

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Tentang Darah

2.1.1 Pengertian Darah (Fauzi M, 2019)

Darah merupakan suatu jaringan tubuh yang terdapat di dalam pembuluh darah. Warna merah darah tidaklah menetap, tergantung pada kadar O² (Oksigen) dan CO² (Karbon dioksida) yang dikandungnya. Semakin tua berarti mengandung lebih banyak kandungan CO² nya, dan sebaliknya. Darah terbagi atas dua bagian, yaitu cairan dan seluler. Bagian cairan dikenal sebagai plasma darah yang merupakan penyusun 55% dari total volume darah dan sisanya terdiri dari komponen seluler atau berbentuk elemen. (Fauzi M, 2019).

Pada darah yang disentrifugasi, akan terpisah menjadi 3 (tiga) bagian, yaitu lapisan bawah berwarna merah adalah eritrosit (45%), lapisan tengah berwarna putih adalah leukosit dan trombosit (1%), dan lapisan atas berupa cairan berwarna kekuningan yang mengandung plasma darah (55%). Plasma darah mengandung berbagai komponen, yaitu : 91% air, 7% protein darah (fibrinogen, albumin, globulin) dan 2% yang meliputi nutrisi (asam amino, lemak, dan gula), hormon (insulin, eritprotein, dsb) dan terkandung komponen seluler sebanyak 45%. (Fauzi M, 2019).

2.1.2 Karakteristik Darah (Desmawati, 2013)

Menurut teori buku (Desmawati, 2013), terdapat beberapa karakteristik umum dari darah yang meliputi:

1. Warna

Darah arteri berwarna merah muda karena banyak oksigen yang berikatan dengan hemoglobin dalam sel darah merah. Darah vena berwarna merah tua/gelap karena kurang oksigen dibandingkan dengan darah arteri.

2. Viskositas darah

Viskositas darah atau kekentalan darah $\frac{3}{4}$ lebih tinggi dari pada viskositas air yaitu sekitar 1.048 sampai 1.066.

3. pH

Darah memiliki pH darah bersifat alkaline dengan pH 7.35 sampai 7.45.

4. Volume

Pada orang dewasa volume darah sekitar 70 sampai 75 ml/kg BB atau sekitar 4 sampai 5 liter darah (Desmawati, 2013).

2.1.3 Komponen Darah (Fauzi M, 2019)

Darah dibentuk dari dua komponen yaitu komponen selular dan komponen non-selular. Komponen selular sering disebut juga korpuskuli, yang membentuk sekitar 45% yang terdiri dari tiga jenis sel.

1. Whole Blood (WB)

Digunakan untuk transfusi tanpa pengolahan lebih lanjut. WB merupakan bahan baku untuk pengolahan menjadi komponen darah lain. Terdiri dari sel darah merah, leukosit, trombosit, dan plasma.

2. Packed Red Cell (PRC)

Diperoleh dari WB dengan membuang sebagian besar volume plasma dari darah lengkap. PRC mengandung sejumlah besar eritrosit, leukosit dan

trombosit tergantung metode sentrifugasi.

3. Liquid Plasma (LP)

Komponen darah yang terbentuk cairan berwarna kuning yang diperoleh dari WB yang berguna untuk meningkatkan volume plasma dan meningkatkan stabil (Faktor pembekuan II, VII, X, dan XI)

4. Trombocyt Concentrate (TC)

Diperoleh dari WB yang ditampung dalam sistem kantong darah steril dengan kantong transfer yang terintegrasi, kandungan trombosit tersuspensi di dalam plasma.

5. Fresh Frozen Plasma (FFP)

Diperoleh dari WB yang ditampung ke dalam sistem kantong darah steril dengan kantong transfer yang terintegrasi. FFP dipisahkan setelah sentrifugasi dengan putaran cepat dari WB atau platelet rich plasma dan dibekukan dengan cepat hingga ke intinyayang akan menjaga fungsi dari faktor koagulasi labil.

