C, leukemia limfositik kronik, luka bakar (termal).

- **Obat**

Toksisitas obat atau zat kimia.

## Penurunan Ketahanan Osmotik

- **Masalah Klinis**

Anemia (defisiensi zat besi, defisiensi asam folat, defisiensi vitamin B6, sel sabit), talasemia mayor dan minor, penyakit hemoglobin C, polisitemia vera, setelah splenektomi, nekrosis hati akut atau subakut, ikterik obstruktif.

- **Obat**

## Spesimen

Darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. NaCl 1%.
2. Pipet tetes.
3. Tabung serologi.
4. Mikropipet.
5. Spektrofotometer.

## Prosedur

1. Sediakan 12 buah tabung kosong.
2. Buatlah pengenceran larutan NaCl bertingkat dengan konsentrasi 0,85%; 0,75%; 0,65%; 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%; 0,20% dan 0,10% masing-masing sebanyak 5,0 ml dibuat dari larutan pokok NaCl 1,0%.
3. Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 50  $\mu$ l sampel darah. Campur (homogenisasi) dengan cara membolak-balikkan tabung beberapa kali.
4. Inkubasi selama 30 menit pada suhu 37<sup>o</sup> C atau suhu kamar.
5. Homogenkan tabung yang telah diinkubasi.
6. Sentrifuse tiap tabung selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
7. Ukur absorban (OD) dari supernatan pada  $\lambda$  540 nm dengan blanko supernatan tabung ke-1 (NaCl 0,85%).
8. Hitung % hemolisis dengan cara membagi absorbans (OD) sampel dengan absorbans (OD) tabung ke-12 dikalikan 100%.
9. Buat kurva dengan konsentrasi NaCl sebagai axis (x) dan % hemolisis sebagai ordinat (y).
10. Bandingkanlah dengan kurva dari kontrol darah normal.

## Limitasi

Prosedur pemeriksaan cenderung rumit dan memakan waktu lama.



# RETRAKSI BEKUAN

## Deskripsi

Pemeriksaan retraksi bekuan atau *clot retraction* adalah pemeriksaan untuk menilai fungsi trombosit dengan mengukur serum yang terperas selama proses aglutinasi. Pemeriksaan ini dilakukan pada tabung berskala, darah tanpa antikoagulan akan mengalami pembekuan dan menyusut karena serum memisahkan diri dari gumpalan eritrosit, trombosit memiliki peranan penting dalam penyusutan bekuan tersebut.

Retraksi terjadi disebabkan oleh sistem kontraktil trombosit dengan reseptor permukaan yang terbentuk pada benang fibrin. Dalam kondisi normal, retraksi bekuan mengalami stabilitas trombus dan berlanjut melalui jalur pensinyalan  $\beta 3$  dan miosin IIA-dependen yang mungkin diatur oleh fosforilasi *light-chain* miosin di bawah kendali RhoA. Dengan tidak adanya atau tidak berfungsinya reseptor  $\alpha \text{IIb}\beta 3$  dan gangguan pada reseptor tersebut, penggumpalan darah tidak terjadi.

## Metode

-

## Prinsip

Darah tanpa antikoagulan, jika didiamkan dalam waktu tertentu maka akan mengalami pembekuan darah. Pada proses pembekuan, sejumlah serum diperas keluar sehingga terjadi pemisahan cairan dengan bekuan. Proses tersebut dipengaruhi oleh jumlah dan fungsi trombosit di dalam darah.

## Tujuan

Memastikan gangguan perdarahan akibat penurunan hitung jumlah trombosit.

## Nilai Rujukan

Dewasa dan Anak : 40% - 60% dalam waktu 1 – 24 Jam.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Trombositopenia, trombastenia (trombosit abnormal), anemia (pernisiosa, asam folat, aplastik), Waldenström makroglobulinemia.

- **Obat**

-

## Spesimen

Darah vena tanpa antikoagulan. Jangan masukan spesimen dalam tabung warna merah.

## Alat dan Reagen

1. Tabung berskala atau tabung sentrifuse berskala.
2. Lidi atau pengait.
3. Penangas air (*waterbath*).
4. Stopwatch atau arloji.

## Prosedur

1. Ambil 5 mL darah vena, catat waktu darah keluar masuk ke dalam spuit.
2. Masukkan 5 mL darah ke dalam tabung berskala, ambil sedikit darah menggunakan pipa kapiler untuk pemeriksaan hematokrit. Catat volume darah dalam tabung sebagai volume darah total.
3. Bengkokkan salah satu ujung lidi bersih dan kering, masukkan lidi ke dalam tabung skala berisi darah dengan bagian bengkok diletakkan di dasar tabung.
4. Inkubasi dalam *waterbath* 37°C atau diamkan suhu kamar dengan suhu tidak boleh kurang dari 25°C.
5. Amati bekuan yang terbentuk pada waktu 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Pada rentang waktu 1 jam, bekuan mengalami retraksi. Setelah 4 jam, bekuan mengalami retraksi sempurna dan masa eritrosit akan terpisah dengan serum.
6. Catat berapa jam terjadinya retraksi, ditandai dengan bekuan yang lepas dari dinding tabung.
7. Ambil bekuan dengan cara mengangkat lidi, catat volume serum.

8. Hitung pemeriksaan ditentukan dengan menggunakan perhitungan.

$$\frac{\text{Persen Volume Serum}}{\text{Tertinggal}} = \frac{\text{volume serum tertinggal}}{\text{volume darah total}} \times 100\%$$

Persen Volume Bekuan = 100 - persen volume serum tertinggal

Volume Cairan Bekuan = volume bekuan - hematokrit

## Limitasi

Proses pemeriksaan lama.



# RUMPLE LEEDE

## Deskripsi

Pemeriksaan Rumble Leede (*Rumble Leede Test*) juga disebut *tourniquet test* atau *capillary fragility test* adalah pemeriksaan yang digunakan untuk menilai ketahanan pembuluh darah kapiler dalam menerima tekanan, sehingga dapat mengukur seberapa rapuh pembuluh darah kapiler pada seseorang.

Pemeriksaan Rumble Leede dilakukan dengan melakukan pembatasan pada lengan dengan tekanan tertentu yang mengakibatkan aliran darah vena terhambat sedangkan aliran darah arteri tidak sehingga mengakibatkan tekanan pada pembuluh darah, oleh karena itu trombosit harus memainkan peranannya dalam menjaga darah agar tetap dalam alirannya. Terganggunya fungsi trombosit, dapat menyebabkan kapiler rapuh dan tidak dapat menjaga integritasnya, sehingga akan mengalami memar kecil dan pendarahan di bawah kulit yang akan membentuk bintik-bintik merah yang disebut petekie (*petechiae*).

## Metode

Rumble Leede.

## Prinsip

Dengan membendung aliran darah vena, akan memberikan tekanan pada kapiler akibat tekanan dari aliran darah arteri. Kemampuan ketahanan kapiler terhadap tekanan ditandai dengan timbulnya petekie.

## Tujuan

Mengukur kerapuhan kapiler.

## Nilai Rujukan

Dewasa : < 5 petekie

## Peningkatan

Trombositopenia, penurunan kadar fibrinogen dan purpura vaskuler.

## Spesimen

Tidak ada spesimen yang perlu disiapkan, pemeriksaan dilakukan langsung terhadap pasien.

## Alat dan Reagen

1. Spigmomanometer.
2. Stetoskop.
3. *Stopwatch* atau arloji.

## Prosedur

1. Buat lingkaran dengan diameter 5 cm pada volar lengan bawah menggunakan spidol, titik pusat terletak 4 cm dari lipatan siku.
2. Periksa ada tidaknya petekie dalam lingkaran sebelum dilakukan pemeriksaan, petekie yang terdapat dalam lingkaran maka tidak termasuk perhitungan.
3. Pasang manset di atas lengan atas dan ukur tekanan sistolik dan diastolik.

4. Tentukan tekanan manset Rummple Leede dengan persamaan di bawah ini.

$$\frac{\text{Tekanan manset Ruple Leede}}{2} = \frac{\text{Tekanan sistolik} + \text{Tekanan diastolik}}{2}$$

5. Tahan tekanan manset selama 5 menit.
6. Lepaskan manset dan tunggu sampai tanda statis darah lenyap, ditandai warna kulit yang dibendung sama dengan warna kulit disebelahnya.
7. Perhatikan timbulnya petekie dalam lingkaran.
8. Setelah pemeriksaan, buka tutup tangan beberapa saat sampai sirkulasi darah pada lengan lancar.

### Limitasi

1. Pemeriksaan Ruple Leede merupakan pemeriksaan kasar fungsi trombosit.
2. Selama proses pemeriksaan memberikan rasa nyeri pada pasien.

## WAKTU PERDARAHAN (IVY)

### Deskripsi

Waktu perdarahan atau *Bleeding Time* (BT) adalah pemeriksaan skrining untuk menilai gangguan fungsi trombosit dengan cara menentukan waktu yang dibutuhkan darah untuk menghentikan pendarahan pada cedera lokal secara in vivo.

Terdapat dua metode pemeriksaan waktu perdarahan, yaitu Duke dan Ivy. Pemeriksaan waktu perdarahan metode Ivy dilakukan dengan cara melakukan pembebatan dan penusukan pada volar lengan. Prosedur metode Ivy pernah dimodifikasi oleh C. H. Mielke Jr. yang memperkenalkan alat insisi waktu perdarahan dengan kedalaman dan lebar penusukan yang sama. Oleh sebab itu, lanset yang digunakan pada pemeriksaan ini tersedia khusus.

### Metode

Ivy.

### Prinsip

Lakukan pembebatan pada bagian atas siku, pertahankan tekanan hingga prosedur pemeriksaan selesai. Lakukan 1 atau 2 sayatan kecil pada bagian volar lengan bawah hingga keluar darah. Lamanya waktu yang dibutuhkan untuk menghentikan perdarahan dinyatakan sebagai waktu perdarahan.

## Tujuan

1. Memantau waktu perdarahan pada berbagai masalah kesehatan.
2. Menentukan gangguan pada fungsi trombosit.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 3 – 7 menit.

## Peningkatan

- **Masalah Klinis**

Purpura trombositopenia, abnormalitas trombosit, abnormalitas vaskuler, leukemia, penyakit hati serius, koagulasi intravaskuler diseminata (*disseminated intravascular coagulation*, DIC), anemia aplastik, defisiensi faktor (V, VII, XI), penyakit Christmas, hemofilia.

- **Obat**

Salisilat, dekstran, mitramisin, warfarin (coumadin), streptokinase (streptodornase, agen fibrinolitik).

## Penurunan

- **Masalah Klinis**

Penyakit Hodgkin.

- **Obat**

-

## Spesimen

Tidak ada spesimen yang perlu disiapkan, pemeriksaan dilakukan langsung terhadap pasien.

## Alat dan Reagen

1. Spigmomanometer.
2. Alat insisi waktu perdarahan otomatis.
3. Kertas saring.
4. *Stopwatch* atau arloji.
5. Alkohol 70%.

## Prosedur

1. Atur lengan pasien.
2. Pasang manset spigmomanometer pada lengan atas dengan jarak kurang lebih 5 cm dari lipatan siku.
3. Pompa spigmomanometer hingga tekanan mencapai 40 mmHg, pertahankan tekanan hingga akhir pemeriksaan.
4. Bersihkan lokasi penusukan pada volar lengan bawah menggunakan alkohol 70%.
5. Lakukan penyayatan secara horizontal hingga keluar darah.
6. Nyalakan segera *stopwatch*.
7. Setiap 30 detik tampung darah yang keluar dari tusukan menggunakan kertas saring pada tiap bagian kosong kertas saring yang belum ternoda oleh darah, hindari jangan sampai terkena bagian penusukan.
8. Ketika darah berhenti menetes, hentikan *stopwatch*.
9. Catat waktu pada *stopwatch* atau hitung banyaknya tetesan pada kertas saring lalu kalikan dengan 30 detik, konversi hasil pemeriksaan ke dalam satuan menit.

## Limitasi

Prosedur pemeriksaan rumit, tetapi memiliki akurasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan metode Duke.

## WAKTU PERDARAHAN (DUKE)

### Deskripsi

Pemeriksaan waktu perdarahan metode Duke pada dasarnya sama dengan metode Ivy yaitu pemeriksaan skrining untuk menilai gangguan fungsi trombosit dengan cara menentukan waktu yang dibutuhkan darah untuk menghentikan pendarahan pada cedera lokal secara in vivo. Perbedaannya terletak pada prosedur pemeriksaan, metode Duke menggunakan cuping telinga untuk menilai waktu pendarahan.

### Metode

Duke.

### Prinsip

Lakukan sayatan tusukan pada bagian cuping telinga hingga keluar darah. Lamanya waktu yang dibutuhkan untuk menghentikan perdarahan dinyatakan sebagai waktu perdarahan.

### Tujuan

1. Memantau waktu perdarahan pada berbagai masalah kesehatan.
2. Menentukan gangguan pada fungsi trombosit.

### Nilai Rujukan

Dewasa : 1 – 3 menit.

## Peningkatan

- **Masalah Klinis**

Purpura trombositopenia, abnormalitas trombosit, abnormalitas vaskuler, leukemia, penyakit hati serius, koagulasi intravaskuler diseminata (*disseminated intravascular coagulation*, DIC), anemia aplastik, defisiensi faktor (V, VII, XI), penyakit Christmas, hemofilia.

- **Obat**

Salisilat, dekstran, mitramisin, warfarin (coumadin), streptokinase (streptodornase, agen fibrinolitik).

## Penurunan

- **Masalah Klinis**

Penyakit Hodgkin.

- **Obat**

-

## Spesimen

Tidak ada spesimen yang perlu disiapkan, pemeriksaan dilakukan langsung terhadap pasien.

## Alat dan Reagen

1. Lanset.
2. Kertas saring.
3. *Stopwatch* atau arloji.
4. Alkohol 70%.

## Prosedur

1. Bersihkan bagian cuping telinga menggunakan kapas alkohol 70%.
2. Tusuk bagian cuping telinga menggunakan lanset hingga darah keluar.
3. Nyalakan segera *stopwatch*.
4. Setiap 30 detik tampung darah yang keluar dari cuping telinga menggunakan kertas saring pada tiap bagian kosong kertas saring yang belum ternoda oleh darah, hindari jangan sampai terkena bagian penusukan.
5. Ketika darah berhenti menetes, hentikan *stopwatch*.
6. Catat waktu pada *stopwatch* atau hitung banyaknya tetesan pada kertas saring lalu kalikan dengan 30 detik, konversi hasil pemeriksaan ke dalam satuan menit.

## Limitasi

Pemeriksaan dinilai kurang akurat dalam menentukan waktu perdarahan.

## WAKTU PEMBEKUAN (LEE AND WHITE)

### Deskripsi

Waktu pembekuan atau *Cloting Time* (CT) adalah pemeriksaan skrining untuk menilai gangguan koagulasi jalur intrinsik dengan cara menentukan waktu yang dibutuhkan darah untuk membeku secara *in vitro*. Pemeriksaan ini biasanya dibandingkan dengan waktu perdarahan.

Terdapat dua metode pemeriksaan waktu pembekuan, yaitu metode slide dan Lee and White. Pemeriksaan waktu pembekuan metode slide sudah ditinggalkan karena keakuratan pemeriksaan yang buruk, sedangkan metode Lee and White menggunakan tabung dan proses pembekuan terjadi karena darah berkontak dengan permukaan tabung. Oleh karena itu, tabung harus bersih dari kotoran dan memiliki permukaan yang tidak boleh tergores.

### Metode

Lee and White.

### Prinsip

Darah lengkap tanpa antikoagulan dalam tabung akan mengalami pembekuan darah akibat kontak dengan permukaan tabung. Waktu yang dibutuhkan darah untuk membeku pada kondisi tertentu dinyatakan sebagai waktu pembekuan.

### Tujuan

Mendiagnosis gangguan pembekuan darah.

### Nilai Rujukan

Dewasa : 5 – 15 menit

### Peningkatan

- **Masalah Klinis**  
Hemofilia berat, afibrinogenemia dan fibrinolitik parah.
- **Obat**  
-

### Penurunan

- **Masalah Klinis**  
-
- **Obat**  
-

### Spesimen

Darah vena tanpa antikoagulan.

### Alat dan Reagen

1. Spuit plastik 5 mL dengan jarum 20G.
2. Penangas air/*waterbath*.
3. Tabung serologi atau Kahn.
4. *Stopwatch* atau arloji.

## Prosedur

1. Label tiga tabung dengan angka 1, 2 dan 3.
2. Lakukan pengambilan darah vena 4 mL menggunakan spuit 20G.
3. Nyalakan *stopwatch* pada saat darah masuk ke dalam spuit.
4. Lepaskan jarum dari spuit, masukan 1 mL darah pada tabung 3, 1 mL dalam tabung 2 dan 1 mL dalam tabung 1. Sisa darah dibuang.
5. Tempatkan tiga tabung dalam penangas air dengan suhu 37° C.
6. Setelah 5 menit, lakukan pengamatan bekuan darah dengan memiringkan tabung 1 hingga sudut 45°. Ulangi prosedur tersebut setiap 30 detik hingga darah dalam tabung benar membeku (tabung tidak menumpahkan darah).
7. Catat waktu yang dibutuhkan darah membeku dalam tabung 1.
8. Setelah 30 detik darah dalam tabung 1 menggumpal, lanjutkan pada tabung 2 dan ulangi prosedur tersebut setiap 30 detik sampai bekuan terbentuk. Catat waktu yang dibutuhkan darah membeku dalam tabung 2. Ulangi prosedur ini pada tabung 3.
9. Waktu yang dilaporkan sebagai waktu pembekuan adalah total waktu dari darah masuk ke dalam spuit hingga terbentuknya gumpalan pada tabung 3.

## Limitasi

1. Akurasi pemeriksaan dipengaruhi oleh faktor teknis termasuk jenis tabung yang digunakan dan diameter tabung yang digunakan.
2. Proses flebotomis yang terhambat atau tidak lancar dapat memberikan hasil pemeriksaan waktu pembekuan yang rendah.

# TITER FIBRINOGEN

## Deskripsi

Pemeriksaan fibrinogen digunakan untuk memantau mekanisme pembekuan darah, karena bagian dari jalur bersama hemostasis. Fibrinogen dengan adanya aktifitas trombin akan membentuk fibrin selama proses koagulasi. Fibrinogen diproduksi di hati dan merupakan reaktan protein fase-akut, sehingga meningkat tajam selama kejadian radang jaringan atau nekrosis. Tingkat fibrinogen yang tinggi dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit jantung koroner, stroke, infark miokard, dan penyakit arteri perifer. Hal ini membuat fibrinogen merupakan faktor risiko penting untuk penyakit kardiovaskular.

Fibrinogen digunakan terutama untuk membantu diagnosis dugaan gangguan perdarahan. Pengujian ini digunakan untuk mendeteksi peningkatan atau penurunan konsentrasi fibrinogen (faktor I) yang didapat atau kongenital. Pemeriksaan ini juga digunakan untuk memantau tingkat keparahan dan pengobatan koagulasi intravaskular diseminata dan fibrinolisis.

Terdapat berbagai macam teknik pemeriksaan fibrinogen, yaitu secara semi-kualitatif dan kuantitatif. Pemeriksaan fibrinogen secara semi-kualitatif dilakukan dengan menentukan titer kadar fibrinogen dengan menggunakan reagen trombin, sedangkan pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan metode turbidimetri atau ELISA.

## Metode

-

## Prinsip

Penambahan trombin kedalam plasma sitrat akan menyebabkan pembekuan. Titer fibrinogen ditetapkan dari terbentuknya bekuan pada pengenceran tertinggi.

## Tujuan

1. Menentukan kadar fibrinogen.
2. Memastikan adanya defisiensi fibrinogen.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 1/128 – 1/256.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Infeksi akut, penyakit kolagen, penyakit inflamasi, hepatitis.
- **Obat**  
Kontrasepsi oral, heparin.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Penyakit hati yang berat, hipofibrinogenemia, DIC, leukemia, komplikasi obstetrik.
- **Obat**  
-

## Spesimen

Plasma Sitrat (Na-Sitrat 3,2%).



## Alat dan Reagen

1. NaCl 0,85%.
2. Trombin 100 U/mL.
3. Penangas air (*waterbath*).
4. Tabung Kahn.
5. Mikropipet 500  $\mu$ L.
6. Mikropipet 100  $\mu$ L.

## Prosedur

1. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Siapkan 8 deret tabung Kahn.
3. Pipet menggunakan mikropipet sebanyak 500  $\mu$ L NaCl 0,85% ke dalam masing-masing tabung yang telah dipersiapkan.
4. Tambahkan 500  $\mu$ L plasma sitrat kedalam tabung pertama.
5. Campur NaCl 0,85% dan sampel pada tabung pertama hingga homogen.
6. Pindahkan 500  $\mu$ L ke dalam tabung 2.
7. Lakukan pengenceran serial (berulang) dengan cara sama sampai tabung terakhir, buang 500  $\mu$ L setelah tabung terakhir.

Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8
Pengenceran	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Plasma Sitrat	500 $\mu$ L	-	-	-	-	-	-	-
Salin	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L
	Kocok hingga homogen							
	500 $\mu$ L ke lingkaran 2	500 $\mu$ L ke lingkaran 3	500 $\mu$ L ke lingkaran 4	500 $\mu$ L ke lingkaran 5	500 $\mu$ L ke lingkaran 6	500 $\mu$ L ke lingkaran 7	500 $\mu$ L ke lingkaran 8	500 $\mu$ L dibuang
Titer spesimen	2	4	8	16	32	64	128	256

## Limitasi

Hasil pemeriksaan titer fibrinogen tidak menggambarkan konsentrasi fibrinogen yang sesungguhnya.

# PROTHROMBIN TIME

## Deskripsi

*Prothrombin Time* (PT) atau dalam bahasa Indonesia bisa disebut masa prothrombin. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mengevaluasi kecukupan sistem ekstrinsik dan jalur bersama mekanisme hemostatis. PT mengukur kemampuan faktor pembekuan I (fibrinogen), II (prothrombin), V, VII dan X. Bila salah satu faktor pembekuan jumlahnya berkurang, maka hasil pemeriksaan PT memanjang.

Hasil pemeriksaan PT biasanya dinyatakan dalam satuan detik bersamaan dengan nilai kontrol. Nilai kontrol umumnya bervariasi dari hari ke hari karena reagen yang digunakan dapat bervariasi. Beberapa laboratorium melaporkan nilai PT sebagai presentase aktivitas normal, karena hasil pasien dibandingkan dengan kurva yang mewakili waktu pembekuan normal.

Manfaat lain pemeriksaan PT adalah untuk memantau terapi antikoagulan oral seperti pemakaian bishidroksikoumarin (dikumoral) dan warfarin natrium (Coumandin).

*World Health Organization* (WHO) merekomendasikan hasil PT dengan *International Normalized Ratio* (INR). INR digunakan untuk memantau terapi warfarin, karena pemberian dosis warfarin yang sama terhadap pasien dapat memberikan respon yang berbeda.

## Metode

-

## Prinsip

Tromboplastin jaringan, dengan adanya ion kalsium dan Faktor VII, mengaktifkan jalur ekstrinsik koagulasi. Bila tromboplastin jaringan dan ion kalsium ditambahkan ke dalam plasma sitrat, maka terjadi aktivasi mekanisme hemostasis dan akan membentuk gumpalan dalam waktu tertentu. Jika terjadi defisiensi jalur ekstrinsik, waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan gumpalan akan berlangsung lama. Perpanjangan waktu penggumpalan sebanding dengan tingkat keparahan defisiensi tunggal atau kumulatif dari faktor yang terlibat.

## Tujuan

1. Mengukur kemampuan pembekuan faktor I, II, V, VII dan X.
2. Membandingkan temuan PT dengan BT dan CT.
3. Memantau terapi antikoagulan.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 10 – 13 detik atau 70 – 100%

Terapi Koagulan : 1,5 – 2,0 kali kontrol dalam detik atau 20 – 30%, INR: 2,0 – 3,0

Anak : Sama dengan dewasa

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Penyakit hati (sirosis hati, hepatitis, abses hati, kanker hati), afibrinogenemia, defisiensi faktor II, defisiensi faktor V, defisiensi faktor VII, defisiensi faktor X, produk degra-

dasi fibrin (*fibrin degradation products*, FDP), leukemia, CHF, eritroblastosis fetalis.

- **Obat**

Antibiotik (penisilin, streptomisin, karbenisilin, kloramfenikol, kanamisin, neomisin, tetrasiklin), antikoagulan oral (dikumarol, warfarin), klorpromazin (thorazine), klordiazepoksid (librium), difenilhidantoin (dilantin), heparin, metildopa (aldomet), mitramisin, reserpin (serpasil) fenilbutazon (butazolidin), quinidin, salisilat (aspirin), sulfonamid.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Tromboflebitis, infark miokardial, embolisme pulmonal.

- **Obat**

Barbiturat, obat digitalis, diuretik, difenhidramin (benadryl), kontrasepsi oral, rifampin, metaproterenol (alupent, metaprel), vitamin K.

## Spesimen

Plasma Sitrat (Na-Sitrat 3,2%).

## Alat dan Reagen

1. Reagen PT: ISI 1,0.
2. Kontrol PT.
3. Penangas air (*waterbath*).
4. *Stopwatch*.

5. Mikropipet 100  $\mu$ L.

6) Mikropipet 50  $\mu$ L.

## Prosedur

- 1) Bawa reagen, kontrol dan sampel pada suhu kamar.
- 2) Hangatkan reagen PT pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 5 menit.
- 3) Pipet 100  $\mu$ L reagen PT kedalam 2 tabung Kahn.
- 4) Tambahkan 50  $\mu$ L sampel pada tabung pertama, kontrol kedalam tabung kedua yang telah di beri reagen.
- 5) Start *stopwatch*, kocok tabung di dalam *waterbath* pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 8 detik.
- 6) Catat waktu yang dibutuhkan sampel dan kontrol membentuk bekuan.
- 7) Hasil pemeriksaan dapat ditentukan sebagai rasio PT dan INR menggunakan persamaan.

$$\text{Rasio PT} = \frac{\text{Waktu yang dibutuhkan sampel membeku}}{\text{Waktu yang dibutuhkan kontrol membeku}}$$

$$\text{INR} = (\text{Rasio PT})^{\text{ISI}}$$

## Limitasi

1. Interferensi antar ATLM.
2. Ketidakteelitian pemipetan dalam jumlah kecil dapat memberikan hasil yang sangat signifikan.

# ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME

## Deskripsi

*Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)* atau dalam bahasa Indonesia bisa disebut masa tromboplastin parsial teraktivasi. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mengevaluasi kecukupan sistem intrinsik dan jalur bersama mekanisme hemostatis. APTT mengevaluasi faktor I (fibrinogen), II (prothrombin), V, VIII, IX, X, XI dan XII. Hasil pemeriksaan APTT dinyatakan dalam satuan detik.

Salah satu faktor pembekuan jumlahnya berkurang seperti pada kasus Hemofilia A dan B atau koagulapati konsumtif, maka hasil pemeriksaan APTT memanjang. Karena pada faktor II, IX dan X adalah faktor yang bergantung vitamin K, obstruksi empedu dapat menghalangi pencernaan lemak dan vitamin larut lemak seperti vitamin K, sehingga dapat mempengaruhi konsentrasinya dan mengakibatkan hasil pemeriksaan APTT memanjang. Karena faktor koagulasi dibentuk di hati, penyakit hepatoseluler juga dapat memperpanjang APTT.

Heparin memiliki fungsi penghambatan aktifitas prothrombin (faktor II) dan mencegah pembentukan tromboplastin. Aktifitas heparin tersebut dapat memperpanjang jalur pembekuan intrinsik, oleh sebab itu pemeriksaan APTT dilakukan untuk memantau terapi heparin.

## Metode

-

## Prinsip

Plasma sitrat ditambahkan reagen APTT, maka terjadi aktifikasi mekanisme hemostasis dan akan membentuk gumpalan dalam waktu tertentu. Jika terjadi defisiensi jalur intrinsik, waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan gumpalan akan berlangsung lama. Perpanjangan waktu penggumpalan sebanding dengan tingkat keparahan defisiensi tunggal atau kumulatif dari faktor yang terlibat.

## Tujuan

1. Menentukan adanya defisiensi faktor pembekuan.
2. Membandingkan temuan APTT dengan BT dan CT.
3. Memantau terapi heparin.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 20 – 35 detik.

Terapi Koagulan : 1,5 – 2,0 kali kontrol dalam detik.

Anak : Lebih tinggi dari kadar dewasa.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Defisiensi faktor (faktor V, VIII, IX, X, XI, XII), sirosis hati, defisiensi vitamin K, hipofibrinogenemia, defisiensi prothrombin, penyakit von Willebrand (hemofilia vaskular), DIC, leukemia (mielositik, monositik), malaria.

- **Obat**

Heparin, salisilat.

## Penurunan Kadar

- Masalah Klinis  
Kanker yang meluas.
- Obat  
-

## Spesimen

Plasma Sitrat (Na-Sitrat 3,2%).

## Alat dan Reagen

1. Reagen APTT.
2. Kontrol APTT.
3. Penangas air (*waterbath*).
4. Stopwatch.
5. Mikropipet 25  $\mu\text{L}$ .
6. Mikropipet 50  $\mu\text{L}$ .

## Prosedur

1. Bawa reagen, kontrol dan sampel pada suhu kamar.
2. Pipet 50  $\mu\text{L}$  reagen APTT ke dalam 2 tabung Kahn.
3. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  sampel pada tabung pertama, kontrol kedalam tabung kedua yang telah di beri reagen.
4. Inkubasi tabung pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 3 menit.
5. Tambahkan 25  $\mu\text{L}$  CaCl<sub>2</sub> pada masing-masing tabung yang masih di inkubasi.

6. Start *stopwatch*, catat waktu yang dibutuhkan sampel dan kontrol membentuk bekuan.

## Limitasi

1. Interferensi antar ATLM.
2. Ketidakteelitian pemipetan dalam jumlah kecil dapat memberikan hasil yang sangat signifikan.

# **IMUNOHEMATOLOGI**

# GOLONGAN DARAH ABO

## Deskripsi

Eritrosit mengandung molekul antigen berupa protein, karbohidrat atau yang lainnya dan menyatu dengan dinding sel. Variasi molekul pada permukaan eritrosit mengakibatkan eritrosit dibagi menjadi beberapa golongan yang disebut golongan darah.

