

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hematologi

Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui keadaan darah dan komponen-komponennya. Darah terdiri dari bagian padat yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), trombosit dan bagian cairan yang berwarna kekuningan yang disebut plasma. Pemeriksaan hematologi rutin dapat menentukan kualitas kesehatan. Beberapa data pemeriksaan laboratorium dirancang untuk tujuan tertentu misalnya untuk mendeteksi adanya gangguan fungsi organ, menentukan resiko suatu penyakit, memantau progresivitas penyakit, memantau kemajuan hasil pengobatan, dan sebagainya dengan melihat kenaikan dan penurunan jumlah sel darah. (Marice Sihombing, Sulistyowati Tuminah, 2011).

Pemeriksaan hematologi meliputi hemoglobin, hematokrit, perhitungan jumlah eritrosit, trombosit, leukosit diferensial yang terdiri dari neutrofil (*segmented dan bands*), basofil, eosinofil, limfosit dan monosit, dan gambaran biokimia darah Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT), Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT), kadar gula darah sewaktu dan total protein. (Marice Sihombing, Sulistyowati Tuminah, 2011).

Secara garis besar tujuan dari pemeriksaan hematologi antara lain :

- 2.1.1 Mengevaluasi kesehatan secara menyeluruh. Melihat kemungkinan adanya penyakit yang dapat dideteksi dari peningkatan ataupun penurunan kadar sel darah.
- 2.1.2 Mendiagnosis penyebab gangguan kesehatan, terutama jika pasien mengalami gejala tertentu, seperti demam, kelelahan, lemas, bengkak, dan perdarahan.
- 2.1.3 Memantau perkembangan kesehatan pasien dengan penyakit yang memengaruhi kadar sel darah.
- 2.1.4 Memantau penanganan penyakit, terutama yang memengaruhi kadar sel darah dan memerlukan tes hematologi lengkap secara teratur.

2.2 Hematokrit (Ht)

Hematokrit berasal dari dua kata yaitu haem yang artinya darah dan krinein yang artinya memisahkan (Gandasoebrata, 2010). Hematokrit adalah volume eritrosit dalam 100 mL (1 dL) darah dan dinyatakan dalam persen. Persentase volume seluruh eritrosit yang ada di dalam darah dan diambil dalam volume eritrosit yang dipisahkan dari plasma dengan cara memutarnya di dalam tabung khusus dalam waktu dan kecepatan tertentu yang nilainya dinyatakan dalam persen (%). (Sadikin. M, 2008).

Pemeriksaan hematokrit merupakan salah satu metode yang paling teliti dan simpel dalam mendeteksi derajat anemia dan polisitemia selain itu juga digunakan untuk mengukur konsentrasi eritrosit atau menghitung nilai eritrosit rata – rata dalam darah. Pemeriksaan Hematokrit merupakan salah satu pemeriksaan yang berguna dalam membantu diagnosa beberapa penyakit seperti demam berdarah, anemia, polisitemia, dan diare berat

(Sutedjo, 2007). Penentuan hematokrit dilakukan dengan sentrifugasi. Tinggi dari kolom eritrosit, *buffy coat*, dan kolom plasma harus diperhatikan. *Buffy coat* adalah lapisan merah keabu – abuan antara eritrosit dengan plasma. Dalam *buffy coat* terdiri dari trombosit dan leukosit. Plasma yang berwarna oranye atau hijau, yang menunjukkan peningkatan terjadinya hemoglobinemia (kelebihan hemoglobin dalam plasma darah) akibat spesimen mengalami hemolisis.

2.2.1 Nilai Hematokrit

Nilai hematokrit dapat digunakan sebagai tes skrining sederhana untuk anemia, sebagai referensi kalibrasi untuk metode otomatis hitung sel darah, dan secara kasar untuk membimbing kecuratan pengukuran hemoglobin. Nilai hematokrit yang dinyatakan g/L adalah sekitar tiga kali kadar Hb (Kiswari,2014). Sehubungan dengan estimasi dari Hb dan sel darah merah, nilai hematokrit dapat digunakan dalam perhitungan nilai indeks sel darah merah. Nilai hematokrit dari sampel adalah perbandingan antara volume eritrosit dengan volume darah secara keseluruhan.

Nilai hematokrit dapat dinyatakan sebagai presentase (konvensional) atau sebagai pecahan desimal (unit SI), liter/liter (L/L). (Kiswari, 2014). Biasanya nilai hematokrit ditentukan dengan darah vena dan kapiler (Gandasoebrata, 2007). Nilai normal hematokrit pada laki - laki berbeda dengan wanita. Nilai hematokrit pada laki – laki yaitu 40 – 48% sedangkan pada wanita 37 – 43%. Umumnya kadar hematokrit pada wanita lebih rendah daripada laki - laki.

2.2.2 Manfaat Pemeriksaan Hematokrit

Pemeriksaan Hematokrit berhubungan dengan beberapa penyakit, diantaranya :

a. Demam Berdarah Dengue (*Dengue Haemorrhagic Fever/ DHF*)

Demam Berdarah Dengue (*Dengue Haemorrhagic Fever/ DHF*) merupakan penyakit yang terdapat pada anak dan dewasa yang disebabkan oleh virus dan disebarkan nyamuk *Aedes aegypti*. Patofisiologi utama yang menentukan berat penyakit ini adalah meningkatnya permeabilitas pembuluh darah sehingga mengakibatkan kebocoran plasma ke ekstrak vaskuler melalui kapiler yang rusak. Hal tersebut menyebabkan volume plasma menurun dan nilai hematokrit meningkat. Peningkatan hematokrit sampai 20% atau lebih dianggap sebagai bukti definitif adanya peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan kebocoran plasma. Jadi, apabila terjadi peningkatan hematokrit dapat segera dilakukan pemberian cairan intravena atau infus yang bertujuan untuk mengembalikan volume cairan intravaskuler ke tingkat yang normal (Hadinegoro, 2002).

b. Anemia

Anemia merupakan penurunan kuantitas sel – sel darah merah dalam sirkulasi, abnormalitas kandungan hemoglobin sel darah merah atau keduanya. Anemia dapat mengakibatkan penurunan nilai hematokrit dan hemoglobin (Corwin, 2009).

c. Polisitemia

Polisitemia merupakan peningkatan jumlah sel darah merah.