6. Anti Hemophilic Factor (AHF)

Komponen darah yang berisi fraksi krioglobulin plasma. Diperoleh dari FFP asal WB yang diproses lebih lanjut dan dikonsentrasikan (Fauzi M, 2019).

2.1.4 Mutu Darah (Darmawan A & Irawan R, 2015)

Pengolahan darah atau plasma menjadi sediaan obat atau produk yang terkait merupakan proses yang sangat spesifik dan unik. Metode uji yang digunakan juga unik. Untuk mencapai tujuan tercapainya mutu, keamanan dan efikasinya, harus tersedia sistem panduan yang komprehensif antara jaminan mutu (Quality Assurance) dan cara pembuatan obat yang baik (CPOB) yang telah didisain sedemikian rupa sehingga dapat memenuhi persyaratan yang

dianjurkan. Mutu dan keamanan plasma atau produk darah merupakan hal yang sangat penting, harus terjamin sebelum digunakan pada manusia (Darmawan A & Irawan R, 2015).

Kesediaan dan kesiapan Palang Merah Indonesia (PMI) untuk melaksanakan semua kegiatan yang diperlukan dalam menghasilkan produk-produk darah yang aman (safety) dan berkualitas (qualified). Perlu diketahui, PMI akan membangun pabrik fraksinasi/pengolahan plasma darah sebagaimana yang pernah dikemukakan Jusuf Kalla, Ketua Umum PMI (Darmawan A & Irawan R, 2015).

2.2 Kajian Tentang Pemeriksaan Pratransfusi Darah

2.2.1 Pengertian Pratransfusi Darah (Kadek M & Wayan S.P., 2016)

Pratransfusi memiliki beberapa istilah lain seperti pretransfusion testing atau compatibility testing. Pemeriksaan pratransfusi darah adalah serangkaian pemeriksaan yang dilakukan sebelum produk darah ditransfusikan kepada pasien. Pemeriksaan pratransfusi ini identik dengan crossmatching (direct compatibility test) meskipun dalam aplikasinya pada pemeriksaan pratransfusi ini terdapat pemeriksaan awal serta ada pemeriksaan lanjutan yang harus dilakukan apabila hasil crossmatching tidak sesuai (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

2.2.2 Jenis Pemeriksaan Pratransfusi Darah (Kadek M & Wayan S.P., 2016)

World Health Organization (WHO) merekomendasikan uji pratransfusi minimal yang harus dikerjakan di laboratorium adalah pemeriksaan golongan darah sistem ABO dan Rhesus serta crossmatching (WHO, 2014). Menurut teori (Kadek M. & Wayan S.P., 2016).

Berikut prosedur rutin uji pratreansfusi yang dilakukan di laboratorium imunohematologi :

1. Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus (forward grouping)
 - a. Tujuan : mendeteksi adanya antigen A, B, dan D
 - b. Sumber antigen : sel darah merah pasien
 - c. Sumber antibodi : anti-A, anti-B, anti-D komersial
2. ABO serum testing (reverse grouping)
 - a. Tujuan : deteksi antibodi ABO
 - b. Sumber antigen : suspensi sel donor
 - c. Sumber antibodi : serum atau plasma pasien
3. Skrining Antibodi
 - a. Tujuan : mendeteksi antibodi dengan antigen spesifik pada sel darah merah.
 - b. Sumber antigen : sel panel
 - c. Sumber antibodi : serum atau plasma pasien
4. Crossmatch
 - a. Tujuan : menentukan komptibilitas serologi antara donor dan pasien sebelum transfusi
 - b. Sumber antigen : Sel darah mereah donor dan pasien
 - c. Sumber antibodi : serum atau plasma donor dan pasien (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

2.2.3 Tahapan Pemeriksaan Pratransfusi Darah (Kadek M & Wayan S.P., 2016)

Langkah-langkah uji pratransfusi merupakan sebuah proses yang dimulai dari pasien dan berakhir pada pasien juga. Proses tersebut membutuhkan sebuah rancangan yang dapat menjamin keamanan baik bagi donor maupun pasien (recipient).