Pemeriksaan golongan darah berfungsi penting dalam dunia transfusi terutama dalam pemberian darah pendonor kepada pasien (resipien). Antigen golongan darah ABO tersusun dari karbohidrat dan dikelompokkan menjadi empat jenis golongan darah yaitu golongan darah A, golongan darah B, golongan darah AB dan golongan darah O.

Setiap golongan darah dalam tubuh juga akan mengandung antibodi yang berlawanan (bukan pasangannya). Umumnya antibodi golongan darah sistem ABO adalah IgM yang terdapat dalam plasma darah.

Golongan darah A mengandung antigen A dan anti-B sebagai antibodi golongan darah. Golongan darah B mengandung antigen B dan anti-A sebagai antibodi golongan darah. Golongan darah AB tidak memiliki antibodi tetapi mengandung antigen A dan antigen B. Sedangkan golongan darah O memiliki anti-A dan anti-B tetapi tidak mengandung antigen keduanya.

Pemeriksaan golongan darah dapat dilakukan dengan berbagai macam metode baik secara slide, tile, gel, tube dan otomatis. Tetapi, teknik pemeriksaan yang sering dilakukan di berbagai laboratorium klinik yaitu secara slide. Pemerik-

saan dengan metode ini dinilai lebih mudah, murah dan cepat. Karena penggunaan volume darah yang sedikit, preanalitik yang mudah, prosedur yang tidak terlalu sulit dan tidak banyak menggunakan bahan, serta menggunakan alat yang cukup sederhana.

## Metode

Slide.

## Prinsip

Antigen pada permukaan eritrosit (aglutinogen) jika berikatan dengan antibodi sejenis (aglutinogen) akan mengalami aglutinasi.

## Tujuan

1. Menentukan adanya antigen A dan antigen B pada eritrosit.
2. Menentukan jenis golongan darah ABO.

## Nilai Rujukan

Anti-A	Anti-B	Anti-AB (Kontrol)	Hasil
+	-	+	A
(Aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	(Aglutinasi)	
-	+	+	B
(Non-aglutinasi)	(Aglutinasi)	(Aglutinasi)	
+	+	+	AB
(Aglutinasi)	(Aglutinasi)	(Aglutinasi)	
-	-	-	O
(Non-aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	

## Spesimen

Darah kapiler atau darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Tusuk gigi/pengaduk
2. Kartu golongan darah
3. Reagen golongan darah
  - Serum anti-A
  - Serum anti-B
  - Serum anti-AB

## Prosedur

1. Teteskan sebanyak satu tetes serum anti-A pada sisi kiri, anti-B pada bagian tengah dan serum anti-AB pada sisi kanan pada kartu golongan darah.
2. Berikan darah sebanyak satu tetes pada kartu golongan darah yang telah diberikan serum anti-A, anti-B dan anti-AB. Usahakan tidak tercampur sebelum pengadukan.
3. Aduk tetesan masing-masing menggunakan tusuk gigi atau pengaduk hingga merata.
4. Amati ada tidaknya aglutinasi pada hasil pemeriksaan setelah 2 sampai 3 menit.

## Limitasi

Sensitifitas pemeriksaan rendah.

## GOLONGAN DARAH RHESUS

### Deskripsi

Rhesus (Rh) merupakan antigen permukaan eritrosit yang tersusun oleh protein. Golongan darah Rh menjadi golongan darah penting kedua setelah golongan darah ABO di bidang kedokteran transfusi karena menjadi penyebab utama penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (*Hemolytic Disease of The Newborn*, HDN) dan dunia kebidanan.

Sistem penggolongan darah Rhesus dibagi menjadi dua yaitu Rhesus positif (Rh +) dan Rhesus negatif (Rh -) yang dikode oleh dua gen yaitu RhD dan RhCE. Arti penting dari golongan darah Rh berkaitan dengan fakta bahwa antigen Rh sangat imunogenik. Dalam kasus antigen D, individu yang tidak menghasilkan antigen D akan menghasilkan anti-D jika mereka terpapar antigen D pada eritrosit yang ditransfusikan (menyebabkan reaksi transfusi hemolitik) atau HDN. Untuk alasan ini, status Rh secara rutin ditentukan dalam donor darah, penerima transfusi, dan pada ibu hamil.

Mayoritas antibodi Rh adalah jenis IgG, antibodi Rh jarang mengaktifkan komplemen. Mereka mengikat eritrosit dan menandai eritrosit untuk penghancuran di limpa (hemolisis ekstravaskular). Anti-D, anti-C, anti-e, dan anti-c dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik parah dan hemolisis umumnya terjadi secara ekstravaskuler. Dalam semua donor, golongan darah Rh D-positif (Rh D+) umum dijumpai daripada golongan darah Rh D-negatif (Rh D-).

Metode pemeriksaan golongan darah sistem Rhesus pada dasarnya sama dengan golongan darah sistem ABO yaitu



dengan cara slide, gel, tube dan otomatis. Metode yang umum dilakukan yaitu menggunakan slide. Pemeriksaan golongan darah Rh metode slide dilakukan rutin bersama-sama dengan pemeriksaan golongan darah ABO.

## Metode

Slide.

## Prinsip

Antigen pada permukaan eritrosit (aglutinogen) jika berikatan dengan antibodi sejenis (aglutinogen) akan mengalami aglutinasi.

## Tujuan

1. Menentukan adanya antigen D pada eritrosit.
2. Menentukan jenis golongan darah Rhesus.

## Nilai Rujukan

Anti-D	<i>Bovine Albumin 22%</i> (Kontrol)	Hasil
+	-	Rh +
(Aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	
-	-	Rh -
(Non-aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	

## Spesimen

Darah kapiler atau darah vena (EDTA).

## Alat dan Reagen

1. Tusuk gigi/pengaduk.
2. Kaca objek.
3. *Bovine albumin 22%*.
4. Reagen golongan darah (serum anti-D).

## Prosedur

1. Teteskan sebanyak 1 tetes anti-D pada sisi kanan dan 1 tetes *bovine albumin 22%* pada sisi kiri.
2. Berikan 1 tetes darah pada kaca objek di sisi kanan dan sisi kiri.
3. Usahakan tidak tercampur dengan serum.
4. Aduk tetesan masing-masing menggunakan tusuk gigi atau pengaduk hingga merata.
5. Amati ada tidaknya aglutinasi pada hasil pemeriksaan setelah 2 sampai 3 menit.

## Limitasi

Sensitifitas pemeriksaan rendah.

## DIRECT COOMBS TEST

### Deskripsi

Pemeriksaan *Coombs* pertama kali dikembangkan oleh Robin Coombs menggunakan antibodi yang dapat mengikat antibodi lainnya (*anti human globulin*). Pemeriksaan *Coombs* juga dikenal dengan sebutan uji antiglobulin (*antiglobulin test*, AGT). Terdapat dua teknik pemeriksaan *Coombs*, yaitu *Coombs* langsung (*direct Coombs test*) dan pemeriksaan *Coombs* tidak langsung (*indirect Coombs test*).

Pemeriksaan *Coombs test* mendeteksi antibodi yang melekat pada eritrosit, sehingga mampu menyebabkan kerusakan sel. Uji ini dapat mengidentifikasi suatu reaksi antigen-antibodi yang lemah walaupun tidak tampak aglutinasi eritrosit. Uji *Coombs* positif menunjukkan keberadaan antibodi dalam eritrosit, tetapi uji ini tidak mengidentifikasi antibodi tersebut.

Pemeriksaan *direct Coombs test* digunakan untuk mendeteksi antibodi atau komplemen pada permukaan eritrosit dimana sensitisasi terjadi secara *in vivo* (di dalam tubuh). Eritrosit yang telah dicuci (menghilangkan plasma) jika direaksikan dengan reagen *anti human globulin* (AHG) dan memberikan hasil aglutinasi eritrosit, maka menunjukkan hasil tes positif yang mengindikasikan adanya protein yang melekat (antibodi atau komplemen) melekat pada permukaan eritrosit.

### Metode

Tube/tabung.

### Prinsip

Eritrosit yang telah terlapisi antibodi di dalam tubuh pasien, akan mengalami aglutinasi dengan penambahan *anti human globulin* (AHG).

### Tujuan

1. Mendeteksi antibodi yang terbentuk di eritrosit.
2. Mendeteksi antibodi yang melekat pada eritrosit secara *in vivo*.

### Nilai Rujukan

Dewasa : Negatif.

Anak : Negatif.

### Hasil Positif

- **Masalah Klinis**

Eritroblastosis fetalis, anemia hemolitik didapat (autoimun), reaksi transfusi (inkompatibilitas darah), leukemia (limfositik, mielositik), SLE.

- **Obat**

Antibiotik (sefaloridin, sefalotin, penisilin, streptomisin, tetrasiklin), klorpromazin (Thorazine), isoniazid (INH), levodopa (Dopar), metildopa (Aldomet), prokainamid (Pronestyl), kinidin, rimfampin (Rifadin), sulfonamid.

### Spesimen

Darah tanpa antikoagulan atau darah EDTA.

## Alat dan Reagen

1. Suspensi eritrosit 5%.
2. Tabung serologi.
3. Pipet tetes.
4. Sentrifuse.
5. Kaca objek.
6. Kaca penutup.
7. Mikroskop.
8. Salin (NaCl 0,85%).
9. Serum Coombs (AHG).
10. Sel uji Coombs (*Control Cell Coombs*, CCC).

## Prosedur

### Pembuatan CCC

1. Masukkan 1 bagian anti-D (IgM) ke dalam tabung serologi dan tambahkan 39 bagian salin. Didapat pengenceran anti-D 1/40.
2. Masukkan 1 bagian *washed* eritrosit golongan darah O dengan Rhesus positif ke dalam tabung lain, tambahkan 19 bagian salin. Diperoleh suspensi 5%.
3. Campurkan anti-D 1/40 dengan suspensi eritrosit 5% sama banyak.
4. Inkubasi 30 sampai 60 menit pada suhu 37°C.
5. Tambahkan salin sama banyak ke dalam tabung.
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.

7. Sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit.
8. Buang supernatan. Lakukan prosedur 5 sampai 8 pada fase III sebanyak 3 kali.
9. Setelah supernatan dibuang, buat kembali suspensi 5% dari larutan tersebut. CCC dapat bertahan selama 24 jam.

### Pemeriksaan

1. Siapkan 2 buah tabung serologi.
2. Isi masing-masing tabung dengan 1 tetes suspensi eritrosit 5%.
3. Tambahkan 2 tetes serum Coombs pada tabung satu sebagai uji dan 2 tetes salin pada tabung dua sebagai kontrol.
4. Sentrifuse dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit.
5. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.

### Hasil pemeriksaan

Tabung I	Tabung II	Hasil
+	-	Terdapat antibodi yang melapisi eritrosit.
(Aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	
-	-	Tidak terdapat antibodi yang melapisi eritrosit.
(Non-aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	

### Hasil aglutinasi lemah

1. Pipet darah pada tabung dan teteskan sebanyak 1 tetes pada kaca objek.
2. Tutup dengan kaca penutup, hindari gelembung udara pada preparat.

3. Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 atau 400 kali.
4. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.

#### Hasil pemeriksaan negatif (uji validitas)

1. Tambahkan 1 tetes CCC pada tabung satu dan dua.
2. Jika kedua tabung menunjukkan aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid.
3. Jika salah satu tabung atau kedua tabung tidak aglutinasi maka hasil invalid dan harus melakukan pemeriksaan ulang dengan cara mengganti serum Coombs atau mengganti spesimen.

#### Limitasi

Proses pemeriksaan lama.

## INDIRECT COOMBS TEST

### Deskripsi

Pemeriksaan *indirect Coombs test* dapat mendeteksi antibodi yang bersirkulasi dengan bebas dalam serum pasien (resipien atau donor). Pemeriksaan ini juga dilakukan dalam salah satu fase pada *cross match* darah untuk transfusi, guna mencegah reaksi transfusi terhadap darah yang inkompatibel yang disebabkan oleh faktor darah minor. Sebagai akibat transfusi sebelumnya, resipien mungkin mengandung antibodi tertentu yang juga dapat menyebabkan reaksi transfusi tertentu. Oleh karena itu, *indirect Coombs test* digunakan untuk pemeriksaan sebelum transfusi darah selain itu pemeriksaan ini digunakan pada pemeriksaan prenatal ibu hamil.

*Indirect Coombs test* merupakan metode pendeteksian sensitisasi *in vitro* eritrosit (di luar tubuh) yang artinya sensitisasi terjadi setelah penambahan serum atau plasma lain. Hasil positif dapat disebabkan karena *cross match* yang inkompatibel, antibodi spesifik (transfusi sebelumnya), antibodi anti-Rh (terdeteksi selama kehamilan), anemia hemolitik didapat, serta pengaruh obat yang sama dengan uji *Coombs* langsung.

Reaksi pemeriksaan ini melibatkan eritrosit dan serum yang berbeda, serum yang mengandung antibodi tertentu jika diinkubasi dengan eritrosit yang telah dicuci dapat dan terjadi proses sensitisasi, maka hasil *indirect Coombs test* positif.

### Metode

Tube/tabung.

## Prinsip

Eritrosit pendonor akan dilapisi oleh antibodi resipien yang terjadi di luar tubuh, aglutinasi terbentuk dengan penambahan *anti human globulin* (AHG).

## Tujuan

1. Mendeteksi antibodi yang melekat pada eritrosit secara *in vitro*.
2. Memeriksa keberadaan antibodi dalam darah pendonor terutama darah pasien sebelum dilakukan tindakan transfusi.

## Nilai Rujukan

Dewasa : Negatif.

Anak : Negatif.

## Hasil Positif

- **Masalah Klinis**

Pencocokan silang darah yang inkompatibel, antibodi spesifik (transfusi sebelumnya), antibodi anti-Rh (terdeteksi selama kehamilan), anemia hemolitik didapat.

- **Obat**

Antibiotik (sefaloridin, sefalotin, penisilin, streptomisin, tetrasiklin), klorpromazin (Thorazine), isoniazid (INH), levodopa (Dopar), metildopa (Aldomet), prokainamid (Pronestyl), kinidin, rimfampin (Rifadin), sulfonamid.

## Spesimen

Darah tanpa antikoagulan atau darah EDTA.

## Alat dan Reagen

1. Suspensi eritrosit 5% resipien dan plasma darah donor.
2. Atau suspensi eritrosit 5% pendonor dan plasma darah resipien.
3. Tabung serologi.
4. Pipet tetes.
5. Sentrifuse.
6. Kaca objek.
7. Kaca penutup.
8. Mikroskop.
9. Salin (NaCl 0,85%).
10. Serum Coombs (AHG).
11. Sel uji Coombs (*Control Cell Coombs, CCC*).

## Prosedur

### Pembuatan CCC

1. Masukkan 1 bagian anti-D (IgM) ke dalam tabung serologi dan tambahkan 39 bagian salin. Didapat pengenceran anti-D 1/40.
2. Masukkan 1 bagian *washed* eritrosit golongan darah O dengan Rhesus positif ke dalam tabung lain, tambahkan 19 bagian salin. Diperoleh suspensi 5%.
3. Campurkan anti-D 1/40 dengan suspensi eritrosit 5% sama banyak.

4. Inkubasi 30 sampai 60 menit pada suhu 37<sup>o</sup> C.
5. Tambahkan salin sama banyak ke dalam tabung.
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
7. Sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit.
8. Buang supernatan. Lakukan prosedur 5 sampai 8 pada fase III sebanyak 3 kali.
9. Setelah supernatan dibuang, buat kembali suspensi 5% dari larutan tersebut. CCC dapat bertahan selama 24 jam.

#### Pemeriksaan

1. Siapkan 2 buah tabung serologi.
2. Isi masing-masing tabung dengan 1 tetes suspensi eritrosit 5%.
3. Tambahkan 2 tetes sampel serum pada masing-masing tabung.
4. Tambahkan 2 tetes serum Coombs pada tabung satu sebagai uji dan 2 tetes salin pada tabung dua sebagai kontrol.
5. Sentrifuse dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit.
6. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.

#### Hasil pemeriksaan

Tabung I	Tabung II	Hasil
+	-	Terdapat antibodi yang melapisi eritrosit.
(Aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	
-	-	Tidak terdapat antibodi yang melapisi eritrosit.
(Non-aglutinasi)	(Non-aglutinasi)	

#### Hasil aglutinasi lemah

1. Pipet darah pada tabung dan teteskan sebanyak 1 tetes pada kaca objek.
2. Tutup dengan kaca penutup, hindari gelembung udara pada preparat.
3. Amati di bawah miroskop dengan pembesaran 100 atau 400 kali.
4. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.

#### Hasil pemeriksaan negatif (uji validitas)

1. Tambahkan 1 tetes CCC pada tabung satu dan dua.
2. Jika kedua tabung menunjukkan aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid.
3. Jika salah satu tabung atau kedua tabung tidak aglutinasi maka hasil invalid dan harus melakukan pemeriksaan ulang dengan cara mengganti serum Coombs atau mengganti spesimen.

#### Limitasi

Proses pemeriksaan lama.

# CROSSMATCH MAYOR

## Deskripsi

Sebelum transfusi darah, dua tes darah yaitu pemeriksaan jenis golongan darah dan *cross match* (reaksi silang) dilakukan. Pertama, golongan darah penerima ditentukan, yaitu, tipe ABO dan Rh D. Secara teori, sekali golongan darah penerima diketahui, transfusi darah yang kompatibel dapat diberikan. Dalam praktiknya, darah donor mungkin masih tidak sesuai karena mengandung antigen lain yang tidak rutin tapi masih dapat menyebabkan masalah jika serum penerima mengandung antibodi yang cocok dengan antigen pada sel darah. Oleh karena itu, "*cross match*" dilakukan untuk memastikan bahwa sel darah merah donor sebenarnya kompatibel terhadap serum penerima.

Terdapat dua jenis pemeriksaan *cross match mayor* dan *cross match minor*. Pemeriksaan *cross match mayor* bertujuan untuk menentukan ada tidaknya aglutinin pada serum resipien yang dapat merusak eritrosit donor pada saat transfusi, oleh sebab itu pemeriksaan *cross match minor* diperlakukan dengan mencampurkan serum resipien dan eritrosit donor, sehingga dapat menemukan antibodi lengkap (*complete antibodies*) dan antibodi tidak lengkap (*incomplete antibodies*) dalam serum resipien.

## Metode

Tube.

## Prinsip

Antigen pada permukaan eritrosit donor jika bertemu dengan antibodi sejenis dari resipien, maka akan membentuk ikatan dan mengalami aglutinasi.

## Tujuan

1. Memastikan bahwa darah yang akan ditransfusikan aman bagi pasien.
2. Menentukan adanya antibodi dalam serum yang dapat merusak eritrosit.

## Nilai Rujukan

Dewasa : Tidak ada aglutinasi (kompatibel).

Anak : Tidak ada aglutinasi (kompatibel).

## Spesimen

Darah tanpa antikoagulan atau darah EDTA.

## Alat dan Reagen

1. Suspensi eritrosit 5% donor.
2. Serum pasien (resipien).
3. Salin atau NaCl 0,85%.
4. Sentrifuse.
5. Inkubator.
6. Bovin albumin 22%.
7. Tabung serologi.
8. Serum Coombs (AHG).

9. Mikroskop.
10. Sel uji Coombs.
11. Pipet tetes.
12. Kaca objek.
13. Kaca penutup.
14. Rak Tabung.

## Prosedur

### Pembuatan CCC

1. Masukkan 1 bagian anti-D (IgM) ke dalam tabung serologi dan tambahkan 39 bagian salin. Didapat pengenceran anti-D 1/40.
2. Masukkan 1 bagian *washed* eritrosit golongan darah O dengan Rhesus positif ke dalam tabung lain, tambahkan 19 bagian salin. Diperoleh suspensi 5%.
3. Campurkan anti-D 1/40 dengan suspensi eritrosit 5% sama banyak.
4. Inkubasi 30 sampai 60 menit pada suhu 37<sup>o</sup> C.
5. Tambahkan salin samabanyak ke dalam tabung.
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
7. Sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit.
8. Buang supernatan. Lakukan prosedur 5 sampai 8 pada fase III sebanyak 3 kali.
9. Setelah supernatan dibuang, buat kembali suspensi 5% dari larutan tersebut. CCC dapat bertahan selama 24 jam.

### Fase I

1. Siapkan 1 buah tabung serologi.
2. Masukkan ke dalam tabung 1 tetes suspensi eritrosit 5% dari donor.
3. Tambahkan 2 tetes suspensi serum pasien (resipien).
4. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
5. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
6. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
7. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan Fase II.

### Fase II

1. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
2. Tambahkan 2 tetes *bovine albumin* 22%.
3. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
4. Inkubasi tabung pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 15 menit.
5. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
6. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
7. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan Fase III.

### Fase III

1. Tambahkan salin 500  $\mu$ L ke dalam tabung.
2. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
3. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.



## CROSSMATCH MINOR

4. Buang supernatan. Lakukan prosedur 1 sampai 4 pada fase III sebanyak 3 kali.
5. Setelah supernatan dibuang, tambahkan 2 tetes serum Coombs ke dalam tabung.
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
7. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
8. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
9. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan uji validitas.

### Uji validitas

1. Tambahkan 1 tetes CCC pada tabung.
2. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
3. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
4. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
5. Jika hasil uji validasi terjadi aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid, jika tidak terdapat aglutinasi maka hasil pemeriksaan invalid.

### Limitasi

Proses pemeriksaan sangat lama jika dibandingkan dengan metode gel.

### Deskripsi

Pemeriksaan *cross match minor* bertujuan untuk menentukan ada tidaknya aglutinin pada serum donor yang dapat merusak eritrosit resipien, oleh sebab itu pemeriksaan *cross match minor* diperlakukan dengan mencampurkan serum donor dan eritrosit resipien, sehingga dapat menemukan antibodi lengkap (*complete antibodies*) dan antibodi tidak lengkap (*incomplete antibodies*) dalam serum resipien. Reaksi ini dinilai kurang penting dibandingkan *cross match mayor*, karena aglutinin dari pendonor akan mengalami pengenceran di dalam tubuh resipien.

### Metode

Tube.

### Prinsip

Antigen pada permukaan eritrosit resipien jika bertemu dengan antibodi sejenis dari donor, maka akan membentuk ikatan dan mengalami aglutinasi.

### Tujuan

1. Memastikan bahwa darah yang akan ditransfusikan aman bagi pasien.
2. Menentukan adanya antibodi dalam serum yang dapat merusak eritrosit.

## Nilai Rujukan

Dewasa : Tidak ada aglutinasi (kompatibel).

Anak : Tidak ada aglutinasi (kompatibel).

## Spesimen

Darah tanpa antikoagulan atau darah EDTA.

## Alat dan Reagen

1. Suspensi eritrosit 5% pasien (resipien).
2. Serum donor.
3. Salin atau NaCl 0,85%.
4. Sentrifuse.
5. Inkubator.
6. Bovin albumin 22%.
7. Tabung serologi.
8. Serum Coombs (AHG).
9. Mikroskop.
10. Sel uji Coombs.
11. Pipet tetes.
12. Kaca objek.
13. Kaca penutup.
14. Rak Tabung.

## Prosedur

### Pembuatan CCC

1. Masukkan 1 bagian anti-D (IgM) ke dalam tabung serologi dan tambahkan 39 bagian salin. Didapat pengenceran anti-D 1/40.
2. Masukkan 1 bagian *washed* eritrosit golongan darah O dengan Rhesus positif ke dalam tabung lain, tambahkan 19 bagian salin. Diperoleh suspensi 5%.
3. Campurkan anti-D 1/40 dengan suspensi eritrosit 5% sama banyak.
4. Inkubasi 30 sampai 60 menit pada suhu 37<sup>o</sup> C.
5. Tambahkan salin samabanyak ke dalam tabung.
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
7. Sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit.
8. Buang supernatan. Lakukan prosedur 5 sampai 8 pada fase III sebanyak 3 kali.
9. Setelah supernatan dibuang, buat kembali suspensi 5% dari larutan tersebut. CCC dapat bertahan selama 24 jam.

### Fase I

1. Siapkan 1 buah tabung serologi.
2. Masukkan ke dalam tabung 1 tetes suspensi eritrosit 5% dari pasien (resipien).
3. Tambahkan 2 tetes suspensi serum donor.
4. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
5. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.

6. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
7. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan Fase II.

### **Fase II**

1. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
2. Tambahkan 2 tetes *bovine albumin 22%*.
3. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
4. Inkubasi tabung pada suhu 37<sup>o</sup> C selama 15 menit.
5. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
6. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
7. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan Fase III.

### **Fase III**

1. Tambahkan salin 500 µL ke dalam tabung.
2. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
3. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
4. Buang supernatan. Lakukan prosedur 1 sampai 4 pada fase III sebanyak 3 kali.
5. Setelah supernatan dibuang, tambahkan 2 tetes serum Coombs ke dalam tabung
6. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
7. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
8. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
9. Jika hasil tidak ada aglutinasi, lanjutkan uji validitas.

### **Uji validitas**

1. Tambahkan 1 tetes CCC pada tabung.
2. Kocok tabung secara perlahan agar spesimen tercampur homogen.
3. Sentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit.
4. Amati ada atau tidaknya aglutinasi.
5. Jika hasil uji validasi terjadi aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid, jika tidak terdapat aglutinasi maka hasil pemeriksaan invalid.

### **Limitasi**

Proses pemeriksaan sangat lama jika dibandingkan dengan metode gel.

# **KIMIA KLINIK**

# GLUKOSA DARAH SEWAKTU

## Deskripsi

Glukosa darah sewaktu (GDS) atau *random blood glucose* (RBG) adalah pemeriksaan kadar glukosa pada darah pasien yang tidak puasa dan dapat dilakukan kapan saja. Pemeriksaan GDS sering dilakukan karena selain digunakan sebagai pemeriksaan penyaring (*screening*) diabetes, juga dilakukan rutin untuk memantau kadar glukosa darah pada pasien diabetes di rumah.

Sampel pemeriksaan yang umum digunakan adalah darah vena dan kapiler, konsentrasi glukosa pada darah kapiler lebih tinggi sekitar 20% dibandingkan darah vena. Kebanyakan laboratorium klinik menggunakan serum atau plasma yang berasal dari darah vena, karena memiliki akurasi pemeriksaan yang lebih baik dibandingkan darah kapiler.

Darah vena umumnya ditampung menggunakan tabung merah (tanpa antikoagulan) atau ungu (antikoagulan EDTA) dan darah harus segera dilakukan pemisahan dan pemeriksaan, karena dalam 1 jam dapat menurunkan 5% sampai 7% konsentrasi glukosa pada darah yang tidak disentrifuse. Serum atau plasma memiliki stabilitas yang lebih baik dibandingkan darah, pada suhu 25°C glukosa stabil selama 8 jam dan pada suhu 4°C stabil selama 72 jam. Penggunaan natrium fluorida (NaF) yang terdapat dalam tabung abu-abu disarankan untuk pemeriksaan glukosa darah karena senyawa NaF dapat menghambat proses glikolisis.

Pemeriksaan glukosa darah sewaktu dapat dilakukan menggunakan test strip untuk darah kapiler dan menggunakan

fotometer untuk serum atau plasma. Terdapat dua metode yang digunakan dilaboratorium klinik yaitu glukosa oksidase (GOD) dan heksokinase, metode GOD adalah metode yang sering digunakan dalam analisis dan merupakan metode yang direkomendasikan WHO/IFCC.

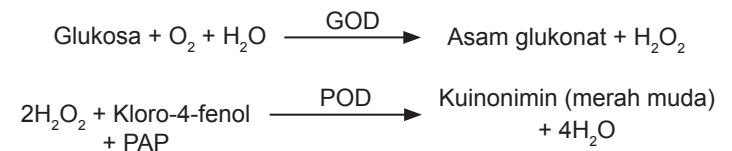
## Metode

Trinder atau GOD-PAP

(Glukosa Oksidase – Para Aminofenazon)

## Prinsip

Glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida yang terbentuk dengan adanya POD, bereaksi dengan kloro-4-fenol dan 4-aminofenazon (PAP) untuk membentuk warna merah kuinonimin. Absorbansi kompleks berwarna, sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam spesimen yang diukur pada panjang gelombang 500 nm.



## Tujuan

1. Memastikan diagnosis status prediabetes atau diabetes melitus.
2. Memantau kadar glukosa darah pada pasien diabetik.

## Nilai Rujukan

Serum atau Plasma	mg/dL	mmol/L
Dewasa	60 – 139	3,3 – 7,7
Nilai Kritis	<40 atau >700	<2,2 atau >38,8

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Diabetes melitus, asidosis diabetik, hiperfungsi kelenjar adrenal (sindrom Cushing), MCI akut, stres, cedera tabrakan, luka bakar, infeksi, gagal ginjal, hipotermia, aktivitas, pankreatitis akut, kanker pankreas, CHF, akromegali, sindrom pasacagastrektomi (*dumping syndrome*), pembedahan mayor.

- **Obat**

ACTH, obat kortison, diuretik (hidroklorotiazid, furosemid, asam etakrinat), obat anestesi, levodopa.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Reaksi hipoglikemik (insulin yang berlebih), kanker (lambung, hati, paru-paru), hipofungsi kelenjar adrenal, malnutrisi, alkoholisme, sirosis hati, aktivitas berat, eritroblastosis fetalis, hiperinsulinisme.

- **Obat**

Insulin yang berlebih.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA dan heparin). Pisahkan segera (serum atau plasma) dari sel darah supaya tidak terjadi glikolisis. Jika fluorida digunakan sebagai pengawet, penurunan 9 mg/dL (0,5 mmol/L) terlihat dalam 2 jam pertama, setelah itu konsentrasi glukosa akan stabil.

Glukosa stabil dalam serum atau plasma (EDTA dan heparin):

- Selama 8 jam pada suhu 25<sup>o</sup> C.
- Selama 72 jam pada suhu 2 – 8<sup>o</sup> C.

Glukosa stabil dalam plasma (natrium fluorida atau iodoasetat):

- Selama 24 jam pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Glukosa.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.