Polisitemiavera ditandai dengan adanya peningkatan jumlah trombosit dan granulosit serta sel – sel darah merah juga diyakini sebagai awal terjadinya abnormalitas sel (Corwin, 2009). Didalam sirkulasi darah polisitemia vera terjadi peninggian nilai hematokrit yang menggambarkan terjadinya peningkatan konsentrasi eritrosit terhadap plasma (Sudoyo, et. Al, 2009).

d. Diare Berat

Diare Berat adalah buang air besar (defekasi) dengan feses berbentuk cairan atau setengah cairan (setengah padat) sehingga kandungan air pada tinja lebih banyak dari biasanya (normal 100 - 200 ml/ jam tinja. Apabila terkena diare biasanya akan mengalami dehidrasi yaitu kehilangan cairan sebagai akibat kehilangan air dari badan baik karena kekurangan pemasukan air atau kehilangan air yang berlebih dapat menyebabkan nilai hematokrit meningkat akibat hemokonsentrasi (Sudoyo, et, al, 2009).

2.2.3 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Hematokrit

Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar nilai hematokrit (Frandsen,1992) :

a. Faktor Jumlah Sel Darah Merah

Jumlah sel darah merah meningkat atau banyak maka jumlah nilai hematokrit juga akan mengalami peningkatan.

b. Faktor Jenis Kelamin

Dimana sel darah merah pria lebih banyak dari pada wanita, apabila jumlah sel darah merah meningkat atau banyak maka jumlah nilai

hematokrit juga akan mengalami peningkatan.

c. Aktivitas dan keadaan patologis

Penyakit ginjal yang parah atau sudah berlangsung lama dapat menyebabkan anemia dan menurunnya hematokrit. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya jumlah hormon pembentuk sel darah merah (eritropoietin) yang dihasilkan di ginjal. Anemia atau hematokrit rendah yang disebabkan oleh penyakit ginjal kronis biasanya dapat diobati dengan pemberian obat epoetin alfa atau darbepoetin alfa melalui suntikan.

d. Ketinggian Tempat

Kadar oksigen dalam udara berkurang sehingga oksigen yang masuk ke dalam paru – paru berkurang, oleh karena itu supaya terjadi keseimbangan maka sumsum tulang belakang memproduksi sel – sel darah merah.

e. Hemokonsentrasi

Pengentalan darah akibat perembesan plasma (komponen darah cair non seluler) ditandai dengan nilai hematokrit. Hematokrit adalah perbandingan sel darah merah dan serum darah (cairan darah). Semakin tinggi nilai hematokrit, artinya semakin rendah nilai serum darah. Jika serum darah yang berfungsi sebagai pelarut rendah, maka terjadi kekentalan di dalam pembuluh darah.

f. Viskositas darah

Efek hematokrit terhadap viskositas darah adalah makin besar prosentase sel darah maka makin tinggi hematokritnya dan makin banyak pergeseran diantara lapisan – lapisan darah, dimana

pergeseran tersebut yang menentukan viskositas. Oleh karena itu, viskositas darah meningkat secara drastis ketika hematokrit meningkat (Guyton, 2000).

g. Plasma

Plasma merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pemeriksaan hematokrit karena keadaan fisiologis atau patofisiologis. Oleh karena itu, pada saat melakukan pemeriksaan hematokrit plasma juga harus diamati terhadap adanya hemolisis.

Tabel 2.1 Faktor yang Mempengaruhi Kadar Hematokrit

Kondisi	Efek terhadap kadar hematokrit
Umur e. Bayi f. Anak – anak g. Lansia	Meningkat Lebih rendah dari nilai normal dewasa Menurun dari nilai normal dewasa
Gender	Wanita dewasa mempunyai nilai normal yang lebih rendah dari nilai normal laki – laki dewasa
Dehidrasi berat	Meningkat
Anemia	Menurun
Polisitemia	Meningkat
Leukimia	Menurun
Penduduk dataran tinggi	Meningkat

2.2.4 Metode Pemeriksaan Kadar Hematokrit

a. Pemeriksaan Hematokrit Dengan Cara Konvensional

Pemeriksaan hematokrit dapat dilakukan dengan cara makro maupun mikro yaitu dengan prinsip dimana darah dengan antikoagulan disentrifus pada kecepatan tertentu dan dalam waktu tertentu. Perbandingan volume eritrosit terhadap volume spesimen dinyatakan dalam %. Adapun kekurangan dalam melakukan pemeriksaan hematokrit metode mikro dengan cara konvensional yaitu pada saat penutupan ujung tabung kapiler

yang tidak rapat sehingga dapat terjadi kebocoran pada saat disentrifus dan nilai hematokrit menurun. Sedangkan kelebihanannya yaitu teknik pemeriksaan lebih sederhana, sampel yang digunakan sedikit serta nilai hematokrit dari tabung kapiler sangat sah (variabilitasnya hanya 1-2%) (Mahode, 2011).

b. Pemeriksaan hematokrit dengan cara otomatis (*Hematology Analyzer*)

Hematology Analyzer adalah alat yang dipergunakan secara *in vitro* untuk melakukan pemeriksaan hematologi secara otomatis, menggunakan reagen maupun *cleaning* sesuai dengan *manual book*. Analisis semua data akan ditampilkan di *IPU (Information Processing Unit)*, dengan kapasitas analisa 80 spesimen /jam (Sysmex Manual Book).

Pemeriksaan *Hematology Analyzer* termasuk sebagai *gold standar* dalam menegakan diagnosis pemeriksaan hematologi termasuk penetapan kadar hemoglobin. Ada beberapa metode pengukuran yang digunakan pada alat *Hematology Analyzer*, yaitu: Electrical Impedance, Fotometri, Floctometry, dan Histogram. Hemoglobin diukur melalui metode fotometri dan *non cyanide SLS- Hb method. Sodium Lauryl Sulfate (SLS)* adalah surfaktan *anionic* yang bersifat hidrofobik dan berikatan sangat kuat dengan protein. Terdapat 4 tahap reaksi *non cyanide SLS-Hb method*, setelah sel darah merah mengalami lisis, absorpsi SLS pada membran sel darah merah menghasilkan perubahan struktur protein. Tahap kedua adalah perubahan konformasi molekul globin. Tahap ketiga, perubahan hemoglobin dari Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} yang diinduksi perubahan molekul globin pada tahap sebelumnya. Tahap terakhir adalah terjadinya

ikatan antara gugus hidrofil dari SLS dengan Fe^{3+} membentuk kompleks yang stabil (Sysmex Manual Book).