Berikut adalah tahapan-tahapan tentang persiapan uji pratransfusi :

1. Melakukan identifikasi pasien dengan akurat
2. Mengecek kondisi sampel
3. Membandingkan dengan data pasien sebelumnya
4. Pemilihan reagen untuk menunjang uji pratransfusi
5. Melakukan kontrol kualitas reagen dan peralatan (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

23 Kajian Tentang Uji Silang Serasi

2.3.1 Pengertian Uji Silang Serasi (Blaney and Howard, 2013)

Uji silang serasi atau lebih sering disebut crossmatching memiliki beberapa sinonim antara lain uji silang serasi atau uji kompatibilitas. Suatu prosedur untuk mereaksisilangkan komponen darah donor dan pasien sehingga diperoleh darah donor yang benar-benar tepat untuk pasien (Blaney and Howard, 2013).

2.3.2 Fungsi Uji Silang Serasi

Uji silang serasi memiliki fungsi untuk mencegah terjadinya reaksi transfusi baik reaksi transfusi ringan hingga berat yang dapat mengganggu kenyamanan pasien. Selain itu untuk memaksimalkan masa hidup sel-sel darah yang ditransfusikan secara *in vivo* dan secara *in vitro* untuk pemeriksaan uji silang

serasi di laboratorium (Blaney and Howard, 2013). Fungsi utama crossmatching adalah :

1. Untuk pengecekan terakhir bahwa golongan darah ABO antara donor dan pasien sudah selesai.
2. Untuk mendeteksi ada tidaknya antibodi dalam serum pasien yang akan bereaksi dengan antigen sel darah merah donor terutama pada kondisi
3. Antibodi tidak terdeteksi dengan skrining antibodi karena tidak adanya antigen yang sesuai pada panel sel skrining (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

2.3.3 Prinsip Uji Silang Serasi (Syafitri, 2016)

Prinsip pemeriksaan uji silang serasi dibagi menjadi 2 prosedur yaitu Mayor-AC dan Minor-AC. Mayor merupakan bagian yang utama dalam uji silang serasi yaitu, mereaksikan serum/plasma pasien dengan sel darah merah donor, untuk mengetahui sel darah merah donor itu akan diserang oleh antibodi dalam serum/plasma pasien. Pada minor, mereaksikan serum/plasma donor dengan sel darah merah pasien, untuk mengetahui sel darah merah pasien akan diserang oleh plasma donor. Pada Autokontrol, mereaksikan serum/plasma pasien dengan sel darah merah pasien itu sendiri untuk mengetahui apakah ada reaksi autoimun (Syafitri, 2016).

2.3.4 Metode Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus

Berikut ada 2 metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus menurut teori (Kadek M & Wayan S.P., 2016), yaitu :

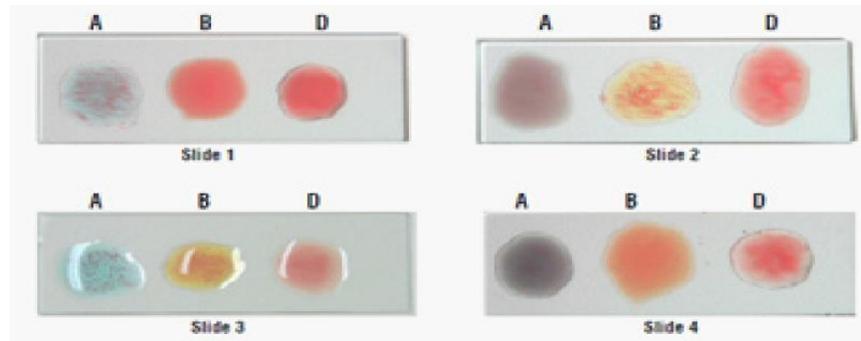
1. Pemeriksaan golongan darah ABO dan rhesus dengan metode slide test.
 - a. Proses pemeriksaan golongan darah dengan metode slide dilakukan dengan membersihkan ujung jari dengan kapas alkohol 70% agar steril.

