



Uhamka
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA

MODUL PRAKTIKUM HEMATOLOGI DASAR

Oktadio Erikardo, M.Biomed

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat dan petunjuk-Nya sehingga Modul Praktikum Hematologi Dasar dapat diselesaikan. Modul praktikum ini disusun guna memberikan petunjuk dan pegangan bagi mahasiswa Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medik yang akan melaksanakan Praktikum Hematologi Dasar.

Penyusun menyadari bahwa buku modul ini masih jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan. Untuk itu penyusun sangat mengharapkan kritik dan saran guna perbaikan Modul Praktikum Hematologi Dasar, dan nantinya untuk dapat lebih menyempurnakan.

Semoga Modul Praktikum Hematologi Dasar ini dapat bermanfaat adanya.

Jakarta, Maret 2023

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	2
DAFTAR ISI	3
TATA TERTIB PRAKTIKUM	6
DESKRIPSI MATA KULIAH PRAKTIKUM	7
PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL PRAKTIKUM	8
PRAKTIKUM 1: PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN METODE SAHLI	10
1. KOMPETENSI DASAR	10
2. INDIKATOR CAPAIAN	10
3. TUJUAN PRAKTIKUM	10
4. URAIAN TEORI	10
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	11
6. EVALUASI	11
7. SOAL LATIHAN	13
8. DAFTAR PUSTAKA	13
PRAKTIKUM 2: HITUNG JUMLAH LEUKOSIT	14
1. KOMPETENSI DASAR	14
2. INDIKATOR CAPAIAN	14
3. TUJUAN PRAKTIKUM	14
4. URAIAN TEORI	14
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	15
6. EVALUASI	19
7. SOAL LATIHAN	19
8. DAFTAR PUSTAKA	19
PRAKTIKUM 3: HITUNG JUMLAH ERITROSIT	20
1. KOMPETENSI DASAR	20
2. INDIKATOR CAPAIAN	20
3. TUJUAN PRAKTIKUM	20
4. URAIAN TEORI	20
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	21
6. EVALUASI	23
7. SOAL LATIHAN	24
8. DAFTAR PUSTAKA	24
PRAKTIKUM 4: HITUNG JUMLAH TROMBOSIT	25
1. KOMPETENSI DASAR	25
2. INDIKATOR CAPAIAN	25

3. TUJUAN PRAKTIKUM	25
4. URAIAN TEORI	25
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	26
6. EVALUASI	29
7. SOAL LATIHAN	29
8. DAFTAR PUSTAKA	29
PRAKTIKUM 5: LAJU ENDAP DARAH	30
1. KOMPETENSI DASAR	30
2. INDIKATOR CAPAIAN	30
3. TUJUAN PRAKTIKUM	30
4. URAIAN TEORI	30
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	31
6. EVALUASI	33
7. SOAL LATIHAN	33
8. DAFTAR PUSTAKA	34
PRAKTIKUM 6: HEMATOKRIT	35
1. KOMPETENSI DASAR	35
2. INDIKATOR CAPAIAN	35
3. TUJUAN PRAKTIKUM	35
4. URAIAN TEORI	35
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	36
6. EVALUASI	39
7. SOAL LATIHAN	39
8. DAFTAR PUSTAKA	40
PRAKTIKUM 7: INDEX ERITROSIT	41
1. KOMPETENSI DASAR	41
2. INDIKATOR CAPAIAN	41
3. TUJUAN PRAKTIKUM	41
4. URAIAN TEORI	41
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	42
6. EVALUASI	43
7. SOAL LATIHAN	45
8. DAFTAR PUSTAKA	44
PRAKTIKUM 8: HITUNG JENIS LEUKOSIT	45
1. KOMPETENSI DASAR	45
2. INDIKATOR CAPAIAN	45
3. TUJUAN PRAKTIKUM	45
4. URAIAN TEORI	45
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	46
6. EVALUASI	49
7. SOAL LATIHAN	50
8. DAFTAR PUSTAKA	50

PRAKTIKUM 9: HITUNG JUMLAH EOSINOFIL	51
<hr/>	
1. KOMPETENSI DASAR	51
2. INDIKATOR CAPAIAN	51
3. TUJUAN PRAKTIKUM	51
4. URAIAN TEORI	51
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	52
6. EVALUASI	53
7. SOAL LATIHAN	54
8. DAFTAR PUSTAKA	54
PRAKTIKUM 10: HITUNG RETIKULOSIT	55
<hr/>	
1. KOMPETENSI DASAR	55
2. INDIKATOR CAPAIAN	55
3. TUJUAN PRAKTIKUM	55
4. URAIAN TEORI	55
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	56
6. EVALUASI	60
7. SOAL LATIHAN	60
8. DAFTAR PUSTAKA	61
PRAKTIKUM 11: PEMERIKSAAN MORFOLOGI ERITROSIT	62
<hr/>	
1. KOMPETENSI DASAR	62
2. INDIKATOR CAPAIAN	62
3. TUJUAN PRAKTIKUM	62
4. URAIAN TEORI	62
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	63
6. EVALUASI	64
7. SOAL LATIHAN	65
8. DAFTAR PUSTAKA	65
PRAKTIKUM 12: HEMATOLOGY ANALYZER	66
<hr/>	
1. KOMPETENSI DASAR	66
2. INDIKATOR CAPAIAN	66
3. TUJUAN PRAKTIKUM	66
4. URAIAN TEORI	66
5. PELAKSANAAN PRAKTIKUM	67
6. EVALUASI	68
7. SOAL LATIHAN	69
8. DAFTAR PUSTAKA	69

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Pada saat masuk laboratorium tidak boleh membawa barang-barang yang tidak diperlukan. Barang yang tidak diperlukan disimpan pada tempat yang telah disediakan.
2. Gunakan jas lab selama bekerja dan masker selama bekerja di laboratorium Hematologi.
3. Cuci tangan dengan menggunakan sabun sebelum dan sesudah praktikum.
4. Dilarang merokok, makan dan minum serta jauhkan tangan anda dari mulut, hidung dan telinga selama bekerja di laboratorium.
5. Dilarang menyalakan *hand phone*, berbicara ataupun ngobrol selama bekerja di laboratorium Hematologi.
6. Menggunakan alat-alat gelas dengan hati-hati.
7. Alat-alat gelas yang sudah dipakai, dibersihkan, dikerinkan dengan kanebo dan diletakkan kembali di tempat semula (di dalam loker laborototium Hematologi).
8. Membaca protap operasional alat seperti sentrifuge, hematologi analyzer, dll sebelum digunakan.
9. Mikroskop yang tidak dipakai lagi, segera dimatikan tombol on dan menutup mikroskop dengan mantel mikroskop.
10. Sebelum meninggalkan laboratorium, bersihkan meja kerja dan cuci tangan. Teliti kembali bahwa kran air, listrik, lampu mikroskop telah dimatikan. Susun kembali alat-alat ke tempat penyimpanan semula.

DESKRIPSI MATA KULIAH PRAKTIKUM

Mata kuliah Praktikum Hematologi Dasar merupakan mata kuliah wajib bagi mahasiswa program studi D4 Analis Kesehatan beban 2 SKS yang memberikan kesempatan kepada mahasiswa untuk menguasai dan memahami konsep darah dan komponen darah, serta mampu melakukan pemeriksaan-pemeriksaan laboratorium yang terkait dengan komponen-komponen darah, meliputi: perhitungan jumlah sel darah (eritrosit, leukosit, trombosit, eosinofil, retikulosit), pemeriksaan morfologi eritrosit, hitung jenis leukosit, hematokrit, LED, dan index eritrosit, secara manual ataupun menggunakan alat hematologi analyzer (otomatis). Model pembelajaran yang digunakan yaitu praktikum, tanya jawab, diskusi, dan kajian literatur.

PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL PRAKTIKUM

Hal-hal yang harus diperhatikan :

1. Modul praktikum wajib dibawa pada saat memasuki laboratorium
2. Sebelum mulai praktikum saudara diwajibkan membaca dan memahami prosedur yang akan dilakukan setiap materi praktikum
3. Saudara wajib mengerti dan memahami materi dari setiap kegiatan praktikum serta mempelajari hubungannya dengan materi yang diperoleh dalam materi perkuliahan/buku teks.
4. Pada saat praktikum mahasiswa mencatat hasil pengamatan pada setiap lembar evaluasi dan pembahasan.
5. Serahkan laporan praktikum anda tanpa ditunda-tunda.

Pembuatan Laporan

Laporan praktikum dikumpulkan berdasarkan kelompok kerja dan dikumpulkan satu minggu setelah praktikum. Setiap laporan mengenai satu macam percobaan harus memuat hal-hal berikut :

1. Judul percobaan : singkat dan tercantum tanggal serta kelompok percobaan
2. Pendahuluan : tuliskan tujuan percobaan tersebut.
3. Tinjauan Pustaka : berikan latar belakang teori yang menunjang percobaan tersebut (kuliah atau textbook).
4. Metodologi Praktikum : tuliskan alat, bahan dan prosedur kerja.
5. Hasil dan Pembahasan : hasil berupa sediaan histologi jaringan yang diamati dengan mikroskop dan didokumentasikan. Pembahasan histologi dari setiap lapisan mukosa, lapisan sub mukosa, muskularis eksterna dan lapisan adventisia dari setiap jaringan yang dibuat. Kontrol kualitas pewarnaan melihat inti sel, sitoplasma, dan bagian-bagian yang spesifik dari setiap organ atau jaringan yang digunakan. Jika ada bagian yang tidak sesuai dengan literatur pemabanding juga dilakukan pembahasan kenapa ada perbedaan. Jika ada sediaan yang tidak bagus atau rusak juga dibahas, hal

apa yang menyebabkan kerusakan tersebut terkait proses pembuatan sediaan.

6. Kesimpulan : Jawaban dari tujuan sehingga harus dibuat singkat & jelas
7. Daftar Pustaka : cantumkan daftar acuan yang dipakai yang berkaitan dengan percobaan.
8. Gambar : hasil percobaan dalam bentuk gambar harus dicantumkan pada laporan.

PRAKTIKUM 1: PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN METODE SAHLI

1. Kompetensi Dasar

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan hemoglobin metode sahli

2. Indikator Capaian

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- c. Mahasiswa melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hemoglobin metode sahli

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- b. Melakukan pemeriksaan hemoglobin metode sahli
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hemoglobin metode sahli

4. Uraian Teori

Hemometer sahli merupakan suatu instrumen analisis yang digunakan untuk mengukur kadar hemoglobin (Hb) yang terkandung di dalam darah, yaitu menggunakan metode sahli. Penetapan kadar hemoglobin metode sahli dilakukan dengan cara menghidrolisis hemoglobin menjadi *globin ferroheme*. Selanjutnya oleh oksigen yang berada di udara, *ferroheme* akan dioksidasi menjadi *ferriheme* dan oleh ion Cl yang berada di darah akan membentuk

ferrihemechlorid atau disebut juga asam hematin yang berwarna coklat. Perubahan warna yang terbentuk dari metode ini kemudian dibandingkan secara visual dengan batang standard.