Alat *hematology analyzer* memiliki beberapa kelebihan, diantaranya efisiensi dalam waktu dan volume sampel. Hasil yang dikeluarkan oleh alat *hematology analyzer* sudah melalui *quality control* yang dilakukan oleh *intern* laboratorium. Kekurangan *hematology analyzer* antara lain perawatan, suhu ruangan, harus dilakukan kontrol secara berkala (Sysmex, 2014).

Pemeriksaan hematokrit menggunakan *Hematology Analyzer* memiliki keterbatasan yaitu:

- 1) Terdapat bekuan sehingga menyebabkan nilai hematokrit rendah palsu.
- 2) Terdapat leukositosis ($>100.000/\text{ul}$) akan menyebabkan nilai hematokrit tinggi palsu.
- 3) Terdapat eritrosit abnormal akan mempengaruhi nilai hematokrit.

Kekurangan pada pemeriksaan hematokrit dengan cara otomatis menggunakan *hematology analyzer* adalah kurang efisien dari segi dana dan membutuhkan sampel darah yang lebih banyak, sedangkan kelebihanannya yaitu hasil dari pemeriksaan akan dibaca secara otomatis dan hasil pemeriksaan dapat langsung diketahui secara tepat dan mempunyai derajat ketepatan yang tinggi.

2.3 Produk PRC (*Packed Red Cells*)

Packed Red Cell (PRC) adalah suatu konsentrat eritrosit yang berasal dari sentrifugasi maupun sedimentasi *whole blood*, disimpan selama 42 hari dalam larutan tambahan sebanyak 100 ml yang berisi salin, adenin, glukosa, dengan atau tanpa manitol untuk mengurangi hemolisis eritrosit (Anindita, 2011).

Packed Red Cells adalah sel yang tersisa setelah hampir semua plasma dipindahkan dari darah lengkap atau *whole blood* (McCullough, 2012). PRC mungkin mengandung sejumlah besar leukosit dan trombosit tergantung metode sentrifugasi (Permenkes No 91, 2015). Kadar hematokrit PRC adalah kurang dari atau sama dengan 80% jika disiapkan dari WB dalam larutan pengawet *citrate-phosphate-dextrose* (CPD), *citrate-phosphate-dextrose-dextrose*(CPD2), atau *citrate-phosphatedextrose-adenine* (CPDA-1) (Brecher, 2005).

PRC merupakan komponen yang terdiri dari eritrosit yang telah dipisahkan dengan memisahkan komponen-komponen lain sehingga mencapai hematokrit 65-75%, yang berarti menghilangnya 93-171 ml plasma dari satu unitnya. PRC merupakan pilihan utama untuk anemia kronik karena volumenya yang lebih kecil dibandingkan dengan *whole blood*. Setiap unit PRC mempunyai volume kira-kira 218 ± 39 ml, tergantung volume kadar hemoglobin donor dan proses separasi komponen awal (Permenkes No 91, 2015).

PRC dibuat khusus di dalam kantong plastik pada saat segera setelah donasi darah diputar secara khusus sehingga terpisah dari komponen-

komponen lain, jauh lebih baik dan lebih tahan lama disimpan. *Packed Red Cells* dibuat dengan cara pengendapan darah didalam botol lalu bagian plasmanya disedot keluar tidak menghasilkan komponen yang ideal karena sudah terbuka resiko kontaminasi pada waktu penghisapan. Waktu penyimpanannya hanya sampai 24 jam didalam alat pendingin darah. (Depkes RI, 2008).

2.3.1 Tujuan Pemberian Transfusi PRC (*Packed Red Cells*)

Tujuan transfusi PRC adalah untuk menaikkan hemoglobin klien tanpa menaikkan volume darah secara nyata. Keuntungan menggunakan PRC dibandingkan dengan WB adalah kenaikan Hb dapat diatur sesuai dengan yang diinginkan, mengurangi kemungkinan penularan penyakit dan reaksi imunologis, volume darah yang diberikan lebih sedikit sehingga kemungkinan *overload* berkurang serta komponen darah lainnya dapat diberikan kepada klien yang lain.

2.3.2 Indikasi Pemberian Transfusi PRC (*Packed Red Cells*)

PRC digunakan pada pasien anemia yang tidak disertai penurunan volume darah, misalnya pasien dengan anemia hemolitik, anemia hipoplastik kronik, leukemia akut, leukimia kronik, penyakit keganasan, talasemia, gagal ginjal kronis, dan perdarahan-perdarahan kronis yang ada tanda "*oxygen need*" (rasa sesak, mata berkunang, palpitasi, pusing dan gelisah). PRC diberikan sampai tanda *oxygen need* hilang, biasanya pada hemoglobin 8-10 gr/dl.

Indikasi utama pemakaian *PRC* adalah untuk mengembalikan kemampuan oksigenasi pada kondisi-kondisi kehilangan darah, anemia, atau

haemoglobinopati. Satu unit *PRC* bisa menaikkan kadar hemoglobin orang dewasa rata-rata 1g/dL dan hematokrit 3%. Pemberian *PRC* pada anak dengan dosis 3ml/kg berat badan bisa menaikkan hemoglobin 1 g/dl dan hematokrit 3% (Hillyer et al., 2007).

Transfusi *PRC* hampir selalu diindikasikan pada kadar Hb < 7 g/dl, terutama pada anemia akut. Transfusi dapat ditunda jika pasien asimtomatik atau penyakitnya memiliki terapi spesifik lain, maka batas kadar Hb yang lebih rendah dapat diterima. Transfusi sel darah merah dapat dilakukan pada kadar Hb 7-10 g/dl apabila ditemukan hipoksia atau hipoksemia yang bermakna secara klinis dan laboratorium.