- b. Ujung jari yang telah steril ditusuk dengan lancet sehingga keluar darah.
- c. Darah yang pertama keluar dibersihkan dengan kapas alkohol kemudian darah selanjutnya diteteskan pada slide card pertama di tiga titik yang berbeda (sisi kanan – tengah – kiri) yang telah diberi antisera A, B dan anti-Rh.
- d. Selanjutnya campuran darah dan antisera maupun anti-Rh tersebut diaduk dengan pengaduk yang berbeda hingga homogen. Pembacaan hasil golongan darah dilakukan segera setelah 2-3 menit dengan mengamati adanya gumpalan atau tidak (Rizki F, Difla N & Nurkasanah S, 2022).

Sampel yang memberikan hasil reaksi aglutinasi lemah atau meragukan harus diulang dengan menggunakan tes tabung (tube test). Beberapa catatan penting yang perlu diperhatikan pada slide test antara lain:

- 1) Semua reagen harus digunakan berdasarkan instruksi perusahaan yang memproduksi reagen.
- 2) Risiko penularan infeksi sangat besar sehingga keamanan dan keselamatan dalam melakukan prosedur pemeriksaan benar- benar harus diperhatikan.
- 3) Slide test tidak cocok digunakan untuk deteksi antibodi ABO pada serum atau plasma (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Interpretasi hasil pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus menggunakan metode slide test, seperti gambar berikut :



Gambar 2.1 Contoh Hasil Pemeriksaan Golongan Darah dengan Metode Slide Test (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Tabel 2.1 Contoh Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah dengan Metode Slide Test (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Nomor Slide	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Golongan darah
Slide 1	Positif	Negatif	Positif	A Rhesus Positif
Slide 2	Negatif	Positif	Positif	B Rhesus Positif
Slide 3	Positif	Positif	Positif	AB Rhesus Positif
Slide 4	Negatif	Negatif	Positif	O Rhesus Positif

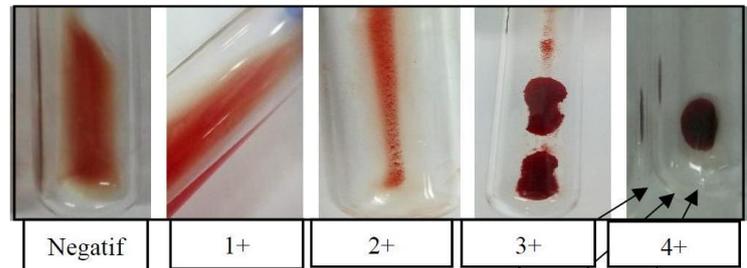
2. Prosedur Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan rhesus dalam metode tabung.

a. Langkah-langkah pemeriksaan sel darah merah (cell grouping/ forward grouping) adalah sebagai berikut:

- 1) Teteskan 1 tetes anti-A pada tabung yang bersih dan kering, label tabung
- 2) Teteskan 1 tetes anti-B pada tabung yang bersih dan kering, pisahkan dari tabung pertama kemudian beri label
- 3) Teteskan 1 tetes anti-D pada tabung yang bersih dan kering, pisahkan dari tabung pertama kemudian beri label