Hemometer sahli terdiri dari beberapa bagian, antara lain:

1) Tabung sahli

Tabung yang terbuat dari kaca dan memiliki garis tanda pada kedua belah sisinya yang menyatakan kadar Hb dalam (%) dan garis satunya menyatakan kadar Hb dalam gram/dL.

2) Batang standar (standar warna)

Alat pembanding warna yang terdapat pada hemometer sahli yang digunakan untuk membandingkan perubahan warna yang terbentuk dari asam hematin yang telah diencerkan.

3) Pipet sahli

Pipet khusus yang mempunyai garis tanda 20, artinya bila darah dihisap sampai angka ini maka volume darah $20\text{cmm} = 0,02\text{ ml}$.

4) Selang penghisap

Digunakan untuk membantu menghisap darah pada pipet sahli.

5) Batang pengaduk

Digunakan untuk mengaduk campuran larutan pada tabung sahli. Saat melakukan pembacaan, batang pengaduk harus dikeluarkan terlebih dahulu.

6) Sikat tabung

Digunakan untuk membersihkan sisi bagian dalam tabung sahli.

7) Botol HCl 0,1 N

Digunakan untuk menyimpan larutan HCl 0,1 N

Tingkat ketelitian pengukuran hemoglobin metode sahli cukup rendah, karena metode pengamatan visual memiliki tingkat subjektivitas yang tinggi, kondisi pencahayaan dan batang standar yang mungkin untuk mengalami perubahan juga dapat mempengaruhi hasil pembacaan.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat:

1. Hemometer sahli (1 set)
2. Lanset
3. Pipet tetes

Bahan:

1. Aquadest
2. Alkohol swab
3. HCl 0,1 N
4. Tisu

b. Prosedur Kerja

1. Diisi larutan HCl 0,1 N sampai tanda 2 pada tabung sahli.
2. Dihisap darah kapiler/ darah EDTA dengan pipet sahli sampai tepat pada tanda 20 ul.
3. Dihapus kelebihan darah yang melekat pada sisi luar pipet dengan tisu secara hati-hati jangan sampai darah dari dalam pipet berkurang.
4. Darah yang telah dipipet dimasukkan ke dalam tabung sahli yang berisi larutan HCl tadi tanpa menimbulkan gelembung udara.
5. Bilas bagian dalam pipet sebelum di keluarkan dengan cara menghisap dan mengeluarkan campuran larutan dari dalam pipet secara berulang-ulang 3 kali.
6. Campuran larutan kemudian diinkubasi selama 5 menit untuk pembentukan asam hematin.
7. Asam hematin yang terbentuk diencerkan dengan aquades setetes demi setetes sambil diaduk dengan batang pengaduk sampai didapat warna yang sama dengan warna standard.
8. Miniskus dari larutan dibaca. Miniskus dalam hal ini adalah permukaan terendah dari larutan (meniskus bawah).

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- A. Sebutkan masing-masing min. 5 kekurangan dan kelebihan pemeriksaan hemoglobin metode sahli!
- B. Sebutkan min. 5 sumber kesalahan yang dapat terjadi pada rangkaian proses pemeriksaan hemoglobin metode sahli!
- C. Berikan alasan mengapa hemometer sahli masih digunakan meskipun memiliki tingkat akurasi yang rendah!
- D. Menurut saudara, sampel darah manakah yang lebih baik digunakan untuk pemeriksaan metode sahli antara darah kapiler atau darah vena? Berikan penjelasan atas jawaban saudara!

8. Daftar Pustaka

- 1. Gandasoebrata R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat
- 2. Harsh Mohan. 2013. *Pathology Practical Book*, Third Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd., New Delhi.
- 3. Ramadas Nayak, Sharada Rai, Astha Gupta. 2012. *Essentials in Hematology and Clinical Pathology*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd., New Delhi.

PRAKTIKUM 2: HITUNG JUMLAH LEUKOSIT

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan jumlah leukosit

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah leukosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jumlah leukosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah leukosit

4. Uraian Teori :

Leukosit atau sel darah putih adalah jenis sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh untuk melawan infeksi dan penyakit. Jumlah leukosit dalam darah dapat menjadi indikator kondisi kesehatan seseorang. Hitung jumlah leukosit adalah suatu prosedur laboratorium untuk mengukur

jumlah sel darah putih (leukosit) dalam darah. Prosedur ini didasarkan pada prinsip bahwa darah diencerkan dengan larutan asam lemak, sel-sel eritrosit akan mengalami hemolisis serta darah menjadi lebih encer sehingga sel-sel leukosit lebih mudah dihitung di bawah mikroskop.

Sel darah putih terdiri dari beberapa jenis, termasuk limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil. Masing-masing jenis sel memiliki peran yang berbeda dalam sistem kekebalan tubuh. Limfosit berperan untuk memproduksi antibodi dan berfungsi dalam mengenali serta melawan mikroorganisme yang telah dikenali sebelumnya. Sedangkan, neutrofil merupakan jenis sel darah putih yang paling banyak ditemukan dan berperan dalam mengenali dan melawan mikroorganisme yang baru masuk ke dalam tubuh.

Jumlah leukosit dalam darah dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk infeksi, peradangan, stres, dan penyakit autoimun. Peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) dapat terjadi pada kasus infeksi bakteri, infeksi virus, peradangan, atau kanker. Sedangkan, penurunan jumlah leukosit (leukopenia) dapat terjadi pada kasus leukemia, radiasi, dan penggunaan obat-obatan tertentu.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat :

- Pipet volumetrik
- Pipet leukosit atau clinipet 20 μ l
- Tabung ukuran 75 x 10 mm
- Kamar hitung improved neubauer dan kaca penutup
- Pipet Pasteur
- Mikroskop
- Lancet dan autoclick
- Kapas alkohol

Bahan :

- Larutan pengencer dapat menggunakan salah satu dari larutan berikut :

1. Turk : asam asetat glasial 3 ml gentian violet 1% 1 ml dan akuades 100 ml

Penambahan gentian violet bertujuan memberi warna pada inti dan granula leukosit. Larutan ini melisiskan eritrosit dan trombosit tetapi tidak melisiskan leukosit maupun eritrosit berinti

- HCl 1%
- Asam asetat 2% Asm asetat glasial
- Darah kapiler atau EDTA

b. Prosedur Kerja

Membuat pengenceran:

1) Cara pipet leukosit

Dengan pipet leukosit darah diisap sampai tanda 0,5, bila lebih letakkan ujung pipet pada bahan yang tidak meresap misal plastik, sampai darah tepat pada tanda 0,5. Bersihkan bagian luar pipet tersebut dari darah dengan tissue. Kemudian isaplah larutan pengencer sampai tanda 11 (pengenceran 1:20). Peganglah pipet leukosit tersebut sedemikian rupa sehingga kedua ujung pipet terletak diantara ibu jari dan telunjuk tangan kanan. Homogenkan selama 3 menit.

2) Cara tabung

Dengan menggunakan clinipet 20 μ l, pipet volumetrik 0,5 ml (sistem tabung):

- a. Larutan pengencer sebanyak 0,38 ml dimasukkan dengan menggunakan pipet 0,5 ml ke dalam tabung ukuran 75 x 10 mm
- b. Tambahkan 20 μ l darah EDTA, darah kapiler ke dalam tabung tersebut (pengenceran 1:20). Pada waktu mengambil darah EDTA jangan lupa menghomogenkan darah dengan baik. Sebelum memasukkan 20 μ l darah ke dalam larutan pengencer, hapuslah kelebihan darah yang ada di dalam pipet. Hati-hati agar darah di dalam pipet tidak ikut terserap.
- c. Darah yang tersisa di dalam pipet dibilas dengan mengisap dan mengeluarkan larutan pengencer sebanyak 3 kali.

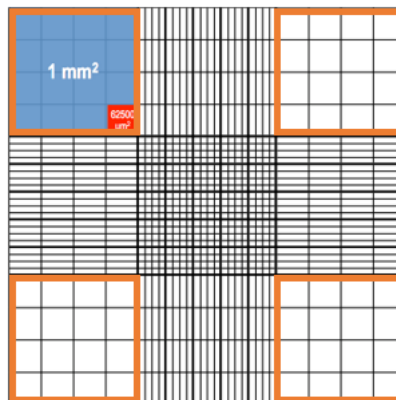
- d. Tabung tersebut ditutup dengan parafilm dan dicampur hingga homogen. Pencampuran dilakukan selama 1 menit.

Mengisi kamar hitung (KH):

- 1) Kaca penutup KH diletakkan pada tempatnya. KH harus dalam keadaan bersih dan kering.
- 2) Isilah KH dengan darah yang sudah diencerkan tadi dengan menggunakan pipet Pasteur. Pengisian KH harus diulang bila terjadi hal-hal di bawah ini:
 - a. Terlalu banyak cairan yang masuk sehingga mengisi parit KH
 - b. KH tidak sepenuhnya terisi
 - c. Terdapat gelombang udara dalam KH
- 3) Bila menggunakan pipet leukosit sebelum pengisian KH buanglah 2 tetes pertama dan letakkan ujung pipet pada KH tepat batas kaca penutup. Isikan ke dalam KH tersebut pada tetesan yang ke-3.
- 4) Kamar hitung setelah diisi dibiarkan selama 3 menit. Bila penghitungan jumlah sel di dalam KH ditunda, sebaiknya KH dimasukkan ke dalam cairan putih yang berisi kapas atau kertas saring basah.

Perhitungan jumlah leukosit:

Perhitungan jumlah leukosit dilakukan pada 4 kotak besar kamar hitung dan dilakukan secara zig-zag.



Gambar 1. Lokasi Perhitungan Jumlah Leukosit (sumber: <https://www.hemocytometer.org/hemocytometer-square-size/>)

Perhitungan dilakukan dengan rumus berikut:

$$\frac{\text{Jumlah Sel}}{\text{Jumlah kotak} \times (\text{panjang} \times \text{lebar} \times \text{tinggi})} \times \text{Pengenceran}$$

Koreksi terhadap eritrosit berinti:

Bila di dalam sediaan darah tepi terdapat eritrosit berinti yang melebihi 10 dalam 100 leukosit, maka harus dilakukan koreksi terhadap leukosit. Hal ini disebabkan eritrosit berinti tidak hancur oleh larutan Turk dan akan ikut terhitung sebagai leukosit. Contoh: apabila di dalam sediaan apus darah tepi terdapat eritrosit sebanyak 25 sel/100 leukosit dan jumlah leukosit 12.500/ul, maka:

$$\begin{aligned} & \frac{100}{125} \times \text{Jumlah leukosit} \\ & \frac{100}{125} \times 12.500 \\ & = 10.000 / \text{ml} \end{aligned}$$

Catatan: apabila jumlah sel sangat banyak maka faktor pengencer ditingkatkan lagi. Sedangkan, jika jumlah sel sedikit maka jumlah sel yang dihitung harus ditingkatkan.