3. Diamkan reagen dan spesimen hingga suhu reagen dan spesimen sama dengan suhu ruangan.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 20 menit pada suhu kamar.

Baca absorban pada panjang gelombang 500 nm (460 – 560) terhadap reagen blanko.

Reaksi warna stabil selama 15 – 20 menit pada suhu 37° C, kemudian secara perlahan terjadi penurunan.

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar gula sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi sampai 10 mg/dL.
- Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai 20 mg/dL.
- Bilirubin direk : Tidak ada interferensi.
- Hemolisis : Tidak ada interferensi.
- Lipemia : Terdapat interferensi pada trigliserida di atas 626 mg/dL.

### Linieritas

Reaksi linear sampai 500 mg/dL (28 mmol/L). Jika kadar glukosa melebihi 500 mg/dL, maka encerkan spesimen dengan larutan salin (NaCl 0,85%) dan lakukan pemeriksaan

ulang dengan mempertimbangkan faktor pengenceran untuk menghitung hasilnya. Pengenceran yang umum dilakukan dengan menambahkan 2 bagian salin ke dalam 1 bagian volume sampel sehingga hasilnya dikalikan 3. Batas linier bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# GLUKOSA DARAH PUASA

## Deskripsi

Glukosa darah puasa (GDP) disebut juga glukosa darah *Nuchter* atau *fasting blood sugar* (FBS) adalah pemeriksaan kadar glukosa pada darah pasien yang puasa. Pemeriksaan GDP pada dasarnya sama dengan GDS, perbedaan terletak pada persiapan pasien yang akan melakukan pemeriksaan.

Pasien yang melakukan GDP diharuskan puasa 10 sampai 12 jam dan pemeriksaan dilakukan sebelum melakukan aktifitas berat, antara jam 07.00 sampai dengan jam 09.00. Pasien diabetes yang rutin mengkonsumsi obat anti-diabetes dan pemberian insulin harus ditangguhkan sementara sampai selesai pengambilan darah untuk pemeriksaan glukosa darah, tindakan ini harus meminta izin dokter yang mengirimkan pasien.

Spesimen pemeriksaan yang umum digunakan adalah serum atau plasma yang ditampung pada tabung tutup merah, ungu dan abu-abu dengan perlakuan sama pada pemeriksaan GDS. Teknik analisis dilakukan menggunakan fotometer dengan metode glukosa oksidase (GOD) atau heksokinase.

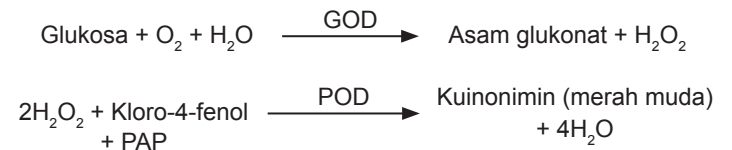
## Metode

Trinder atau GOD-PAP

(Glukosa Oksidase – Para Aminofenazon)

## Prinsip

Glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida yang terbentuk dengan adanya POD, bereaksi dengan kloro-4-fenol dan 4-aminofenazon (PAP) untuk membentuk warna merah kuinonimin. Absorbansi kompleks berwarna, sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam spesimen yang diukur pada panjang gelombang 500 nm.



## Tujuan

1. Memastikan diagnosis status prediabetes atau diabetes melitus.
2. Memantau kadar glukosa darah pada pasien diabetik.

## Nilai Rujukan

Dalam Serum atau Plasma	mg/dL	mmol/L
Bayi Baru Lahir, 1 hari	40 – 60	2.2 – 3.3
Bayi Baru Lahir > 1 hari	50 – 80	2.8 – 4.4
Anak – anak	60 – 100	3.3 – 5.6
Dewasa	74 – 106	4.1 – 5.9
60 – 90 tahun	82 – 115	4.6 – 6.4
> 90 tahun	75 – 121	4.2 – 6.7



## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Diabetes melitus, asidosis diabetik, hiperfungsi kelenjar adrenal (*sindrom Cushing*), MCI akut, stres, cedera tabrakan, luka bakar, infeksi, gagal ginjal, hipotermia, aktivitas, pankreatitis akut, kanker pankreas, CHF, akromegali, sindrom pasacagastrektomi (*dumping syndrome*), pembedahan mayor.

- **Obat**

ACTH, obat kortison, diuretik (hidroklorotiazid, furosemid, asam etakrinat), obat anestesi, levodopa.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Reaksi hipoglikemik (insulin yang berlebih), kanker (lambung, hati, paru-paru), hipofungsi kelenjar adrenal, malnutrisi, alkoholisme, sirosis hati, aktivitas berat, eritroblastosis fetalis, hiperinsulinisme.

- **Obat**

Insulin yang berlebih.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA dan heparin). Pisahkan segera (serum atau plasma) dari sel darah supaya tidak terjadi glikolisis. Jika fluorida digunakan sebagai pengawet, penurunan 9 mg/dL (0,5 mmol/L) terlihat dalam 2 jam pertama, setelah itu konsentrasi glukosa akan stabil.

Glukosa stabil dalam serum atau plasma (EDTA dan heparin):

- Selama 8 jam pada suhu 25° C.
- Selama 72 jam pada suhu 2 – 8° C.

Glukosa stabil dalam plasma (natrium fluorida atau iodoasetat):

- Selama 24 jam pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
3. Stopwatch.
4. Reagen Glukosa.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 10 sampai 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 9 atau 10 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen hingga suhu reagen dan spesimen sama dengan suhu ruangan.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 20 menit pada suhu kamar.

Baca absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (460 – 560) terhadap reagen blanko.

Reaksi warna stabil selama 15 – 20 menit pada suhu 37° C, kemudian secara perlahan terjadi penurunan.

5. Hitung hasil pemeriksaan kadar gula sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi sampai 10 mg/dL.
- Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai 20 mg/dL.
- Bilirubin direk : Tidak ada interferensi.
- Hemolisis : Tidak ada interferensi.
- Lipemia : Terdapat interferensi pada trigliserida di atas 626 mg/dL.

### Linieritas

Reaksi linear sampai 500 mg/dL (28 mmol/L). Jika kadar glukosa melebihi 500 mg/dL, maka encerkan spesimen dengan larutan salin (NaCl 0,85%) dan lakukan pemeriksaan ulang dengan mempertimbangkan faktor pengenceran untuk menghitung hasilnya. Pengenceran yang umum dilakukan

dengan menambahkan 2 bagian salin kedalam 1 bagian volume sampel sehingga hasilnya dikalikan 3. Batas linier bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# GLUKOSA DARAH POSTPRANDIAL

## Deskripsi

Glukosa darah postprandial disebut juga glukosa darah 2 jam setelah puasa (glukosa darah 2 jam PP) atau dalam bahasa Inggris disebut *postprandial blood sugar* (PPBS). Pemeriksaan Glukosa darah 2 jam PP biasanya dilakukan untuk mengukur respon pasien terhadap asupan tinggi karbohidrat 2 jam setelah makan, pemeriksaan ini digunakan untuk menegakan diabetes terutama pada pasien dengan hasil pemeriksaan GDP normal tinggi atau sedikit meningkat, oleh sebab itu pemeriksaan glukosa darah 2 jam PP sering dilakukan bersamaan dengan GDP.

Tahap pre-analitik pemeriksaan glukosa darah 2 jam PP yang harus dipersiapkan pasien pada dasarnya sama dengan pemeriksaan GDP, harus melakukan puasa dan penangguhan terhadap penggunaan obat anti-diabetik dan pemberian insulin. Setelah 10 jam sampai 12 jam, pasien diharuskan makan kenyang dengan komposisi makanan tinggi karbohidrat. 2 jam setelah selesai makan, pasien dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan glukosa darah 2 jam PP.

Spesimen pemeriksaan sama dengan pemeriksaan GDS dan GDP yaitu serum atau plasma pada tabung tutup merah, ungu dan abu-abu dengan teknik analisis dilakukan menggunakan fotometer menggunakan metode glukosa oksidase (GOD) atau heksokinase.

## Metode

Trinder atau GOD-PAP

(Glukosa Oksidase – Para Aminofenazon)

## Prinsip

Glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida yang terbentuk dengan adanya POD, bereaksi dengan kloro-4-fenol dan 4-aminofenazon (PAP) untuk membentuk warna merah kuinonimin. Absorbansi kompleks berwarna, sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam spesimen yang diukur pada panjang gelombang 500 nm.



## Tujuan

1. Memastikan diagnosis status prediabetes atau diabetes melitus.
2. Memantau kadar glukosa darah pada pasien diabetik.

## Nilai Rujukan

Dalam Serum atau Plasma	mg/dL/2 jam
Dewasa	< 140
Lansia	< 160
Anak	< 120

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Diabetes melitus, asidosis diabetik, hiperfungsi kelenjar adrenal (sindrom Cushing), MCI akut, stres, cedera tabrakan, luka bakar, infeksi, gagal ginjal, hipotermia, aktivitas, pankreatitis akut, kanker pankreas, CHF, akromegali, sindrom pasacagastrektomi (*dumping syndrome*), pembedahan mayor.

- **Obat**

ACTH, obat kortison, diuretik (hidroklorotiazid, furosemid, asam etakrinat), obat anestesi, levodopa.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Reaksi hipoglikemik (insulin yang berlebih), kanker (lambung, hati, paru-paru), hipofungsi kelenjar adrenal, malnutrisi, alkoholisme, sirosis hati, aktivitas berat, eritroblastosis fetalis, hiperinsulinisme.

- **Obat**

Insulin yang berlebih.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA dan heparin). Pisahkan segera (serum atau plasma) dari sel darah supaya tidak terjadi glikolisis. Jika fluorida digunakan sebagai pengawet, penurunan 9 mg/dL (0,5 mmol/L) terlihat dalam 2 jam pertama, setelah itu konsentrasi glukosa akan stabil.

Glukosa stabil dalam serum atau plasma (EDTA dan heparin):

- Selama 8 jam pada suhu 25<sup>o</sup> C.
- Selama 72 jam pada suhu 2 – 8<sup>o</sup> C.

Glukosa stabil dalam plasma (natrium fluorida atau iodoasetat):

- Selama 24 jam pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Glukosa.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

Umumnya prosedur dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan GDP.

1. Setelah melakukan pemeriksaan GDP, pasien diarahkan untuk makan-makanan yang mengandung karbohidrat (nasi atau roti) dan kenyang sesuai porsinya.
2. Arahkan pasien tidak melakukan aktivitas yang dapat mempengaruhi pemeriksaan hingga selesai pemeriksaan dan harus segera kembali ke laboratorium 10 sampai 15 menit sebelum pemeriksaan glukosa 2 jam PP.
3. Dua jam setelah makan lakukan pengumpulan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.

- Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
- Diamkan reagen dan spesimen hingga suhu reagen dan spesimen sama dengan suhu ruangan.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 20 menit pada suhu kamar.

Baca absorban pada panjang gelombang 500 nm (460 – 560) terhadap reagen blanko.

Reaksi warna stabil selama 15 – 20 menit pada suhu 37° C, kemudian secara perlahan terjadi penurunan.

- Hitung hasil pemeriksaan kadar gula sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi sampai 10 mg/dL.
- Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai 20 mg/dL.
- Bilirubin direk : Tidak ada interferensi.
- Hemolisis : Tidak ada interferensi.
- Lipemia : Terdapat interferensi pada trigliserida di atas 626 mg/dL.

### Linieritas

Reaksi linear sampai 500 mg/dL (28 mmol/L). Jika kadar glukosa melebihi 500 mg/dL, maka encerkan spesimen dengan larutan salin (NaCl 0,85%) dan lakukan pemeriksaan ulang dengan mempertimbangkan faktor pengenceran untuk menghitung hasilnya. Pengenceran yang umum dilakukan dengan menambahkan 2 bagian salin kedalam 1 bagian volume sampel sehingga hasilnya dikalikan 3. Batas linier bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# TES TOLERANSI GLUKOSA ORAL

## Deskripsi

Tes toleransi glukosa oral (TTGO) atau *oral glucose tolerance test* (OGTT) adalah pemeriksaan glukosa darah yang dilakukan setelah puasa dan ½ jam, 1 jam dan 2 jam setelah pembebanan glukosa 75 gram dalam segelas air (100 mL). TTGO digunakan untuk mendiagnosis diabetes melitus pada seseorang yang memiliki hasil pemeriksaan GDP dan glukosa darah 2 jam PP meragukan tetapi pasien diduga atau berisiko diabetes melitus.

Pemeriksaan TTGO dilakukan pada pasien dengan hasil pemeriksaan glukosa darah pada batas normal tinggi atau sedikit tinggi, memiliki riwayat diabetes dalam keluarga, ibu hamil dengan bayi yang memiliki berat badan lebih dari 5 kilogram, orang yang menjalani pembedahan atau cedera mayor, dan pada orang yang memiliki masalah kegemukan. Pemeriksaan TTGO tidak boleh dilakukan pada pasien dengan GDP lebih dari 200 mg/dL.

Kadar glukosa puncak OGTT terjadi pada saat ½ jam sampai 1 jam setelah pemberian glukosa, kadar gula harus kembali ke rentang normal dalam waktu 3 jam. Sampel darah akan diambil setelah puasa dan ½ jam, 1 jam dan 2 jam setelah pemberian glukosa, waktu pengambilan darah TTGO dapat berbeda di setiap laboratorium.

Spesimen pemeriksaan sama dengan pemeriksaan GDS, GDP dan glukosa darah 2 jam PP yaitu serum atau plasma pada tabung tutup merah, ungu dan abu-abu dengan teknik anali-

sis dilakukan menggunakan fotometer menggunakan metode glukosa oksidase (GOD) atau heksokinase.

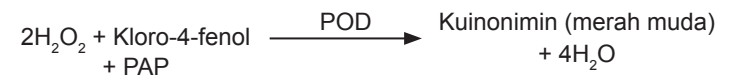
## Metode

Trinder atau GOD-PAP

(Glukosa Oksidase – Para Aminofenazon)

## Prinsip

Glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Hidrogen peroksida yang terbentuk dengan adanya POD, bereaksi dengan kloro-4-fenol dan 4-aminofenazon (PAP) untuk membentuk warna merah kuinonimin. Absorbansi kompleks berwarna, sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam spesimen yang diukur pada panjang gelombang 500 nm.



## Tujuan

Mengkonfirmasi diagnosis diabetes melitus.

## Nilai Rujukan

Waktu	mg/dL
Puasa	70 – 110
½ jam	< 160
1 jam	< 170
2 jam	< 125

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Diabetes melitus, diabetes laten, hiperfungsi kelenjar adrenal (sindrom Cushing), hiperlipoproteinemia, stres, infeksi, cedera atau pembedahan mayor, alkoholisme, MCI akut, kanker pankreas, kondisi resisten insulin (eklampsia, metastasis kanker, kondisi asidotik), ulkus duodenum.

- **Obat**

Kortikosteroid (kortison), kontrasepsi oral, esterogen, diuretik, tiazid, salisilat, asam askorbat.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hiperinsulinisme, insufisiensi kelenjar adrenal, malabsorpsi, malnutrisi protein.

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA dan heparin). Pisahkan segera (serum atau plasma) dari sel darah supaya tidak terjadi glikolisis. Jika fluorida digunakan sebagai pengawet, penurunan 9 mg/dL (0,5 mmol/L) terlihat dalam 2 jam pertama, setelah itu konsentrasi glukosa akan stabil.

Glukosa stabil dalam serum atau plasma (EDTA dan heparin):

- Selama 8 jam pada suhu 25<sup>0</sup> C
- Selama 72 jam pada suhu 2 – 8<sup>0</sup> C.

Glukosa stabil dalam plasma (natrium fluorida atau iodoasetat):

- Selama 24 jam pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

- 1) Spektrofotometer.
- 2) Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
- 3) *Stopwatch*.
- 4) Reagen Glukosa.
- 5) Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 10 sampai 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 9 atau 10 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
3. Larutkan glukosa 75 gram ke dalam 100 ml air minum, berikan pada pasien untuk di minum hingga habis.
4. Arahkan pasien untuk tidak mengkonsumsi kopi, teh dan rokok selama pemeriksaan.
5. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
6. Lakukan pemeriksaan glukosa untuk sampel puasa, diamkan reagen dan spesimen hingga suhu reagen dan spesimen sama dengan suhu ruangan.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 20 menit pada suhu kamar.

Baca absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (460 – 560) terhadap reagen blanko.

Reaksi warna stabil selama 15 – 20 menit pada suhu 37° C, kemudian secara perlahan terjadi penurunan.

7. Hitung hasil pemeriksaan kadar gula sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

8. Lakukan prosedur pengambilan darah dan pemeriksaan glukosa pada sampel ke ½, 1 dan 2 jam.
9. Buat kurva dengan sumbu X sebagai waktu pemeriksaan dan sumbu Y sebagai kadar glukosa darah.

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi sampai 10 mg/dL.
- Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai 20 mg/dL.
- Bilirubin direk : Tidak ada interferensi.
- Hemolisis : Tidak ada interferensi.
- Lipemia : Terdapat interferensi pada trigliserida di atas 626 mg/dL.

### Linieritas

Reaksi linear sampai 500 mg/dL (28 mmol/L). Jika kadar glukosa melebihi 500 mg/dL, maka encerkan spesimen dengan larutan salin (NaCl 0,85%) dan lakukan pemeriksaan ulang dengan mempertimbangkan faktor pengenceran untuk menghitung hasilnya. Pengenceran yang umum dilakukan dengan menambahkan 2 bagian salin ke dalam 1 bagian volume sampel sehingga hasilnya dikalikan 3. Batas linier bergantung pada rasio spesimen/reagen.



# KOLESTEROL TOTAL

## Deskripsi

Kolesterol total atau *total cholesterol* adalah pemeriksaan kolesterol (kolesterol bebas atau ester kolesterol) dalam serum atau plasma. Kolesterol dalam tubuh disintesis dalam hati serta ditemukan pula pada eritrosit, membran sel dan otot. Sekitar 70% dalam bentuk ester kolesterol dan 30% dalam bentuk kolesterol bebas.

Pemeriksaan kolesterol dalam serum digunakan sebagai indikator penyakit arteri koroner dan aterosklerosis. Kondisi hiperkolesterolemia menyebabkan penumpukan pada arteri sehingga menyebabkan aterosklerosis yang berakibat pada penyumbatan pada pembuluh darah. Sebelum melakukan pemeriksaan kolesterol total, pasien harus melakukan puasa selama 12 jam.

Penetapan kadar kolesterol total serum dalam laboratorium klinik umumnya dilakukan dengan metode kolorimetrik yang diukur pada akhir reaksi. Metode awal pemeriksaan menggunakan asam kuat seperti sulfat dan asetat, terkadang ditambahkan dengan bahan kimia lain seperti asetat anhidrat atau feri klorida untuk menghasilkan warna. Reaksi kimia untuk menetapkan kadar kolesterol dengan asam kuat dinilai kurang spesifik, sehingga sekarang banyak beralih menggunakan metode enzimatik yang dinilai lebih spesifik. Reagen enzimatik kolesterol total menggunakan enzim kolesterol oksidase dan umumnya diukur pada panjang gelombang 500 nm.

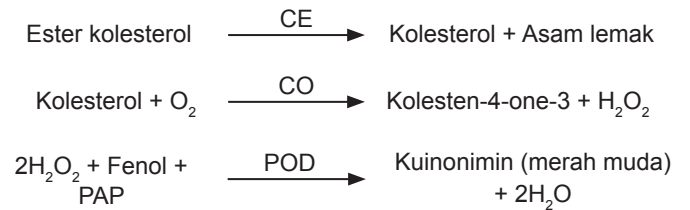
## Metode

CHOD-PAP

(*cholesterol oxidase-para aminophenazone*)

## Prinsip

Esterkolesterol dengan adanya enzim kolesterol esterase (*cholesterol esterase*, CE) akan membentuk asam lemak dan kolesterol bebas. Kolesterol bebas yang terbentuk kemudian dirubah menjadi koles-4-en-3-on dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) oleh enzim kolesterol oksidase (*cholesterol oxidase*, CO). Hidrogen peroksida yang terbentuk, bersama-sama fenol dan 4-aminofenazon oleh peroksidase (POD) diubah menjadi senyawa yang berwarna.



## Tujuan

1. Memeriksa kadar kolesterol.
2. Memantau kadar kolesetrol.

## Nilai Rujukan

Kolesterol Total	mg/dL	mmol/L
Nilai yang direkomendasikan	< 200	< 5.18
Risiko rendah	200 – 239	5.18 – 6.19
Risiko tinggi	≥ 240	≥ 6.22

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

MCI akut, aterosklerosis, hipotiroidisme, obstruksi bilier, sirosis bilier, kolangitis, hiperkolesterolemia familial, diabetes melitus yang tidak terkontrol, sindrom nefrotik, pankreatektomi, kehamilan (trimester III), hiperlipoproteinemia (tipe II, III dan V), periode stres berat, diat kolesterol tinggi (lemak hewani).

- **Obat**

Aspirin, kortikosteroid, steroid (agen anabolik dan androgen), kontrasepsi oral, epinefrin dan norefinefrin, bromida, fenotiazin (klorpromazin, trifluoperazin, vitamin A dan D, sulfonamid, fenitoin).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hipertiroidisme, sindrom Cushing (hormon adrenal yang berlebih), kelaparan, malabsorpsi, anemia, infeksi akut.

- **Obat**

Antilipid (zocor, mevacor, lipitor), tiroksin, antibiotik (kanamisin, neomisin, parmomisin, tetrasiklin), asam nikotinat, esterogen, glukagon, heparin, salisilat (aspirin), kolkisin, obat hipoglikemik per oral.

## Spesimen

Serum atau plasma (Heparin atau EDTA). Jangan gunakan oksalat, florida atau sitrat. Kumpulkan spesimen pasien dalam keadaan puasa. Pisahkan serum dari sel-sel tidak lebih dari 2 jam. Kolesterol stabil dalam spesimen selama:

- 5 – 7 hari pada suhu 2 – 8<sup>o</sup> C.
- 3 bulan pada suhu -20<sup>o</sup> C.
- Selama bertahun-tahun pada suhu -70<sup>o</sup> C.

Jangan menggunakan spesimen yang sudah di beku dan cairkan berulang-ulang.

## Alat dan Reagen

1. Sepktrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Kolesterol.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 7 atau 8 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah pada tabung tutup merah, ungu atau hijau.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen hingga suhu reagen dan spesimen sama dengan suhu ruangan.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 10 menit pada suhu kamar.  
 Baca absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (480 – 520) terhadap reagen blanko.  
 Reaksi warna stabil selama 1 jam.

5. Hitung hasil pemeriksaan kadar kolesterol sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi sampai 5 mg/dL.
- Hemoglobin : Terdapat interferensi pada hemoglobin di atas 33 mg/dL.
- Bilirubin : Tidak ada interferensi sampai 8,6 mg/dL. blanko serum mungkin meningkatkan gangguan ini.
- Lipemia : Gangguan rendah dibatasi oleh aktivitas CElipase.

### Linieritas

Reaksi linier sampai 500 mg/dL (12,0 mmol/L). Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan periksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen dengan reagen.

## TRIGLISERIDA

### Deskripsi

Trigliserida adalah pemeriksaan trigliserida dalam plasma darah. Karakteristik kadar trigliserida sama dengan kadar kolesterol yang dipengaruhi oleh puasa, oleh sebab itu pasien harus melakukan puasa selama 12 jam. Pemeriksaan trigliserida sering dibandingkan dengan kolesterol total untuk mendeteksi jenis kelainan genetik dan jenis gangguan metabolisme lipid.

Pemeriksaan kadar trigliserida dalam laboratorium klinik umumnya dilakukan secara enzimatik dan diukur pada akhir reaksi. Terdapat berbagai macam enzim yang digunakan, laboratorium di Indonesia umumnya menggunakan enzim gliserofosfat oksidase (*glycerol phosphate oxidase*, GPO) yang diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang sekitar 500 nm.

### Metode

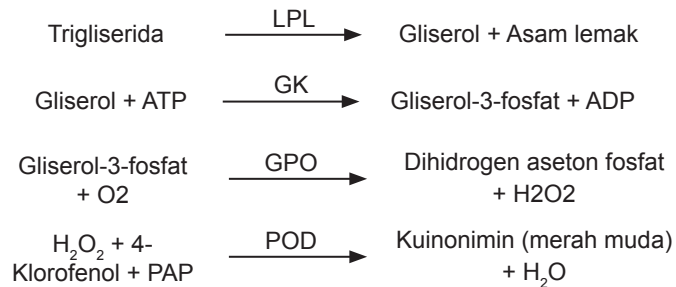
GPO-PAP

(*glycerol phosphate oxidase-para aminophenazone*)

### Prinsip

Trigliserida dengan adanya enzim lipoprotein lipase (LPL) diubah menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Gliserol yang terbentuk direaksikan dengan ATP dan bantuan enzim gliserokinase (GK) membentuk gliserol-3-fosfat dan ADP. Gliserol-3-fosfat dioksidasi dengan bantuan enzim gliserol fosfat ok-

sidase (GPO) menjadi dihidrogen aseton fosfat dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  yang terjadi akan mengoksidasi klorofenol dan 4-aminofenazon (PAP) dengan bantuan enzim peroksidase (POD) membentuk kuinonimin yang berwarna merah muda.



## Tujuan

1. Memeriksa kadar trigliserida.
2. Memantau kadar trigliserida.

## Nilai Rujukan

Usia (tahun)	mg/dL	mmol/L
Bayi	5 – 40	0,06 – 0,45
5 – 11	10 – 135	0,11 – 1,53
12 – 29	10 – 140	0,11 – 1,58
30 – 39	20 – 150	0,23 – 1,70
40 – 49	30 – 160	0,34 – 1,81
>50	40 – 190	0,45 – 2,15

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hiperlipoproteinemia, infark miokardial akut, hipertensi, trombotik serebral, hipotiroidisme, sindrom nefrotik, aterosklerosis, sirosis Laënnec atau alkoholik, diabetes melitus tidak terkontrol, pankreatitis, sindrom Down, stres, diet tinggi karbohidrat, kehamilan.

- **Obat**

Esterogen, kontrasepsi oral.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

B-lipoproteinemia kongenital, hipertiroidisme, hiperparatiroidisme, malnutrisi protein, latihan fisik.

- **Obat**

Asam askorbat, klofibrat (atromid-S), fenformin, metformin.

## Spesimen

Serum atau plasma (Heparin atau EDTA) puasa  $\geq 12$  jam. Serum atau plasma harus segera dipisahkan dari sel-sel dan tidak boleh melebihi 2 jam. Jangan gunakan oksalat, fluorida atau sitrat. Trigliserida stabil dalam spesimen selama:

- 5 – 7 hari pada suhu  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ .
- 3 bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Selama bertahun-tahun pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ .
- Jangan menggunakan spesimen yang sudah di beku dan cairkan berulang-ulang.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 10 µL).
3. Stopwatch.
4. Reagen Triglisierida.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 7 atau 8 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Standar		10 µL	
Spesimen			10 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37° C atau 10 menit pada suhu kamar.

Baca absorban pada panjang gelombang 500 nm (480 – 520) terhadap reagen blanko.

Reaksi warna stabil selama 1 jam.

5. Hitung hasil pemeriksaan kadar Triglisierida sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

## Limitasi

Asam askorbat : Tidak ada interferensi signifikan sampai 2,5 mg/dL.

Hemoglobin : Tidak ada interferensi signifikan sampai 1,93 mg/dL (300 µmol/L).

Bilirubin : Tidak ada interferensi signifikan sampai 8 mg/dL (137µmol/L).

Gliserol bebas : Kadar triglisierida meningkat sekitar 10 mg/dL yang dihasilkan oleh gliserol endogen.

## Linieritas

Reaksi linier sampai 700 mg/dL (7,9 mmol/L). Jika hasil melebihi 700 mg/dL, spesimen diencerkan menggunakan larutan salin dan periksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# KOLESTEROL-HDL

## Deskripsi

Kolesterol-HDL (*Kolesterol-high density lipoprotein*) adalah pemeriksaan kadar kolesterol (ester kolesterol dan kolesterol bebas) dalam partikel HDL yang terdapat pada plasma darah. HDL disebut juga sebagai kolesterol baik, karena mengangkut kolesterol dalam tubuh untuk dikeluarkan melalui hati. HDL memiliki ukuran kecil dibandingkan partikel lipoprotein lainnya.

Pemeriksaan kolesterol-HDL digunakan bersama-sama parameter pemeriksaan lipid lainnya seperti kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-LDL untuk menentukan risiko penyakit jantung koroner atau target terapi.

Pemeriksaan kadar kolesterol-HDL dilakukan dengan cara menghilangkan non-HDL dalam plasma darah, teknik yang umum dilakukan yaitu secara presipitasi menggunakan dekstran sulfat, heparin atau fosfortungstat. Partikel HDL yang sudah terisolasi dilanjutkan dengan pengukuran kolesterol, metode yang digunakan sama dengan metode pemeriksaan kolesterol total yaitu secara kolorimetrik enzimatis dan diukur pada panjang gelombang sekitar 500 nm.

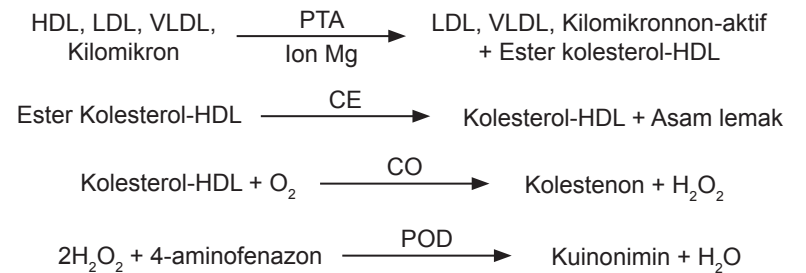
Pemeriksaan ini tidak memerlukan persiapan khusus pada pasien, tetapi sebaiknya pasien dianjurkan melakukan puasa hingga 12 jam untuk menghindari lipemia yang dapat mengganggu pemeriksaan.

## Metode

Presipitasi.

## Prinsip

*Low density lipoproteins* (LDL), *very low density lipoprotein* (VLDL) dan kilomikron dari spesimen diendapkan oleh asam fosfotungstik (PTA) dan magnesium klorida. Supernatan yang didapat dipisahkan dan direkasikan dengan reagen Kolesterol Total untuk mendapatkan hasil Kolesterol-HDL.