- 4) Tambahkan pada masing-masing tabung 1 tetes suspensi sel darah merah 2-5%
 - 5) Campur dengan baik kemudian lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 RPM selama 1 menit
 - 6) Resuspensi dengan baik sel yang mengendap pada dasar tabung lihat ada tidaknya aglutinasi
 - 7) Baca dan interpretasi hasil serta lakukan pencatatan hasil reaksi pada semua tabung (Kadek M & Wayan S.P., 2016).
- b. Prosedur pemeriksaan serum/plasma (serum grouping/reverse grouping) dengan metode tube test adalah sebagai berikut :
- 1) Tambahkan masing- masing 2 tetes serum/plasma pada 3 tabung yang bersih dan kering kemudian berikan label A, B, dan O
 - 2) Tambahkan 1 tetes suspensi sel A 2-5% ke dalam tabung yang berlabel A
 - 3) Tambahkan 1 tetes suspensi sel B 2-5% ke dalam tabung yang berlabel B
 - 4) Tambahkan 1 tetes suspensi sel O 2-5% ke dalam tabung yang berlabel O
 - 5) Campur dengan baik kemudian lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 RPM selama 1 menit
 - 6) Resuspensi dengan hasil serta lakukan pencatatan (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Interpretasi hasil pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus menggunakan metode tabung, seperti gambar berikut :



Gambar 2.2 Contoh Derajat Aglutinasi Pada Pemeriksaan Golongan Darah dengan Metode Tube Test (Khoondijah NM & Qomariyah N, 2019).

Keterangan derajat aglutinasi :

- 4+ : terdapat satu gumpalan besar
- 3+ : terdapat 2 atau 3 gumpalan
- 2+ : sejumlah gumpalan kecil dengan supernat yang jernih
- 1+ : sejumlah gumpalan kecil dengan supernat yang keruh
- Negatif : suspensi sel halus

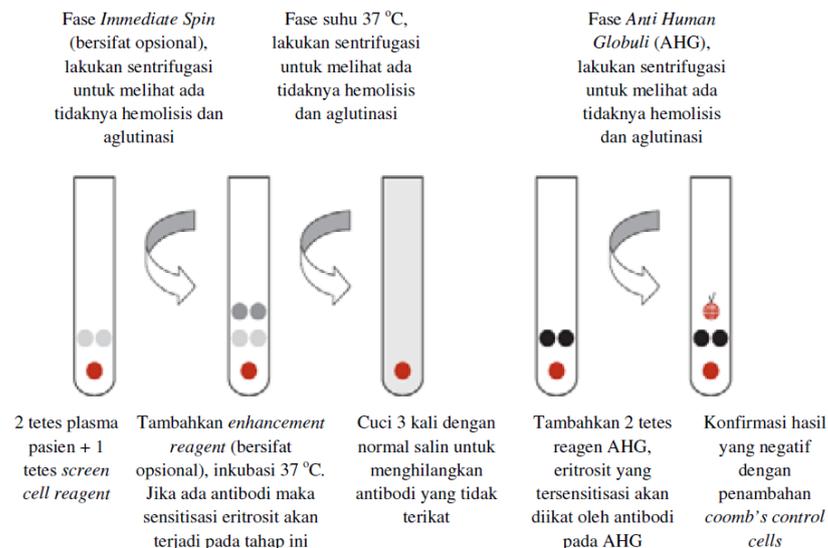
Tabel 2.2 Contoh Interpretasi Hasil Pemeriksaan Golongan Darah dengan Metode Tube Test (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Cell Grouping			Serum Grouping			Golongan Darah
Anti-A	Anti-B	Anti-D	Sel-A	Sel-B	Sel-O	
Positif	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	A Rhesus Positif
Negatif	Positif	Positif	Positif	Negatif	Negatif	B Rhesus Positif
Positif	Positif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	AB Rhesus Positif
Negatif	Negatif	Positif	Positif	Positif	Negatif	O Rhesus Positif

2.3.5 Metode Pemeriksaan Skrining & Identifikasi Antibodi

Berikut prosedur skrining dan identifikasi antibodi menggunakan metode gel test dan otomatis menurut teori (Trudell K.S., 2014), yaitu :

1. Metode pemeriksaan tube test.



Gambar 2.3 Prosedur Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi dengan Metode Tabung (Trudell, 2014).