6. Evaluasi

- a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Sebutkan lima jenis leukosit yang ditemukan pada manusia beserta fungsinya masing-masing!
- b. Bagaimana cara menentukan jumlah leukosit dalam sampel darah menggunakan metode manual dan metode otomatis? Apa keuntungan dan kelemahan dari kedua metode tersebut?
- c. Jelaskan bagaimana leukosit memerangi infeksi pada tubuh manusia!

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Rodak, B. F., Fritsma, G. A., & Keohane, E. M. 2016. Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences.
3. Kusuma, A., Prabowo, Y., & Saragih, R. (2020). Comparison of leukocyte counts using manual and automated methods. *Journal of Clinical Pathology and Diagnosis*, 4(1), 1-5.

PRAKTIKUM 3: HITUNG JUMLAH ERITROSIT

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jumlah eritrosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eritrosit

4. Uraian Teori :

Eritrosit adalah sel darah merah yang berfungsi untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh. Pada manusia, eritrosit tidak memiliki inti sel dan berbentuk bulat pipih dengan diameter sekitar 7-8 mikrometer. Jumlah eritrosit dalam darah diukur dalam satuan sel/mm³ atau sel/L.

Pengukuran jumlah eritrosit dalam darah dapat dilakukan dengan menggunakan metode manual atau otomatis. Pada metode manual, darah

diencerkan dengan larutan pengencer isotonis dan dilihat di bawah mikroskop serta dihitung secara manual oleh teknisi laboratorium. Sedangkan pada metode otomatis, sel darah dihitung secara otomatis oleh alat yang disebut dengan hematology analyzer.

Pengukuran jumlah eritrosit dalam darah penting untuk memantau kondisi kesehatan seseorang. Jumlah eritrosit yang abnormal dapat menjadi tanda-tanda adanya kondisi medis tertentu seperti anemia atau polisitemia. Anemia terjadi ketika jumlah eritrosit dalam darah rendah, sehingga pasokan oksigen ke jaringan tubuh berkurang. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan anemia antara lain kekurangan zat besi, kekurangan vitamin B12 atau asam folat, penyakit kronis, atau gangguan pada sumsum tulang.

Sementara itu, polisitemia terjadi ketika jumlah eritrosit dalam darah terlalu banyak. Kondisi ini dapat menyebabkan aliran darah menjadi lebih tebal dan mempersulit aliran darah ke seluruh tubuh. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan polisitemia antara lain paparan tinggi terhadap gas beracun seperti karbon monoksida, masalah pada ginjal, dan adanya kondisi medis tertentu seperti sindrom mieloproliferatif.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat :

- Pipet volumetrik
- Pipet eritrosit atau clinipet 20 μ l
- Tabung ukuran 75 x 10 mm
- Kamar hitung improved neubauer dan kaca penutup
- Pipet Pasteur
- Mikroskop
- Lancet dan autoclick
- Kapas alkohol

Bahan :

Larutan pengencer dapat menggunakan salah satu dari larutan berikut :

- a. Larutan Hayem

- Natrium – sulfat 2,50 g
- Natrium – chlorida 0,50 g
- Merkuri – chlorida 0,25 g
- Akuades add 100ml

Pada keadaan hiperglobulinemia, larutan ini tak dapat dipergunakan karena akan mengakibatkan presipitasi protein, rouleaux, aglutinasi HCl 1%

b. Larutan Gower : Larutan ini mencegah aglutinasi dan rouleaux sel-sel erosit

- Natrium – sulfat 12,5 g
- Asam asetat glasial 33,3 ml
- Akuades add 200 ml

b. Prosedur Kerja

Membuat pengenceran:

1) Cara pipet eritrosit

Dengan pipet eritrosit, pipetlah darah sampai tanda 0,5 serta encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda 101 (pengenceran 1:200). Homogenkan selama 3 menit

2) Cara tabung

Larutan pengencer sebanyak 4 ml dimasukkan ke dalam tabung ukuran 75 x 10 mm. Dibuat pengenceran darah 1:200 dengan menambahkan 20 µl darah EDTA / darah kapiler ke dalam tabung yang telah berisi larutan pengencer. Tindakan selanjutnya sama seperti seperti yang telah diterangkan pada hitung lekosit.

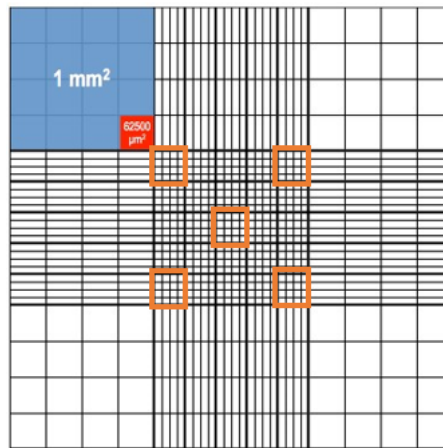
Mengisi kamar hitung (KH):

Prosedur sama dengan leukosit, tetapi untuk eritrosit KH dibiarkan selama 2 menit agar eritrosit mengendap, tetapi tidak lebih lama dari 2 menit sebab mengeringnya larutan pada tepi kamar hitung akan menimbulkan arus yang dapat menyebabkan pergerakan eritrosit yang telah mengendap. Bila penghitungan jumlah sel di dalam kamar hitung ditunda, sebaiknya kamar

hitung dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi kapas atau kertas saring basah.

Perhitungan jumlah eritrosit:

Perhitungan jumlah eritrosit dilakukan pada 5 bidang kecil kamar hitung.



Gambar 2. Lokasi Perhitungan Jumlah Eritrosit (sumber: <https://www.hemocytometer.org/hemocytometer-square-size/>)

Perhitungan eritrosit dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Jumlah Sel}}{\text{Jumlah kotak} \times (\text{panjang} \times \text{lebar} \times \text{tinggi})} \times \text{Pengenceran}$$

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Jelaskan apa yang dimaksud dengan eritrosit, termasuk struktur, fungsi, dan peranannya dalam tubuh manusia!
- b. Sebutkan faktor-faktor yang memengaruhi jumlah eritrosit dalam darah! Apa yang bisa menjadi penyebab terjadinya peningkatan atau penurunan jumlah eritrosit dalam tubuh?
- c. Apa saja jenis-jenis gangguan kesehatan yang berkaitan dengan jumlah eritrosit yang abnormal? Jelaskan penyebab dan gejala-gejala yang mungkin timbul pada setiap jenis gangguan tersebut!

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebrata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Kundu, S., & Ghosh, A. (2020). Haematological Parameters in Polycythaemia Vera: A Review. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 9(7), 263-266.
3. Marti, G., & Wiesner, P. (2019). The Role of Erythrocytes in Oxygen Delivery and Beyond. *Frontiers in Physiology*, 10, 1-14.

PRAKTIKUM 4: HITUNG JUMLAH TROMBOSIT

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan jumlah trombosit

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah trombosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah trombosit

4. Uraian Teori :

Trombosit atau platelet adalah salah satu jenis sel darah yang berperan penting dalam proses pembekuan darah. Trombosit diproduksi di sumsum tulang dan terdiri dari fragmen sel kecil yang berbentuk bulat dan berisi granula yang mengandung berbagai faktor koagulasi. Fungsi utama trombosit adalah untuk membentuk gumpalan darah (blood clot) di tempat luka pada pembuluh darah dan mencegah terjadinya pendarahan.

Jumlah trombosit dalam darah dapat diukur melalui tes darah rutin yang disebut hitung trombosit. Normalnya, jumlah trombosit pada orang dewasa adalah antara 150.000 hingga 450.000 sel/mm³. Jumlah trombosit yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat menjadi tanda adanya gangguan kesehatan. Pengukuran jumlah trombosit dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel trombosit per satuan volume darah yang diambil, biasanya diukur dalam satuan sel/mm³. Prinsip hitung jumlah trombosit adalah darah diencerkan dengan larutan pengencer, yaitu ammonium oksalat 1% sehingga semua eritrosit dihemolisis. Jika menggunakan larutan Rees ecker trombosit akan tercatat biru muda, karena larutan pengencer mengandung brilliant cresyl blue. Trombosit dihitung dengan KH dibawah mikroskop. Hasilnya diperiksa ulang dengan sediaan apus yang diwarnai dengan MGG.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat:

- Pipet volumetrik
- Pipet eritrosit atau clinipet 20 µl
- Tabung ukuran 75 x 10 mm
- Kamar hitung improved neubauer dan kaca penutup
- Cawan petri dan kertas saring (kapas)
- Pipet Pasteur
- Mikroskop
- Lancet dan autoclick
- Kapas alkohol

Bahan:

Larutan pengencer dapat menggunakan salah satu dari larutan berikut:

a. Rees ecker

- Natrium – sitrat 3,8 g atau (3,8 g)
- Brilliant cresyl blue 0,1 g (30 mg)
- Farmaldehid 40 % 0,2 ml (2 ml)

- Akuades 100 ml (add 100 ml). Saringlah sebelum digunakan.

b. Ammonium oksalat 1%

Simpan di dalam lemari es dan disaring sebelum digunakan

b. Prosedur Kerja

A. Cara langsung

Membuat pengenceran:

1) Cara pipet eritrosit

Dengan pipet eritrosit darah diisap sampai tanda 1 dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda 101 (pengenceran 1:100). Mulai saat ini trombosit harus dihitung dalam waktu 30 menit agar tidak terjadi disintegrasi sel-sel trombosit. Homogenkan selama 3-5 menit jika menggunakan Rees Ecker dan selama 10-15 menit jika menggunakan ammonium oksalat 1% (dapat digunakan rotator).

2) Cara tabung

Dibuat pengenceran 1:100 dengan memasukkan darah 20 μ l ke dalam larutan pengencer sebanyak 1.98 ml dalam tabung suspensi di campur selama 10-15 menit, dapat menggunakan rotator dengan menutup tabung memakai parafilm terlebih dahulu.