## Tujuan

1. Memeriksa kadar kolesterol-HDL.
2. Memantau kadar kolesterol-HDL.

## Nilai Rujukan

Kolesterol-HDL	mg/dL	mmol/L
Level rendah (Risiko Tinggi)	< 40	< 1,0
Level sedang (Perbatasan)	40 - 60	1,0 - 1,5
Level tinggi (Optimal)	≥ 60	≥ 1,6

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hiperlipoproteinemia, MCI akut, hipotiroidisme, diabetes melitus.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Sindrom metabolik, HDL familial, penyakit hepatoseluler (hepatitis atau sirosis), hipoproteinemia (sindrom nefrotik atau malnutrisi), jantung koroner, arteri koroner.

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA) yang dikumpulkan setelah puasa 12 sampai 14 jam. Serum dan plasma harus segera dipisahkan dari komponen selnya segera mungkin dan tidak melebihi 3 jam. Hindari penggunaan oxalat, fluoride, sitrat atau heparin.

HDL-Kolesterol stabil dalam spesimen selama:

- 1 – 3 hari pada suhu 2 – 8° C.
- 1 bulan pada suhu -20° C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL, 25 µL).

3. *Stopwatch*.

4. Sentrifuse.

5. Reagen kolesterol-HDL (presipitan).

6. Reagen Kolesterol.

7. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 7 atau 8 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

Pipet ke dalam Tabung Sentrifuse	Metode Makro	Metode Mikro
Spesimen (*)	1 mL	0,5 mL
Presipitat	100 µL	50 µL

Campurkan dengan kuat, Inkubasi selama 10 pada suhu kamar.  
Sentrifuse selama 15 menit pada kecepatan 3500-4000 rpm (1500 g).

5. Diamkan reagen dan supernatan pada suhu kamar.
6. Kalibrasi alat dengan standar yang terdapat pada kit reagen atau telah dilakukan kalibrasi sebelumnya.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	25 µL		
Standar 100 mg/dL		25 µL	
Spesimen (*)			25 µL

Homogenkan. Inkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C atau 10 menit pada suhu kamar.  
 Baca absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (480 – 520) terhadap reagen blanko.  
 Reaksi warna stabil selama 1 jam.

7. Hitung hasil pemeriksaan kadar HDL-Kolesterol sebagai berikut :

**Metode n°1 : dengan standar 100 mg/dL yang terlampir dalam kit**

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar} \times 1,1$$

Catatan: Standar yang tersisa tidak larut, faktor 1,1 merupakan perhitungan pengenceran spesimen selama tahap pengendapan.

**Metode n°2 : dengan kalibrator**

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

Catatan: Kalibrator diperlakukan sebagai sampel, jadi jangan mengalikan hasilnya dengan 1,1.

## Limitasi

Prosedur PTA/Mg<sup>2+</sup> kurang sensitif terhadap hiperlipemia dibandingkan prosedur CDC heparin/Mn<sup>2+</sup>. Prosedur ini sensitif terutama pada kondisi reaksinya. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh suhu, waktu pemisahan supernatan-presipitat.

## Linieritas

Reaksi linier sampai 200 mg/dL (5,17 mmol/L). Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.



# KOLESTEROL-LDL

## Deskripsi

Kolesterol-LDL (*Kolesterol-low density lipoprotein*) adalah pemeriksaan kadar kolesterol (ester kolesterol dan kolesterol bebas) dalam partikel LDL yang terdapat pada plasma darah. LDL disebut juga sebagai kolesterol jahat, karena mengangkut kolesterol untuk didistribusikan keseluruh tubuh dan menyebabkan pembentukan plak aterosklerosis.

Pemeriksaan kolesterol-LDL digunakan bersama-sama parameter pemeriksaan lipid lainnya guna menentukan risiko penyakit jantung koroner atau digunakan untuk memantau efektifitas pengobatan.

Pemeriksaan kadar kolesterol-LDL dilakukan dengan cara yang sama pada pemeriksaan kolesterol-HDL (presipitasi), yaitu menghilangkan partikel non-LDL dalam plasma darah, kemudian kolesterol-LDL diukur secara kolorimetrik enzimatik seperti tahapan pemeriksaan kolesterol total yang dibaca pada panjang gelombang sekitar 500 nm.

Metode alternatif yang masih banyak digunakan di laboratorium klinik Indonesia yaitu menggunakan perhitungan menurut Friedewald, penggunaan formula Friedewald mengharuskan pasien puasa 12 sampai 14 jam dan tidak boleh memiliki kadar trigliserida di atas 400 mg/dL. Penggunaan formula Friedewald didasarkan pada estimasi keberadaan LDL dengan menghitung melalui persamaan dan memanfaatkan hasil pemeriksaan kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-HDL.

## Metode

Friedewald.

## Prinsip

Kolesterol total terdiri dari kolesterol-VLDL, LDL dan HDL. Sehingga, kolesterol-LDL didapat dari Kolesterol total dikurangi kolesterol-VLDL dan kolesterol-HDL. Dimana nilai kolesterol-VLDL diperkirakan menggunakan faktor TG/5 yang telah ditetapkan oleh Friedewald dkk.

$$\text{Kolesterol LDL} = (\text{Kolesterol Total}) - (\text{Kolesterol HDL}) - \left( \frac{\text{Trigliserida}}{5} \right)$$

## Tujuan

1. Memeriksa kadar kolesterol-LDL.
2. Memantau kadar kolesterol-LDL.

## Nilai Rujukan

Kolesterol-LDL	mg/dL	mmol/L
Optimal	< 100	< 2,59
Mendekati optimal	100 – 129	2,59 – 3,34
Batas tinggi	130 – 159	3,36 – 4,12
Tinggi	160 – 189	4,14 – 4,90
Sangat Tinggi	≥ 190	≥ 4,92

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Lipoproteinemia, sindrom nefrotik, kelainan penyimpanan glikogen (seperti penyakit von Gierke's), hipotiroidisme, konsumsi alkohol, Penyakit hati kronis (Hepatitis atau sirosis), hepatoma, gammopati (*myeloma multipel*), hiperkolesterolemia familial type IIa (Sindrom Cushing's, defisiensi Apoprotein CII).

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hipolipoproteinemia familial, malabsorpsi, luka bakar parah, malnutrisi, hipertiroidisme.

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma (Heparin atau EDTA). Spesimen yang digunakan adalah spesimen untuk pemeriksaan kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-HDL. Jangan gunakan oksalat, florida atau sitrat. Kumpulkan spesimen pasien dalam keadaan puasa. Pisahkan serum dari sel-sel tidak lebih dari 2 jam. Spesimen stabil dalam selama:

- 5 – 7 hari pada suhu 2 – 8° C.
- 3 bulan pada suhu -20° C.
- Selama bertahun-tahun pada suhu -70° C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL, 25 µL, 10 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen kolesterol-HDL (presipitan).
6. Reagen Kolesterol.
7. Reagen Trigliserida.
8. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 7 atau 8 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.
5. Lakukan prosedur pemeriksaan kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-HDL.
6. Hasil pemeriksaan kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-HDL digunakan untuk menetapkan kolesterol-LDL dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kolesterol LDL} = (\text{Kolesterol Total}) - (\text{Kolesterol HDL}) - \left( \frac{\text{Trigliserida}}{5} \right)$$

## Limitasi

Limitasi pemeriksaan kolesterol-LDL dipengaruhi oleh kadar trigliserida yang tidak boleh melebihi 400 mg/dL, variasi *whitin run* harus kurang dari 1,5% dan variasi *between run* kurang dari 3%. Selbihnya limitasi kolesterol-LDL merupakan limitasi dari pemeriksaan kolesterol total, trigliserida dan kolesterol-HDL.

## Linieritas

Pemeriksaan kolesterol-LDL linier sampai kadar trigliserida tidak melebihi 400 mg/dL. Jika hasil pemeriksaan dengan trigliserida melebihi 400 mg/dL, maka lakukan pemeriksaan langsung kolesterol-LDL (direk) dapat menggunakan metode presipitasi atau homogeneous.

## PROTEIN TOTAL

### Deskripsi

Protein total adalah pemeriksaan untuk menentukan kadar albumin dan globulin dalam darah (serum). Oleh sebab itu spesimen pemeriksaan yang harus digunakan adalah serum, agar fibrinogen tidak terukur dalam pemeriksaan protein total. Pemeriksaan protein total dinilai kurang menggambarkan kondisi pasien yang sesungguhnya, kecuali jika ditambahkan pemeriksaan albumin serum, rasio albumin dengan globulin atau protein elektroforesis.

Kadar protein dalam serum di analisis guna menentukan signifikansi komponennya. Beberapa penyakit seperti penyakit kolagen, kanker atau infeksi, kadar protein total tetap normal tetapi fraksi albumin dan globulin dapat berubah.

Spesimen pemeriksaan protein total adalah serum yang didapat dari darah vena pada tabung bertutup merah. Tidak ada pembatasan makanan dan minuman bagi pasien, tetapi pasien yang melakukan puasa di sarankan untuk menghindari lipemia karena kondisi lipemia dapat mengganggu pemeriksaan. Protein total dapat ditetapkan dengan berbagai macam teknik, meliputi biuret, fotometrik, *dye-binding*, *Folin-Ciocalteu (Lowry)*, *Kjeldahl*, refraktometri, turbidimetri dan nefelometrik.

### Metode

Metode Biuret.

## Prinsip

Ikatan peptida protein bereaksi dengan  $\text{Cu}^{2+}$  dalam larutan basa akan membentuk larutan kompleks berwarna yang dapat diserap panjang gelombangnya. Warna tersebut sebanding dengan konsentrasi protein total dalam spesimen, diukur pada panjang gelombang 550 nm. Pereaksi biuret mengandung natrium kalium tartrat menjadi ion cupri yang kompleks dan menjaga kelarutannya dalam larutan alkali.



## Tujuan

1. Memeriksa kadar protein total.
2. Memantau kadar protein total.
3. Membedakan antara kadar albumin dan globulin.
4. Mengidentifikasi masalah kesehatan yang berhubungan dengan defisit protein.

## Nilai Rujukan

Total Protein	(g/dL)
Tali pusar	4.8 – 8.0
Prematur	3.6 – 6.0
Bayi baru lahir	4.6 – 7.0
1 minggu	4.4 – 7.6
7 hari – 1 tahun	5.1 – 7.3
1 tahun – 2 tahun	5.6 – 7.5
≥ 3 tahun	6.0 – 8.0
Dewasa, rawat jalan	6.4 – 8.3
Dewasa, telentang	6.0 – 7.8
≥ 60 tahun	Lebih rendah 0.2

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Dehidrasi (hemokonsentrasi), muntah, diare, mieloma multipel, sindrom gawat pernafasan, sarkoidosis.
- **Obat**  
-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Malnutrisi berkepanjangan, kelaparan, diet rendah protein, sindrom malabsorpsi, kanker saluran gastrointestinal, kolitis ulseratif, penyakit Hodgkin, penyakit hati berat, gagal ginjal kronik, luka bakar parah, intoksikasi air.
- **Obat**  
-

## Spesimen (Pengumpulan dan Penanganan)

Serum atau plasma (EDTA dan heparin). Protein total dapat stabil dalam spesimen serum atau plasma selama:

- 6 bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Tanpa batas waktu pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ .

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$ ).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.

5. Reagen Protein Total.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

### Prosedur n<sup>o</sup>1 (tanpa blanko spesimen)

	Reagen Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen R1	1 mL	1 mL	1 mL
Standar		20 µL	
Sepesimen			20 µL
Air bebas mineral	20 µL		

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu kamar.

Baca absorban pada panjang gelombang 550 nm (530 – 570) terhadap reagen blanko.

### Prosedur n<sup>o</sup>2 (dengan blanko spesimen)

	Blanko Reagen	Blanko Spesimen	Standar	Pemeriksaan
Larutan salin		1 mL		
Reagen R1	1 mL		1 mL	1 mL
Standar			20 µL	
Sepesimen		20 µL		20 µL
Air bebas mineral	20 µL			

Homogenkan. Inkubasi selama 10 menit pada suhu kamar.

Baca absorban pada panjang gelombang 550 nm (530 – 570) terhadap reagen blanko. Baca blanko spesimen terhadap larutan salin.

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar Total protein, sebagai berikut:

Tanpa blanko spesimen:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

Dengan blanko spesimen :

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)} - \text{Abs (Blanko spesimen)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

## Limitasi

Lipemik : Tidak ada interferensi signifikan sampai 7 mmol/L.

Hemoglobin : Tidak ada interferensi signifikan sampai 184 µmol/L.

Bilirubin : Tidak ada interferensi signifikan sampai 858 µmol/L menggunakan blanko sampel.

Lipemia atau hemolisis dapat menyebabkan hasil tinggi palsu. Disarankan untuk melakukan blanko spesimen untuk mengurangi gangguan tersebut.

## Linieritas

Reaksi linier sampai paling sedikit 10 mg/dL. Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# ALBUMIN SERUM

## Deskripsi

Pemeriksaan albumin serum adalah pemeriksaan untuk menentukan kadar albumin dalam darah (serum). Albumin merupakan komponen paling banyak yang menyusun 55% sampai 65% dari total protein. Albumin disintesis oleh hati dan berfungsi mempertahankan tekanan osmotik di dalam darah.

Pemeriksaan albumin tidak memerlukan persiapan awal bagi pasien, oleh sebab itu tidak ada pembatasan makanan dan minuman. Metode pemeriksaan yang direkomendasikan WHO/IFCC adalah *bromcresol green dye*.

Albumin digunakan pada penentuan rasio albumin/globulin (A/G) guna mengetahui adanya disfungsi fraksi dua protein albumin dan globulin. Penentuan rasio A/G didapat dengan cara albumin dibagi dengan globulin dengan nilai rujukan lebih dari 1,0. Peningkatan nilai rasio tidak memiliki nilai klinis, tetapi penurunan nilai rasio sebagai penanda penyakit hati dan ginjal. Pemeriksaan yang lebih akurat rasio A/G dapat digantikan dengan perhitungan elektroforesis.

## Metode

Metode BCG (*bromcresol green*).

## Prinsip

Dalam larutan buffer pada pH 4.2, *bromcresol green* mengikat albumin untuk membentuk senyawa berwarna yang dapat

diserap, yang diukur pada panjang gelombang 630 nm (620 - 640) sebanding dengan konsentrasi albumin dalam specimen.

Albumin + BCG  $\longrightarrow$  Kompleks Albumin-BCG (biru hijau)

## Tujuan

Mendeteksi kekurangan albumin.

## Nilai Rujukan

Albumin	g/dL	$\mu\text{mol/L}$
0 – 4 hari	2,8 – 4,4	421 – 662
4 hari – 14 tahun	3,8 – 5,4	572 – 813
14 – 18 tahun	3,2 – 4,5	482 – 677
18 – 60 tahun	3,4 – 4,8	512 – 722
60 – 90 tahun	3,2 – 4,6	482 – 692
>90 tahun	2,9 – 4,5	436 – 677

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Dehidrasi, muntah yang parah, diare berat.
- **Obat**  
Heparin.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**  
Sirosis hati, gagal hati akut, luka bakar yang parah, malnutrisi berat, preeklampsia, gangguan ginjal, malignansi tertentu, kolitis ulseratif, imobilisasi lama, eneropati kehilangan-protein, malabsorpsi.

- **Obat**

Penisilin, sulfonamid, aspirin, asam askorbat.

## Spesimen

Serum atau plasma heparin (lihat limitasi). Albumin serum dapat stabil dalam serum selama:

- 72 jam pada suhu 2-8° C.
- 6 bulan pada suhu -20° C.

## Alat dan Reagen

1. Sepktrofotometer.
2. Pipet ukur.
3. Mikropipet (1000 µL, 10 µL, 5 µL).
4. *Stopwatch*.
5. Sentrifuse.
6. Reagen Albumin.
7. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

### Prosedur n<sup>o</sup>1 : Volume spesimen 10 µL

	Reagen Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	2 mL	2 mL	2 mL
Air bebas mineral	10 µL		
Sepesimen			10 µL
Standar		10 µL	

Homogenkan. Baca absorban pada panjang gelombang 630 nm (620 – 640) dalam waktu 3 menit terhadap blangko reagen atau lebih baik tepat 1 menit (catatan 2).

### Prosedur n<sup>o</sup>2: Volume spesimen 5 µL

	Reagen Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Air bebas mineral	5 µL		
Sepesimen			5 µL
Standar		5 µL	

Homogenkan. Baca absorban pada panjang gelombang 630 nm (620 – 640) dalam waktu 3 menit terhadap blangko reagen atau lebih baik tepat 1 menit (catatan 2).

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar albumin, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

## Limitasi

Plasma heparin memberikan nilai lebih tinggi dari serum. Gangguan ini dapat dihindari dengan melakukan pengerjaan prosedur bikromatik (dengan dua panjang gelombang yaitu 550 nm atau 700 nm). Dengan prosedur ini *Clofibrate* dan *Phenylbutazone* dapat menurunkan nilai albumin. Dengan ra-

sio pengenceran, serum hemolisis atau kekeruhan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap hasil pemeriksaan.

### Linieritas

Prosedur n<sup>o</sup>1 : sampai dengan 6.0 g/dL (903 µmol/L).

Prosedur n<sup>o</sup>2 : sampai dengan 10.0 g/dL (1505 µmol/L).

Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan periksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

## GLOBULIN SERUM

### Deskripsi

Pemeriksaan globulin serum adalah pemeriksaan untuk menentukan kadar globulin dalam darah. Globulin merupakan komponen paling banyak setelah albumin dan terdiri dari beberapa fraksi, yaitu α1-globulin, α2-globulin, β-globulin dan γ-globulin.

Penetapan kadar globulin dilakukan dengan metode kolorimetrik menggunakan *glyoxylic acid*, dalam suasana asam (asam asetat dan asam sulfat) dan dengan adanya Cu<sup>2+</sup> akan membentuk warna ungu. Tetapi, metode yang sering dilakukan dengan cara perhitungan yang didapat dari selisih nilai protein total dengan albumin dengan syarat memiliki satuan yang sama. Rumus penetapan kadar globulin dapat dilihat di bawah ini.

$$\text{Globulin} = \text{Protein Total} - \text{Albumin Serum}$$

### Metode

Perhitungan.

### Prinsip

Protein dalam serum terdiri dari albumin dan globulin. Sehingga, kadar globulin serum dapat ditentukan dengan protein total dikurangi albumin.



## Tujuan

1. Menentukan kadar globulin dalam darah.
2. Mendeteksi peningkatan globulin.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 2,0 – 3,5 g/dL atau 20 – 35 g/dL.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hiperkolesterolemia, penyakit liver (hati), alergi, autoimun (lupus, rheumatoid arthritis), *multiple myeloma*, stres, radang akut, inflamasi akut, penyakit Hodgkin, limfoma ganas, sindrom nefrotik, anemia defisiensi besi, infeksi kronis, penyakit jaringan ikat, keganasan, hiperimunisasi, makroglobulinemia Waldenström's, amyloidosis primer, limfoma atau gammopati monoklonal, *parasitism (ecto-parasites, heartworms)*.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Penyakit Wilson's, hipertiroidisme, malnutrisi, disfungsi hati berat, defisiensi antitripsin  $\alpha_1$  kongenital, reaksi hemolitik, leukopenia limfositik kronis, pengobatan kortikosteroid, neonatus (kegagalan transfer kolostrum pasif), penurunan produksi (*Severe combined immunodeficiency disease*, SCID), agammaglobulinemia, hipogammaglobu-

linemia transien), *juvenile pulmonary emphysema*, gangguan kekebalan genetik, defisiensi imun sekunder.

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Serum dapat stabil selama:

- 72 jam pada suhu 2-8° C.
- 6 bulan pada suhu -20° C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, 5  $\mu$ L).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen Albumin.
6. Reagen Globulin.
7. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.
4. Lakukan prosedur pemeriksaan protein total dan albumin.

5. Hasil pemeriksaan protein total dan albumin digunakan untuk menetapkan globulin dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Globulin} = \text{Protein Total} - \text{Albumin Serum}$$

### Limitasi

Limitasi pemeriksaan globulin serum adalah limitasi pemeriksaan albumin serum dan protein total.

### Linieritas

Linieritas pemeriksaan globulin serum adalah linieritas pemeriksaan albumin serum dan protein total.

## ASAM URAT

### Deskripsi

Asam urat atau *uric acid* adalah produk katabolisme asam nukleat purin. Asam urat diukur untuk menilai kelainan metabolisme purin, untuk memastikan diagnosis dan pemantauan pengobatan, serta mendeteksi adanya kelainan pada fungsi ginjal.

Asam urat mudah teroksidasi menjadi allantoin, oleh karena itu dapat digunakan sebagai agen pereduksi dalam reaksi kimia. Prosedur ini dimanfaatkan dalam pemeriksaan penentuan kadar asam urat. Metode yang paling umum dari jenis ini adalah metode Caraway, yang didasarkan pada oksidasi asam urat dalam filtrat bebas protein, tetapi metode ini tidak memiliki spesifisitas yang baik. Metode yang spesifik digunakan dan banyak digunakan di laboratorium klinik yaitu menggunakan metode urikase, enzim yang mengkatalisis oksidasi asam urat menjadi allantoin yang dapat diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 520 sampai dengan 560 nm.

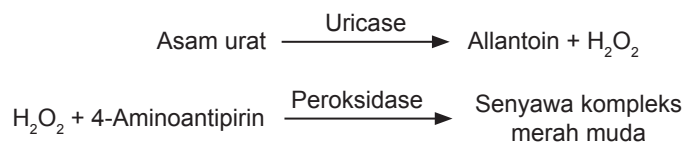
### Metode

Enzimatik urikase.

### Prinsip

Asam urat dioksidasi oleh urikase menjadi allantoin dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dengan adanya peroksidase bereaksi dengan kromogen (aminoantipirin dan dichloro-hydroxybenzen sulfonate) untuk menghasilkan kuinonimin, kompleks berwarna merah. Absorbansi yang diukur

pada 520 nm (490 – 530 nm) sebanding dengan jumlah asam urat spesimen.



## Tujuan

1. Membantu dalam mendiagnosis masalah kesehatan.
2. Memantau asam urat serum selama pengobatan gout.

## Nilai Rujukan

Jenis kelamin	mg/dL	μmol/L
Anak – anak	2.0 – 5.5	119 – 327
Laki – laki	3.5 – 7.2	208 – 428
Perempuan	2.6 – 6.0	155 - 357

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

Gout, alkoholisme, leukemia (limfositik, mielositik, monositik), kanker metastatik, mieloma multipel, eklampsia berat, hiperlipoproteinemia, diabetes melitus berat, gagal jantung kongestif, glomerulonefritis, gagal ginjal, stres, keracunan timbal, pajanan sinar X (berlebih), latihan fisik berlebih, diet penurunan berat badan tinggi protein, anemia hemolitik, limfoma.

### • Obat

Asam askorbat, diuretik metildopa (aldomet), 6-merkaptopurin, fenotiazin, salisilat (penggunaan dalam jangka waktu lama), teofilin.

## Penurunan Kadar

### • Masalah Klinis

Penyakit Wilson, asidosis tubulus ginjal proksimal, anemia defisiensi asam folat, luka bakar, kehamilan.

### • Obat

Alopurinol, azatioprin (imuran), komadin, probenesid (benemid), sulfinpirazon (anturane).

## Spesimen

Serum yang tidak hemolisis atau plasma (Heparin atau EDTA). Asam urat dapat stabil dalam spesimen selama:

- 3 hari pada suhu kamar.
- 1 minggu pada suhu 2-8°C.
- 1 bulan di bekukan pada suhu -20°C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 μL, 25 μL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen Asam urat.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Berikan arahan pada pasien untuk melakukan puasa 10 sampai 12 jam. Sebaiknya di mulai dari jam 9 atau 10 malam. Selama puasa pasien diperbolehkan meminum air putih dan tidak boleh melakukan aktivitas berat selama puasa.
2. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
3. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
4. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Standar	Pemeriksaan
Reagen kerja	1 mL	1 mL	1 mL
Sepesimen			25 µL
Standar		25 µL	
Air bebas mineral	25 µL		

Homogenkan. Inkubasi selama 5 menit pada suhu 25°C.  
Baca absorbansi pada panjang gelombang 520 nm (490 – 530) terhadap reagen blanko.  
Reaksi warna stabil selama 30 menit.

5. Hitung hasil pemeriksaan kadar asam urat, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan)}}{\text{Abs (Standar)}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

## Limitasi

Kadar bilirubin atau asam askorbat yang tinggi dapat menyebabkan interferensi/gangguan. Spesimen lipemik atau hemolisis dapat menyebabkan nilai asam urat meningkat palsu.

Pasien dengan terapi vitamin C, untuk mengurangi gangguan asam askorbat, diamkan spesimen selama 2 jam pada suhu kamar sebelum melakukan uji.

## Linieritas

Pengujian ini linier sampai 20 mg/dL (1190 µmol/L). Jika kadar melebihi 20 mg/dL, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# UREUM

## Deskripsi

Ureum merupakan senyawa non protein nitrogen (NPN) dalam konsentrasi tinggi (45%) dalam darah. Urea dihasilkan sebagai produk akhir metabolisme protein dan di eksresikan melalui ginjal. Pemeriksaan urea dalam serum disebut juga pemeriksaan kadar urea dalam darah (*blood urea nitrogen*, BUN), pemeriksaan BUN menjadi indikasi terjadinya dehidrasi, gagal prerenal atau gagal ginjal.

Pemeriksaan BUN dilakukan secara kolorimetrik enzimatik menggunakan enzim urease yang akan menghidrolisis urea dalam sampel menjadi ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Reaksi berlanjut karena adanya enzim glutamat dehidrogenase (GLDH), sehingga NADH dengan adanya  $\text{NH}_4^+$  akan menjadi  $\text{NAD}^+$ . Pengukuran didasarkan pengurangan NADH pada panjang gelombang 340 nm. Metode enzimatik didasarkan pada reaksi Talke dan Schubert, disederhanakan oleh Tiffany dkk.

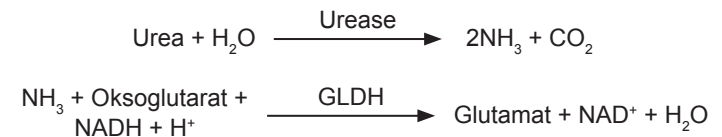
Metode lain yang dapat digunakan dalam menentukan kadar BUN yaitu dengan cara Berthelot, dimana dengan adanya ion amonium dengan hipoklorit dan salisilat menghasilkan warna hijau yang diukur pada panjang gelombang 578 nm.

## Metode

Enzimatik urease.

## Prinsip

Urea dihidrolisis dengan adanya  $\text{H}_2\text{O}$  dan urease membentuk amonium dan karbondioksida. Ion amonium yang terbentuk dengan adanya oksoglutarat, NADH dan hidrogen akan dikatalisis membentuk glutamat,  $\text{NAD}^+$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Konsentrasi urea sebanding dengan perubahan absorbansi pada 340 nm.



## Tujuan

1. Memeriksa kadar ureum.
2. Memantau adanya kelainan ginjal.

## Nilai Rujukan

Serum atau Plasma	mg/dL	$\mu\text{mol/L}$
Tali pusar	45 – 86	7.5 – 14.3
Prematur	6 – 54	1.1 – 8.9
<1 tahun	9 – 41	1.4 – 6.8
Anak – anak	11 – 39	1.8 – 6.4
18 – 60 tahun	13 – 43	2.1 – 7.1
60 – 90 tahun	17 – 49	2.9 – 8.2
>90 tahun	21 – 66	3.6 – 11.1

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Gagal ginjal, azostemia, syok, kehilangan darah, dehidrasi, perdarahan gastrointestinal, leukemia (limfositik), cedera fisik berat, luka bakar, demam, hipertensi maligna, obstruksi saluran kemih.

- **Obat**

Logam atau obat nefrotoksik, diuretik (hidroklorotiazid, asam etakrinat, furosemid, triamteren), antibiotik (basitrasin, sefalosporin, gentamisin, kanamisin, kloramfenikol, metisilin, neomisin, vankomisin), obat antihipertensi (metildopa, guanetidin), sulfonamid, proanolol, morfin, litium karbonat, salisilat.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Penyakit hati berat, akhir kehamilan, malnutrisi protein jangka panjang, penggantian kehilangan darah jangka panjang.

- **Obat**

Fenotiazin.

## Spesimen

Serum atau plasma heparin. Hindari fluorida atau amonium sebagai antikoagulan yang mengganggu pengujian. Urea dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada 20-25<sup>o</sup> C.
- 72 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- 2 – 3 bulan pada -20<sup>o</sup> C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 5 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen urea.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

### Prosedur n<sup>o</sup>1:

	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL
Standar	5 µL	
Spesimen (Catatan 1)		5 µL

Homogenkan. Jalankan *stopwatch*.

Setelah 30 detik, baca absorbansi A1 pada panjang gelombang 340 nm terhadap air destilasi.

Catat absorbansi A2 setelah 90 detik.

### Prosedur n<sup>o</sup>2:

	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL
Standar	10 µL	
Spesimen (Catatan 1)		10 µL

Homogenkan. Jalankan *stopwatch*.  
Setelah 30 detik, baca absorban A1 pada panjang gelombang 340 nm terhadap air destilasi.  
Catat absorban A2 setelah 90 detik.

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar ureum, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (A2 - A1) Pemeriksaan}}{\text{Abs (A2 - A1) Standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

Bilirubin : Tidak interferensi sampai kadar bilirubin 30 mg/dL.

### Linieritas

**Prosedur n<sup>o</sup>1:** Pengujian ini linier sampai 600 mg/dL (100 µmol/L).

**Prosedur n<sup>o</sup>2:** Pengujian ini linier sampai 300 mg/dL (50 µmol/L).

Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan saline dan periksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

## KLIRENS UREUM

### Deskripsi

Pemeriksaan klirens ureum atau dalam bahasa Inggris disebut *ureum clearance* adalah pemeriksaan untuk mengukur sejumlah mililiter plasma yang dibersihkan dari ureum oleh ginjal dalam satuan menit. Pemeriksaan klirens ureum mengukur laju filtrasi glomerulus (*glomerular filtration rate*, GFR) sehingga digunakan sebagai indikator kemampuan filtrasi glomerulus ginjal.