Transfusi tidak dilakukan bila kadar Hb ≥ 10 g/dl, kecuali bila ada indikasi tertentu, misalnya penyakit yang membutuhkan kapasitas transport oksigen lebih tinggi (contoh: penyakit paru obstruktif kronik berat dan penyakit jantung iskemik berat).

Packed Red Cells harus disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 2-6°C untuk mempertahankan masa hidup eritrosit secara optimum. Sekali dikeluarkan oleh Bank Darah Rumah Sakit (BDRS), *PRC* harus ditransfusikan dalam waktu 30 menit. Darah harus disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-6°C jika transfusi tidak bisa dimulai dalam waktu tersebut (McClelland 2007; Simon et al., 2009). Darah harus dibuang apabila ketentuan ini tidak dipenuhi (Simon et al., 2009). Transfusi harus sudah selesai dilakukan dalam waktu 4 jam (McClelland, 2007).

2.3.3 Dosis Pemberian Transfusi PRC (*Packed Red Cells*)

Sel darah merah ada tiga jenis yaitu sel darah merah pekat (*packed red cell=PRC*), suspensi sel darah merah, dan sel darah merah yang dicuci. Indikasi mutlak pemberian PRC adalah bila Hb penderita 5 g/dl. Jumlah PRC yang diperlukan untuk menaikkan Hb dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

Gambar 2.1 Rumus Dosis Pemberian Transfusi PRC (*Packed Red Cells*)

$$\text{Jumlah PRC} = \text{Hb} \times 3 \times \text{BB}$$

Hb = selisih Hb yang diinginkan dengan Hb sebelum transfusi

BB = berat badan

2.3.4 Spesifikasi Komponen Darah

Tabel 2.2 Spesifikasi Komponen Darah

Nama komponen	- <i>Packed Red Cells (PRC)</i> - <i>Packed Red Cells Buffy Coat Removed (PRCBCR)</i> - <i>Packed Red Cells Leukodepleted (PRC-LD)</i>
Deskripsi dan kandungan	Diperoleh dengan membuang sebagian besar volume plasma dari darah lengkap. - PRC mungkin mengandung sejumlah besar leukosit dan trombosit tergantung metode sentrifugasi. - PRC-BCR adalah sel darah merah yang jumlah leukositnya sudah dikurangi dengan memisahkan lapisan buffy coat.
Nama komponen	- <i>Packed Red Cells (PRC)</i> - <i>Packed Red Cells Buffy Coat Removed (PRCBCR)</i> - <i>Packed Red Cells Leukodepleted (PRC-LD)</i>
	- <i>PRC-LD</i> adalah sel darah merah yang jumlah leukositnya sebagian besar telah dibuang.
Persiapan	- <i>PRC</i> : plasma dibuang dari darah lengkap setelah sentrifugasi. - <i>PRC-BCR</i> : plasma dan 20 hingga 60 mL buffy coat dipisahkan setelah sentrifugasi - <i>PRC-LD</i> : <ul style="list-style-type: none"> • filtrasi darah lengkap dalam waktu 48 jam setelah pengambilan darah setelah pengambilan dilanjutkan

	dengan sentrifugasi dan pemindahan plasma ATAU <ul style="list-style-type: none"> • filtrasi sel darah merah dalam waktu 48 jam setelah pengambilan
--	--

(Sumber : Permenkes No 91, 2015)

Tabel diatas menerangkan nama-nama komponen *PRC* yang dapat diproduksi dari pemisahan WB, diskripsi dan kandungan masing-masing *PRC*.

2.3.5 Spesifikasi *Quality Control Packed Red Cells* Metode Sentrifugasi Maupun Sedimentasi

**Tabel 2.3 Spesifikasi *Quality Control Packed Red Cells* Metode Sentrifugasi
Maupun Sedimentasi**

Parameter yang harus diperiksa	Dilakukan pada	Spesifikasi	<i>Sampling</i>	% QC yang dapat diterima
ABO, Rhesus	Semua	Penentuan golongan darah terkonfirmasi	Semua kantong	100%
Anti-HIV 1 dan 2	Semua	Negatif dengan pemeriksaan yang disetujui	Semua kantong	100%
Anti-HCV	Semua	Negatif dengan pemeriksaan yang disetujui	Semua kantong	100%
HBsAg	Semua	Negatif dengan pemeriksaan yang disetujui	Semua kantong	100%
Sifilis	Semua	Negatif dengan pemeriksaan yang disetujui	Semua kantong	100%
Volume	<ul style="list-style-type: none"> • PRC dari WB 450 ml • PRC dari WB 350 ml 	280 ± 50 mL 218 ± 39 mL	1% dari total kantong minimal	75%

Parameter yang harus diperiksa	Dilakukan pada	Spesifikasi	Sampling	% QC yang dapat diterima
	<ul style="list-style-type: none"> • PRC-BCR dari WB 450 ml • PRC-BCR dari WB 350 ml 	250 ± 50 mL 195 ± 39 mL	4 per bulan	
	<ul style="list-style-type: none"> • PRC-LD dari WB 450 ml • PRC-LD dari WB 350 ml 	Akan ditetapkan sesuai sistem yang digunakan		
Haematokrit	PRC	0.65 – 0.75	4 kantong per bulan	
	PRC-BCR	0.50 – 0.70		
	PRC-LD	0.50 – 0.70		
Hemoglobin	PRC	Minimal 45 g per kantong	4 kantong per bulan	75%
	PRC-BCR	Minimal 43 g per kantong		
	PRC-LD	Minimal 40 g per kantong		
Hemolisis pada akhir masa simpan	Semua	<0,8% dari jumlah total sel darah merah	4 kantong per bulan	75%
Jumlah leukosit	<i>Red Cells-BCR</i>	<1.2 x 10 ⁹ per kantong (BCR)	1% dari semua kantong minimal 10 per bulan	90%
	<i>Red Cells-LD</i>	<1 x 10 ⁶ per kantong (LD)		
Kontaminasi Bakteri	Semua kantong (pengujian <i>surrogate diperbolehkan</i>)	Tidak ada pertumbuhan	1% dari semua kantong	Merujuk pada grafik statistik pertumbuhan bakteri

(Sumber : Permenkes No 91, 2015)

2.4 Metode Pemisahan Komponen Darah

2.4.1 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan tahap kritis yang digunakan untuk memisahkan komponen darah seluler dari plasma. Tahap pemisahan sel darah merah dan

plasma, jika trombosit tidak akan dibuat, harus dalam kondisi bersih. Jika trombosit akan dibuat, sentrifugasi harus memisahkan sel darah merah dari plasma kaya akan trombosit (*platelet-rich plasma*) atau dari *buffy coat* dan plasma. Trombosit harus dipisahkan saat tahap sentrifugasi kedua. Parameter sentrifus yang digunakan harus divalidasi sebelum komponen darah diolah. (Permenkes No 91, 2015).