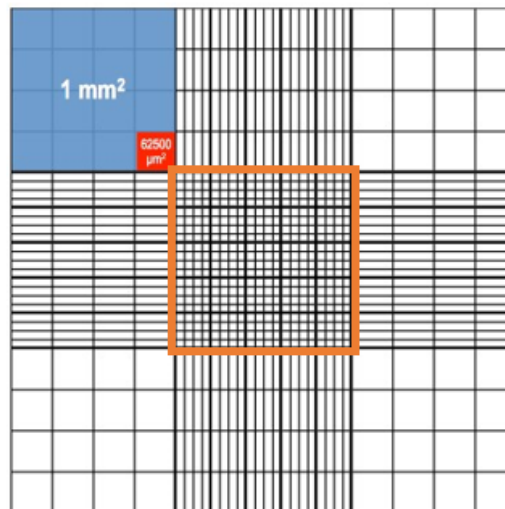
Mengisi kamar hitung (KH):

Prosedur sama dengan leukosit, tetapi untuk hitung trombosit, KH yang telah diisi dimasukkan ke dalam cawan petri tertutup yang telah terisi kapas atau kertas saring basah dan dibiarkan selama 15-20 menit agar trombosit dalam KH mengendap dan tidak terjadi penguapan.

Perhitungan jumlah trombosit:

Untuk hitung trombosit, dihitung semua trombosit yang ada pada bidang besar-besar di tengah kamar hitung. Luas bidang yang dihitung adalah 1 x 1 mm, sehingga volumenya $1 \times 1 \times 0,1 = 0,1$ mmk atau μ l. Dengan perbesaran objektif 10 kali dan okuler 40 kali. Trombosit tampak refraktil dan mengkilat berwarna biru muda/bila lebih kecil dari eritrosit serta berbentuk bulat, lonjong atau koma, tersebar atau bergerombol bila

menggunakan larutan Rees Ecker. Bila menggunakan larutan ammonium oksalat, trombosit tampak bulat, bulat telur dan berwarna lila terang. Bila fokus dinaikkan–diturunkan tampak perubahan yang bagus, mudah dibedakan dengan kotoran karena sifat refraktilnya.



Gambar 3. Lokasi Perhitungan Jumlah Trombosit (sumber: <https://www.hemocytometer.org/hemocytometer-square-size/>)

Rumus Perhitungan:

$$\frac{\text{Jumlah Sel}}{\text{Jumlah kotak} \times (\text{panjang} \times \text{lebar} \times \text{tinggi})} \times \text{Pengenceran}$$

B. Cara tak langsung

Jumlah trombosit pada sediaan apus dibandingkan dengan 1000 eritrosit, kemudian jumlah mutlaknya dapat diperhitungkan dari jumlah mutlak eritrosit. Cara ini lebih mudah dari cara lain.

- Penghitungan jumlah trombosit berdasar pada perhitungan: dibuat sediaan apus darah tepi dan diwarnai oleh MGG, Wright, atau Giemsa. Kemudian dihitung jumlah trombosit dalam 1.000 eritrosit.

$$\text{Jumlah trombosit} = \frac{\text{jumlah eritrosit} \times N}{1000} \dots\dots\dots (/ l)$$

- Jumlah trombosit = jumlah trombosit pada 40 LPB x 1.000 (... / µl)
- Jumlah trombosit = jumlah trombosit pada 10 LPB x 2.000 (... / µl)

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Apa peran trombosit dalam pembekuan darah?
- b. Apa yang menyebabkan jumlah trombosit rendah dan tinggi? dan apa konsekuensinya bagi tubuh?
- c. Apa yang dapat dilakukan untuk menjaga kesehatan dan jumlah trombosit dalam darah tetap stabil?

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebrata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Susanto, A. D., & Sudoyo, A. W. (2019). Penilaian jumlah trombosit pada penderita demam berdarah dengue. *Journal of Biomedicine and Translational Research*, 5(2), 87-92.
3. Hoffman, R., Benz, E. J., Silberstein, L. E., Heslop, H. E., Weitz, J. I., & Anastasi, J. (Eds.). (2020). *Hematology: Basic principles and practice* (7th ed.). Elsevier.

PRAKTIKUM 5: LAJU ENDAP DARAH (LED)

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan laju endap darah
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan laju endap darah
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan laju endap darah

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan laju endap darah
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan laju endap darah
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan laju endap darah

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan laju endap darah
- b. Melakukan pemeriksaan laju endap darah
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan laju endap darah

4. Uraian Teori :

Laju endap darah (LED) adalah pengukuran kecepatan sedimentasi eritrosit dalam darah yang dilakukan dengan mengambil sampel darah dan menempatkannya dalam tabung khusus yang kemudian dibiarkan selama satu jam. Setelah satu jam, tinggi kolom endapan eritrosit diukur dalam milimeter. LED digunakan untuk mengetahui adanya peradangan atau infeksi dalam tubuh.

Prinsip dasar dari LED adalah bahwa konsentrasi protein fibrinogen dalam plasma darah meningkat ketika terjadi peradangan atau infeksi dalam tubuh. Kenaikan konsentrasi fibrinogen menyebabkan eritrosit lebih mudah saling berikatan, sehingga laju sedimentasi eritrosit meningkat.

Metode standar yang direkomendasikan oleh *International Commitee for Standardization in Hematology (ICSH)* untuk mengukur LED adalah metode

Westergren, yang menggunakan tabung khusus berukuran 200 mm dengan diameter 2,5 mm yang diisi dengan campuran 0,38% natrium sitrat sebagai antikoagulan dan darah pasien. Kemudian tabung dibiarkan selama satu jam dan tinggi kolom endapan diukur dalam milimeter.

Beberapa faktor yang dapat memengaruhi LED antara lain usia, jenis kelamin, suhu, penggunaan obat-obatan tertentu, kehamilan, dan kondisi medis tertentu seperti anemia, penyakit autoimun, dan kanker. LED yang meningkat dapat menunjukkan adanya peradangan atau infeksi dalam tubuh, namun hasil yang meningkat tidak selalu menunjukkan adanya kondisi medis yang serius. Hasil yang rendah tidak menunjukkan adanya peradangan atau infeksi dalam tubuh, tetapi dapat menunjukkan adanya anemia atau kondisi medis lainnya.

5. Pelaksanaan Praktikum

A. Cara Westergren

a. Alat dan Bahan

Alat :

- 1 set alat plebotomi
- Pipet Westergren
- Rak westergren
- Tabung EDTA
- Bola hisap
- Tabung reaksi
- Pipet ukur

Bahan :

- Natrium sitrat 0,109 M atau 3,8%
- NaCl 0,9%
- Darah vena

b. Prosedur Kerja

- 1) Isi pipet Westergren dengan darah yang telah diencerkan sampai garis tanda 0. Pipet harus bersih dan kering.

- 2) Letakkan pipet pada rak dan perhatikan supaya posisinya betul-betul tegak lurus pada suhu 18-25°C. Jauhkan dari cahaya matahari dan getaran.
- 3) Setelah tepat 1 jam, baca hasilnya dalam mm/jam

c. Nilai Rujukan

- Laki-laki : 0 – 20 mm/jam
- Perempuan: 0 – 15 mm/jam

B. Cara Wintrobe

a. Alat dan Bahan

Alat :

- Tabung Wintrobe (0-200 mm, diameter dalam 2,4 mm)
- Rak tabung Wintrobe
- 1 set alat plebotomi
- Tabung EDTA
- Bola hisap
- Tabung reaksi
- Pipet ukur

Bahan :

- Antikoagulan EDTA
- Darah vena

b. Prosedur Kerja

- 1) Campur isi spesimen baik-baik supaya homogen
- 2) Isilah tabung Wintrobe dengan pipet kapiler sampai tanda 0
- 3) Letakkan tabung pada rak dengan posisi tepat tegak lurus
- 4) Biarkan selama 1 jam. Setelah tepat 1 jam, catatlah penurunan eritrosit dalam mm/jam

Nilai Rujukan

- Laki-laki : 0 – 20 mm/jam
- Perempuan: 0 – 15 mm/jam

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Apa saja faktor yang mempengaruhi laju endap darah? Bagaimana faktor-faktor tersebut dapat memengaruhi hasil pengukuran laju endap darah?
- b. Bagaimana laju endap darah dapat digunakan sebagai indikator adanya inflamasi atau penyakit tertentu pada tubuh? Berikan contoh kasus atau penyakit yang dapat dikenali melalui peningkatan laju endap darah.
- c. Apa yang terjadi pada tubuh ketika terjadi peningkatan laju endap darah? Apa saja gejala atau tanda yang mungkin muncul pada pasien yang mengalami peningkatan laju endap darah?

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebrata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Rachman, M. F., Nasrullah, R., Hidayat, B., & Setiawan, B. (2020). Pengaruh suplementasi vitamin D terhadap kadar laju endap darah pada pasien dengan sindrom metabolik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(4), 346-352.
3. Prayoga, D. D., Purwosunu, Y., Arimbawa, I. D. N., & Rizal, I. (2018). Laju endap darah sebagai prediktor kejadian preeklamsia. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 9(1), 31-38.

PRAKTIKUM 6: HEMATOKRIT

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hematokrit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hematokrit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan hematokrit

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hematokrit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hematokrit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hematokrit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hematokrit
- b. Melakukan pemeriksaan hematokrit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hematokrit

4. Uraian Teori :

Hematokrit atau volume eritrosit yang dipadatkan (*Packed Cell Volume/PCV*) adalah persentase volume eritrosit dalam darah dengan cara diputar pada kecepatan tertentu dan dalam waktu tertentu. Pemeriksaan hematokrit digunakan untuk mengetahui konsentrasi eritrosit dalam darah. Pemeriksaan hematokrit paling dapat dipercaya di antara pemeriksaan yang lainnya, yaitu kadar hemoglobin dan hitung eritrosit. Hematokrit dapat dipergunakan sebagai tes penyaring sederhana terhadap anemia. Pemeriksaan hematokrit dapat diukur dengan menggunakan darah vena atau darah kapiler. Darah kapiler digunakan bila jumlah darah yang dibutuhkan hanya sedikit, sedangkan bila jumlah darah yang dibutuhkan lebih dari 0,5 ml lebih baik menggunakan darah vena. Nilai hematokrit adalah volume semua eritrosit dalam

100 ml darah dan disebut dengan % dari volume darah tersebut. Pengukuran nilai hematokrit dibagi menjadi dua metode pemeriksaan, yaitu mikro hematokrit dan makro hematokrit.

Cara makro hematokrit menggunakan tabung wintrobe, sedangkan cara mikrohematokrit menggunakan tabung mikro kapiler. Metode pengukuran secara makro menggunakan darah vena yang dimasukkan kedalam tabung wintrobe dan disentrifuge pada kecepatan tertentu sehingga eritrosit terpisah dari plasmanya secara sempurna. Metode pemeriksaan mikro lebih sering digunakan karena lebih cepat dan lebih mudah dibandingkan dengan metode makro yang membutuhkan sampel lebih banyak dengan waktu yang relatif lebih lama.