Pemeriksaan ini memerlukan pengukuran ureum dalam urine yang telah ditampung 12 sampai 24 jam dan pengumpulan spesimen darah. Ureum dalam urine di ukur menggunakan metode yang sama pada ureum dalam darah.

### Metode

Perhitungan.

### Prinsip

Pemeriksaan dilakukan dengan mengukur kadar ureum darah dan urin menggunakan metode enzimatik urease. Urin ditampung secara akurat selama 24 jam. Spesimen darah diambil di pertengahan waktu pengumpulan urine. Tinggi badan dan berat badan pasien diukur untuk mengetahui luas permukaan tubuh. Nilai klirens ureum dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Klirens Ureum} = \frac{U}{P} \times V \times \frac{1,73}{A}$$

U : Kadar ureum urine

P : Kadar ureum plasma

V : Volume diuresis per menit

A : Luas permukaan tubuh (lihat pada normogram)

Terdapat persamaan lain yang digunakan untuk menetapkan nilai klirens ureum. Bila diuresis lebih dari 2 mL per menit, maka persamaan yang dapat digunakan adalah :

$$\text{Klirens Ureum} = \frac{U \times V}{P}$$

U : Kadar ureum urine

P : Kadar ureum plasma

V : Volume diuresis per menit

Bila diuresis kurang dari 2 mL per menit, maka persamaan yang dapat digunakan adalah

$$\text{Klirens Ureum} = \frac{U \times \sqrt{V}}{P}$$

## Tujuan

1. Mendeteksi disfungsi ginjal.
2. Memantau fungsi ginjal.

## Nilai Rujukan

Dewasa : 64 – 99 mL/ menit.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hipotiroidisme, hipertensi (renovaskuler), olahraga.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Kerusakan ginjal, hipertiroidisme, distrofi otot progresif, sklerosis lateral amiotrofik.

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma heparin dan urine. Urea dalam darah dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada 20-25° C.
- 72 jam pada suhu 2-8° C.
- 2 – 3 bulan pada -20° C.

Urea dalam urin dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada suhu kamar dengan penambahan pengawet Thymol.
- 4 hari pada suhu 2-8° C.



## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 5 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen urea.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan urine selama 24 jam, hitung volume diuresis per menit (mL/menit).
2. Homogenkan urin 24 jam dan larutkan 1 bagian urin ke dalam 19 air demineralisasi.
4. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
5. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
6. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

### Prosedur n<sup>o</sup>1:

	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL
Standar	5 µL	
Spesimen (Catatan 1)		5 µL

Homogenkan. Jalankan *stopwatch*.

Setelah 30 detik, baca absorbansi A1 pada panjang gelombang 340 nm terhadap air destilasi.

Catat absorbansi A2 setelah 90 detik.

### Prosedur n<sup>o</sup>2:

	Standar	Pemeriksaan
Reagen	1 mL	1 mL
Standar	10 µL	
Spesimen (Catatan 1)		10 µL

Homogenkan. Jalankan *stopwatch*.

Setelah 30 detik, baca absorbansi A1 pada panjang gelombang 340 nm terhadap air destilasi.

Catat absorbansi A2 setelah 90 detik.

7. Hitung hasil pemeriksaan kadar ureum, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (A2 - A1) Pemeriksaan}}{\text{Abs (A2 - A1) Standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

8. Tentukan nilai GFR dengan persamaan:

$$\text{Klirens Ureum (mL/menit)} = \frac{U}{P} \times V \times \frac{1,73}{A}$$

## Limitasi

1. Limit pemeriksaan ureum sama dengan pemeriksaan ureum dalam darah, yaitu bilirubin tidak menginterferensi sampai kadar bilirubin 30 mg/dL.
2. Waktu pengumpulan urine harus 2 jam setelah minum air.

## Linieritas

Linieritas pemeriksaan klirens ureum dipengaruhi oleh linieritas pemeriksaan ureum dalam spesimen, yaitu:

**Prosedur n<sup>o</sup>1:** Pengujian ini linier sampai 600 mg/dL (100 µmol/L).

**Prosedur n<sup>o</sup>2:** Pengujian ini linier sampai 300 mg/dL (50 µmol/L).

Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan saline dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

## KREATININ

### Deskripsi

Kreatinin merupakan produk sampingan katabolisme otot dari kreatin fosfat. Jumlah kreatin yang diproduksi sebanding dengan masa otot. Oleh karena itu kadar kreatinin dipengaruhi oleh jenis kelamin dan umur.

Pengukuran konsentrasi kreatinin dalam darah (serum) digunakan untuk mengukur fungsi ginjal, tingkat kerusakan ginjal dan memantau penyakit ginjal. Pada orang sehat, produksi kreatinin dalam darah dan ekskresinya melalui ginjal berlangsung secara paralel dan relatif konstan. Perubahan fungsi ginjal akan menghambat ekspresi kreatinin sehingga kadarnya meningkat pada kerusakan ginjal. Kreatinin serum dianggap lebih sensitif dan merupakan indikator khusus pada penyakit ginjal dibandingkan dengan kadar nitrogen urea darah (*blood urea nitrogen, BUN*).

Kadar BUN dan kreatinin sering diperbandingkan. Jika kadar BUN meningkat dan kreatinin serum tetap normal, kemungkinan terjadi dehidrasi (hipovolemia), dan jika keduanya meningkat maka dicurigai terjadi gangguan ginjal.

Pengukuran kadar kreatinin yang paling sering digunakan untuk mengukur kreatinin didasarkan pada reaksi Jaffe pada tahun 1886. Reaksi ini melibatkan asam pikrat, sehingga keberadaan kreatinin dalam serum akan membentuk kompleks warna jingga kemerahan yang diukur pada panjang gelombang 599-560 nm. Metode reaksi Jaffe dikembangkan untuk mengurangi interferensi pemeriksaan seperti asetoasetat, aseton, askorbat, glukosa dan piruvat yang dapat mengganggu

gu. Salah satu metode yang dikembangkan yaitu secara kinetik (Jaffe kinetik) yang melibatkan beberapa enzim dalam reaksi.

## Metode

Reaksi Jaffe.

## Prinsip

Kreatinin bereaksi dengan larutan pikrat alkalis membentuk kompleks warna jingga kemerahan yang diukur pada panjang gelombang 490 nm (490 – 510 nm), tanpa perlu persiapan awal pengerjaan. Reaksi ini telah diperbaiki (spesifisitas, kecepatan dan kemampuan beradaptasi) dan dikembangkan dari metode awal.



## Tujuan

Mendiagnosis disfungsi ginjal.

## Nilai Rujukan

Serum atau Plasma	mg/dL	$\mu\text{mol/L}$
Anak	0,3 – 0,7	
Dewasa		
• Laki-laki	0,9 – 1,3	80 – 115
• Perempuan	0,6 – 1,1	53 – 97

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

Gagal ginjal akut dan kronis, syok berkepanjangan, SLE, kanker (usus, kandung kemih, testis, uterus, prostat), leukemia, penyakit Hodgkin, hipertensi esensial, MCI akut, nefropati diabetik, CHF (jika berdiri lama), diet tinggi kreatinin (daging sapi, unggas dan ikan).

### • Obat

Amfoterisin B, sefalosporin, (sefazolin, sefalotin), gentamisin, kanamisin, metisilin, asam askorbat, barbiturat, litium karbonat, mitramisin, metildopa (aldomet), glukosa, protein, badan keton, triamteren (dyrenium).

## Penurunan Kadar

### • Masalah Klinis

Kehamilan, eklampsia.

### • Obat

-

## Spesimen (Pengumpulan dan Penanganan)

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Kreatinin dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- 3 bulan pada suhu -20<sup>o</sup> C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000  $\mu\text{L}$ , 500  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ ).

3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen kreatinin.
6. Air bebas mineral.

### Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.
4. Lakukan semua tes pada suhu konstan yaitu suhu 37°C.

#### Prosedur n<sup>o</sup>1: untuk spesimen tidak ikterik menggunakan “*working reagent*”

	Blanko (pilihan)	Standar	Pemeriksaan
Reagen kerja (R1+R2)	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	100 µL		
Standar		100 µL	
Spesimen (catatan 1)			100 µL

Homogenkan. Setelah 30 detik, baca absorban A1 pada panjang gelombang 490 nm (490 – 510) terhadap reagen blanko atau air destilasi.  
Tepat 2 menit setelah absorban pertama di baca. Catat absorban A2.

#### Prosedur n<sup>o</sup>2: untuk spesimen ikterik menggunakan “*bi-reagent*”

	Blanko (pilihan)	Standar	Pemeriksaan
Reagen R1	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Air bebas mineral	100 µL		
Standar		100µL	
Spesimen (catatan 1)			100 µL

Inkubasi nselama 5 menit pada suhu konstan, kemudian tambahkan :

Reagen R2	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
-----------	--------	--------	--------

Homogenkan. Setelah 30 detik, baca absorban A1 pada panjang gelombang 490 nm (490 – 510) terhadap reagen blanko atau air destilasi.  
Tepat 2 menit setelah absorban pertama di baca. Catat absorban A2.

5. Hitung hasil pemeriksaan kadar kreatinin, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (A2 - A1) Pemeriksaan}}{\text{Abs (A2 - A1) Standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

### Limitasi

#### Prosedur n<sup>o</sup>1:

- Glukosa : Tidak ada interferensi sampai 1200 mg/dL.  
 Protein : Terdapat interferensi pada protein di atas 4000 mg/dL.  
 Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga 25 mg/dL.  
 Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga 20 µmol/L.  
 Hemoglobin : Tidak ada interferensi hingga 250 mg/dL.  
 Lipemia : Tidak ada interferensi hingga abs 0,320 (pada λ 600 nm).

## KLIRENS KREATININ

**Prosedur n°2:** Tidak ada interferensi dari Bilirubin. Beberapa antibiotik mengganggu penentuan kreatinin menurut metode Jaffe.

### Linieritas

Pengujian ini linier sampai 15 mg/dL (1327  $\mu$ mol/L). Jika lebih dari itu, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

### Deskripsi

Klirens kreatinin atau dalam bahasa Inggris disebut *creatinine clearance* adalah pemeriksaan untuk mengukur sejumlah mililiter plasma yang dibersihkan dari kreatinin oleh ginjal dalam satuan menit. Pemeriksaan klirens kreatinin mengukur laju filtrasi glomerulus (*glomerular filtration rate*, GFR) sehingga digunakan sebagai indikator kemampuan filtrasi glomerulus ginjal.

Pasien yang mengalami insufisiensi ginjal, akan memberikan gambaran GFR yang menurun dengan kadar kreatinin dalam serum meningkat. Penurunan GFR juga dipengaruhi oleh usia, semakin bertambahnya usia, maka nilai GFR semakin menurun sampai pada 60 ml/menit.

Uji klirens kreatinin memerlukan pengukuran kadar kreatinin dalam urine yang telah dikumpulkan selama 12 sampai 24 jam dan pengumpulan spesimen darah. Kreatinin dalam urine dan serum diukur menggunakan metode reaksi Jaffe.

### Metode

Perhitungan.

### Prinsip

Pemeriksaan dilakukan dengan mengukur kadar kreatinin darah dan urine menggunakan metode Reaksi Jaffe. Urin ditampung secara akurat selama 24 jam. Spesimen darah diambil dipertengahan waktu pengumpulan urine. Tinggi

badan dan berat badan pasien diukur untuk mengetahui luas permukaan tubuh. Nilai klirens kreatinin dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Klirens Kreatinin} = \frac{U}{P} \times V \times \frac{1,73}{A}$$

U : Kadar kreatinin urine

P : Kadar kreatinin plasma

V : Volume diuresis per menit

A : Luas permukaan tubuh (lihat pada normogram)

Terdapat persamaan lain yang digunakan untuk menetapkan nilai klirens kreatinin. Bila diuresis lebih dari 2 mL per menit, maka persamaan yang dapat digunakan adalah:

$$\text{Klirens Kreatinin} = \frac{U \times V}{P}$$

U : Kadar kreatinin urine

P : Kadar kreatinin plasma

V : Volume diuresis per menit

Bila diuresis kurang dari 2 mL per menit, maka persamaan yang dapat digunakan adalah

$$\text{Klirens Kreatinin} = \frac{U \times \sqrt{V}}{P}$$

## Tujuan

1. Mendeteksi disfungsi ginjal.
2. Memantau fungsi ginjal.

## Nilai Rujukan

Usia dan Jensi Kelamin	mL/menit/1,73m <sup>2</sup>	mL/s/m <sup>2</sup>
< 11 tahun	82 – 122	0,79 – 1,17
11 – 12 tahun	85 – 125	0,82 – 1,20
20 – 29 tahun		
• Laki-laki	94 – 140	0,91 – 1,35
• Perempuan	72 – 110	0,69 – 1,06
30 – 39 tahun		
• Laki-laki	59 – 137	0,57 – 1,32
• Perempuan	72 – 121	0,68 – 1,17
<b>Setiap penambahan 1 dekade, nilai GFR berkurang 6,5</b>		

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hipotiroidisme, hipertensi (renovaskuler), olahraga.

- **Obat**

Asam askorbat, steroid, levodopa, metildopa (aldomet), uji fenolsuftalein.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Kerusakan ginjal, hipertiroidisme, distrofi otot progresif, sklerosis lateral amiotrofik.

- **Obat**

Fanasetin, steroid (anabolik), tiazid.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Kreatinin dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- 3 bulan pada suhu -20<sup>o</sup> C.

Kreatinin dalam urin dapat stabil dalam spesimen selama:

- 24 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 500 µL, 100 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen kreatinin.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan urine selama 24 jam, hitung volume diuresis per menit (mL/menit).
2. Homogenkan urin 24 jam dan larutkan 1 bagian urine ke dalam 19 air demineralisasi.
3. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
4. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
5. Lakukan semua tes pada suhu konstan yaitu suhu 37<sup>o</sup> C.

## Prosedur n<sup>o</sup>1: untuk spesimen tidak ikterik menggunakan “*working reagent*”

	Blanko (pilihan)	Standar	Pemeriksaan
Reagen kerja (R1+R2)	1 mL	1 mL	1 mL
Air bebas mineral	100 µL		
Standar		100 µL	
Spesimen			100 µL

Homogenkan. Setelah 30 detik, baca absorbansi A1 pada panjang gelombang 490 nm (490 – 510) terhadap reagen blanko atau air destilasi.

Tepat 2 menit setelah absorbansi pertama di baca. Catat absorbansi A2.

## Prosedur n<sup>o</sup>2: untuk spesimen ikterik menggunakan “*bi-reagent*”

	Blanko (pilihan)	Standar	Pemeriksaan
Reagen R1	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Air bebas mineral	100 µL		
Standar		100µL	
Spesimen (catatan 1)			100 µL

Inkubasi selama 5 menit pada suhu konstan, kemudian tambahkan :

Reagen R2	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
-----------	--------	--------	--------

Homogenkan. Setelah 30 detik, baca absorbansi A1 pada panjang gelombang 490 nm (490 – 510) terhadap reagen blanko atau air destilasi.

Tepat 2 menit setelah absorbansi pertama di baca. Catat absorbansi A2.

6. Hitung hasil pemeriksaan kadar kreatinin, sebagai berikut:

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (A2 - A1) Pemeriksaan}}{\text{Abs (A2 - A1) Standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

7. Tentukan nilai GFR dengan persamaan:

$$\text{Klirens Kreatinin (mL/menit)} = \frac{U}{P} \times V \times \frac{1,73}{A}$$

## Limitasi

1. Limit pemeriksaan kreatinin sama dengan pemeriksaan kreatinin dalam darah.
2. Waktu pengumpulan urine harus 2 jam setelah minum air.

## Linieritas

Linieritas pemeriksaan klirens kreatinin dipengaruhi oleh linieritas pemeriksaan ureum dalam spesimen, yaitu linier sampai 15 mg/dL (1327  $\mu$ mol/L).

## BILIRUBIN TOTAL

### Deskripsi

Bilirubin adalah pigmen oranye-kuning yang berasal dari pemecahan hemoglobin oleh sistem retikuloendotelial, bilirubin diangkut menuju hati dan mengalami biotransformasi lalu disekresikan melalui cairan empedu dan urine. Terdapat dua jenis bilirubin di dalam tubuh, yaitu bilirubin terkonjugasi dan bilirubin tidak terkonjugasi.

Pemeriksaan bilirubin total adalah pemeriksaan pada bilirubin langsung (bilirubin direk) dan bilirubin tidak langsung (bilirubin indirek). Bilirubin direk adalah bilirubin yang terkonjugasi sehingga bilirubin larut di dalam darah, sedangkan bilirubin indirek adalah bilirubin yang tidak terkonjugasi sehingga bilirubin tidak larut dalam darah.

Bilirubin serum dapat diukur dengan berbagai macam teknik, teknik yang umum digunakan yaitu secara spektrofotometri dan teknik lain yang dapat digunakan yaitu dengan cara kromatografi dan elektroforesis kapiler.

Metode yang paling banyak digunakan untuk pemeriksaan bilirubin adalah berdasarkan reaksi diazo, yang pertama kali dijelaskan oleh Ekrich (1883). Dalam reaksi ini, bilirubin bereaksi dengan *diazotized sulfanilic acid* yang menghasilkan warna ungu kemerahan yang selanjutnya diukur menggunakan fotometer. Pemeriksaan bilirubin total metode diazo dijelaskan oleh Jendrassik dan Grof (1938) dan dimodifikasi oleh Doumas dan Coleaue yang dijadikan metode referensi pemeriksaan bilirubin total oleh *the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*.



Pemeriksaan bilirubin total umumnya dilakukan untuk mengukur seberapa parah tingkat ikterus pada neonatus, ikterus kerap tampak jika kadar bilirubin mencapai lebih dari 3 mg/dL dan mencapai nilai kritis jika kadar bilirubin melebihi 15 mg/dL.

## Metode

Diazo sulfanilat.

## Prinsip

*Sulfanic acid* dengan sodium nitrit membentuk *diazotized sulfanilic acid* (DSA) yang hanya bereaksi dengan bilirubin direk. Penambahan *dimethylsulfoxide* (DMSO) menyebabkan bilirubin tidak terkonjugasi akan bereaksi dengan DSA membentuk azobilirubin yang dapat diukur pada panjang gelombang 550 (530 – 580 nm).



## Tujuan

1. Memantau kadar bilirubin yang dikaitkan dengan ikterik.
2. Memastikan gangguan pada hati.

## Nilai Rujukan

### Prenatal

Total Bilirubin	mg/dL		µmol/L	
	Prematur	Normal	Prematur	Normal
Baru lahir				
Tali pusat	< 2,0	< 2,0	< 34	< 34
0 – 1 hari	< 8,0	1,4 – 8,7	< 137	24 – 149
1 – 2 hari	< 12,0	3,4 – 11,5	< 205	58 – 197
3 – 5 hari	< 12,0	1,5 – 12,0	< 274	26 – 205

Bayi >5 hari, anak-anak dan dewasa

Dewasa (Bayi >5 hari dan anak-anak)	mg/dL	mmol/L
>5 hari – 60 tahun	0,3 – 1,2	5 – 12
60 – 90 tahun	0,2 – 1,1	3 – 19
>90 tahun	0,2 – 0,9	3 – 15

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

Ikterik obstruktif yang disebabkan oleh batu atau neoplasma, hepatitis, sirosis hati, mononukleus infeksius, metastasis (kanker) hati, penyakit Wilson.

### • Obat

Antibiotik (amfoterisin B, klindamisin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, oksasilin, tetrasiklin), sulfonamid, obat antituberkulosis (asam para-aminosalisilat, isoniazid), alopurinol, diuretik (asetazolamid, asam etakrinat), metramisin, dekstran, deazepam (valium), barbiturat, narkotik (kodein, morfin, meperidin), flurazepam (dalmene), indometasin (indocin), metroteksat, metildopa (aldomet), papaverin, prokainamid (pronestyl), steroid, kontrasepsi oral, tolbutamid (Orinase), vitamin A, C dan K.

## Penurunan Kadar

### • Masalah Klinis

Anemia defisiensi besi.

### • Obat

Barbiturat, salisilat (aspirin), penisilin, kafein dalam dosis tinggi.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Bilirubin adalah fotolabil, sehingga konsentrasinya akan berubah jika terpapar cahaya dan perlu disimpan jauh dari cahaya. Bilirubin stabil dalam spesimen selama:

- 4 – 7 hari pada suhu 2 – 8° C.
- 2 hari pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL, 50 µL, 20 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Bilirubin Total.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

## Prosedur n°1:

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	50 µL	
Reagen 2 (Nitrit)		50 µL
Homogenkan, kemudian tambahkan		
Spesimen	100 µL	100 µL

Homogenkan, inkubasi ≥ 3 menit pada suhu 37°C atau 5 menit pada suhu kamar.  
Baca absorbansi pada panjang gelombang 550 nm (530 - 580) terhadap blanko.

## Prosedur n°2: Spesimen ikterik atau pediatrik

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	50 µL	
Reagen 2 (Nitrit)		50 µL
Homogenkan, kemudian tambahkan		
Spesimen	20 µL	20 µL

Homogenkan, inkubasi ≥ 3 menit pada suhu 37° C atau 5 menit pada suhu kamar.  
Baca absorbansi pada panjang gelombang 550 nm (530 - 580) terhadap blanko.

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar Bilirubin Total sebagai berikut:

Dengan kalibrator (hanya Prosedur n°1):

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan - Blanko) Spesimen}}{\text{Abs (Pemeriksaan - Blanko) Kalibrator}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

Dengan faktor:

**Prosedur n°1:**

$$\text{mg/dL} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 11.4$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 195$$

**Prosedur n°2:**

$$\text{mg/dL} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 53.0$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 906$$

Faktor ini harus digunakan sebagai panduan saja dan mungkin berbeda dengan instrumental dan berbagai macam reagen yang digunakan di setiap laboratorium. Disarankan untuk melakukan verifikasi dengan serum kontrol yang memiliki kualitas tinggi.

### Limitasi

Hemoglobin: Sedang di evaluasi, dengan hemoglobin di atas 100  $\mu\text{mol/L}$  (160 mg/dL).

Kekeruhan: Tidak ada interferensi yang signifikan pada Bilirubin Total sampai konsentrasi trigliserida setara dengan 4,6 mmol/L.

Reaksi bilirubin diazo bersifat sensitif terhadap suhu dan harus dilakukan pada suhu konstan.

### Linieritas

Pengujian dengan **prosedur n°1** linier sampai 20 mg/dL (342  $\mu\text{mol/L}$ ). Jika hasil melebihi batas linier, spesimen diencerkan dengan melakukan **prosedur n°2**.

## BILIRUBIN DIREK

### Deskripsi

Pemeriksaan bilirubin direk adalah pemeriksaan pada bilirubin terkonjugasi. Bilirubin direk umumnya meningkat akibat ikterik obstruktif, baik yang bersifat intrahepatika maupun ekstrahepatika seperti pembentukan batu atau neoplasma.

Prinsip pemeriksaan bilirubin direk pada dasarnya sama dengan bilirubin total, perbedaan terletak pada tidak menggunakannya akselerator (*dimethylsulfoxide*) pada reagen bilirubin direk. Sehingga, bilirubin yang larut (konjugat) dalam darah akan bereaksi dengan reagen diazo tanpa akselerator membentuk warna kompleks yang dapat diukur menggunakan fotometer. Untuk meningkatkan spesifisitas pemeriksaan, reagen ini bekerja pada pH sangat asam sehingga bilirubin tidak terkonjugasi tidak bereaksi.

### Metode

Diazo sulfanilat.

### Prinsip

*Sulfanic acid* dengan sodium nitrit membentuk *diazotized sulfanilic acid* (DSA) yang hanya bereaksi dengan bilirubin direk membentuk azobilirubin yang dapat diukur pada panjang gelombang 550 nm (530 – 580).



## Tujuan

1. Mendeteksi keberadaan bilirubin terkonjugasi.
2. Memastikan gangguan pada hati.

## Nilai Rujukan

Umur	mg/dL	mmol/L
>5 hari – 60 tahun	< 0,2	< 3,4
60 – 90 tahun	< 0,2	< 3,4
>90 tahun	< 0,2	< 3,4

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

Ikterik obstruktif yang disebabkan oleh batu atau neoplasma, hepatitis, sirosis hati, mononukleus infeksius, metastasis (kanker) hati, penyakit Wilson.

### • Obat

Antibiotik (amfoterisin B, klindamisin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, oksasilin, tetrasiklin), sulfonamid, obat antituberkulosis (asam para-aminosalisilat, isoniazid), alopurinol, diuretik (asetazolamid, asam etakrinat), metramisin, dekstran, diazepam (valium), barbiturat, narkotik (kodein, morfin, meperidin), flurazepam (dalmene), indometasin (indocin), metrotoksat, metildopa (aldomet), papaverin, prokainamid (pronestyl), steroid, kontrasepsi oral, tolbutamid (Orinase), vitamin A, C dan K.

## Penurunan Kadar

### • Masalah Klinis

Anemia defisiensi besi.

### • Obat

Barbiturat, salisilat (aspirin), penisilin, kafein dalam dosis tinggi.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Bilirubin adalah fotolabil, sehingga konsentrasinya akan berubah jika terpapar cahaya dan perlu disimpan jauh dari cahaya. Bilirubin stabil dalam spesimen selama:

- 4 – 7 hari pada suhu 2 – 8°C.
- 2 hari pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL, 50 µL, 20 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Bilirubin Direk.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.

3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

**Prosedur n<sup>o</sup>1:**

	Blanko	Spesimen
Reagen 2	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	50 µL	
Reagen 3 (Nitrit)		50 µL
Homogenkan, kemudian tambahkan		
Spesimen	100 µL	100 µL

Homogenkan, **Baca tepat 3 menit** pada suhu 37° C atau 5 menit pada suhu kamar.  
Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 550 nm (530 - 580) terhadap blanko.

**Prosedur n<sup>o</sup>2: Spesimen ikterik atau pediatrik**

	Blanko	Spesimen
Reagen 2	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	50 µL	
Reagen 3 (Nitrit)		50 µL
Homogenkan, kemudian tambahkan		
Spesimen	20 µL	20 µL

Homogenkan, **Baca tepat 3 menit** pada suhu 37° C atau 5 menit pada suhu kamar.  
Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 550 nm (530 - 580) terhadap blanko.

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar Bilirubin Total sebagai berikut:

**Dengan kalibrator (hanya Prosedur n<sup>o</sup>1):**

$$\text{Hasil} = \frac{\text{Abs (Pemeriksaan - Blanko) Spesimen}}{\text{Abs (Pemeriksaan - Blanko) Kalibrator}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

**Dengan faktor:**

**Prosedur n<sup>o</sup>1:**

$$\text{mg/dL} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 11.4$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 195$$

**Prosedur n<sup>o</sup>2:**

$$\text{mg/dL} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 53.0$$

$$\mu\text{mol/L} = [\text{Abs. Spesimen} - \text{Abs. Blanko}] \times 906$$

Faktor ini harus digunakan sebagai panduan saja dan mungkin berbeda dengan instrumental dan berbagai macam reagen yang digunakan disetiap laboratorium. Disarankan untuk melakukan verifikasi dengan serum kontrol yang memiliki kualitas tinggi.

**Limitasi**

Hemoglobin: Sedang di evaluasi, dengan hemoglobin di atas 100 µmol/L (160 mg/dL).

Kekeruhan: Tidak ada interferensi yang signifikan pada Bilirubin Direk sampai konsentrasi trigliserida setara dengan 4,6 mmol/L.

Reaksi bilirubin diazo bersifat sensitif terhadap suhu dan harus dilakukan pada suhu konstan.

**Linieritas**

Pengujian dengan **prosedur n<sup>o</sup>1** linier sampai 20 mg/dL (342 µmol/L). Jika hasil melebihi batas linier, spesimen diencerkan dengan melakukan **prosedur n<sup>o</sup>2**.

# BILIRUBIN INDIREK

## Deskripsi

Bilirubin indirek adalah pemeriksaan bilirubin tidak terkonjugasi dalam darah. Teknik pemeriksaan untuk melakukan pemeriksaan bilirubin indirek tidak dilakukan dengan reaksi kimia, kadarnya ditetapkan melalui perhitungan dengan cara bilirubin total dikurangi bilirubin direk.

Bilirubin indirek atau tidak terkonjugasi dikaitkan dengan peningkatan penghancuran eritrosit (hemolisis). Kondisi tersebut dapat terjadi pada hemolisis yang dipicu oleh autoimun, transfusi darah, eritroblastosis atau oleh hemolitik yang disebabkan anemia. Kadar bilirubin indirek juga dapat meningkat pada kondisi kerusakan hati sehingga sel hati tidak mampu melakukan konjugasi dan berakibat pada peningkatan bilirubin yang tidak terkonjugasi.

## Metode

Perhitungan.

## Prinsip

Bilirubin total terdiri dari bilirubin direk dan bilirubin indirek. Sehingga kadar bilirubin indirek dapat ditetapkan dengan bilirubin total dikurangi bilirubin direk.

$$\text{Bilirubin Indirek} = \text{Bilirubin Total} - \text{Bilirubin Direk}$$

## Tujuan

Mendeteksi keberadaan bilirubin tidak terkonjugasi akibat penyakit hemolitik atau penyakit hati.

## Nilai Rujukan

Umur	mg/dL	mmol/L
Dewasa	0,1 – 1,0	1,7 – 17,1
Anak	0,1 – 1,0	1,7 – 17,1

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Eritroblastosis fetalis, anemia sel sabit, reaksi transfusi, anemia pernisirosa, malaria, septikemia, anemia hemolitik, CHF, sirosis terdekompensasi, hepatitis, ikterik obstruktif yang disebabkan oleh batu atau neoplasma, hepatitis, sirosis hati, mononukleus infeksius, metastasis (kanker) hati, penyakit Wilson.

- **Obat**

Aspirin, rifampin, fenotiazin, antibiotik (amfoterisin B, klindamisin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, oksasilin, tetrasiklin), sulfonamid, obat antituberkulosis (asam paraaminosalisilat, isoniazid), alopurinol, diuretik (asetazolamid, asam etakrinat), metramisin, dekstran, deazepam (valium), barbiturat, narkotik (kodein, morfin, meperidin), flurazepam (dalmane), indometasin (indocin), metroteksat, metildopa (aldomet), papaverin, prokainamid (pronestyl), steroid, kontrasepsi oral, tolbutamid (Orinase), vitamin A, C dan K.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Anemia defisiensi besi.