Campuran dapat tersusun atas beberapa unsur ataupun senyawa. Komponen-komponen penyusun campuran dapat dipisahkan berdasarkan sifat fisika zat penyusunnya. Salah satu metode yang sering digunakan dalam pemisahan campuran adalah sentrifugasi. Sentrifugasi adalah proses pemisahan partikel berdasarkan berat partikel tersebut terhadap densitas layangnya (*bouyant density*). (Budiman, 2010).

Pada fase awal sentrifugasi, cairan sekeliling merupakan campuran plasma dan larutan antikoagulan. Leukosit dan *RBC* diputar keluar lebih cepat daripada trombosit karena mempunyai volume yang lebih besar daripada trombosit. Bergantung pada waktu dan kecepatan pemutaran, kebanyakan leukosit dan *RBC* menempati pertengahan bawah kantong dan pertengahan atas mengandung *Platelet Rich Plasma (PRP)*. Pada akhir sentrifugasi *cell-free* plasma menempati bagian atas kantong dan *RBC* pada bagian bawah (Blaney & Howard, 2013; Keitel, 2015).

Dalam bentuk yang sangat sederhana sentrifus terdiri atas sebuah rotor dengan lubang-lubang untuk meletakkan cairan wadah/tabung yang berisi cairan dan sebuah motor atau alat lain yang dapat memutar rotor pada kecepatan yang dikehendaki. (Hendra, 1989).

2.4.2 Centifuge

Centrifuge adalah alat pada laboratorium yang digunakan untuk memisahkan partikel organel. Hasil dari pemisahan centrifuge ditunjukkan dalam pengendapan atau sedimentasi karena perbedaan massa jenis larutan. Centrifuge dilakukan dengan cara menempatkan suatu objek yang akan dipisahkan ke dalam rotor dan memanfaatkan gaya tegak lurus terhadap sumbu spin. (Blaney & Howard, 2013; Keitel, 2015). Jika perputaran semakin cepat, maka sedimentasi atau pengendapan yang terbentuk akan semakin banyak.

2.4.3 Cara Kerja Centrifuge

Cairan yang terdiri dari campuran beberapa jenis zat larutan akan membentuk sedimentasi atau pengendapan pada permukaan cairan dengan berat jenis massa yang lebih rendah berada di bagian paling atas. Namun, proses ini bisa berlangsung selama berjam-jam. Dengan centrifuge, proses ini akan dipercepat dengan cara memutar cairan dengan kecepatan amat tinggi. Partikel yang lebih besar akan secara otomatis menjauh, sedangkan partikel yang lebih kecil akan berkumpul dan membentuk endapan di bagian tengah cairan. (Blaney & Howard, 2013; Keitel, 2015).

2.4.4 Gaya Sentrifugal

Centrifuge menggunakan prinsip gaya sentrifugal dalam prosesnya, yakni efek semu yang timbul saat benda melakukan gerakan secara melingkar sehingga benda tersebut akan menjauh dari pusat lingkaran. Gaya sentrifugal serupa dengan gaya sentripetal namun memiliki arah yang

berbeda. Pada gaya sentripetal, benda akan mendekati pusat lingkaran, sedangkan pada sentrifugal benda akan menjauhi pusat lingkaran. Gaya yang digunakan dalam sentrifugasi ialah gaya sentrifugal yang membuat bahwa setiap partikel yang berputar pada kecepatan sudut yang konstan memperoleh gaya keluar sebesar F . Besarnya gaya yang dipakai tergantung pada kecepatan sudut (ω) dan radius perputaran (r, cm).

Pemisahan sentrifugal menggunakan prinsip dimana objek diputar horizontal pada jarak tertentu. Gaya inilah yang menghasilkan partikel-partikel menuju dinding tabung dan terakumulasi membentuk endapan (Zulfikar, 2008).

Salah satu metode yang dapat dipergunakan untuk memisahkan campuran ini adalah metode sentrifugasi, yaitu metode yang digunakan dalam untuk mempercepat proses pengendapan dengan memberikan gaya sentrifugasi pada partikel-partikelnya. Pemisahan sentrifugasi memakai prinsip dimana objek diputar secara horizontal pada jarak tertentu. Jika substansi/objek berotasi di dalam tabung yang mengandung campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi gaya tersebut yang disebut gaya sentrifugasi. Gaya inilah yang membentuk partikel-partikel menuju dinding tabung dan terakumulasi membentuk endapan.

Apabila dalam larutan yang mengandung partikel yang berbeda ukuran, bentuk, reaksi terhadap kecepatan sentripetal, berat molekul dan kepadatan sel yang berbeda, pada akhirnya akan terbentuk endapan yang menunjukkan telah terjadi pemisahan menurut komponennya. Jumlah endapan dan

keberhasilan pemisahan campuran tergantung pada sifat kelarutan komponen terlarut dan viskositas campuran. Komponen zat yang mudah larut dalam pelarutnya dan yang memiliki berat jenis molekul yang tidak terlalu besar akan sulit dipisahkan atau endapan yang dihasilkan sedikit. Viskositas juga mempengaruhi hasil pemisahan.