Metode pemeriksaan secara mikro berprinsip pada darah dengan antikoagulan disentrifuge dalam jangka waktu dan kecepatan tertentu, sehingga sel darah dan plasmanya terpisah. Presentase volume kepadatan sel darah merah terhadap volume darah semula dicatat sebagai hasil pemeriksaan hematokrit. Pada cara mikro digunakan pipet kapiler yang panjangnya 75 mm dan diameter dalam 1 mm. Pipet ini ada 2 jenis, ada yang dilapisi antikoagulan Na_2EDTA atau heparin di bagian dalamnya dan ada yang tanpa antikoagulan seperti darah kapiler. Pipet kapiler tanpa antikoagulan dipakai bila menggunakan darah dengan antikoagulan seperti darah vena.

5. Pelaksanaan Praktikum

A. Cara Mikro

a. Alat dan Bahan

Alat :

- Tabung kapiler ukuran 75 mm dan diameter 1 mm
- Dempul
- Centrifuge hematokrit
- Reader/Alat baca mikro hematokrit

Bahan :

- Darah kapiler atau darah EDTA dengan kadar 1 mg $\text{Na}_2\text{EDTA}/\text{K}_2\text{EDTA}$ untuk 1 ml darah atau darah heparin dengan kadar heparin 15-20 IU/ml.

Pemeriksaan tidak boleh ditunda lebih dari 6 jam, apabila harus disimpan maka simpan pada suhu 4°C.

- Dempul untuk menutup salah satu ujung tabung hematokrit
- Tabung kapiler hematokrit ukuran 75 mm dengan diameter 1 mm. Ada yang berisi heparin (khusus untuk darah kapiler) dan ada yang tidak berisi antikoagulan (untuk darah yang mengandung antikoagulan misalnya: Darah EDTA)

b. Prosedur Kerja

- 1) Isilah pipet kapiler dengan darah yang langsung mengalir (darah kapiler) atau darah dengan antikoagulan
- 2) Salah satu dari ujung pipet disumbat dengan dempul
- 3) Tabung kapiler dimasukkan kedalam alat mikro sentrifuge dengan bagian yang disumbat mengarah keluar
- 4) Tabung kapiler dipusingkan selama 5 menit dengan kecepatan 16.000 rpm
- 5) Setelah proses centrifuge selesai, baca tinggi kolom sel darah dan plasma pada tabung hematokrit menggunakan reader hematokrit. Jika tidak ada reader hematokrit, maka dapat dihitung menggunakan penggaris dan dimasukkan ke dalam rumus hitung hematokrit:

$$\text{Hematokrit} = \frac{\text{Tinggi eritrosit}}{\text{Tinggi total voume darah}} \times 100\%$$

- 6) Apabila nilai hematokrit melebihi 50 %, pemusingan ditambah 5 menit lagi

c. Nilai Rujukan

- Laki-laki: 42% – 52%
- Perempuan: 36% - 46%

B. Cara Makro

a. Alat dan Bahan

Alat:

- Tabung Wintrobe dengan diameter 2,5-3 mm dan panjang 110 mm yang berskala 0-100 mm dengan skala terkecil 1 mm
- Centrifuge
- 1 set alat plebotomi
- Tabung EDTA atau heparin

Bahan :

- Darah EDTA atau darah heparin

b. Prosedur Kerja

- 1) Darah dicampur dengan seksama sehingga homogen.
- 2) Dengan menggunakan pipet Pasteur atau pipet Wintrobe darah dimasukkan ke dalam tabung Wintrobe hingga mencapai garis tanda 100, mulai dari dasar tabung dan hindari terjadinya gelembung udara di dalam tabung.
- 3) Tabung yang telah berisi darah dipusingkan selama 30 menit pada kecepatan 3.000-5.000 rpm.
- 4) Tinggi kolom eritrosit adalah nilai hematokrit yang dinyatakan dalam % dan dibaca menggunakan reader hematokrit. Jika tidak ada reader hematokrit, maka dapat dihitung menggunakan penggaris dan dimasukkan ke dalam rumus hitung hematokrit:

$$\text{Hematokrit} = \frac{\text{Tinggi eritrosit}}{\text{Tinggi total voume darah}} \times 100\%$$

Nilai Rujukan

- Laki-laki: 42% – 52%
- Perempuan: 36% - 46%

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Apa bedanya antara hematokrit dan hemoglobin? Bagaimana hubungan antara kedua parameter ini dalam menentukan kesehatan darah?
- b. Jelaskan perbedaan antara metode mikrohematokrit dan makrohematokrit dalam mengukur hematokrit! Kapan sebaiknya metode mikrohematokrit atau makrohematokrit digunakan?
- c. Jelaskan peran hematokrit dalam diagnosis kondisi medis tertentu seperti anemia dan dehidrasi.

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebrata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Baskurt, O. K., & Meiselman, H. J. (2013). Hematocrit determinations at altitude. *High Altitude Medicine & Biology*, 14(2), 113-119.
3. Lee, G. R., Foerster, J., Lukens, J., Greer, J. P., Rodgers, G. M., & Paraskevas, F. (Eds.). (2018). *Wintrobe's clinical hematology*. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer.

PRAKTIKUM 7: INDEX ERITROSIT

1. Kompetensi Dasar

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan index eritrosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan index eritrosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan index eritrosit

2. Indikator Capaian

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan index eritrosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan index eritrosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan index eritrosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan index eritrosit
- b. Melakukan pemeriksaan index eritrosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan index eritrosit

4. Uraian Teori

Indeks eritrosit adalah serangkaian tes laboratorium yang digunakan untuk menilai kondisi sel darah merah berdasarkan ukuran, jumlah sel dan komonen hemoglobin di dalamnya. Tes ini biasanya mencakup tiga parameter, yaitu volume sel darah merah / *Mean Corpuscular Volume* (MCV), kadar hemoglobin rata-rata / *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH), dan konsentrasi hemoglobin rata-rata *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC).

MCV adalah ukuran rata-rata volume sel darah merah dalam sampel darah. MCV yang rendah (<80 fL) menunjukkan anemia mikrositik seperti pada anemia defisiensi besi, sedangkan MCV yang tinggi (>100 fL) menunjukkan anemia makrositik seperti pada defisiensi vitamin B12 atau folat.

MCH adalah ukuran rata-rata berat molekul hemoglobin dalam sel darah merah dalam sampel darah. MCH yang rendah (<27 pg) dapat menunjukkan anemia defisiensi besi atau anemia thalasemia, sedangkan MCH yang tinggi (>33 pg) dapat menunjukkan kelebihan besi atau penyakit hati.

MCHC adalah ukuran rata-rata konsentrasi hemoglobin dalam sel darah merah dalam sampel darah. MCHC yang rendah ($<32\%$) dapat menunjukkan anemia hemolitik, sedangkan MCHC yang tinggi ($>36\%$) dapat menunjukkan dehidrasi atau spherocytosis herediter.

Tes indeks eritrosit dapat membantu dokter mendiagnosis kondisi medis yang mempengaruhi produksi sel darah merah, seperti anemia, hemolisis, dan penyakit hati. Tes ini juga dapat membantu dalam pemantauan pengobatan untuk kondisi medis tersebut.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan:

Alat:

- Pengukuran Hb : Hemometer sahli, pipet tetes
- Jumlah Eritrosit : Pipet thoma merah, kamar hitung, mikroskop,
- Pengukuran Hct : Pipa kapiler, centrifuge hematokrit, Hct reader

Bahan:

- Sampel darah EDTA
- HCl 0.1 N
- Aquadest
- Larutan Hayem
- Lilin/malam

b. Prosedur kerja

- 1) Lakukan pemeriksaan kadar hemoglobin, hitung jumlah eritrosit dan pengukuran hematokrit pada sampel, sesuai dengan prosedur pengerjaan pada Praktikum 1, 3 dan 6.
- 2) Lakukan perhitungan nilai sebagai berikut:

$$a. \text{ MCV} = \frac{\text{Hematokrit}}{\text{Jumlah Eritrosit (dalam juta)}} \times 10$$

$$b. \text{ MCH} = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Jumlah Eritrosit (dalam juta)}} \times 10$$

$$c. \text{ MCHC} = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Hematokrit}} \times 100 \%$$

3) Interpretasi hasil:

a. MCV (satuan femtoliter/fL):

- Mikrositik: < 80 fL
- Normositik: 80-100 fL
- Makrositik: > 100 fL

b. MCH (satuan pikogram/pg):

- Hipokromik: < 27 pg
- Normokromik: 27-33 pg
- Hiperkromik: > 33 pg

c. MCHC (satuan: %):

- Hipokromik: < 32%
- Normokromik: 32-36%
- Hiperkromik: > 36%

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Jelaskan perbedaan MCH dan MCHC!
- b. Apa yang dapat diindikasikan oleh MCV dan MCH yang tinggi, namun MCHC normal pada tes darah?
- c. Sebutkan sumber kesalahan yang mungkin terjadi pada rangkaian pemeriksaan indeks eritrosit!

8. Daftar Pustaka

- 1) Davis, B. H. (2013). *The Complete Blood Count Made Easy*. Philadelphia: F. A. Davis Company.
- 2) Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2015). Red blood cells, anemia, and polycythemia. In *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (13th ed., pp. 460-476). Elsevier.
- 3) McKenzie, S. B. (2014). Red blood cell indices. In *Clinical Laboratory Hematology* (3rd ed., pp. 100-117). Pearson.
- 4) Keohane, E. M., Smith, L. J., & Walenga, J. M. (2019). Red blood cell indices and morphology. In *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications* (6th ed., pp. 173-186). Elsevier.

PRAKTIKUM 8: HITUNG JENIS LEUKOSIT

1. Kompetensi Dasar

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jenis leukosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit

2. Indikator Capaian

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jenis leukosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jenis leukosit
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jenis leukosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit

4. Uraian Teori

Hitung jenis leukosit (*Differential count*) merupakan proses penghitungan jumlah dan jenis leukosit (sel darah putih) dalam sampel darah. Leukosit dibagi menjadi limfosit, monosit, eosinofil, basofil, dan neutrofil. Hitung jenis leukosit dapat memberikan petunjuk tentang adanya infeksi, inflamasi, alergi, atau kondisi medis lainnya.

Ada beberapa metode yang digunakan untuk menghitung jenis leukosit, di antaranya adalah:

- a. Metode manual: Ini melibatkan pengamatan sel darah putih di bawah mikroskop oleh teknisi laboratorium yang terlatih. Sel-sel darah putih dihitung dan diklasifikasikan berdasarkan ukuran, bentuk, dan karakteristik sel lainnya.
- b. Metode otomatis: Ini melibatkan penggunaan alat otomatis yang dapat menghitung dan membedakan jenis leukosit secara otomatis berdasarkan ukuran, bentuk, dan karakteristik sel lainnya. Alat ini umumnya lebih cepat dan akurat daripada metode manual.

Hasil hitung jenis leukosit dapat dinyatakan dalam persentase atau jumlah absolut dari masing-masing jenis leukosit.