- **Obat**

Barbiturat, salisilat (aspirin), penisilin, kafein dalam dosis tinggi.

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA atau heparin). Bilirubin adalah fotolabil, sehingga konsentrasinya akan berubah jika terpapar cahaya dan perlu disimpan jauh dari cahaya. Bilirubin stabil dalam spesimen selama:

- 4 – 7 hari pada suhu 2 – 8°C.
- 2 hari pada suhu kamar.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL, 50 µL, 20 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Bilirubin Total.
5. Reagen Bilirubin Direk.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Lakukan prosedur pemeriksaan bilirubin total dan bilirubin direk.
4. Hasil pemeriksaan bilirubin total dan bilirubin direk digunakan untuk menetapkan bilirubin indirek dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Bilirubin Indirek} = \text{Bilirubin Total} - \text{Bilirubin Direk}$$

## Limitasi

Limitasi pemeriksaan bilirubin indirek dipengaruhi oleh limitasi pemeriksaan bilirubin total dan bilirubin direk.

## Linieritas

Pemeriksaan bilirubin indirek dipengaruhi oleh linieritas pemeriksaan bilirubin total dan bilirubin direk.

# SERUM GLUTAMIC OXALOACETIC TRANSAMINASE

## Deskripsi

Serum *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) atau *Aspartate Aminotransferase* (ASAT) yang juga disebut *Aspartate Transaminase* (AST) merupakan enzim yang terdistribusi secara luas di jaringan tubuh manusia. Konsentrasi tertinggi ditemukan dalam otot jantung, hati dan otot rangka, dengan jumlah paling sedikit ditemukan pada ginjal, pankreas dan eritrosit.

Penggunaan klinis pemeriksaan SGOT sangat terbatas, pada peningkatan kadar SGOT yang tinggi ditemukan pada kasus infark miokardium akut (*acute myocardial infarction*, AMI) dan gangguan hepatoseluler. Pada kasus AMI, terjadi peningkatan kadar SGOT setelah 6 sampai 8 jam setelah terjadi infark, memuncak pada 24 jam dan kembali normal setelah 5 hari. Namun, karena keberadaan enzim yang tersebar, kadar SGOT tidak berguna dalam diagnosis AMI dan diagnosis AMI dapat ditunjang dengan pemeriksaan kadar enzim-jantung lain seperti kreatin kinase (*creatine kinase*, CK), laktat dehidrogenase (*lactate dehydrogenase*, LDH). Pada kasus penyakit hati, kadar serum meningkat 10 kali atau lebih, dan tetap dalam waktu yang lama.

Terdapat dua fraksi isoenzim SGOT, ezim tersebut terletak dalam sitoplasma sel dan mitokondria, Konsentrasi intraseluler SGOT sekitar 7000 kali lebih tinggi dibandingkan konsentrasi ekstraseluler.

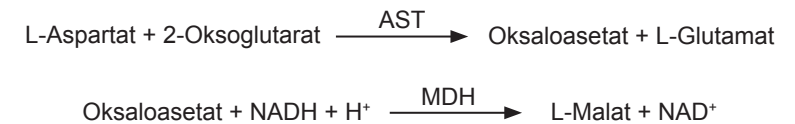
Enzim SGOT diukur berdasarkan aktifitasnya (kinetika), metode pemeriksaan didasarkan pada prinsip metode Karmen dkk dan dioptimalkan oleh Henry dkk (sesuai rekomendasi IFCC) yang menggabungkan reaksi enzimatik menggunakan malat dehidrogenase (MDH) sebagai indikator reaksi karena MDH mengoksidasi NADH menjadi NAD<sup>+</sup> yang perubahannya dipantau menggunakan fotometer pada panjang gelombang 340 nm.

## Metode

Kinetik – IFCC.

## Prinsip

SGOT/AST akan mengkatalisis transfer gugus amino L-aspartat ke 2-Oksoglutarat menjadi L-Glutamat dan oksaloasetat. Oksaloasetat yang terbentuk akan bereaksi dengan NADH menyebabkan oksidasi NADH menjadi NAD<sup>+</sup> dengan bantuan Malat Dehidrogenase (MDH). Penurunan absorbansi akibat konversi NADH menjadi NAD<sup>+</sup>, sebanding dengan aktivitas SGOT pada spesimen, diukur pada panjang gelombang 340 nm.



## Tujuan

1. Mendeteksi peningkatan SGOT serum.
2. Membandingkan temuan SGOT dengan kadar CK dan LDH dalam mendiagnosis MI akut.



## Nilai Rujukan

UI/L	Pada Suhu 30°C	Pada Suhu 37°C
Bayi baru lahir	25 – 75	39 – 117
Bayi	15 – 60	23 – 94
Dewasa	8 – 20	13 – 31

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

MI akut, hepatitis, nekrosis hati, penyakit dan trauma muskuloskeletal, pankreatitis akut, kanker hati, angina pektoris yang serius, olahraga berat, injeksi IM.

- **Obat**

Antibiotik (ampisilin, karbenisilin, klindamisin, kloksasilin, eritromisin, gentamisin, likomisisn, nasfsilin, oksasilin, polisilin, tetrasiklin), vitamin (asam folat, piridoksin, vitamin A), narkotik (kodein, morfin, meperidin), antihipertensif (metildopa, guanetidin), mitramisin, preparat digitalis, kortison, flurazepam (dalmene), indometasin (indocin), isoniazid (INH), rifampin, kontrasepsi oral, salisilat, teofilin.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Kehamilan, ketoasidosis diabetik.

- **Obat**

Salisilat.

## Spesimen

Serum atau plasma heparin. SGOT dapat stabil dalam serum atau plasma selama:

- 24 jam pada suhu kamar.
- 28 hari pada suhu 2-8°C.
- 1 tahun pada suhu -20°C.

Dengan menambahkan fosfat piridoksal (0,1 mM) dapat meningkatkan stabilitas SGOT pada suhu kamar sampai 7 hari.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen AST/SGOT.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

<b>Reagen</b>	<b>1 mL</b>
Diamkan pada suhu 37° C, kemudian tambahkan	
<b>Spesimen</b>	<b>100 µL</b>
Homogenkan. Jalankan <i>stopwatch</i> . Catat absorbansi pertama setelah 1 (satu) menit pada panjang gelombang 340 nm. Catat absorbansi setiap menit selama 3 menit. Hitung perubahan absorbansi per menit ( $\Delta$ abs/menit).	

4. Hitung hasil pemeriksaan aktivitas SGOT/AST, sebagai berikut:

**Dengan faktor teoritis:**

$$\text{Aktifitas AST (IU/L)} = (\Delta\text{abs/menit}) \times 1746$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{IU/L}}{60}$$

**Dengan serum multikalibrator:**

$$\text{Aktifitas AST (IU/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

## Limitasi

Hemoglobin : Terdapat interferensi pada kadar hemoglobin di atas 150 µmol/L.

Hemolisis : Terdapat interferensi karena eritrosit melepas SGOT.

Kekeruhan : Tidak interferensi.

Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai 20 mg/dl.

## Linieritas

Pengujian ini linier sampai dengan 350 IU/L. Jika  $\Delta$ abs/menit >0,200, spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan periksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

# SERUM GLUTAMIC PYRUVIC TRANSAMINASE

## Deskripsi

Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) atau Alanine Aminotransferase (ALAT) disebut juga Alanine Transaminase (ALT) merupakan enzim yang banyak didistribusikan pada jaringan tubuh manusia dengan konsentrasi tinggi terdapat pada hati. Oleh sebab itu, enzim ini lebih spesifik jika dibandingkan SGOT.

Aplikasi klinis SGPT sama terbatasnya dengan SGOT dalam menentukan gangguan hati. Peningkatan aktivitas SGPT ditemukan pada kelainan hepatoseluler dibandingkan pada gangguan obstruksi ekstrahepatik dan intrahepatik. Pada kondisi peradangan akut hati, SGPT lebih tinggi dibandingkan SGOT dan cenderung tetap tinggi dalam waktu lama karena waktu paruh SGPT lebih lama dalam serum, sekitar 16 sampai 24 jam. Pada kasus AMI, aktivitas SGPT tetap normal karena aktivitas dalam jaringan jantung sangat sedikit.

Aktivitas SGPT sering dibandingkan dengan SGOT untuk tujuan diagnostik dalam membantu menentukan sumber SGOT yang tinggi dan untuk mendeteksi keterlibatan hati dengan infark miokard. SGPT meningkat lebih khas daripada SGOT pada kasus nekrosis hati dan hepatitis akut, sedangkan SGOT meningkat lebih khas pada AMI, sirosis, kanker hati, hepatitis kronis dan kongesti hati.

Teknik pemeriksaan SGPT dilakukan secara kinetik dan digabungkan dengan laktat dehidrogenase yang akan mengkata-

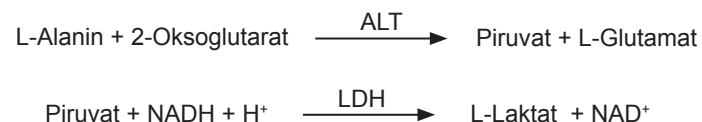
lisis penguraian piruvat menjadi laktat dengan mengoksidasi NADH. Metode tersebut dikembangkan oleh Wroblewski dan LaDue, dan dioptimalkan oleh Henry dan Bergmeyer (sesuai rekomendasi IFCC). Aktivitas SGPT diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 340 nm.

## Metode

Kinetik – IFCC.

## Prinsip

Enzim SGPT/ALT mengkatalisis transfer gugus amino dari L-Alanin ke 2-Oxoglutarate menjadi L-Glutamat dan Piruvat. Piruvat yang terbentuk akan mengalami reduksi dan terjadi oksidasi NADH menjadi NAD<sup>+</sup> dengan bantuan enzim Laktat Dehidrogenase. Penurunan absorbansi akibat konversi NADH menjadi NAD<sup>+</sup>, sebanding dengan aktivitas SGPT pada specimen, diukur pada panjang gelombang 340 nm.



## Tujuan

Mendeteksi penyakit hati.

## Nilai Rujukan

UI/L	Pada Suhu 30° C	Pada Suhu 37° C
Bayi baru lahir, bayi	9 – 32	13 – 45
Laki-laki	7 – 28	10 – 40
Perempuan	5 – 25	7 – 35

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Peningkatan tinggi: Hepatitis (virus) akut, nekrosis hati (toksisitas obat atau kimia). Peningkatan ringan atau medium: sirosis, kanker hati, kegagalan jantung kongestif, intoksikasi akut alkohol.

- **Obat**

Antibiotik (karbenesilin, klindamisin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, mitramisin, spektinomisin, tetrasiklin), narkotik (meperidin, morfin, kodein), antihipertensif (metildopa, guanetidin, preparat digitalis, indometasin (indocin), salisilat, rifampin, flurazepam (dalmane), propranolol (ineral), kontrasepsi oral (progesterin-esterogen), lead, heparin.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Latihan.

- **Obat**

Salisilat.

## Spesimen

Serum atau plasma heparin. SGPT dapat stabil dalam serum atau plasma selama:

- 24 jam pada suhu kamar.
- 7 hari pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 100 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen AST/SGOT.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

<b>Reagen</b>	<b>1 mL</b>
Diamkan pada suhu 37 <sup>o</sup> C, kemudian tambahkan	
<b>Spesimen</b>	<b>100 µL</b>
Homogenkan. Jalankan stopwatch. Catat absorban pertama setelah 1 (satu) menit pada panjang gelombang 340 nm. Catat absorbansi setiap menit selama 3 menit. Hitung perubahan absorbansi per menit ( $\Delta$ abs/menit).	

- 4) Hitung hasil pemeriksaan aktivitas SGPT/ALT, sebagai berikut:

**Dengan faktor teoritis:**

$$\text{Aktifitas ALT (IU/L)} = (\Delta\text{abs/menit}) \times 1746$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{IU/L}}{60}$$

Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktifitas ALT (IU/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

### Limitasi

- Hemoglobin : Tidak ada interferensi sampai dengan 300 µmol/L.
- Hemolisis : Interferensi positif akibat ALT dilepaskan dari eritrosit.
- Kekeruhan : Tidak ada interferensi sampai dengan 7,00 mmol/L trigliserida.
- Bilirubin total : Tidak ada interferensi sampai dengan 20 mg/dl (342 µmol/L).

### Linieritas

Pengujian ini linier sampai dengan 350 IU/L. Jika  $\Delta\text{abs/menit} > 0,200$  spesimen dilarutkan dengan larutan salin dan diperiksa kembali dengan mempertimbangkan faktor pengenceran. Batas linearitas bergantung pada rasio spesimen/reagen.

## GAMMA-GLUTAMILTRANSFERASE

### Deskripsi

Gamma-glutamyltransferase (*gamma-glutamyltransferase*, GGT) merupakan enzim yang terdapat dalam hati dan ginjal. Kuantitas dalam jumlah rendah ditemukan dalam limpa, prostat dan jantung. GGT merupakan uji sensitif untuk mendeteksi beragam jenis penyakit parenkim hati, karena aktivitas enzim meningkat lebih awal dan tetap meningkat selama terjadi kerusakan sel. Selain itu peningkatan aktivitas GGT dapat ditemukan pada kasus biliaris.

GGT dalam hati terletak pada kanalis sel hati, terutama sel epitel yang melapisi duktus empedu. Oleh karena itu, GGT meningkat hampir semua kelainan hepatobilier. Dalam parenkim hati, GGT terdapat dalam retikulum endoplasma hati. Oleh karena itu, aktivitas GGT akan meningkat hingga empat kali lipat pada pasien yang menerima obat penginduksi enzim seperti warfarin, fenobarbital dan fenitol.

Pada kasus alkoholisme, peningkatan kadar GGT dapat mengindikasikan kecanduan alkohol (alkoholism kronis) dengan peningkatan kadar GGT dua sampai tiga kali lipat atau lebih. Oleh sebab itu, pemeriksaan GGT berguna untuk memantau pecandu alkohol yang melakukan program rehabilitasi. Aktivitas GGT akan kembali normal 2 sampai 3 minggu setelah penghentian, namun dapat meningkat kembali jika mengkonsumsi alkohol dilanjutkan.

GGT juga dapat meningkat pada kondisi lain, seperti pankreatitis akut, diabetes melitus dan infark miokard. Pemeriksaan

GGT memiliki nilai terbatas dalam kondisi ini dan tidak diminta rutin.

Aktivitas GGT berguna untuk membedakan sumber tingkat ALP yang tinggi karena tingkat GGT normal pada kelainan kerangka dan kehamilan. Hal ini berguna dalam mengevaluasi keterlibatan hepatobilier pada remaja, karena aktivitas ALP selalu meningkat akibat pertumbuhan tulang.

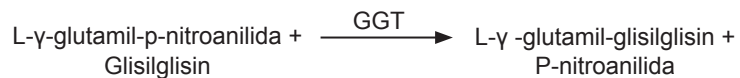
Teknik pemeriksaan GGT dilakukan secara kinetik. Substrat yang paling banyak digunakan dalam analisis GGT adalah gamma-glutamyl-p-nitroanilida. Residu gamma-glutamyl dipindahkan ke glisilglisin dan melepaskan p-nitroanilin, warna yang terbentuk diukur menggunakan fotometer pada panjang gelombang 405 sampai 420 nm.

## Metode

Szaszy-GT atau Gamma Glutamyl p-Nitroanilida (GPNA).

## Prinsip

Dalam suasana basa, GGT mengkatalisis reaksi L-gamma-glutamyl-p-nitroanilida dengan glisilglisin menjadi L-gamma-glutamyl-glisilglisin dan p-nitroanilida. Aktivitas GGT diukur berdasarkan peningkatan p-nitroanilida pada panjang gelombang 405 nm.



## Tujuan

1. Mendeteksi keberadaan gangguan hepar.
2. Memantau kadar enzim GGT hati selama terjadi gangguan hati dan selama pengobatan yang diberikan.
3. Membandingkan kadar enzim ini dengan kadar enzim hati yang lain guna mengidentifikasi disfungsi hati.

## Nilai Rujukan

Interval referensi diukur pada suhu 37° C seperti yang tercantum di bawah ini:

Jenis Kelamin	Konvensional Unit	Unit S.I
Laki-laki	< 49 U/L	< 0.82 µkat/L
Perempuan	< 32 U/L	< 0.53 µkat/L

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

Sirosis hati, nekrosis hati akut dan subakut, alkoholisme, hepatitis akut dan kronis, kanker (hati, pankreas, prostat, payudara, ginjal, paru-paru, otak), mononukleosis infeksius, hemokromatosis (deposit zat besi dalam hati), diabetes melitus, hiperlipoproteinemia (tipe IV), MCI akut (hari keempat), CHF, pankreatitis akut, kolesistitis akut, epilepsi, sindrom nefrotik.

### • Obat

Fenitoin (dilantin), fenobarbital, emioglikosida, warfarin (comadin).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum (pilihan utama) atau plasma (EDTA atau heparin).  
Spesimen Gamma GT dapat stabil pada suhu:

- Suhu 20°C – 25°C selama 1 hari.
- Suhu 4°C selama 7 hari.
- Suhu -20°C selama 2 bulan sampai 1 tahun.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 250 µL, 100 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen Gamma-GT.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	100 µL	
Spesimen		100 µL
Homogenkan, kemudian tambahkan		
Reagen 2	250 µL	250 µL
Homogenkan, baca absorbansi setelah 1 menit dan perhatikan waktunya. Kemudian baca lagi absorbansi untuk tambahan 3 menit.		

4. Hitung hasil pemeriksaan aktivitas GGT, sebagai berikut:

### Dengan faktor teoritis:

$$\text{Aktifitas GGT (U/L)} = (\Delta\text{abs/menit}) \times 2121$$

### Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktifitas GGT (U/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

## Limitasi

Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga 30 mg/dL.

Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga 40 mg/dL.

Hemoglobin : Tidak ada interferensi hingga 500 mg/dL.

Lipemia : Tidak ada interferensi hingga 500 mg/dL.

## Linieritas

Pengujian memiliki linieritas 4 sampai 650 U/L. Jika sampel memiliki hasil melebihi 650 U/L, sampel harus diencerkan dengan salin, umumnya pengenceran 10 kali dengan cara 1 bagian serum dilarutkan kedalam 9 bagian salin, hasil pemeriksaan kemudian dikalikan 10.

# ALKALINE PHOSPHATASE

## Deskripsi

*Alkaline phosphatase* atau fosfatase alkalin (ALP) merupakan enzim yang kebanyakan terdapat pada permukaan sel jaringan manusia. ALP terutama diproduksi oleh hati dan tulang, enzim ini juga terdapat pada usus, ginjal, limpa dan plasenta. Di dalam hati, enzim terletak di sinusoidal dan membran kanalikuli empedu, aktivitas enzim pada tulang terbatas hanya pada osteoblas.

Pemeriksaan aktivitas ALP paling penting digunakan untuk evaluasi gangguan hepatobilier dan tulang. Pada kelainan hepatobilier, peningkatan lebih dominan pada kondisi obstruktif dari pada kelainan hepatoseluler. Pada obstruksi saluran empedu, aktivitas ALP mencapai 3 sampai 10 kali. Peningkatan terutama disebabkan oleh peningkatan sintesis enzim yang disebabkan oleh kolestasis. Sebaliknya, kelainan hepatoseluler, seperti hepatitis dan sirosis hanya sedikit menunjukkan kenaikan, biasanya kurang dari tiga kali lipat peningkatan ALP.

Peningkatan ALP pada kelainan tulang tertinggi ditemukan pada *Paget's disease (osteitis deformans)*. Kelainan tulang lainnya, meliputi *osteomalacia*, *ricket*, *hiperparatiroid* dan *osteogenic sarcoma*. Selain itu, aktivitas ALP meningkat pada individu yang mengalami pertumbuhan tulang dan penyembuhan patah tulang.

Pada kondisi hamil normal, aktivitas ALP meningkat sekitar 1 ½ kali yang terdeteksi antara minggu ke-16 dan 20.

Peningkatan tersebut berlanjut hingga persalinan dan kembali normal dalam 3 sampai 6 hari setelah melahirkan.

Isoenzim ALP digunakan untuk membedakan penyakit hati dengan penyakit tulang, ALP<sup>1</sup> menandakan penyakit yang disebabkan oleh hati, sementara ALP<sup>2</sup> oleh tulang. Elektroforesis dianggap sebagai teknik yang baik untuk analisis isoenzim ALP.

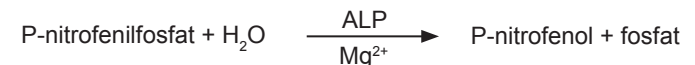
Pemeriksaan aktivitas enzim dilakukan secara kinetik yang sebelumnya di rancang oleh Bowers dan McComb melalui absorptifitas p-nitrofenol. Karena enzim ALP yang nonspesifik, berbagai macam metode telah dikembangkan dan masih digunakan hingga sekarang. Perbedaan utama reagen terletak pada konsentrasi, jenis substrat, buffer dan pH reaksi. Metode yang banyak digunakan umumnya menggunakan p-nitrofenil fosfatase buffer AMP 37<sup>o</sup> C, dimana warna yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 405 nm.

## Metode

Kinetik – IFCC.

## Prinsip

ALP akan mengkatalisis reaksi p-Nitrofenilfosfat, H<sub>2</sub>O dan Ion magnesium menjadi p-nitrofenol dan fosfat. Aktifitas ALP berbanding lurus dengan terbentuknya warna merah dari p-nitrofenol dan diukur pada panjang gelombang 405 nm.





## Tujuan

1. Menemukan apakah terjadi gangguan hati atau tulang.
2. Membandingkan hasil ALP dengan pengujian laboratorium lain, guna memastikan apakah terjadi gangguan hati atau tulang.

## Nilai Rujukan

Nilai referensi interval diukur pada suhu 37° C seperti yang tercantum di bawah ini:

Tipe Spesimen	Unit Konvensional		
	Wanita	Laki-laki	
Serum / plasma	1 – 30 hari	75 – 316 U/L	48 – 406 U/L
	1 – 12 bulan	82 – 383 U/L	124 – 341 U/L
	1 – 3 tahun	104 – 345 U/L	108 – 317 U/L
	4 – 6 tahun	93 – 309 U/L	96 – 297 U/L
	7 – 9 tahun	86 – 315 U/L	69 – 325 U/L
	10 – 12 tahun	42 – 362 U/L	51 – 332 U/L
	13 – 15 tahun	74 – 390 U/L	50 – 162 U/L
	16 – 18 tahun	52 – 171 U/L	47 – 119 U/L
>18 tahun	30 – 120 U/L		

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Penyakit obstruksi empedu (ikterik), kanker hati, sirosis sel hati, hepatitis, hiperparatiroidisme, leukemia, kanker tulang (payudara dan prostat), penyakit Paget, osteitis deforman, penyembuhan fraktur, mieloma multipel, osteomalasia, kehamilan trimester terakhir, artritis reumatoid (aktif), penyakit ulkus.

- **Obat**

Albumin IV, antibiotik (eritromisin, linkomisin, oksasilin, penisilin), kolkisin, metildopa (aldomet), alopurinol, fenotiazin, obat penenang, indometasin (indocin), prokainamid, kontrasepsi oral, tolbutamid, isoniazid (INH), asam paraaminosalisilat (PAS).

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

Hipotiroidisme, malnutrisi, sariawan/skorbut (kekurangan vitamin C), hipofosfatasia, anemia pernisiiosa, insufisiensi plasenta.

- **Obat**

Fluorida, oksalat, propranolol (inderal).

## Spesimen

Serum atau plasma heparin. Spesimen ALP dapat stabil selama:

- 7 hari pada suhu 20 – 25° C.
- 7 hari pada suhu 4 – 8° C.
- 2 bulan pada suhu -20° C.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 250 µL, 20 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Reagen ALP.
5. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	100 µL	-
Spesimen	-	100 µL
Homogenkan, inkubasi 2 menit pada suhu 37° C, kemudian tambahkan		
Reagen 2	250 µL	250 µL
Homogenkan, inkubasi pada suhu 37° C selama 1 menit dan kemudian baca nilai perubahan absorbansi dalam 3 menit.		

4. Hitung hasil pemeriksaan aktivitas ALP, sebagai berikut:

### Dengan faktor teoritis:

$$\text{Aktivitas ALP (U/L)} = (\Delta\text{abs/menit}) \times 5450$$

### Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktivitas ALP (U/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

## Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga 30 mg/dL.  
Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga 40 mg/dL.  
Hemoglobin : Tidak ada interferensi hingga 500 mg/dL.  
Lipemia : Tidak ada interferensi hingga 500 mg/dL.

## Linieritas

Pengujian memiliki linieritas 5 sampai 800 U/L. Jika sampel memiliki hasil melebihi 800 U/L, sampel harus diencerkan dengan salin, umumnya pengenceran 6 kali dengan cara 1 bagian serum dilarutkan kedalam 5 bagian salin, hasil pemeriksaan kemudian dikalikan 6.

# CREATINE KINASE

## Deskripsi

Kreatin kinase (*creatine kinase*, CK) atau disebut juga kreatin fosfokinase (*creatine phosphokinase*, CPK) merupakan enzim yang tersebar luas hampir di seluruh jaringan, aktivitas enzim tertinggi ditemukan pada otot rangka, otot jantung dan jaringan otak. Aktivitas CK paling kecil ditemukan pada ginjal, paru-paru, limpa, hati dan pankreas.

Karena konsentrasi CK tinggi pada jaringan otot, oleh sebab itu peningkatan aktivitas CK ditemukan pada gangguan otot jantung dan kerangka. Tingkat CK dianggap sebagai indikator sensitif infark miokard akut (AMI) dan distrofi muskular terutama tipe Duchenne. Tingkat CK ditemukan bervariasi berdasarkan masa otot, oleh karena itu nilai normal dipengaruhi oleh jenis kelamin, ras, usia dan aktivitas fisik.

Kondisi patofisiologi lain yang menggambarkan peningkatan aktivitas CK ditemukan pada hipotiroidisme, hiperireksia maligna dan *Reye's syndrome*. Karena peningkatan aktivitas enzim ditemukan pada banyak kelainan, pemisahan CK total kedalam berbagai fraksi isoenzim (CK-MM, CK-MB dan CK-BB) dianggap sebagai indikator yang lebih spesifik.

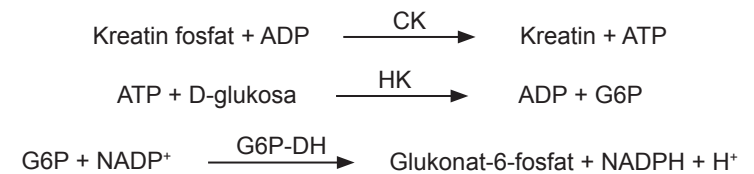
Pemeriksaan aktivitas CK dilakukan secara kinetik dan digabungkan dengan enzim lain untuk menghasilkan produk yang berwarna. Reaksi yang diajukan Oliver dan dimodifikasi oleh Rosalki adalah metode yang sering dilakukan di laboratorium klinis, dimana pengukuran berdasarkan pembentukan NADPH yang diukur pada panjang gelombang 340 nm.

## Metode

Kinetik – IFCC.

## Prinsip

Kreatin kinase (CK) akan mengkatalisis kreatin fosfat dan ADP menjadi Kreatin dan ATP. ATP yang terbentuk bereaksi dengan D-glukosa dengan bantuan enzim heksokinase (HK), membentuk glukosa-6-fosfat (G6P) dan ADP. Glukosa-6-fosfat direaksikan dengan NADP yang dikatalisis oleh enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6P-DH) menghasilkan Glukonat-6-fosfat, NADPH dan H<sup>+</sup>. Peningkatan NADPH yang terbentuk sesuai dengan aktivitas katalik CK. Diukur dengan peningkatan absorban pada panjang gelombang 340 nm.



## Tujuan

1. Memastikan keberadaan penyakit miokardium atau otot rangka.
2. Membandingkan temuan uji dengan kadar SGOT dan LDH, guna memastikan keberadaan kerusakan miokardium.

## Nilai Rujukan

Nilai referensi interval diukur pada suhu 37° C seperti yang tercantum di bawah ini:

Tipe spesimen		Unit Konvensional	Unit SI
Serum / plasma	Laki - laki	≤ 171 U/L	≤ 2.85 µkat/L
	Perempuan	≤ 145 U/L	≤ 2.41 µkat/L

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

MCI akut, penyakit otot rangka, cedera serebrovaskular (CVA).

- **Obat**

Injeksi IM, deksametason (decadron), furosemid (lasix), aspirin dosis tinggi, ampisilin, karbenisilin, klofibrat.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum atau plasma (heparin atau EDTA). Spesimen CK dapat stabil selama:

- 2 hari pada suhu 20 – 25° C.
- 1 minggu pada suhu 2 – 8° C.
- 4 minggu pada suhu - 20° C

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 250 µL, 25 µL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen CK.
6. Air bebas mineral.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung specimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar dan jaga suhu konstan selama waktu pengujian ( $\pm 0.5^{\circ}C$ ).

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	25 µL	-
Spesimen	-	25 µL
Homogenkan, inkubasi 3 menit pada suhu 37° C, kemudian tambahkan		
Reagen 2	250 µL	250 µL
Homogenkan, inkubasi pada suhu 37° C selama 3 menit dan kemudian baca nilai perubahan absorbansi dalam 1-3 menit.		

4. Hitung hasil pemeriksaan aktivitas CK, sebagai berikut:

### Dengan faktor teoritis:

$$\text{Aktivitas CK (U/L)} = (\Delta\text{abs}/\text{menit}) \times \text{Faktor}$$

$$334 \text{ nm} = 4207; 340 \text{ nm} = 4127; 365 \text{ nm} = 7429$$

Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktifitas CK (U/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga 30 mg/dL.  
Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga 40 mg/dL.  
Hemoglobin : Tidak ada interferensi hingga 500 mg/dL.  
Lipemia : Tidak ada interferensi hingga 200 mg/dL.