Campuran yang viskositasnya tinggi, zat terlarutnya sangat banyak sehingga tidak ada ruang dalam campuran tersebut untuk partikel mampu berpindah dan berada pada posisi sesuai dengan berat jenisnya oleh adanya gaya sentrifugal dan gravitasi. Kecepatan menyebabkan hasil pemisahan, kecepatan yang lebih tinggi dan dalam waktu yang cukup, maka proses sentrifugasi berjalan lebih sempurna, ukuran partikel yang diperolehpun semakin kecil. (Rickwood, 1984).

2.4.5 Jenis Rotor *Centrifuge*

Komponen utama pada proses sentrifugasi ialah instrumen sentrifus, rotor, dan tabung (wadah sampel). Sedangkan bagian asesoris umumnya bergantung mengikuti aplikasi yang akan dilakukan pada proses tersebut. Instrumen sentrifus sebagai bagian yang menjadi alat penggerak proses sentrifugasi karena didalamnya memiliki motor yang mampu berputar dan memiliki pengaturan kecepatan perputaran (Budiman, 2010).

Pada proses sentrifugasi rotor akan membentuk sudut siku sempurna untuk memisahkan partikel dan membentuk band (daerah) yang mempermudah untuk pengambilan sampel bila ia tercampur (Budiman, 2010).

Terdapat dua jenis rotor dalam centrifuge yakni *fixed* dan *swing out*. Pada centrifuge *fixed*, tabung akan melekat di dalam rotor secara permanen dengan tingkat kemiringan 45 derajat sehingga pengendapan yang terbentuk memiliki kemiringan. Sedangkan, centrifuge *swing out* memiliki tabung yang melekat pada rotor sehingga tabung akan bergerak secara mendatar mengikuti rotor.

Jika dibandingkan, kecepatan putaran pada centrifuge *fixed* lebih besar dibanding centrifuge *swing out*. Namun, hasil dari pengendapan centrifuge *swing out* berbentuk mendatar sehingga partikel tidak akan mudah terurai saat dikeluarkan dari tube, berbeda dengan centrifuge *fixed* dengan cairan yang rentan untuk terurai kembali.

2.4.6 Fungsi Centrifuge

Terdapat banyak sekali fungsi dari *centrifuge*. Pada bidang kesehatan, fungsi centrifuge adalah untuk memisahkan partikel sel darah untuk memperoleh plasma darah maupun serum. Sedangkan, dalam bidang biologi, centrifuge digunakan untuk mendapatkan elemen berkonsentrasi tinggi untuk pemeriksaan kimia ataupun mikroskopik. *Centrifuge* juga bisa digunakan untuk memisahkan komponen lipid dan memisahkan protein dalam kimia.

2.4.7 Macam Centrifuge Berdasarkan Fungsinya

Ada beberapa jenis sentrifus yaitu mikrosentrifugasi, sentrifugasi kecepatan tinggi, sentrifugasi kecepatan rendah, sentrifugasi dingin, dan sentrifugasi ultra . (Rickwood, 1984).

a. Benchtop

Benchtop centrifuge adalah salah satu jenis *centrifuge* yang lazim digunakan dalam berbagai bidang dengan kecepatan yang beragam. Terdapat beberapa jenis benchtop *centrifuge* yakni *swinging bucket*, *fixed angle* dan *continuous flow*.

b. *Refrigerated Centrifuge*

Seperti namanya, *refrigerated centrifuge* digunakan untuk proses sentrifugasi yang sensitif terhadap suhu seperti sel hidup, sel hewan maupun sel protein. Kecepatan dari *centrifuge* ini beragam dan dapat menampung berbagai volume, mulai dari milliliter hingga beberapa liter.

c. *Clinical Benchtop*

Clinical benchtop centrifuge adalah jenis *centrifuge* dengan kecepatan putar yang rendah dan digunakan untuk pemisahan komponen sel darah putih seperti serum, plasma, buffy coat, hingga pemisahan sel darah merah dan untuk pemisahan cairan tubuh lainnya. *Centrifuge* ini biasanya memiliki ukuran yang sama dengan ukuran tabung penampung darah.

d. *Microcentrifuges*

Microcentrifuges seringkali ditemukan pada laboratorium untuk menampung tabung dengan volume yang amat kecil dibawah 3 mililiter. Terdapat beberapa jenis *microcentrifuges* di pasaran dengan pilihan pengatur temperatur dan kecepatan putaran yang beragam.

e. *Vacuum*

Berbeda dari beberapa jenis *centrifuge* diatas, *vacuum centrifuge* adalah *centrifuge* dengan menggunakan gaya sentrifugal, temperatur dan udara untuk menghilangkan larutan tertentu dalam suatu sampel. *Centrifuge* ini biasanya digunakan untuk proses pemurnian atau persiapan suatu sampel

seperti cairan nucleus, peptide, protein, dan proses evaporasi dari zat tertentu.

2.4.8 Kalibrasi *Refrigerated Centrifuge*

Kalibrasi *Refrigerated Centrifuge* dilakukan dengan mengukur kecepatan rotor, suhu dan waktu pada alatnya. Ada beberapa alat yang dapat digunakan untuk kalibrasi *Refrigerated Centrifuge*:

- a. Kalibrasi rpm
- b. Kalibrasi suhu
- c. Kalibrasi waktu

Kalibrasi tersebut diatas di UDD PMI Kabupaten Jember sudah dilakukan dengan diterbutkannya sertifikat kalibrasi *Refrigerated Centrifuge*.

2.4.9 Cara *Maintenance Refrigerated Centrifuge*

- a. Harian
 - 1) Bersihkan *bucket* / cup plastik dari *Refrigerated Centrifuge* sebelum digunakan dengan menggunakan detergen.
 - 2) Bersihkan bagian luar dari debu atau kotoran lain.
- b. Bulanan
 - 1) Bersihkan bagian dalam dari alat dengan Alkohol 70 %
 - 2) Beri pelumas pada masing-masing lengan dari alat.

2.4.10 Prosedur Pemakaian *Refrigerated Centrifuge*

- a. Nyalakan *Refrigerated Centrifuge* dengan menaikkan tonbol power *on off* keatas.