5. Pelaksanaan Praktikum

c. Alat dan Bahan

Alat: Mikroskop, pipet tetes, obyek glass, rak pengecatan

Bahan: Darah EDTA, giemsa, metanol absolut, buffer pH 6.8

d. Prosedur Kerja

Pembuatan sediaan apus darah

- 1) Darah EDTA terlebih dahulu dihomogenkan
- 2) Ditetaskan sampel pada salah satu sisi obyek glass dengan jarak dari ujung sekitar 1 cm
- 3) Kemudian dengan menggunakan obyek glass lain, ditempelkan salah satu ujungnya ke tetesan sampel tadi hingga tetesan melebar ke seluruh bagian ujung obyek glass
- 4) Setelah itu, dilakukan pendorongan / pembuatan apusan secara perlahan dan konstan dengan sudut kemiringan $25-45^{\circ}$ yang disesuaikan dengan volume tetesan darah
- 5) Ditunggu hingga kering

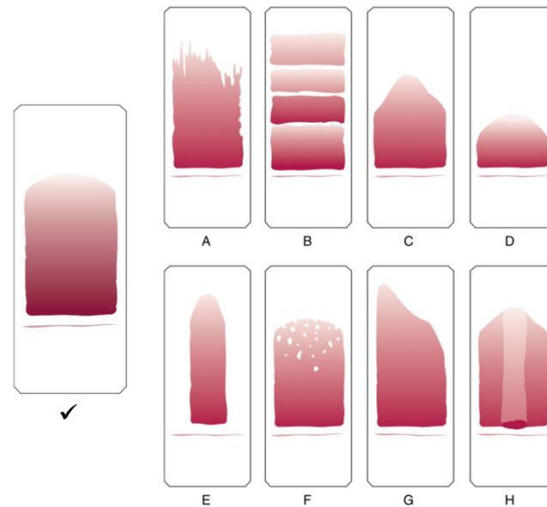
Pengecatan

- 1) Sediaan apus darah yang telah kering difiksasi dengan methanol selama 5 menit

- 2) Diencerkan cat giemsa dengan larutan buffer pH 6,8 dengan perbandingan 1:9
- 3) Digenangi sediaan dengan cat giemsa yang telah diencerkan selama 10 menit, setelah itu sediaan dibersihkan dari cat yang tersisa
- 4) Setelah kering, dapat dilakukan pengamatan pada mikroskop

Teknik Pembacaan

- 1) Sediaan apus diletakkan di mikroskop
- 2) Diperiksa dengan pembesaran lemah lensa obyektif 10x untuk mendapatkan gambaran menyeluruh.
- 3) Lokasi terbaik untuk melakukan perhitungan jenis leukosit adalah di area tipis (ekor apusan), dengan ciri-ciri eritrosit tersebar merata, berdekatan tetapi tidak saling bertumpuk.
- 4) Setelah menemukan lokasi pembacaan, pengamatan dan perhitungan jenis leukosit dilakukan dengan pembesaran sedang (lensa obyektif 40x).
- 5) Bila diperlukan dapat dilakukan penilaian lebih lanjut dari sediaan apus menggunakan lensa objektif 100 x menggunakan minyak imersi.
- 6) Perhitungan jenis leukosit dilakukan secara zig-zag sampai terhitung total minimal 100 leukosit.
- 7) Pada prinsipnya, semakin banyak leukosit yang dihitung, makin kecil kesalahan yang terjadi. Hasil hitung jenis berdasarkan 100 sel sebenarnya hanya bermakna jika dalam keadaan normal, yaitu normal jumlah leukosit dan normal morfologinya. Pada keadaan leukositosis jumlah leukosit yang dihitung harus lebih banyak; pada leukositosis antara 10.000 – 20.000 hitung jenis berdasarkan 200 sel, leukositosis antara 20.000 – 50.000 hitung jenis berdasarkan pada 300 sel dan leukositosis lebih dari 50.000 hitung jenis didasarkan pada 400 sel.

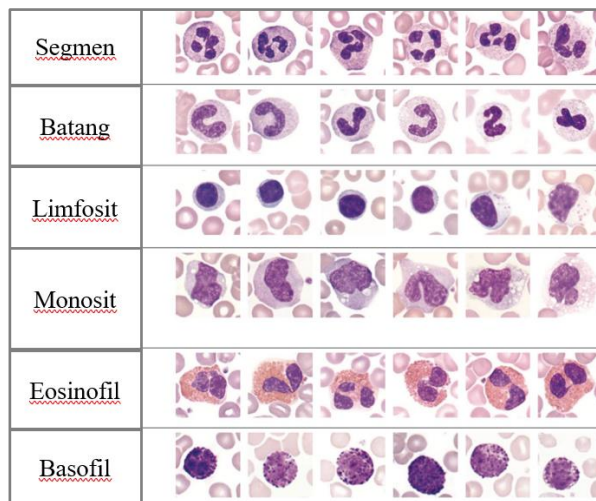


Gambar 4. Sediaan Apus Darah. Contoh apusan darah yang baik [✓] dan buruk [A-H] (sumber: Bernadette, F. R., & Jacqueline, H. C. (2012). Clinical Hematology Atlas)

Ciri Jenis Leukosit

- a. Basofil (0-1%):
 - Berukuran 10-15 mikron
 - Inti sel mempunyai 3-4 lobus
 - Sitoplasma pucat merah muda sampai tak berwarna.
 - Granula tidak merata berwarna biru-violet (hitam), sampai menutupi inti sel.
- b. Eosinofil (1-3%):
 - Berukuran 10-15 mikron
 - Inti sel mempunyai 2-3 lobus
 - Sitoplasma pucat merah muda sampai tak berwarna.
 - Granula besar rata, jika pengecatan bagus berwarna merah muda
- c. Netrofil Batang (2-6%):
 - Berukuran 10-15 mikron
 - Inti berbentuk batang/melengkung seperti huruf "C".
 - Bagian tersempit setidaknya 1/3 dari yang terluas.
 - Sitoplasma pucat merah muda sampai tak berwarna.
 - Granula berwarna ungu sangat halus

- d. Netrofil Segmen (50-70%):
 - Berukuran 10-15 mikron
 - Inti sel mempunyai 3-5 lobus.
 - Pucat merah muda sampai sitoplasma tak berwarna
 - Granula berwarna ungu sangat halus
- e. Limfosit (20-40):
 - Berukuran 7-8 mikron (hampir sama dengan eritrosit)
 - Inti bulat ke oval, hampir memenuhi sitoplasma.
 - Sitoplasma berwarna biru tua
 - Tidak ada granula
- f. Monosit (2-8%):
 - Berukuran 12-24 mikron
 - Inti sel berbentuk seperti ginjal, struktur kromatin tidak padat.
 - Tidak ada granula
 - Vakuola sering muncul di sitoplasma



Gambar 5: Morfologi jenis-jenis leukosit (sumber: Bernadette, F. R., & Jacqueline, H. C. (2012). Clinical Hematology Atlas)

6. Evaluasi

- a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Dari pemeriksaan hitung jenis leukosit didapatkan limfosit sebanyak 47% dengan total jumlah leukosit 4200 sel/mm^3 . Hitunglah jumlah sel leukosit absolut!
- b. Sebutkan fungsi dari masing-masing jenis leukosit!
- c. Secara umum jenis leukosit dikelompokkan menjadi 2, yaitu?

8. Daftar Pustaka

1. Keohane, E., Smith, L., Walenga, J., & Kelly, L. (2020). *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications* (6th ed.). Saunders Elsevier.
2. Rodak, B. F., Fritsma, G. A., & Doig, K. (2015). *Hematology: Clinical Principles and Applications* (5th ed.). Saunders Elsevier.
3. Borowitz, M. J., & Klug, R. B. (2006). Manual and Automated Leukocyte Counts. *Clinical Laboratory Medicine*, 26(2), 271-287.
4. Brinkman-Kaplan, S. G. W., & Curtis, B. R. (2005). Leukocyte Counting and Differentiation by Flow Cytometry. *Clinics in Laboratory Medicine*, 25(3), 669-687.

PRAKTIKUM 9: HITUNG JUMLAH EOSINOFIL

1. Kompetensi Dasar

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eosinofil

2. Indikator Capaian

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eosinofil

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jumlah eosinofil
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah eosinofil

4. Uraian Teori

Eosinofil adalah salah satu jenis sel darah putih yang terlibat dalam respons imun pada infeksi parasitik dan alergi. Jumlah eosinofil dalam darah dapat diukur melalui pemeriksaan darah lengkap (complete blood count/CBC) atau pemeriksaan darah khusus untuk eosinofil (eosinophil count). Untuk menghitung jumlah sel eosinofil secara akurat, diperlukan metode visual menggunakan hemositometer. Selain itu, jumlah relatif dan absolut sel eosinofil dalam darah juga dapat ditentukan dari diffcount jumlah sel darah putih atau sel

leukosit. Cara menghitung eosinofil mirip dengan cara menghitung sel eritrosit dan leukosit. Nilai normal eosinofil dalam darah adalah 50-350 sel/ μ L.

Eosinopenia, yaitu jumlah sel eosinofil yang kurang dari normal, dapat terjadi pada hiperadrenalisme, syok, dan setelah pemberian adrenocorticotropic hormone (ACTH). Sementara eosinofilia, yaitu jumlah sel eosinofil yang berlebih, terjadi pada reaksi alergi, infestasi parasit, brucellosis, dan leukemia tertentu. Jumlah sel eosinofil dapat bervariasi dalam periode 24 jam, dengan jumlah terendah umumnya terjadi pada pagi hari dan jumlah tertinggi terjadi pada malam hari (tengah malam dan setelahnya).

Untuk menghitung jumlah sel eosinofil, sampel darah yang menggunakan antikoagulan EDTA atau Oxalat dapat digunakan. Reagen yang digunakan adalah eosin 2% ditambah aceton 1:1, sisa reagen dapat disimpan di lemari es dan dapat bertahan hingga 1 minggu. Jika akan digunakan kembali, reagen tersebut harus disaring terlebih dahulu.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat: Hemositometer, pipet thoma putih, deck glass

Bahan: Reagen eosin 2%, sampel darah EDTA

b. Prosedur Kerja

Pengenceran dengan pipet thoma

Dengan pipet lekosit darah diisap sampai tanda 0,5, bila lebih letakkan ujung pipet pada bahan yang tidak meresap misal plastik, sampai darah tepat pada tanda 0,5. Bersihkan bagian luar pipet tersebut dari darah dengan tissue. Kemudian isaplah larutan pengencer sampai tanda 11 (pengenceran 1:20). Peganglah pipet lekosit tersebut sedemikian rupa sehingga kedua ujung pipet terletak diantara ibu jari dan telunjuk tangan kanan. Setelah jumlah eosinofil diencerkan, harus dihitung dalam waktu 30 menit.