### Linieritas

Pengujian memiliki linieritas 5 sampai 1000 U/L. Jika sampel memiliki hasil melebihi 1000 U/L, sampel harus diencerkan dengan salin, umumnya pengenceran 10 kali dengan cara 1 bagian serum dilarutkan kedalam 9 bagian salin, hasil pemeriksaan kemudian dikalikan 10.

## CREATINE KINASE-MB

### Deskripsi

Kreatin kinase-MB merupakan isoenzim dari CK. CK merupakan enzim dimer yang terdiri dari dua sub-unit yang dapat dipisahkan menjadi tiga bentuk molekul yang berbeda. Ketiga enzim tersebut adalah CK-BB (tipe otak), CK-MB (tipe hibrida) dan CK-MM (tipe otot).

Lokasi isoenzim masing-masing CK berbeda, otot skeletal kaya akan CK-MM. CK-BB terdapat pada otak, usus, paru dan kandung kemih. CK-MB hanya terdapat pada otot jantung, sehingga pemeriksaan CK-MB membantu diagnosis kecurigaan infark miokard akut (AMI).

Pemeriksaan CK-MB dapat dilakukan menggunakan elektroforesis, tetapi metode yang sering diterapkan pada laboratorium klinik menggunakan metode imunoasai dan fotometrik.

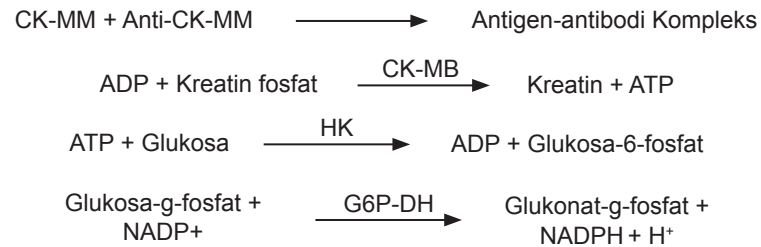
### Metode

Kinetik – IFCC.

### Prinsip

Aktivitas kreatin kinase diukur dengan adanya antibodi terhadap monomer kreatin kinase-M yang benar-benar menghambat kreatin kinase-MM namun tidak mempengaruhi aktivitas monomer B dari kreatin kinase-MB atau kreatin kinase-BB. Karena kreatin kinase-MB terdiri dari subunit M dan B yang sama, aktivitas terukurnya adalah 50 persen yang ditemukan

tanpa adanya antibodi. Aktivitas monomer kreatine kinase-B kemudian ditentukan dalam urutan reaksi berikut.



Dalam reaksi, kreatin kinase-B mengkatalisis transfer gugus fosfat dari substrat kreatin fosfat ke ADP. Pembentukan ATP selanjutnya diukur melalui penggunaan dua reaksi gabungan yang dikatalisis oleh heksokinase (HK) dan glukosa-6-fosfat dehidrogenase dari NADP. Laju absorbensi meningkat pada 450 nm berbanding lurus dengan aktivitas kreatin kinase-B.

## Tujuan

1. Memastikan keberadaan penyakit miokardium.
2. Membandingkan temuan uji dengan kadar SGOT dan LDH, guna memastikan keberadaan kerusakan miokardium.

## Nilai Rujukan

Nilai referensi interval diukur pada suhu 37° C seperti yang tercantum di bawah ini:

Tipe Sampel	Unit Konvensional	S.I Unit
Serum	≤ 24 U/L	≤ 0,4 μkat/L

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

MCI akut, angina pectoris berat, beban jantung, iskemia jantung, miokarditis, hipokalemia, defibrilasi jantung.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum (sangat dianjurkan) atau plasma EDTA. Spesimen CK-MB dapat stabil pada suhu:

- 2° C – 8° C selama 1 minggu.
- -20° C selama 4 minggu.

## Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 μL, 250 μL, 50 μL).
3. *Stopwatch*.
4. Sentrifuse.
5. Reagen CK-MB.
6. Air bebas mineral.
7. Spesimen.

## Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	1000 µL	1000 µL
Air bebas mineral	50 µL	
Spesimen		50 µL
Homogenkan, inkubasi 3 menit pada suhu 37° C, kemudian tambahkan		
Reagen 2	250 µL	250 µL
Homogenkan, inkubasi pada suhu 37° C selama 3 menit dan kemudian baca nilai perubahan absorbansi dalam 1-3 menit.		
$\Delta A/\text{menit} = [\Delta A/\text{menit sampel}] - [\Delta A/\text{menit blangko}]$		

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar CK-MB, sebagai berikut:

### Dengan faktor teoritis:

$$\text{Aktivitas CK-MB (U/L)} = (\Delta \text{abs/menit}) \times \text{Faktor}$$

$$334 \text{ nm} = 4207; 340 \text{ nm} = 4127; 365 \text{ nm} = 7429$$

### Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktifitas CK - MB (U/L)} = \frac{(\Delta \text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta \text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \text{Konsentrasi kalibrator}$$

## Limitasi

Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga kadar 30 mg/dL.

Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga kadar 40 mg/dL.

Lipemia : Tidak ada interferensi hingga kadar 200 mg/dL.

## Linieritas

Linieritas pemeriksaan CK-MB 5 sampai 600 U/L. Jika nilai melebihi 600 U/L, encerkan dengan salin. Pengenceran yang dilakukan umumnya 1 bagian serum dan 9 bagian salin, hasil pemeriksaan dikalikan dengan 10.

# LACTATE DEHYDROGENASE

## Deskripsi

Laktat dehidrogenase (*lactate dehydrogenase*, LDH) adalah enzim intraseluler yang terdapat pada hampir semua sel yang bermetabolisme dengan konsentrasi tertinggi ditemukan di jantung, otot rangka, hati, ginjal, otak dan eritrosit.

Karena aktivitasnya enzim yang terdapat hampir di seluruh jaringan tubuh, LDH meningkat dalam berbagai gangguan. Peningkatan aktivitas ditemukan pada otot jantung, hati, skeletal dan penyakit ginjal, serta beberapa kelainan hematologi dan neoplastik. Kelainan hati, seperti virus hepatitis dan sirosis, menunjukkan sedikit peningkatan aktivitas hingga 2 sampai 3 kali. Pada kasus AMI, kadar LDH meningkat dalam waktu 12 sampai 24 jam, mencapai puncaknya 48 sampai 72 jam, dan akan tetap meningkat selama 10 hari. Kelainan otot rangka dan beberapa leukemia berkontribusi pada peningkatan LDH. Karena banyak kondisi yang menggambarkan peningkatan aktivitas, peningkatan aktivitas LDH dinilai tidak spesifik. Oleh karena itu, pemeriksaan fraksi perlu dilakukan.

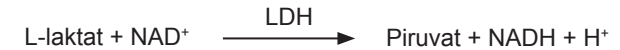
Uji aktivitas LDH dilakukan secara kinetik menggunakan fotometer. LDH akan mengkatalisis asam laktat menjadi piruvat dengan bantuan  $\text{NAD}^+$  yang terdapat pada reagen.

## Metode

Kinetik – IFCC.

## Prinsip

Laktat dehidrogenase (LDH) mengkatalisis konversi L-laktat menjadi piruvat. Dalam prosesnya,  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) di deoksidasi menjadi NADH. Perubahan absorbansi ini berbanding lurus dengan aktivitas LDH dalam sampel.



## Tujuan

1. Mendiagnosis kerusakan otot miokardium atau otot rangka.
2. Membandingkan temuan uji dengan enzim jantung lainnya.

## Nilai Rujukan

Nilai referensi interval diukur pada suhu  $37^\circ\text{C}$  seperti yang tercantum di bawah ini:

Jenis Kelamin	Unit Konvensional	SI Unit
Laki-laki	<248 U/L	<4.13 $\mu\text{kat/L}$
Perempuan	<247 U/L	<4.12 $\mu\text{kat/L}$

## Peningkatan Kadar

### • Masalah Klinis

MCI akut, CVA, kanker (paru-paru, tulang, usus, hati, payudara, serviks, testis, ginjal, lambung, melanoma kulit), leukemia akut, infark pulmonal akut, mononukleosis infeksius, anemia (pernisiosa, defisiensi asam folat, sel sabit, hemolitik didapat), hepatitis akut, syok, penyakit otot rangka, pingsan karena panas.



- **Obat**

Narkotik (kodein, morfin, meperidin).

### Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

### Spesimen

Serum atau plasma (heparin + EDTA). Spesimen LDH dapat stabil selama:

- 4 hari pada suhu 2 – 8° C.
- 7 hari pada suhu 15 – 25° C.
- 6 minggu pada suhu (-15) – (-25)° C.

### Alat dan Reagen

1. Spektrofotometer.
2. Mikropipet (1000 µL, 600 µL, 100 µL).
3. Pipet ukur.
4. *Stopwatch*.
5. Sentrifuse.
6. Reagen LDH.
7. Air bebas mineral.

### Prosedur

1. Kumpulkan 3 sampai 5 mL darah vena dalam tabung spesimen darah.
2. Lakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum atau plasma.
3. Diamkan reagen dan spesimen pada suhu kamar.

	Blanko	Spesimen
Reagen 1	2400 µL	2400 µL
Air bebas mineral	100 µL	
Spesimen		100 µL
Homogenkan, inkubasi selama 2 - 3 menit kemudian tambahkan:		
Reagen 2	600 µL	600 µL
Homogenkan, baca nilai perubahan absorbansi setelah 1 menit dan monitor waktu. Baca lagi absorbansi pada tambahan 3 menit.		

4. Hitung hasil pemeriksaan kadar LDH, sebagai berikut:

#### Dengan faktor teoritis:

$$\text{Aktivitas LDH (U/L)} = (\Delta\text{abs/menit}) \times 16030$$

#### Dengan serum multikalibrator:

$$\text{Aktivitas LDH (U/L)} = \frac{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Pemeriksaan}}{(\Delta\text{abs/menit}) \text{ Standar}} \times \frac{\text{Konsentrasi kalibrator}}{\text{Konsentrasi kalibrator}}$$

### Limitasi

- Asam askorbat : Tidak ada interferensi hingga kadar 30 mg/dL.  
 Bilirubin : Tidak ada interferensi hingga kadar 40 mg/dL.  
 Lipemia : Tidak ada interferensi hingga kadar 500 mg/dL.

## Linieritas

Linieritas pemeriksaan LDH 4 sampai 1000 U/L. Jika nilai melebihi 1000 U/L, encerkan dengan salin. Pengenceran yang dilakukan umumnya 1 bagian serum dan 9 bagian salin, hasil pemeriksaan dikalikan dengan 10.



**IMUNOSEROLOGI**

# HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN

## Deskripsi

*Human chorionic gonadotropin* (hCG) adalah hormon glikoprotein yang diproduksi oleh plasenta. Molekul hCG terdiri dari dua sub-unit yang berbeda, yaitu alfa dan beta. Sub-unit beta memiliki berat molekul sekitar 30.000 dalton yang memberikan spesifisitas biologis dan imunologis dari molekul hCG. Sub-unit alfa memiliki berat molekul sekitar 18.000 dalton, sub-unit alfa hCG identik dengan sub-unit alfa hormon glikoprotein pituitari yaitu *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *thyroid-stimulating hormone* (TSH).

Munculnya hCG dalam urine atau darah saat 14 sampai 26 hari setelah pembuahan dan konsentrasinya memuncak 60 sampai 80 hari, sehingga peningkatan konsentrasi yang cepat digunakan sebagai indikator ideal untuk mendeteksi dan mengkonfirmasi kehamilan. Namun, tingkat hCG yang meningkat juga sering dikaitkan dengan neoplasma trofoblastik dan non-trofoblastik.

Imunoassay menggunakan antibodi spesifik untuk subunit  $\beta$ -hCG memberikan teknik sensitif dan spesifik yang memungkinkan deteksi dini kehamilan. Uji aglutinasi indirek  $\beta$ -hCG dilakukan pendekatan uji aglutinasi inhibisi lateks, pemeriksaan ini pertama kali dikenalkan oleh Wide dan Gemzell, selain sensitif dan spesifik uji ini dinilai lebih cepat dan ekonomis.

## Metode

Aglutinasi indirek.

## Prinsip

Uji slide  $\beta$ -hCG monoklonal adalah uji aglutinasi lateks indirek untuk mendeteksi hCG dalam urine. Urine yang mengandung hCG yang dicampur antibodi akan membentuk ikatan hCG-antibodi, sehingga penambahan hCG-lateks tidak akan membentuk aglutinasi. Urine yang tidak mengandung hCG tidak akan membentuk ikatan dengan antibodi, sehingga penambahan hCG-lateks akan membentuk aglutinasi.

## Tujuan

1. Menentukan kehamilan.
2. Mendeteksi aborsi yang mengancam atau kematian janin.

## Nilai Rujukan

Aglutinasi : Tidak hamil.

Non-Aglutinasi : Hamil.

## Peningkatan Kadar (Negatif)

- **Masalah Klinis**

Tidak hamil, kematian janin, pascapartum (3 sampai 4 hari), aborsi inkomplit, aborsi yang mengancam (penurunan kadar serum).

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar (Positif)

- **Masalah Klinis**

Kehamilan, mola hidatiformis, korionepitelioma, korio-karsinoma.

- **Obat**

Antikonsulvan, hipnotik, penenang (fenotiazin), obat anti-parkinsonisme.

## Spesimen

Urine yang ditampung dalam wadah plastik atau kaca yang bersih dan kering. hCG dapat stabil dalam spesimen selama:

- 72 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- Dalam waktu yang cukup lama jika serum dibekukan.
- Pendinginan dan pencairan berulang tidak direkomendasikan karena dapat menyebabkan protein terdenaturasi.

## Alat dan Reagen

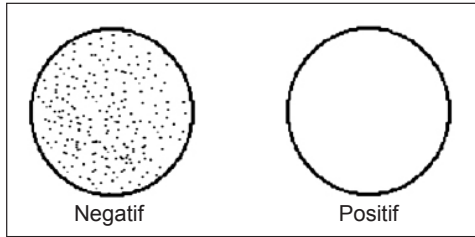
1. Reagen hCG.
2. Kontrol positif.
3. Kontrol negatif.
4. Pipet tetes.
5. Batang pengaduk.
6. Slide aglutinasi.
7. *Stopwatch*.
8. Rotator.

## Prosedur

1. Bawa reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Pipet 1 tetes kontrol positif pada posisi kiri slide, 1 tetes kontrol negatif pada posisi tengah slide dan 1 tetes sampel pada posisi kanan slide.
3. Tambahkan satu tetes reagen antiserum  $\beta$ -hCG menggunakan pipet yang disediakan ke masing-masing lingkaran yang diperlukan pada slide.
4. Campur serum dan reagen pada slide menggunakan batang pengaduk. Putar slide pada 100 rpm selama 30 detik.
5. Tambahkan 1 tetes reagen lateks hCG menggunakan pipet yang disediakan ke masing-masing lingkaran yang diperlukan pada slide.

	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Pemeriksaan
Kontrol positif	1 tetes		
Kontrol negatif		1 tetes	
Serum			1 tetes
Antiserum $\beta$ -hCG	1 tetes	1 tetes	1 tetes
Reagen lateks hCG	1 tetes	1 tetes	1 tetes

6. Campur serum dan reagen pada slide menggunakan batang pengaduk. Putar slide pada 100 rpm selama 2 menit.
7. Amati ada tidaknya aglutinasi.
8. Hasil positif ditandai dengan suspensi berwarna putih susu dan hasil negatif ditandai dengan terbentuknya butiran-butiran warna putih (aglutinasi).



## VENEREAL DISEASE RESEARCH LABORATORY

### Limitasi

1. Pembekuan reagen lateks akan memberikan aglutinasi spontan sehingga mengakibatkan positif palsu.
2. Pembacaan hasil melebihi 2 menit dapat mengakibatkan positif palsu.
3. Negatif palsu dapat terjadi pada kasus kehamilan ektopik, sindroma janin mati dan abortus.

### Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas: hCG dapat terdeteksi oleh tes dalam sampel urine pada konsentrasi 0,5 IU/mL.
2. Spesifisitas: Penambahan 1000 mIU/mL LH, 1000 mIU/mL FSH dan 1000 mIU/mL TSH tidak berpengaruh pada hasil pemeriksaan.

### Deskripsi

*Venereal disease research laboratory* (VDRL) adalah tes immunoasai untuk sifilis yang disebabkan oleh spirochaeta *Treponema pallidum*, penyakit ini ditransmisikan melalui hubungan seksual. Antigen yang digunakan dalam tes ini adalah cardiolipin, yang merupakan lipoidal yang diambil dari jantung sapi dan bukan tes spesifik, oleh sebab itu tes ini diklasifikasikan sebagai uji non-spesifik atau non-treponemal.

Pemeriksaan VDRL berguna untuk mendeteksi sifilis primer 1 sampai 3 minggu setelah adanya lesi primer dan untuk mendeteksi sifilis sekunder. Hasil pemeriksaan VDRL dapat memberikan hasil negatif pada fase infeksi awal sifilis atau dapat menghasilkan positif palsu karena penyakit akut atau kronis lainnya. Jika hasil pemeriksaan VDRL negatif, uji VDRL mingguan disarankan. Pemeriksaan RPR dapat digunakan terlebih dahulu sebagai uji skrining.

Berbagai macam immunoasai selain VDRL yang umum digunakan untuk menegakan diagnosis di Indonesia diantaranya adalah *Rapid Plasma Reagin* (RPR), *Treponema pallidum Hemagglutination* (TPHA) dan ELISA *Treponema pallidum*.

### Metode

Presipitasi.

## Prinsip

Riagin yang ada pada pasien terinfeksi *T. pallidum* dideteksi dalam serum dengan reaksinya dengan antigen kardiolipin yang dimurnikan dan distabilkan. Jika sampel mengandung reagin maka akan mengikat antigen yang menghasilkan flokulasi yang dapat dilihat di bawah mikroskop. Reaksi non-spesifik dihindari dengan menggunakan antigen yang dimurnikan dan penambahan kloridakolin yang khas dari teknik *Unheated Serum Reagin* (USR) dimana inaktivasi sampel tidak diperlukan.

## Tujuan

1. Mendeteksi keberadaan *Treponema pallidum*.
2. Skrining sifilis primer 1 sampai 3 minggu setelah muncul lesi primer.

## Nilai Rujukan

Dewas : *Nonreaktif*.

Anak : *Nonreaktif*.

## Nonreaktif

- **Negatif**

Tidak mengidap penyakit sifilis.

- **Negatif palsu**

Tahap sifilis primer awal dan tahap sifilis tersier.

## Reaktif

- **Positif**

Mengidap penyakit sifilis (terdapat mikroorganisme *T. pallidum*).

- **Positif palsu**

Kembali ke nonreaktif dalam waktu 6 bulan : tuberkulosis, pneumonia, mononukleosis subakut, lepra.

Positif palsu terjadi lebih dari 6 bulan (kronis) : malaria, tiroiditis Hashimoto, artritis rheumatoid, sklerosis sistemik progresif, lupus eritematosus sistemik, hepatitis.

## Spesimen

Serum atau hindari kontaminasi bakteri dan tidak hemolitik. Spesimen dapat stabil selama:

- Beberapa hari pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- Waktu yang lama pada suhu -20<sup>o</sup> C.

## Alat dan Reagen

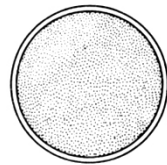
1. Slide tes.
2. Mikropipet 50 µL.
3. Rotator.
4. Reagen VDRL.
5. Kontrol positif.
6. Kontrol negatif.

## Prosedur

1. Sebarkan satu tetes (50  $\mu$ L) sampel pada slide, kontrol positif dan kontrol negatif pada bagian lain slide.
2. Kocok reagen dan tambahkan satu pada sampel yang diuji dan kontrol.
3. Putar slide selama 8 menit pada 100 rpm.
4. Periksa secara makroskopik dengan baik ada tidaknya agregat pada tengah atau pinggiran slide.
5. Positif akan menunjukkan agregat hitam besar.
6. Sampel negatif memberikan hasil abu-abu halus.



Reaktif



Non-reaktif

## Limitasi

Kesamaan dengan semua tes reagen, antigen Karbon VDRL dapat memberikan sebagian kecil hasil positif palsu. Reaksi semacam itu bisa disebabkan oleh penyakit seperti mononucleosis infeksius, lepra, lupus eritematosus, virus pneumonia dan vaccinia.

## WIDAL

### Deskripsi

Pemeriksaan Widal merupakan uji aglutinasi yang menggunakan suspensi kuman *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* sebagai antigen untuk mendeteksi antibodi terhadap *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* pada serum pasien.

Pasien yang terinfeksi *Salmonella* menghasilkan antibodi terhadap antigen organisme. Antibodi dalam serum, yang dihasilkan sebagai respons terhadap paparan terhadap organisme *Salmonella* akan mengaglutinasi suspensi bakteri yang membawa antigen homolog. Prinsip ini menjadi dasar uji Widal. Organisme yang menyebabkan demam enterik memiliki dua antigen utama yaitu antigen somatik (O) dan antigen flagela (H) bersamaan dengan antigen permukaan lainnya. Selama infeksi dengan bakteri typhoid atau paratyphoid, antibodi terhadap antigen flagela dari *S. typhi* (H), *S. paratyphi* A (AH), *S. paratyphi* B (BH), *S. paratyphi* C (CH) dan Antigen Somatik *S. typhi* (O), *S. paratyphi* A (AO), *S. paratyphi* B (BO), *S. paratyphi* C (CO) yang biasanya terdeteksi dalam darah setelah 6 hari terinfeksi.

Pemilihan antigen untuk pemeriksaan Widal, dianjurkan untuk memakai antigen yang dibuat sendiri dari beberapa strain yang berada di daerah endemis yang bersangkutan daripada antigen baku yang dijual dipasaran apalagi yang didapat dari negara lain, karena dinilai kurang sensitif dan spesifik.

## Metode

Aglutinasi.

## Prinsip

Antigen *Salmonella* adalah suspensi standar dari bakteri yang diwarnai untuk deteksi cepat dan semi kuantitatif antibodi serum selama infeksi akut. Aglutinasi akan terbentuk dengan adanya antibodi homolog pada serum pasien.

## Tujuan

1. Skrining pemeriksaan *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*.
2. Menegakan diagnosis penyakit demam tifoid.

## Nilai Rujukan

Dewas : Negatif.

Anak : Negatif.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

*Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

Kloramfenikol.

## Spesimen

Serum. Spesimen dapat stabil selama:

- 7 hari pada suhu 2-8<sup>0</sup> C.
- Spesimen harus bebas kontaminasi, hemolitik dan lipemik.

## Alat dan Reagen

1. Mikropipet.
2. Larutan salin.
3. Rotator.
4. Reagen widal.
5. Slide.
6. Kontrol positif.
7. Kontrol negatif.

## Prosedur

### Uji kualitatif

1. Bawa reagen dan sampel ke suhu ruangan.
2. Tambahkan 50 µL atau 1 tetes sampel pada setiap lingkaran slide yang di beri label O, AO, BO, CO, H, AH, BH dan CH.
3. Tambahkan 50 µL atau 1 tetes masing-masing kontrol positif dan negatif pada lingkaran terpisah pada slide.



4. Tambahkan suspensi antigen dari *S. typhi* (H), *S. paratyphi* A (AH), *S. paratyphi* B (BH), *S. paratyphi* C (CH), *S. typhi* (O), *S. paratyphi* A (AO), *S. paratyphi* B (BO), *S. paratyphi* C (CO) kelengkapan yang telah diberi label.
5. Campur dengan pipet atau dengan pengaduk. Gunakan pengaduk baru untuk setiap lingkaran slide.
6. Putar slide pada 100 rpm selama 2 menit.
7. Amati ada tidaknya aglutinasi pada masing-masing lingkaran slide.

### Uji Semi-Kuantitatif

1. Pipet serum pasien ke dalam 5 lingkaran slide.

Lingkaran 1	80 µL
Lingkaran 2	40 µL
Lingkaran 3	20 µL
Lingkaran 4	10 µL
Lingkaran 5	5 µL

2. Tambahkan 1 tetes suspensi antigen pada masing-masing lingkaran.
3. Campur dengan pipet atau dengan pengaduk.
4. Putar slide pada 100 rpm selama 2 menit.
5. Aglutinasi di salah satu lingkaran menunjukkan hasil sebagai berikut:

80 µL	1:20
40 µL	1:40
20 µL	1:80
10 µL	1:160
5 µL	1:320

### Limitasi

1. Hasil negatif palsu dapat ditemukan pada tahap awal penyakit serta pada kasus kekebalan tidak responsif dan terapi antibiotik.
2. Hasil negatif somatik (O) palsu dapat terjadi pada pasien tifoid yang telah diobati dengan kloramfenikol.
3. Sensitifitas tes dapat berkurang pada suhu rendah. Hasil terbaik dicapai di +10°C.
4. Di beberapa daerah geografis dengan prevalensi antibodi demam tinggi, disarankan bahwa sampel diencerkan 1/4 dalam salin 0,9%.

# HBsAg

## Deskripsi

Viral Hepatitis adalah penyakit sistemik yang melibatkan hati. Sebagian besar kasus virus hepatitis akut ditemukan pada anak-anak dan orang dewasa disebabkan oleh virus Hepatitis A (*Hepatitis A virus*, HAV), virus Hepatitis B (*Hepatitis B virus*, HBV) atau virus Hepatitis C (*Hepatitis C virus*, HCV). Hepatitis B ditemukan oleh Blumberg, dkk. Antigen kompleks yang dikenal sebagai antigen permukaan Hepatitis B (*Hepatitis B surface antigen*, HBsAg) yang ditemukan pada permukaan HBV adalah bagian yang pertamakali terdeteksi kehadiran HBsAg dalam sampel serum menunjukkan adanya infeksi HBV aktif, baik akut maupun kronis. Pada infeksi HBV yang khas, HBsAg akan terdeteksi 2 sampai 4 minggu sebelum tingkat transaminase menjadi tidak normal dan 3 sampai 5 minggu sebelum pasien mengalami gejala atau menjadi kuning. HBsAg memiliki empat subtipe utama: adw, ayw, ard, dan ayr. Karena heterogenitas antigenik penentu virus, ada 10 serotipe utama HBV.

## Metode

Imunokromatografi.

## Prinsip

Serum yang mengandung HBsAg akan membentuk kompleks dengan konjugat anti-HBsAg koloid emas pada membran, cairan akan bermigrasi melalui membran nitroselulosa. Daerah uji (T) dilapisi dengan antibodi anti-HBsAg dan daerah

kontrol (C) dilapisi antibodi IgG terhadap konjugat anti-HBsAg koloid emas yang terimobilisasi. HBsAg - anti-HBsAg koloid emas akan bergerak secara kromatografi menuju daerah T membentuk kompleks anti-HBsAg - HBsAg - anti-HBsAg koloid emas sehingga membentuk garis warna. Konjugat anti-HBsAg koloid emas yang tidak berikatan dengan HBsAg (sisa anti-HBsAg koloid emas) akan termobilisasi sampai daerah C dan membentuk kompleks antibodi IgG - anti-HBsAg koloid emas sehingga selalu membentuk garis yang berwarna.

## Tujuan

1. Menentukan keberadaan virus Hepatitis B dalam darah pasien.
2. Mendeteksi keberadaan hepatitis B dalam darah pendonor.

## Nilai Rujukan

Dewasa : Negatif.

Anak : Negatif.

## Peningkatan Kadar (Positif)

- **Masalah Klinis**

Hepatitis B, hepatitis B kronis. *Kurang umum*: Hemofilia, sindrom Down, penyakit Hodgkin, leukemia.

- **Obat**

Ketergantungan obat.

## Penurunan Kadar

- Masalah Klinis

-

- Obat

-

## Spesimen

Serum atau plasma (EDTA, sitrat atau heparin). Spesimen dapat stabil selama:

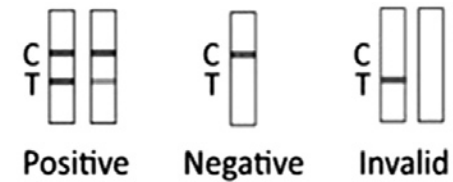
- 30 menit pada suhu ruangan.
- 48 jam pada suhu 2-8°C.
- Lebih dari 1 tahun pada suhu -20°C.

## Alat dan Reagen

1. Kit HBsAg.
2. Pipet tetes.

## Prosedur

1. Bawa kit dan spesimen pada suhu kamar.
2. Tambahkan 3 – 4 tetes (~100 µL) serum atau plasma pada daerah sampel.
3. Biarkan 10 sampai 15 menit, amati ada tidaknya warna yang terbentuk pada daerah uji (T) dan kontrol (C). Jangan baca hasil lebih dari 30 menit.
4. Hasil positif ditandai dengan dua garis warna pada daerah T dan C, sedangkan hasil negatif terbentuk garis berwarna pada daerah C.



## Limitasi

1. Tes ini merupakan tes skrining kualitatif dan bukan untuk penentuan kuantitatif antibodi, sehingga tidak ada kaitan intensitas warna atau lebar garis dengan hasil pemeriksaan.
2. Hasil positif harus dikonfirmasi dengan prosedur diagnostik dan data klinis pasien.
3. Hasil negatif tidak menutup kemungkinan infeksi Hepatitis B, kondisi tersebut disebabkan karena kadar HBsAg rendah yang umumnya ditemukan pada awal infeksi.

## Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas: 98,84%.
2. Spesifisitas: 98,94%.
3. Akurasi: 98,91%.

## TUBEX TF

### Deskripsi

Tubex TF adalah tes diagnostik in vitro semikuantitatif yang didasarkan pada deteksi adanya antibodi anti-O9 *Salmonella typhi* IgM dalam serum pasien. Jika hasil uji tubex positif maka menunjukkan terdapat infeksi Salmonella serogroup D walaupun tidak secara spesifik menunjukkan pada *S. typhi*, sedangkan jika hasil uji tubex negatif kemungkinan menunjukkan terdapat infeksi oleh *S. paratyphi* atau penyakit lain.

*Salmonella typhi* adalah bakteri penyebab penyakit demam menular melalui air dan makanan yang dikenal dengan demam tifoid. Penyakit ini endemik di sebagian besar wilayah Asia, Afrika dan Amerika Tengah dan Selatan, dan kadang-kadang juga menyebabkan epidemi. Diagnosis baku emas (*gold standard*) dilakukan dengan isolasi *S. typhi* dari sumsum tulang, darah, atau tinja. Sehingga pemeriksaan tersebut dinilai tidak praktis, memakan waktu, dan bahkan tidak mungkin tanpa fasilitas laboratorium.