- b. Buka Tutup *Refrigerated Centrifuge* bagian luar.
- c. Buka Tutup *Refrigerated Centrifuge* bagian dalam dengan menekan tombol tengah dan letakkan ditutup *Refrigerated Centrifuge* bagian luar.
- d. Ambil *cup* bagian dalam warna oranye yang digunakan untuk menimbang darah kemudian timbang darah yang akan diputar.
- e. Masukkan darah yang sudah ditimbang dengan posisi berhadapan.
- f. Ambil tutup bagian dalam dan tutupkan dengan menekan tombol bagian tengah.
- g. Tutup *Refrigerated Centrifuge* dengan tutup bagian luar.
- h. Atur Program *Refrigerated Centrifuge* sesuai dengan komponen darah yang akan dibuat.
- i. Program Pemutaran *Refrigerated Centrifuge* : Pilih Program 01 (Kecepatan 3850 rpm pada suhu 2-6°C selama 5 menit).
- j. Tekan tombol Start.
- k. *Refrigerated Centrifuge* hidup ditandai dengan alarm lampu menyala merah, tanda pemutaran selesai ditandai lampu alarm dan tanda pintu menyala *ready*.
- l. Buka tutup *Refrigerated Centrifuge* dan ambil bucket yang berisi darah.
- m. Setelah selesai turunkan tombol *off* kearah bawah dan tutup *Refrigerated Centrifuge* (PMI, 2015).

2.4.11 Prosedur Pembuatan *Packed Red Cells* Metode Sentrifugasi

Setelah sentrifugasi, kantong darah harus ditempatkan dengan hati-hati pada ekstraktor plasma atau pada sistem pemisahan otomatis agar

lapisan-lapisan komponen darah dapat dipindahkan kedalam kantong satelit yang terangkai. (Permenkes No. 91, 2015).

- 1) Nyalakan RC 30 menit sebelum digunakan
- 2) Gunakan *Whole Blood* dari kantong double dengan volume 350 cc
- 3) Identifikasi kantong satelit :
 - a) Nomor Kantong
 - b) Golongan Darah
 - c) Tanggal Pengambilan
 - d) Jenis Komponen Darah
 - e) Volume
 - f) Suhu Penyimpanan
 - g) Tanggal Kadaluarsa
 - h) Nama Petugas
- 4) Rapikan selang kantong menggunakan karet dan bersihkan tubing kantong dari sel darah merah dengan cara mengetuk tubing secara perlahan
- 5) Masukkan darah pada cup plastik dengan posisi label kantong saling berhadapan
- 6) Seimbangkan dengan menggunakan *Analytical Balance (0)*
- 7) Masukkan cup plastik kedalam *Refrigerated Centrifuge (RC)* dengan posisi berhadapan kantong darah sejajar kuping cup
- 8) Putar dengan kecepatan 3850 Rpm, 5 menit, suhu 4°C (pilih program 01 *Double bag*)

- 9) Angkat cup plastik. Tempatkan kantong utama A pada plasma extractor dengan hati - hati dengan label menghadap kebelakang dan pastikan tidak tercampur antara sel darah dengan plasma
- 10) Lakukan perhitungan banyaknya plasma yang akan dialirkan ke kantong satelit
- 11) Patahkan tubing kantong dan alirkan plasma kedalam kantong satelit B, sesuai dengan perhitungan, klem selang menggunakan klem plastik kemudian *seal* dengan *electric sealer* selang kantong utama A
- 12) Gunting dan pisahkan kantong satelit B dari kantong utama A
- 13) Masukkan data komponen darah pada proses komponen SIMDONDAR dan cetak label komponen
- 14) Periksa kecocokan nomer kantong dengan label sebelum melakukan penempelan label pada kantong darah
- 15) Simpan *Packed Red Cell* pada *Blood Bank* dengan suhu 2 – 6 °C dengan lama simpan 35 hari (menggunakan antikoagulan CPDA-1)
- 16) Simpan *Liquid Plasma* pada *Blood Bank* dengan suhu 2 – 6 °C dengan lama simpan 35 hari (menggunakan antikoagulan CPDA-1)
- 17) Simpan komponen *Packed Red Cell* dan *Liquid Plasma* dengan prinsip *First In First Out* (FIFO) dan meletakkan sesuai dengan golongan darah ABO untuk menghindari kesalahan pengambilan
- 18) Bereskan alat dan matikan RC (PMI, 2020)

2.5 Sedimentasi

Sedimentasi jika sentrifus tidak tersedia, sel darah merah dapat

dipisahkan dari plasmanya dengan meletakkan kantong darah dengan posisi berdiri di dalam refrigerator darah untuk beberapa hari untuk membiarkan sel mengendap secara gravitasi, namun demikian pemisahan tidak sempurna dan komponen darah memiliki keterbatasan waktu penggunaan. (Permenkes no 91, 2015).

Reaksi pengendapan adalah suatu jenis reaksi yang dapat berlangsung dalam cairan, misalnya air. Suatu reaksi dapat dikatakan reaksi pengendapan apabila reaksi tersebut menghasilkan endapan. Endapan yaitu zat padat yang tidak larut dalam cairan tersebut.

Proses pengendapan dalam darah terjadi dalam 3 tahap yaitu tahap pertama adalah fase pembentukan rouleaux dimana sel-sel eritrosit tersusun bertumpuk-tumpuk yang berlangsung dalam waktu 10 menit, tahap kedua adalah fase pengendapan rouleaux sel darah merah dengan kecepatan konstan yang berlangsung selama 40 menit, dan tahap ketiga adalah fase pengendapan eritrosit dengan kecepatan melambat disertai proses pemadatan eritrosit. (Fischbach & Dunning III, 2009).

2.5.1 Prosedur Pembuatan *Packed Red Cells* Metode Sedimentasi

Sedimentasi disini adalah prosedur pemisahan WB dengan cara gaya gravitasi, darah diendapkan dalam *refrigerator* selama 24 jam kemudian *PRC* dipisahkan dari plasmanya. Prosedurnya :

- 1) *Whole Blood* yang sudah diambil dari donor disimpan dalam *refrigerator* suhu 2 – 6 °C selama 24 jam.