Mengisi kamar hitung (KH):

- 1) Kaca penutup KH diletakkan pada tempatnya. KH harus dalam keadaan bersih dan kering.
- 2) Isilah KH dengan darah yang sudah diencerkan tadi dengan menggunakan pipet Pasteur. Pengisian KH harus diulang bila terjadi hal-hal di bawah ini:
 - a. Terlalu banyak cairan yang masuk sehingga mengisi parit KH
 - b. KH tidak sepenuhnya terisi
 - c. Terdapat gelombang udara dalam KH
- 3) Bila menggunakan pipet leukosit sebelum pengisian KH buanglah 2 tetes pertama dan letakkan ujung pipet pada KH tepat batas kaca penutup. Isikan ke dalam KH tersebut pada tetesan yang ke-3.
- 4) Kamar hitung setelah diisi dibiarkan selama 3 menit. Bila penghitungan jumlah sel di dalam KH ditunda, sebaiknya KH dimasukkan ke dalam cairan putih yang berisi kapas atau kertas saring basah.

Perhitungan jumlah eosinofil:

Berdasarkan aturan Improved Neubauer untuk pemeriksaan hitung eosinofil, perhitungan harus menghitung semua kotak besar kedua sisi bilik hitung maka total volume yang dihitung 1,8 ul karena setiap bilik memiliki total volume 0,9 μ L. Perhitungan dilakukan dengan rumus berikut:

$$\frac{\text{Jumlah Sel}}{\text{Jumlah kotak} \times (\text{panjang} \times \text{lebar} \times \text{tinggi})} \times \text{Pengenceran}$$

6. Evaluasi:

- a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal latihan

- a. Jelaskan prinsip pewarnaan eosinofil menggunakan reagen eosin!
- b. Sebutkan ciri-ciri morfologi eosinofil!
- c. Sebutkan fungsi eosinofil bagi tubuh!

8. Daftar Pustaka:

1. Bancroft, JD, Gamble M. 2013. Teory and Practice of Histological Technique, Phoadelphia. Elsevier
2. Khristian E, Inderiati D. 2017. Sitihihistoteknologi. Bahan Ajar Teknologi laboratorium medis (TLM). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
3. Anil S., Rajendran R. 2008. Routine Histotechniques, Staining and Notes on Immunohistochemistry. In Rajendran and Sivapa dasundraman (Eds). Shafers Oral Phatology. Elsevier Indian P Ltd
4. Anthony, L. M. 2012. Histologi Dasar JUNQUEIRA, edisi 12. Penerbit buku kedokteran EGC.
5. Waheed, Usman; Ansari, Asim. 2012. Histotechniques. Laboratory techniques in histopathology: Handbook for medical technologies. Pakistan: Lambert Academic Publishing

PRAKTIKUM 10: HITUNG JUMLAH RETIKULOSIT

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan jumlah retikulosit

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah retikulosit

3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- b. Melakukan pemeriksaan hitung jumlah retikulosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah retikulosit

4. Uraian Teori :

Retikulosit adalah sel darah merah muda yang belum sepenuhnya matang atau belum mencapai bentuk sel darah merah dewasa. Retikulosit dihasilkan oleh sumsum tulang belakang dan beredar dalam darah selama sekitar 2 hingga 3 hari sebelum berubah menjadi sel darah merah yang matang. Fungsi utama dari pemeriksaan retikulosit adalah untuk mengetahui tingkat produksi sel darah merah dalam tubuh. Jumlah retikulosit yang tinggi dalam darah

menunjukkan bahwa tubuh sedang memproduksi lebih banyak sel darah merah untuk menggantikan sel darah merah yang hilang atau rusak.

Retikulosit adalah eritrosit muda yang sitoplasmanya mengandung sisa-sisa ribosom dan RNA yang berasal dari sisa inti. Ribosom mempunyai kemampuan untuk bereaksi dengan cat tertentu seperti Brilliant Cresyl Blue atau New Methylene Blue untuk membentuk endapan granula atau filamen yang berwarna biru. Reaksi ini hanya terjadi pada pewarnaan terhadap sel yang masih hidup dan tidak difiksasi, oleh karena itu disebut pewarnaan Supravital. Retikulosit paling muda (*imature*) mengandung ribosom terbanyak, sebaliknya retikulosit tua hanya mempunyai beberapa titik ribosom. Banyaknya retikulosit dalam darah tepi menggambarkan aktivitas eritropoesis yang hampir akurat. Hitung retikulosit dinyatakan sebagai persentasi jumlah retikulosit per 100 eritrosit.

Pemeriksaan retikulosit dapat dilakukan untuk memantau efektivitas pengobatan anemia, mengidentifikasi penyebab anemia, dan memantau pasien yang menerima transfusi darah. Pemeriksaan retikulosit juga dapat membantu dokter dalam mendiagnosis kondisi medis tertentu, seperti hemolisis atau kerusakan sel darah merah, gangguan sumsum tulang, dan defisiensi zat besi. Selain itu, pemeriksaan retikulosit juga dapat membantu dalam menentukan prognosis pasien dengan anemia. Jumlah retikulosit yang tinggi pada pasien dengan anemia dapat menunjukkan bahwa pasien memiliki potensi untuk pulih dengan cepat dan merespons pengobatan dengan baik. Namun, jika jumlah retikulosit rendah pada pasien dengan anemia, maka ini bisa menunjukkan bahwa pasien mengalami masalah produksi sel darah merah yang mungkin memerlukan perawatan yang lebih agresif.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat:

- Tabung reaksi kecil
- Obyek glass dan kaca penutup

- Pipet pasteur
- Parafilm
- Mikroskop
- 1 set plebotomi
- Penangas air
- Tabung EDTA

Bahan :

- Reagent Brilliant Cresyl Blue (BCB)
Reagent BCB dibuat dari:
 1. Brilliant Cresyl Blue (BCB): 1 gram
 2. Natrium sitrat: 20 ml
 3. Natrium chlorida (NaCl 0,85%): 80 ml
- Reagent New Methylene Blue
Reagent New Methylene Blue dibuat dari:
 1. Natrium chlorida: 0,8 gram
 2. Kalium oxalate: 1,4 gram
 3. New methylene blue: 0,5 gram
 4. Aquadest: 100 ml
- Darah EDTA

b. Prosedur Kerja

1. Sediaan Kering

- 1) Kedalam tabung reaksi kecil teteskan 3 tetes larutan Brilliant Cresyl Blue atau New Methylene Blue
- 2) Tambahkan 3 tetes darah, campurkan baik-baik dan biarkan pada suhu ruangan selama 15 menit agar pewarnaan sempurna
Cara yang lain : Setelah ditambahkan 3 tetes darah, campurkan baik-baik dan tabung ditutup dengan parafilm serta diinkubasi pada 37°C selama 30-60 menit

- 3) Setelah inkubasi, tabung dihomogenkan lagi dan ambil 1 tetes untuk membuat sediaan apus. Keringkan di udara dan diperiksa di bawah mikroskop.
- 4) Periksalah dengan perbesaran obyektif 100 kali
Dicari daerah yang baik yaitu eritrosit tidak tumpang tindih. Retikulosit tampak sebagai sel yang lebih besar dari eritrosit. Dan mengandung filamen atau granula. Dengan BCB, eritrosit berwarna biru keunguan dengan filamen atau granula berwarna ungu. Bila menggunakan NMB, retikulosit berwarna biru dengan filamen atau granula berwarna biru tua
- 5) Hitunglah jumlah retikulosit per 1000 eritrosit dengan lensa emersi
- 6) Jumlah retikulosit dapat dinyatakan persen/per mil terhadap jumlah eritrosit total atau dilaporkan dalam jumlah mutlak.

Misal: dalam 10 lapangan pandang dijumpai 2000 eritrosit dan retikulosit 76, maka jumlah retikulosit (%):

$$\text{Jumlah Retikulosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah Retikulosit Dihitung}}{\text{Jumlah Eritrosit Dihitung}} \times 100$$

Sehingga, dari contoh soal diatas didapatkan:

$$\text{Jumlah Retikulosit (\%)} = \frac{76}{2000} \times 100$$

$$\text{Jumlah Retikulosit} = 0,038 \times 100\% = \mathbf{3,8\%}$$

Untuk mengetahui jumlah retikulosit absolut, maka harus dilakukan pemeriksaan jumlah eritrosit absolut menggunakan kamar hitung. Rumus jumlah retikulosit absolut, yaitu:

Jumlah Retikulosit Absolut= Jumlah Retikulosit (%) x Jumlah Eritrosit Absolut

Contoh: diketahui jumlah eritrosit 3,5 juta/ μ l, maka jumlah retikulosit absolutnya adalah:

$$\text{Jumlah Retikulosit Absolut} = 3,8\% \times 3.500.000/\mu\text{l} = 133.000/\mu\text{l}$$

2. Sediaan Basah

- 1) Ditetaskan 1 tetes larutan BCB ditengah-tengah kaca obyek

- 2) Ditambahkan 2 tetes darah di larutan BCB dan dihomogenkan darah dengan larutan BCB menggunakan sudut kaca obyek
- 3) Tutup dengan kaca penutup
- 4) Periksa dengan minyak emersi

3. Perhitungan jumlah retikulosit:

Misal: dalam 10 lapangan pandang dijumpai 2000 eritrosit dan retikulosit 76, maka jumlah retikulosit (%):

$$\text{Jumlah Retikulosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah Retikulosit Dihitung}}{\text{Jumlah Eritrosit Dihitung}} \times 100$$

Sehingga, dari contoh soal diatas didapatkan:

$$\text{Jumlah Retikulosit (\%)} = \frac{76}{2000} \times 100$$

$$\text{Jumlah Retikulosit} = 0,038 \times 100\% = \mathbf{3,8\%}$$

Untuk mengetahui jumlah retikulosit absolut, maka harus dilakukan pemeriksaan jumlah eritrosit absolut menggunakan kamar hitung. Rumus jumlah retikulosit absolut, yaitu:

$$\text{Jumlah Retikulosit Absolut} = \text{Jumlah Retikulosit (\%)} \times \text{Jumlah Eritrosit Absolut}$$

Contoh: diketahui jumlah eritrosit 3,5 juta/ μ l, maka jumlah retikulosit absolutnya adalah:

$$\text{Jumlah Retikulosit Absolut} = 3,8\% \times 3.500.000/\mu\text{l} = 133.000/\mu\text{l}$$

Jika didapatkan jumlah retikulosit yang tinggi atau disertai dengan nilai hematokrit rendah, maka dilakukan koreksi terhadap nilai retikulosit. Nilai koreksi ini disebut **Indeks Retikulosit (Reticulocyte Production Indeks)**, dengan rumus:

$$\text{RP I} = \% \text{ Retikulosit} \times \text{Hematokrit Penderita} \times \text{Faktor Koreksi}$$

Hematokrit Penderita	Faktor Koreksi
40-45	1,0
35-40	1,5
25-34	2,0
15-24	2,5
<15	3,0

Nilai rujukan retikulosit= 0,5-1,5%

Nilai RPI:

- **RP I <2% = Kegagalan sumsum tulang membentuk eritrosit**
- **RP I 2-3% = Respons baik terhadap anemia hemolitik**
- **RP I >3% = Hiperproliferasi**

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (Lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Sebutkan beberapa faktor sumber kesalahan yang dapat mempengaruhi hasil hitung jumlah retikulosit!
- b. Jelaskan bagaimana pemeriksaan retikulosit dapat membantu dokter dalam mendiagnosis kondisi medis tertentu terkait sel darah merah dan sumsum tulang!
- c. Apa perbedaan antara retikulosit dan eritrosit? Bagaimana cara membedakan keduanya dalam pemeriksaan laboratorium?
- d. Apa yang dimaksud dengan indeks retikulosit? Bagaimana cara menghitungnya dan apa interpretasi dari hasil indeks retikulosit?