### Metode

IMBI (*Inhibition Magnetic Binding Immunoassay*).

### Prinsip

Antibodi anti-O9 pada serum pasien menghambat reaksi antara antigen-berlapis warna coklat dan antibodi-berlapis warna biru. Tingkat penghambatan sebanding dengan konsentrasi antibodi anti-O9 dalam sampel. Pemisahan dilakukan dengan daya magnet, hasil dibaca secara visual terhadap skala warna.

### Tujuan

1. Mendeteksi keberadaan antibodi terhadap *Salmonella typhi*.
2. Skrining pemeriksaan *Salmonella typhi*.

### Nilai Rujukan

Dewasa: Negatif.

Anak: Negatif.

### Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**  
*Salmonella typhi*.
- **Obat**  
-

### Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**  
-
- **Obat**  
-

### Spesimen

Serum atau plasma heparin. Spesimen dapat stabil selama:

- 48 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup>C.
- Dalam waktu yang cukup lama jika serum dibekukan.
- Spesimen harus bebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipemik.

## Alat dan Reagen

1. Kit TUBEX TF.
2. Mikropipet (90 µL, 45 µL).
3. Rotator.

## Prosedur

1. Bawa reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Kocok reagen TUBEX hingga homogen.
3. Pipet 45µL reagen coklat, masukan kedalam sumur reaksi pertama, kedua dan ketiga.
4. Tambahkan 45µL sampel pasien pada sumur pertama, kontrol positif pada sumur kedua dan kontrol negatif pada sumur ketiga. Lakukan pencampuran dengan 10 kali pemipetan.
5. Inkubasi selama 2 menit.
6. Tambahkan 90 µL reagen biru.
7. Tutup sumur reaksi dengan perekat yang telah disediakan dalam kit.
8. Miringkan dan goyang sumur reaksi selama 2 menit.
9. Simpan sumur reaksi pada bagian atas skala warna TUBEX yang telah disediakan dalam kit.
10. Biarkan selama 5 menit hingga terjadi pemisahan.
11. Baca dan nilai hasil reaksi dengan membandingkan warna supernatan pada skala warna TUBEX.
12. Hasil dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

Skor	Petunjuk Interpretasi
≤2	Negatif : tidak mengindikasikan infeksi demam tifoid. Kontrol negatif.
3	<i>Borderline</i> : lakukan analisis ulang. Jika masih <i>borderline</i> , lakukan pemeriksaan ulang setelah 2 sampai 3 hari pemeriksaan.
4	Positif lemah : indikasi infeksi demam tifoid.
6 - 10	Positif kuat : indikasi kuat infeksi demam tifoid. Kontrol positif.

## Limitasi

1. TUBEX TF dapat berikatan dengan antibodi IgG fase pemulihan.
2. Tidak mampu mendeteksi antibodi IgM dalam konsentrasi yang rendah walau hasil kultur positif seperti pada awal infeksi.
3. Penggunaan plasma EDTA dan sitrat dapat menyebabkan hasil positif palsu.
4. Homogenisasi yang tidak baik dapat menyebabkan hasil positif palsu.

## Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas: 95%.
2. Spesifisitas: 80%.

# C-REACTIVE PROTEIN

## Deskripsi

Protein C-reaktif (*C-reactive protein*, CRP) adalah protein fase akut yang disintesis oleh hepatosit dan disirkulasikan dalam darah. CRP mendapat namanya pada tahun 1930 pada saat Tillet dan Francis menemukan protein dalam serum pasien dengan pneumonia yang membentuk kompleks dengan C-polisakarida pneumokokus.

CRP dalam kondisi normal terdapat dalam jumlah sedikit dalam darah, kadarnya meningkat 1000 kali lipat sebagai respon terhadap cedera atau infeksi. Waktu tinggal CRP dalam darah berkisar 6 sampai 10 jam setelah respon inflamasi akut dan destruksi jaringan, kadarnya memuncak setelah 48 jam sampai 72 jam. Oleh sebab itu, CRP merupakan salah satu protein yang biasa disebut reaktan fase akut dan memberikan indikator yang sangat sensitif terhadap kondisi peradangan, infeksi dan keadaan penyakit lainnya dimana nekrosis jaringan terjadi. Kadar CRP meningkat selama infeksi bakteri, tetapi tidak pada infeksi virus.

Pemeriksaan CRP dapat dilakukan dengan teknik presipitasi kapiler, imunodifusi ganda, imunodifusi radial dan yang paling umum dilakukan dengan cara aglutinasi-lateks karena dinilai lebih cepat pengerjaannya. CRP merupakan uji nonspesifik, pemeriksaan ini serupa dengan pemeriksaan Laju Endap Darah (LED). CRP mampu mendeteksi inflamasi dan nekrosis lebih awal dibandingkan LED.

## Metode

Aglutinasi direk.

## Prinsip

Uji CRP-lateks adalah uji aglutinasi slide. Partikel lateks dilapisi IgG anti-human CRP. Saat reagen lateks dicampur dengan serum yang mengandung CRP, maka akan terbentuk aglutinasi.

## Tujuan

1. Mengkaitkan peningkatan titer CRP dengan proses inflamasi akut.
2. Sebagai pembandingan dengan temuan uji laboratorium yang lain.

## Nilai Rujukan

Dewasa: Kualitatif Negatif; Semi-Kuantitatif titer < 1/2.

Anak: Negatif

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

AR, demam rematik, MCI akut, penyakit vaskular perifer pada otak, ginjal dan ekstremitas, kanker (payudara dan metastasisnya), penyakit inflamasi usus, penyakit Hodgkin, SLE, infeksi bakteri, masa kehamilan trimester akhir, alat kontrasepsi intrauterus.

- **Obat**

Kontraseptif oral.

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum. CRP dapat stabil dalam spesimen serum selama:

- 48 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- Dalam waktu yang cukup lama jika serum dibekukan.
- Spesimen harus bebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipemik.

## Alat dan Reagen

1. Reagen CRP-lateks.
2. Kontrol positif (CRP 6 mg/dL).
3. Kontrol negatif.
4. Salin 0,9%.
5. Pipet.
6. Batang pengaduk.
7. Slide aglutinasi.
8. Mikropipet 100 µL.
9. Rotator.
10. *Stopwatch*.

## Prosedur

### Uji Kualitatif

1. Bawa reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Pipet 1 tetes kontrol positif pada posisi kiri slide, 1 tetes kontrol negatif pada posisi tengah slide dan 1 tetes sampel pada posisi kanan slide.
3. Goyangkan dengan lembut reagen lateks agar partikel homogen.
4. Tambahkan satu tetes reagen lateks menggunakan pipet yang disediakan ke masing-masing lingkaran yang diperlukan pada slide.

	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Pemeriksaan
Kontrol positif	1 tetes		
Kontrol negatif		1 tetes	
Serum			1 tetes
Reagen CRP	1 tetes	1 tetes	1 tetes

5. Sebarkan reagen dan sampel serum ke seluruh area lingkaran uji menggunakan pengaduk berbeda untuk setiap lingkaran slide.
6. Perlahan miringkan slide tes ke belakang dan ke depan kira-kira sekali dalam dua detik selama dua menit atau menggunakan rotator dengan kecepatan 100 rpm.
7. Interpretasikan hasilnya segera setelah 2 menit. Perpanjangan inkubasi akan menyebabkan hasil palsu.

### Uji Semi-Kuantitatif

1. Pipet menggunakan mikropipet sebanyak 100 µL larutan salin 0,9% dalam lingkaran 2, 3, 4 dan 5.
2. Tambahkan 100 µL serum pasien yang diperiksa pada lingkaran 1 dan 2.
3. Campur salin dan sampel pada lingkaran 2 dengan batang pengaduk, hindari terbentuknya gelembung.
4. Pindahkan 100 µL dari lingkaran 2 ke lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial (berulang) dengan cara sama sampai lingkaran terakhir, buang 100 µL setelah lingkaran terakhir.
6. Uji setiap pengenceran yang dijelaskan pada langkah 3 sampai 7 untuk pemeriksaan kualitatif.

Lingkaran	2	3	4	5
Pengenceran	1/2	1/4	1/8	1/16
Serum	100 µL	-	-	-
Salin	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Aduk hingga homogen				
	100 µL ke lingkaran 3	100 µL ke lingkaran 4	100 µL ke lingkaran 5	100 µL dibuang
Titer spesimen	2	4	8	16
mg/L	12	24	48	96

7. Titer serum dilaporkan pengenceran tertinggi yang menunjukkan hasil positif (aglutinasi). Perkiraan konsentrasi CRP dalam spesimen dinyatakan dalam mg/L dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{CRP mg/L} = \text{mg/L kontrol} \times \text{titer spesimen}$$

### Limitasi

1. Hasil positif palsu dapat terjadi jika pembacaan lebih dari 2 menit.
2. Reagen yang beku memberikan hasil positif palsu.
3. Negatif palsu ditemukan pada fenomena prozone, sehingga hasil negatif perlu dilakukan tes ulang dengan pengenceran 1:10 menggunakan salin 0,9%.

### Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas analitis: 6 (5-10 mg/L).
2. Efek prozone: Tidak ada efek prozone yang terdeteksi hingga 1.600mg/L.
3. Sensitivitas Diagnostik: 95,6%.
4. Spesifisitas Diagnostik: 96,2%.



# RHEUMATOID FACTOR

## Deskripsi

Faktor reumatoid (*rheumatoid factor*, RF) merupakan protein abnormal yang terdapat pada pasien artritis reumatoid (*rheumatoid arthritis*, RA), protein abnormal tersebut berasal dari kelompok IgM yang paling mendominasi serta kelompok IgG, IgA dan IgE. Immunoglobulin tersebut bersifat autoantibodi pada bagian Fc IgG manusia sehingga disebut faktor reumatoid.

Peningkatan kadar RF tidak ditemukan pada penyakit sendi lain seperti osteoarthritis, *ankylosing spondylitis*, gout, demam rematik, artritis supuratif, artritis psoriatik, artritis kolitis dan sindrom Reiter. Karena spesifisitas yang tinggi, pendeteksian RF sangat berguna sebagai indikator RA. RF terdeteksi pada 60% sampai 80% kasus RA.

Pemeriksaan RF adalah uji skrining yang digunakan untuk mendeteksi antibodi (IgM, IgG IgA atau IgE) yang ditemukan dalam serum yang menderita artritis reumatoid (*rheumatoid arthritis*, RA). Pemeriksaan RF dapat dilakukan dengan metode presipitasi kapiler, radioimunoasai, nefelometri dan uji aglutinasi.

## Metode

Agglutinasi direk.

## Prinsip

Uji RF-lateks adalah uji aglutinasi slide cepat untuk deteksi langsung dan semikuantitatif faktor reumatoid dalam serum. Antigen yang merupakan partikulat suspensi lateks dilapisi dengan gamma-globulin manusia, agglutinat terbentuk dengan adanya faktor reumatoid pada serum pasien.

## Tujuan

1. Skrining terhadap antibodi IgM, IgG atau IgA yang ada dalam tubuh klien, yang kemungkinan menderita artritis reumatoid.
2. Membantu mendiagnosis artritis reumatoid.
3. Membandingkan hasil uji dalam kaitannya dengan uji laboratorium lainnya, guna mendiagnosis artritis reumatoid.

## Nilai Rujukan

Dewasa : Kualitatif Negatif; Semi-Kuantitatif titer < 1/2.

Anak : Negatif.

Lansia : Sedikit meningkat.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Artritis reumatoid (*rheumatoid arthritis*), lupus eritematosus, dermatomiositis, skleroderma, mononukleosis infeksius, tuberkulosis, leukemia, sarkoidosis, sirosis hati, hepatitis, sifilis, infeksi kronis, lansia.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

-

## Spesimen

Serum. RF dapat stabil dalam spesimen serum selama:

- 48 jam pada suhu 2-8°C.
- Dalam waktu yang cukup lama jika serum dibekukan.
- Spesimen harus bebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipemik.

## Alat dan Reagen

1. Rotator 100 rpm.
2. Slide atau kartu aglutinasi.
3. Spesimen.
4. Mikropipet 50 µL.
5. Batang pengaduk.
6. Salin 0,9%.
7. Reagen RF-lateks.
8. Kontrol positif (RF 8 IU/mL).
9. Kontrol negatif.

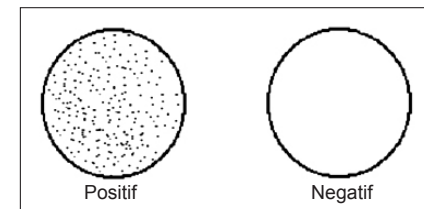
## Prosedur

### Uji Kualitatif

1. Bawa reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Pipet 1 tetes kontrol positif RF pada posisi kiri slide, 1 tetes kontrol negatif RF pada posisi tengah slide dan 1 tetes sampel pada posisi kanan slide.
3. Kocok (resuspensi) reagen RF-lateks hingga homogen.
4. Tambahkan satu tetes reagen lateks pada kontrol positif RF, kontrol negatif RF dan sampel.

	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Pemeriksaan
Kontrol positif	50 µL		
Kontrol negatif		50 µL	
Serum			50 µL
Reagen RF	1 tetes	1 tetes	1 tetes

5. Campur dengan pengaduk sekali pakai dan ratakan seluruh area di dalam lingkaran. Gunakan pengaduk baru untuk setiap sampel.
6. Putar kartu pada 100 rpm selama 2 menit. Amati ada tidaknya aglutinasi.
7. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya butiran-butiran warna putih (aglutinasi) dan hasil negatif ditandai dengan suspensi berwarna putih susu.



### Uji Semi-Kuantitatif

1. Pipet menggunakan mikropipet sebanyak 50 µL larutan salin 0,9% dalam lingkaran 2, 3, 4 dan 5.
2. Tambahkan 50 µL serum pasien yang diperiksa pada lingkaran 1 dan 2.
3. Campur salin dan sampel pada lingkaran 2 dengan batang pengaduk, hindari terbentuknya gelembung.
4. Pindahkan 50 µL dari lingkaran 2 ke lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial (berulang) dengan cara sama sampai lingkaran terakhir, buang 50 µL setelah lingkaran terakhir.

Lingkaran	2	3	4	5
Pengenceran	1/2	1/4	1/8	1/16
Serum	50 µL	-	-	-
Salin	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Aduk hingga homogen				
	50 µL ke lingkaran 3	50 µL ke lingkaran 4	50 µL ke lingkaran 5	50 µL dibuang
Titer spesimen	2	4	8	16
mg/L	12	24	48	96

6. Uji setiap pengenceran yang dijelaskan pada langkah 3 sampai 7 untuk pemeriksaan kualitatif.
7. Titer serum dilaporkan pengenceran tertinggi yang menunjukkan hasil positif (aglutinasi). Perkiraan konsentrasi RF dalam spesimen dinyatakan dalam IU/mL dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{RF IU/mL} = \text{IU/mL kontrol} \times \text{titer spesimen}$$

### Limitasi

1. Hasil positif palsu dapat terjadi jika pembacaan lebih dari 2 menit.
2. Adanya prozone pada titer tinggi belum pernah ditemui.
3. Peningkatan kadar RF bisa terjadi pada beberapa penyakit selain artritis reumatoid seperti mononukleosis infeksius, sarkosis, lupus eritematosus, sindrom Sjogren's.
4. Pasien dengan artritis reumatoid tertentu tidak memiliki RF dalam serum.
5. Diagnosis tidak boleh hanya didasarkan pada hasil tes ini tetapi harus dilengkapi dengan yang lain (yaitu RF-Waaler Test) bersamaan dengan pemeriksaan klinis.
6. Kejadian hasil positif pada serum dari individu yang tampaknya sehat adalah 3 - 5%.

### Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas analitis: 8 (6-16 IU/mL).
2. Efek prozone: Tidak ada efek prozone yang terdeteksi hingga 800 IU/mL.
3. Sensitivitas Diagnostik: 100%.
4. Spesifisitas Diagnostik: 98,8%.

# ANTISTREPTOLYSIN O

## Deskripsi

Streptokokus  $\beta$ -hemolitik grup A menghasilkan berbagai macam toksik yang bersifat antigenik. Salah satu eksotoksin yaitu Streptolisin O yang ditemukan oleh Todd pada tahun 1932. Seseorang yang terinfeksi Streptokokus  $\beta$ -hemolitik grup A menghasilkan antibodi spesifik terhadap streptolisin O yang disebut antistreptolisin O (ASTO atau ASO). Peningkatan kadar titer ASTO menunjukkan keberadaan streptokokus dan dapat menyebabkan demam rematik atau glomerulonefritis akut. Peningkatan titer ASTO juga dapat menandakan infeksi streptokokus yang baru saja terjadi.

ASTO muncul sekitar 1 sampai 2 minggu setelah infeksi streptokokus akut, puncak kadar ASTO terjadi pada 3 dan 4 minggu, dan tetap tinggi selama berbulan-bulan.

## Metode

Aglutinasi direk.

## Prinsip

Partikel lateks dilapisi dengan streptolysin O, sampel yang mengandung antibodi ASTO akan membentuk aglutinasi.

## Tujuan

1. Membantu memastikan efek streptokokus  $\beta$ -hemolitikus dalam mensekresi enzim streptolisin O.

2. Mengidentifikasi pasien yang rentan terhadap gangguan autoimun spesifik seperti penyakit kolagen.

## Nilai Rujukan

Batas normal bervariasi sesuai dengan usia, musim, dan wilayah geografis.

Dewasa: Kualitatif Negatif; Semi-Kuantitatif titer < 1/2.

Anak: Negatif.

## Peningkatan Kadar

- **Masalah Klinis**

Demam rematik akut, glomerulonefritis akut, infeksi streptokokus pada saluran pernafasan atas, artritis reumatoid, penyakit hati disertai dengan hiperglobulinemia, penyakit kolagen.

- **Obat**

-

## Penurunan Kadar

- **Masalah Klinis**

-

- **Obat**

Antibiotik.

## Spesimen

Serum. ASTO dapat stabil dalam spesimen serum selama:

- 48 jam pada suhu 2-8<sup>o</sup> C.
- Dalam waktu yang cukup lama jika serum dibekukan.
- Spesimen harus bebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipemik.

## Alat dan Reagen

1. Rotator 100 rpm.
2. Slide atau kartu aglutinasi.
3. Spesimen.
4. Mikropipet 50 µL.
5. Batang pengaduk.
6. Salin 0,9%.
7. Reagen ASTO-lateks.
8. Kontrol positif (ASTO 200 IU/mL).
9. Kontrol negatif.

## Prosedur

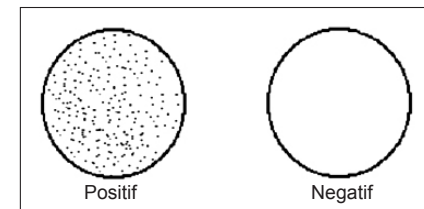
### Uji Kualitatif

1. Bawa reagen dan spesimen pada suhu kamar.
2. Pipet 1 tetes kontrol positif ASTO pada posisi kiri slide, 1 tetes kontrol negatif ASTO pada posisi tengah slide dan 1 tetes sampel pada posisi kanan slide.
3. Kocok (resuspensi) reagen ASTO -lateks hingga homogen.

- 4) Tambahkan satu tetes reagen lateks pada kontrol positif ASTO, kontrol negatif ASTO dan sampel.

	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Pemeriksaan
Kontrol positif	50 µL		
Kontrol negatif		50 µL	
Serum			50 µL
Reagen ASTO	1 tetes	1 tetes	1 tetes

5. Campur dengan pengaduk sekali pakai dan ratakan seluruh area di dalam lingkaran. Gunakan pengaduk baru untuk setiap sampel.
6. Putar kartu pada 100 rpm selama 2 menit. Amati ada tidaknya aglutinasi.
7. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya butiran-butiran warna putih (aglutinasi) dan hasil negatif ditandai dengan suspensi berwarna putih susu.



### Uji Semi-Kuantitatif

1. Pipet menggunakan mikropipet sebanyak 100 µL larutan salin 0,9% dalam lingkaran 2, 3, 4 dan 5.
2. Tambahkan 100 µL serum pasien yang diperiksa pada lingkaran 1 dan 2.
3. Campur salin dan sampel pada lingkaran 2 dengan batang pengaduk, hindari terbentuknya gelembung.

4. Pindahkan 100 µL dari lingkaran 2 ke lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial (berulang) dengan cara sama sampai lingkaran terakhir, buang 100 µL setelah lingkaran terakhir.
6. Uji setiap pengenceran yang dijelaskan pada langkah 3 sampai 7 untuk pemeriksaan kualitatif.

Lingkaran	2	3	4	5
Pengenceran	1/2	1/4	1/8	1/16
Serum	50 µL	-	-	-
Salin	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Aduk hingga homogen				
	50 µL ke lingkaran 3	50 µL ke lingkaran 4	50 µL ke lingkaran 5	50 µL dibuang
Titer spesimen	2	4	8	16
IU/mL	12	24	48	96

7. Titer serum dilaporkan pengenceran tertinggi yang menunjukkan hasil positif (aglutinasi). Perkiraan konsentrasi ASTO dalam spesimen dinyatakan dalam IU/mL dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{ASTO IU/mL} = \text{IU/mL kontrol} \times \text{titer spesimen}$$

### Limitasi

1. Hasil positif palsu dapat terjadi jika pembacaan lebih dari 2 menit.
2. Adanya prozone pada titer tinggi belum pernah ditemui.
3. Hasil positif palsu terjadi pada kondisi artritis reumatoid, demam scarlet, tonsilitis, beberapa infeksi streptokokus.

- 4) Hasil negatif palsu terjadi pada kondisi infeksi dini dan anak-anak umur 6 bulan sampai 2 tahun.

### Karakteristik Pemeriksaan

1. Sensitivitas analitis: 200 IU/mL.
2. Efek prozone: Tidak ada efek prozone yang terdeteksi hingga 1500IU/mL.
3. Sensitivitas Diagnostik: 98%.
4. Spesifisitas Diagnostik: 97%.

## Biodata Pengarang



**Gilang Nugraha, S.Si., M.Si.** lahir di Serang pada Juli 1990. Penulis menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Analisis Kesehatan di Sekolah Tinggi Analisis Kesehatan Bakti Asih Bandung pada tahun 2011 dan menyelesaikan pendidikan Sarjana bidang Biomedik di Universitas Nasional pada tahun 2013. Karena ingin fokus pada

bidang Laboratorium Klinik, penulis mengambil pendidikan Magister Kedokteran Laboratorium pada program studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga Surabaya dan selesai pada tahun 2016. Penulis mengawali karirnya sebagai Analisis Kesehatan di RSIA Limijati Bandung pada tahun 2011-2012, lalu ditunjuk untuk menjadi asisten dosen di STA Bakti Asih Bandung pada tahun 2013 dan dilanjutkan di STIKes Rajawali Bandung pada tahun 2014. Selama di Surabaya, penulis diminta bantuan untuk mengajar D-IV Analisis Kesehatan di Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya dan saat ini penulis menjadi dosen tetap di institusi tersebut. Penulis juga pernah

menjadi dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Binawan Jakarta pada tahun 2017-2018. Selain itu, penulis aktif di organisasi profesi Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik (PATELKI), Himpunan Kimia Klinik Indonesia (HKKI) dan menjadi pengurus pusat di Persatuan Ahli Laboratorium Indonesia (PERKALINDO).



Imaduddin Badrawi, Amd. AK. lahir di Indramayu pada Desember 1986. Penulis menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan di Akademi Analis Kesehatan Bakti Asih Bandung pada tahun 2008. Penulis mengawali karirnya sebagai Analis Kesehatan di RSU Bhayangkara Losarang Indramayu pada

tahun 2008-2011 dan karirnya sebagai Analis Kesehatan di Lanjutkan di RSUD Pantura M. A. Sentot Patrol Kabupaten Indramayu pada tahun 2011 hingga sekarang. Penulis juga merangkap sebagai Analis Kesehatan di Laboratorium Klinik Praga Medika Indramayu dari tahun 2010 sampai sekarang. Selain aktif di bidang laboratorium, penulis juga aktif menulis dan mengelola blog serta *website* khusus informasi Laboratorium Medik pada laman [www.infolabmed.com](http://www.infolabmed.com) dan bergabung dengan tim *Cancer Genetics* pada halaman <https://cancergenetic.info/>. Penulis bergabung menjadi anggota aktif Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik (PATELKI) DPC Indramayu terhitung sejak tahun 2012 dan diangkat menjadi pengurus PATELKI DPC Indramayu sebagai Bendahara Umum dari tahun 2012-2016, sekarang diangkat sebagai Wakil Ketua PATELKI DPC Indramayu dari tahun 2017-2021.

## Daftar Pustaka

- ACON. (2015). *HBsAg EIA Test Kit Package Insert*. San Diego : ACON Laboratories.
- Architect. (2008). *HBsAg*. Ireland : Abbott Laboratories.
- Architect. (2009). *HBsAg Qualitative*. Ireland : Abbott Laboratories.
- Arlington Scientific. (2008). *RF Direct Slide Test* : Arlington Scientific.
- Arlington Scientific. (2011). *CRP Slide Test*. Springville : Arlington Scientific.
- Atlas Medical. (2014). *Prothrombin Time (PT)(Liquid Reagent)*. Cambridge : Atlas Medical.
- Atlas Medical. (2015). *Activated Partial Thromboplastin Time (PTT)(Liquid Reagent)*. Cambridge : Atlas Medical.
- Atlas Medical. (2015). *VDRL Antigen Test*. Cambridge : Atlas Medical.
- Atlas Medical. (2015). *Antistreptolysin-O (ASO) Latex Slide Test Kit*. Cambridge : Atlas Medical.



Atlas Medical. (2015). *Atlas C-Reactive Protein (CRP) Latex Kit*. Cambridge : Atlas Medical.

Bakta, I. M. (2014). *Hematologi Klinik Ringkas*. Jakarta : EGC.

Bennett, S.T., Lehman, C.M., Rodgers, G. M. (2015). *Laboratory Hemostasis A Practical Guide for Pathologist* (2<sup>nd</sup> ed). New York : Springer.

Bhat Bio Scan. (2012). *TYPHO (WIDAL) Slide Test Kit*. Karnataka : Bhat Bio – Tech India.

Biolabo. (2011). *Albumin BCG Method*. Maizy: Biolabo.

Biolabo. (2011). *ALT/TGP (IFCC) Single Vial*. Maizy: Biolabo.

Biolabo. (2011). *AST GOT (IFCC) Single Vial*. Maizy: Biolabo.

Biolabo. (2011). *Cholesterol CHOD PAP Method*. Maizy: Biolabo.

Biolabo. (2011). *Creatinine Kinetic Method*. Maizy: Biolabo.

Biolabo. (2011). *Glucosa GOD-PAP Liquid Ready for Use*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *HDL-Cholesterol (PTA) Precipitant*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *Total and Direct Bilirubin Sulfanilic Acid Method*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *Total Protein Biuret Method Ready for Use*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *Triglycerides GPO Method*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *Urea U.V. High Linearity Kinetic Method*. Maizy : Biolabo.

Biolabo. (2011). *Uric Acid Uricase Method*. Maizy : Biolabo.

Bishop, M. L., Fody, E.P., Schoeff, L.E. (2010). *Clinical Chemistry : Techniques, Principles, Correlations* (6<sup>th</sup> ed). Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.

Handojo, I. (2003). *Pengantar Imunoasai Dasar*. Surabaya : Airlangga University Press.

Handojo, I. (2004). *Imunoasai Terapan pada Beberapa Penyakit Infeksi*. Surabaya : Airlangga University Press.

IDL Blotech AB. (2012). *TUBEC TF Rapid Typhoid Detection*. Sweden : IDL Biotech AB

Jou, J. M., Lewis, S. M., Briggs, C., Lee, S. H., De La Salle, B., McFadden, S. (2011). *ICSH review of The Measurement of The Erythrocyte Sedimentation Rate*. Lab Hem 33 : 125-132.

Kaushansky, K., Lichtman, M. A., Prchal, J. T., Levi, M. M., Press, O. W., Burns, L. J., Caligiuri, M. A. (2016). *Williams Hematology* (9<sup>th</sup> ed). United States : McGraw-Hill Education.

Kee, J. L. (2007). *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik* (6<sup>th</sup> ed). Jakarta : EGC.

Keohane, E. M., Smith, L. J., Walenga, J. M. (2016). *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications* (5<sup>th</sup> ed). Canada : Elsevier.

Kitchen, S., Olson, J. D., Preston, F. E. (2013). *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis* (2<sup>rd</sup> ed). New Delhi : Wiley-Blachwell.

Kurniawan, F. B. (2016). *Hematologi Praktikum Analisis Kesehatan*. Jakarta : EGC.

Mindray. (2011). *ALP*. Shenzhen : Mindray.

- Mindray. (2011). *Gamma-Glutamyltransferase Kit (Szasz Method/IFCC Method)*. Germany : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics.
- Mindray. (2015). *Creatine Kinase Kit (IFCC Method)*. Germany : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics.
- Mindray. (2015). *Creatine Kinase-MB Kit (IFCC Method)*. Germany : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics.
- Nugraha, G. (2017). *Lipid : Klasifikasi, Metabolisme, Aterosklerosis dan Analisis Laboratorium*. Jakarta : Trans Info Media.
- Nugraha, G. (2017). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar (2<sup>nd</sup> ed)*. Jakarta : Trans Info Media.
- Oxoid. (2013). *VDTL Test Kit*. United State : Oxoid.
- Pagana, K. D., Pagana, T. J., Pagana, T.N. (2015). *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference (12th ed)*. United States : Elsevier.
- Rajawali Nusindo. (2008). *CK (NAC-act) Photometric UV-test for Determination of Creatinine Kinase, NAC-activated*. Jakarta : Rajawali Nusindo.
- Spectrum. (2007). *Widal Test (Salmonella Ab)*. Cairo : Egyptian Company for Biotechnology.
- Standar Diagnostics. (2017). *One Step of anti-HCV Test*. Gyonggi-do : Standar Diagnostics.
- Tulip Diagnostic. (2013). *Slide Test for Anti-Streptolysin O*. India : Tulip Group.