- 2) Setelah mengendap *WB* diambil, tempatkan kantong utama A di *Plasma Ekstraktor* dengan hati – hati dengan label menghadap kebelakang dan pastikan tidak tercampur antara sel darah dengan plasma.
- 3) Lakukan perhitungan banyaknya plasma yang akan dialirkan ke kantong satelit.
- 4) Patahkan tubing kantong dan alirkan plasma kedalam kantong satelit B, sesuai dengan perhitungan, klem selang menggunakan klem plastik kemudian *seal* dengan *electric sealer* selang kantong utama A
- 5) Gunting dan pisahkan kantong satelit B dari kantong utama A
- 6) Masukkan data komponen darah pada proses komponen SIMDONAR dan cetak label komponen
- 7) Periksa kecocokan nomer kantong dengan label sebelum melakukan penempelan label pada kantong darah
- 8) Simpan *Packed Red Cell* pada *Blood Bank* dengan suhu 2 – 6 °C dengan lama simpan 35 hari (menggunakan antikoagulan CPDA-1)
- 9) Simpan *Liquid Plasma* pada *Blood Bank* dengan suhu 2 – 6 °C dengan lama simpan 35 hari (menggunakan antikoagulan CPDA-1)
- 10) Simpan komponen *Packed Red Cell* dan *Liquid Plasma* dengan prinsip *First In First Out* (FIFO) dan meletakkan sesuai dengan golongan darah ABO untuk menghindari kesalahan pengambilan (PMI, 2020).

2.6 Rumus Perhitungan Pembuatan *Packed Red Cells*

2.6.1 Konversi Berat ke Volume (PMK, 2015)

$$VI = \frac{\text{Berat Total} - \text{Berat Kantong}}{BJ \text{ WB}}$$

2.6.2 Konversi Volume ke Berat

$$V_{\text{PRC}} = \frac{\text{Berat PRC} - \text{Berat Kantong Satelit}}{\text{BJ PRC}}$$

- a. (Berat awal (gr) WB – berat antikoagulan) : BJ WB = V1
- b. $H_1 \times V_1 = H_2 \times V_2$ (mencari volume PRC / V2 dengan Ht 70%)
- c. $((V_1 - V_2) \times \text{BJ plasma}) + \text{berat kantong satelit} = \text{berat plasma}$
yang harus dipindah ke Kantong satelit
- d. Berat setiap Kantong Satelit 30 gram
- e. BJ plasma = 1.027 BJ WB = 1.055
BJ PRC = 1.095 BJ TC = 1.023
BJ BC = 1.065

Keterangan : H1 = Hematorit awal (WB 45%) V1 = Volume Awal

H2 = Hematokrit PRC (70%) V2 = Volume PRC

(yang dicari)

Tabel 2.4 Kelebihan dan Kekurangan Metode Sentrifugasi dan Metode Sedimentasi

No.	Metode	Kelebihan	Kelemahan
1	Sentrifugasi	Permintaan darah selama 24 jam langsung dapat dilayani	- Perlu peralatan khusus (Refrigerated Centrifuge) - Perlu tenaga terlatih, ruangan yang cukup
2	Sedimentasi	- Tidak memerlukan Refrigerated Centrifuge.	Pasien harus menunggu minimal 6-18 jam untuk pengendapan.

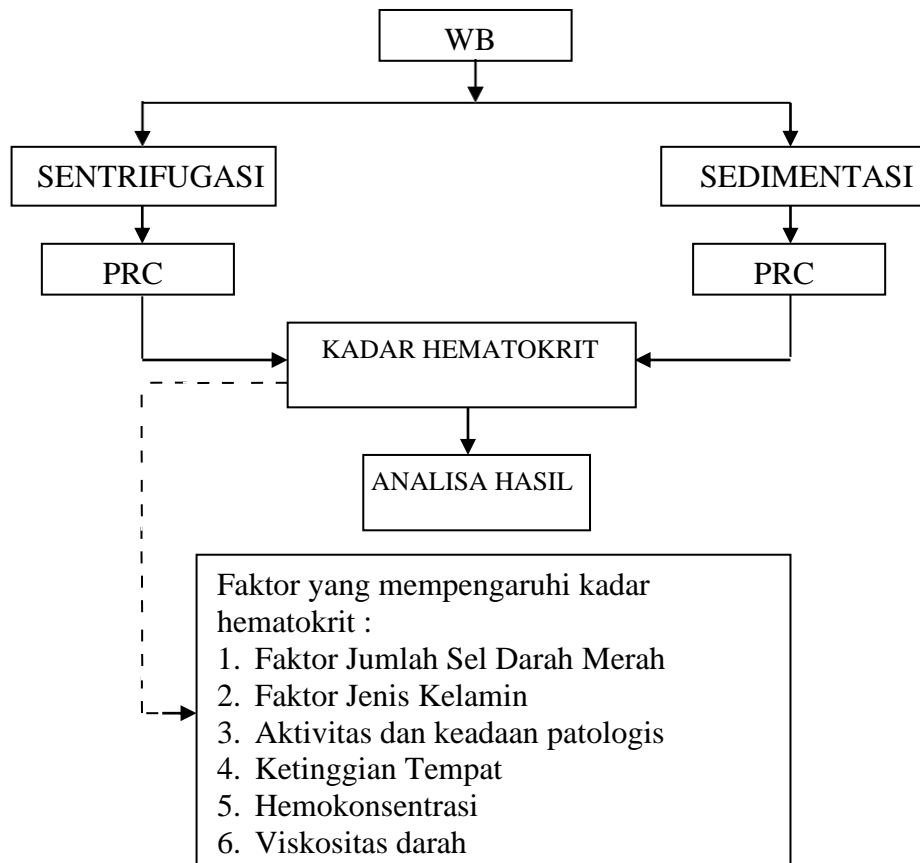
		- Ruang tidak perlu luas.	
--	--	---------------------------	--

(Sumber : PMK, 2015)

2.7 Kerangka Konsep

Kerangka konsep memuat garis besar pemikiran teoritis yang akan menuntun penulis dalam melakukan penelitian dan menganalisa data, disajikan dalam bentuk bagan (Notoatmojo, 2012).

Gambar 2.2 Kerangka Konsep



2.8 Hipotesis

H_1 : Ada perbedaan kadar hematokrit antara produk *Packed Red Cells* melalui proses sentrifugasi dan proses sedimentasi di UDD PMI Kabupaten Jember.