8. Daftar Pustaka

1. Gandasoebrata, R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat.
2. Subedi, S., & Joshi, K. (2021). Evaluation of reticulocyte count in different types of anemia. *Journal of Pathology of Nepal*, 11(1), 2027-2031.
3. Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. (2019). *Essential haematology*. John Wiley & Sons.

PRAKTIKUM 11: PEMERIKSAAN MORFOLOGI ERITROSIT

1. Kompetensi Dasar

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan morfologi eritrosit
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan morfologi eritrosit
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan morfologi eritrosit

2. Indikator Capaian

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan morfologi eritrosit
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan morfologi eritrosit
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan morfologi eritrosit

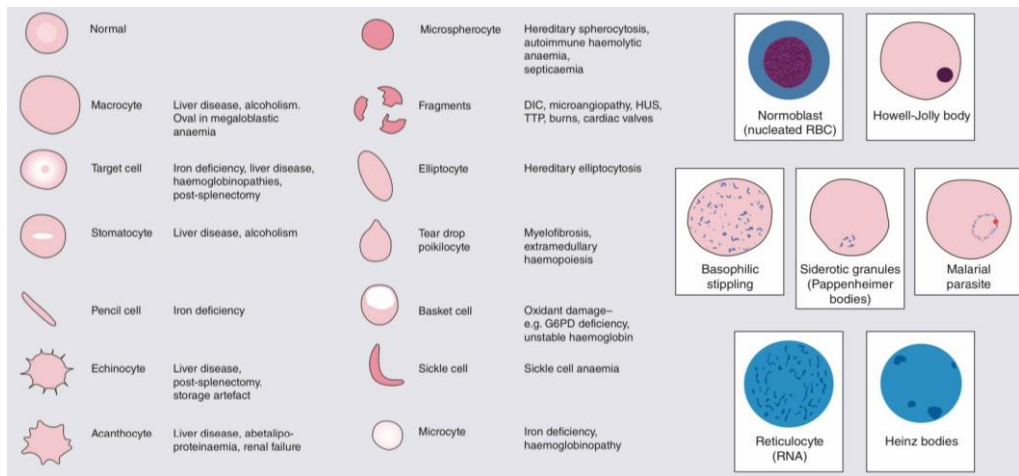
3. Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan morfologi eritrosit
- b. Melakukan pemeriksaan morfologi eritrosit
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan morfologi eritrosit

4. Uraian Teori

Pemeriksaan morfologi eritrosit adalah suatu teknik laboratorium yang digunakan untuk memeriksa bentuk (*shape*), ukuran (*size*), warna (*staining*) dan badan inklusi (*structure*) eritrosit dalam sampel darah. Pemeriksaan morfologi eritrosit dapat membantu dalam mendiagnosis berbagai jenis penyakit darah, seperti anemia, leukemia, dan hemolisis.



Gambar 6. Berbagai Morfologi Eritrosit (sumber: Hoffbrand, V., & Steensma, D. P. (2019). Hoffbrand's essential haematology. John Wiley & Sons.)

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat :

- Obyek glass,
- Mikroskop,
- Pipet tetes,
- Jembatan pengecatan

Bahan: :

- Giemsa,
- Buffer fosfat ph 6,8,
- Metanol absolut,
- Darah EDTA (sampel)

b. Prosedur Kerja

Pembuatan sediaan apus darah

1. Darah EDTA terlebih dahulu dihomogenkan
2. Ditetaskan sampel pada salah satu sisi obyek glass dengan jarak dari ujung sekitar 1 cm

3. Kemudian dengan menggunakan obyek glass lain, ditempelkan salah satu ujungnya ke tetesan sampel tadi hingga tetesan melebar ke seluruh bagian ujung obyek glass
4. Setelah itu, dilakukan pendorongan / pembuatan apusan secara perlahan dan konstan dengan sudut kemiringan $25-45^{\circ}$ yang disesuaikan dengan volume tetesan darah
5. Ditunggu hingga kering.

Pengecatan

1. Sediaan apus darah yang telah kering difiksasi dengan methanol selama 5 menit
2. Diencerkan cat giemsa dengan larutan buffer pH 6,8 dengan perbandingan 1:9
3. Digenangi sediaan dengan cat giemsa yang telah diencerkan selama 10 menit, setelah itu sediaan dibersihkan dari cat yang tersisa
4. Setelah kering, dapat dilakukan pengamatan pada mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 dan 100x.

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Sebutkan ciri-ciri sediaan apus darah tepi yang baik!
- b. Sebutkan ciri-ciri sumber kesalahan dalam pembuatan sediaan apus darah tepi!
- c. Jelaskan mengapa sel eritrosit dapat mengalami perubahan morfologi!

8. Daftar Pustaka

- 1) Bancroft, JD, Gamble M. 2013. *Teory and Practice of Histological Technique*, Phoadelphia. Elsevier
- 2) Khristian E, Inderiati D. 2018. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Toksikologi Klinik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- 3) Gandasoebrata R. 2007. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: Dian Rakyat

PRAKTIKUM 12: HEMATOLOGY ANALYZER

1. Kompetensi Dasar :

- a. Memahami fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- b. Mengetahui cara melakukan pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- c. Mengetahui cara interpretasi hasil pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*

2. Indikator Capaian :

- a. Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- b. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- c. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*

3. Tujuan Praktikum :

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Menjelaskan fungsi, komponen, dan prinsip pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- b. Melakukan pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*
- c. Melakukan interpretasi hasil pemeriksaan menggunakan *hematology analyzer*

4. Uraian Teori :

Hematologi Analyzer merupakan salah satu alat yang umum digunakan di laboratorium klinik karena sangat berperan dalam menegakkan diagnosa penyakit dari pasien. Alat ini dapat menghitung jumlah sel-sel darah yang

terdapat pada sampel darah pasien. Beberapa metode dalam sistem penghitungan sel darah menggunakan alat *hematology analyzer*, yaitu:

a. Metode Electrical Impedance (3 diff)

Teknologi Impedance menggunakan prinsip pengukuran resistansi listrik dari sel-sel darah saat melewati saluran berukuran mikro pada mesin hematology analyzer. Sel-sel darah yang lebih besar, seperti sel darah merah dan leukosit, akan menghasilkan perubahan resistansi listrik yang lebih besar dibandingkan dengan sel-sel darah yang lebih kecil, seperti trombosit. Dengan menggunakan prinsip ini, hematology analyzer dapat membedakan dan menghitung jumlah sel darah merah, leukosit, dan trombosit dalam sampel darah.

b. Metode Flowcytometry (3 dan 5 diff)

Teknologi Laser Flow Cytometry dan Fluorescence Flow Cytometry menggunakan prinsip pengukuran sifat optik dan fluoresensi sel-sel darah saat melewati suatu medium cair pada mesin hematology analyzer. Teknologi Laser Flow Cytometry menggunakan laser untuk menghasilkan cahaya dan membedakan sel-sel darah berdasarkan ukuran, bentuk, dan sifat permukaannya. Sementara teknologi Fluorescence Flow Cytometry menggunakan pewarnaan khusus dan laser untuk mengukur sifat fluoresensi sel-sel darah. Keduanya memberikan informasi lebih detail dan spesifik mengenai jenis sel darah, seperti subpopulasi limfosit atau sel imun.

5. Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat: - Perlengkapan flebotomi

- *Hematology analyzer*

Bahan: - Tabung vacutainer EDTA

- Alkohol swab

b. Prosedur Kerja

1. Nyalakan alat hingga status ready

2. Lakukan pemeriksaan control, jika qc diterima, lanjutkan pemeriksaan
3. Homogenkan sampel yang akan diperiksa
4. Pilih tombol *whole blood* “WB” pada layar
5. Pilih tombol ID dan masukkan nomor sampel
6. Masukkan sampel *probe* ke dalam tabung sampel yang akan diperiksa
7. Klik tombol “Start/Run”, tunggu hingga alat selesai menghisap sampel
8. Lepaskan tabung sampel dari alat
9. Hasil akan muncul pada layar secara otomatis

6. Evaluasi

a. Hasil Percobaan

b. Pembahasan

c. Laporan (lihat Pedoman Laporan Hasil Praktikum)

7. Soal Latihan

- a. Sebutkan faktor kesalahan yang dapat terjadi pada pemeriksaan menggunakan hematologi analyzer!
- b. Jelaskan kembali secara detail, prinsip-prinsip alat hematologi analyzer yang menggunakan metode impedance dan flowcytometry!
- c. Jelaskan kelemahan alat hematologi analyzer berdasarkan prinsip yang digunakannya!

8. Daftar Pustaka

- 1) Scoffin, K., 2014. Hematology Analyzers-From Complete Blood Counts to Cell Morphology. American laboratory, 46(5), pp.26-28.
- 2) McCullough, C.E., 2010. Medical Devices and Software: New Safety Challenges. Journal of Clinical Engineering, 35(1), pp.46-48.
- 3) Dameuli, Serti. 2018. "Perbedaan Kadar Hemoglobin Menggunakan Hb Meter, Spektrofotomeer dan Hematology Analyzer pada Sampel Segera Diperiksa dan Ditunda 20 Jam". Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- 4) Faruq, Zulfikar H. 2018. "Analisis Darah Lisis Terhadap Nilai Trombosit Menggunakan Metode Electrical Impedance". Semarang: Universitas Muhammadiyah (Vol. 2 No. 1).
- 5) Oktiyani, Neni dkk. 2017. "Akurasi Hitung Jumlah Eritrosit Metode Manual dan Metode Otomatis". Banjarmasin: Poltekkes Kemenkes Banjarmasin (Vol. 3 No. 2).