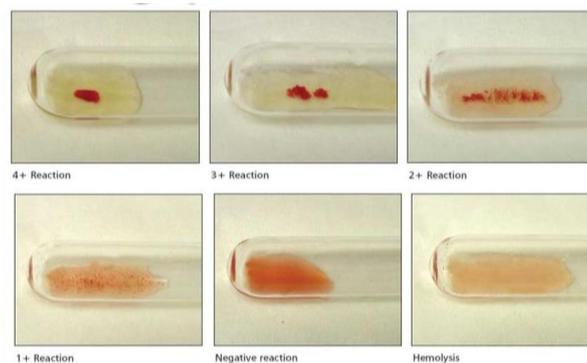
a. Fase Immediate Spin (IS).

- 1) Untuk mendeteksi “cold antibodies”, biasanya dari kelas Ig M.
- 2) Satu tetes suspensi eritrosit dari masing-masing set sel skrining dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan ditambah 2 tetes serum pasien.
- 3) Kemudian tabung tersebut disentrifus kecepatan 3000 RPM selama 15 detik pada suhu kamar untuk memudahkan interaksi antara antigen dan antibodi.
- 4) Lalu diamati terjadinya aglutinasi atau hemolisis.

- b. Fase inkubasi dengan suhu 37°C selama 15 menit.
 - 1) Tabung tadi di inkubasi pada suhu 37°C.
 - 2) Kemudian tabung tersebut disentrifus kecepatan 3000 RPM selama 15 detik.
 - 3) Lalu diamati terjadinya aglutinasi.
 - 4) Untuk meningkatkan deteksi terhadap “warm antibodies”, terutama yang berasal dari kelas IgG, fase seringkali menggunakan teknik terbaru seperti metode Low Ionic Strength Saline (LISS) dan Polyethylene Glycol (PEG).
 - 5) LISS biasanya ditambahkan untuk mengurangi penggumpalan yang disebabkan ion Na^+ dan Cl^- dan meningkatkan kecepatan daya tarik antigen dan antibodi. Dengan penambahan LISS, waktu inkubasi dapat dikurangi dari 30-60 menit menjadi 10 menit.
 - 6) PEG, polimer larut air, digunakan untuk mempercepat peningkatan antibodi-SDM oleh pengeluaran sterik dari molekul air dalam larutan pengencer dan untuk meningkatkan deteksi antibodi.
- c. Fase Anti-Human Globulin (AHG), Indirect Antiglobulin Test (IAT), Indirect Coombs Test (ICT).
 - 1) Eritrosit pada tabung fase sebelumnya dicuci dengan saline sebanyak 3 kali untuk menghilangkan antibodi bebas yang tidak terikat pada eritrosit.
 - 2) Lalu tambahkan AHG ke masing-masing tabung.
 - 3) Kemudian tabung tersebut disentrifus kecepatan 3000 RPM selama 15 detik.

- 4) Lalu diamati terjadinya aglutinasi.
- 5) AHG adalah antibodi hewan yang terikat dengan bagian Fc imunoglobulin manusia.
- 6) AHG mendeteksi ikatan antibodi SDM yang tidak menimbulkan aglutinasi direct (antibodi tersensitasi).
- 7) Terbentuknya aglutinasi dengan penambahan AHG menunjukkan pengikatan antibodi dengan antigen sel darah merah yang spesifik
- 8) Dua fase terakhir (fase 37°C dan AHG) diperlukan untuk mendeteksi antibodi IgG yang signifikan secara klinis.

Interpretasi hasil pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi menggunakan metode tabung dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 2.4 Contoh Interpretasi Hasil Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi Metode Tube Test (Trudell, 2014).

Keterangan derajat aglutinasi :

- 4+ : terdapat satu gumpalan besar
- 3+ : terdapat 2 atau 3 gumpalan
- 2+ : sejumlah gumpalan kecil dengan supernatan yang jernih
- 1+ : sejumlah gumpalan kecil dengan supernatan yang keruh
- Negatif : suspensi sel halus

2. Metode pemeriksaan gel test.

- 1) Prosedur pemeriksaan dilakukan pada microtube yang sudah diisi dengan dextran arcylamide gel.
- 2) Sel panel yang digunakan pada metode gel sama dengan metode tabung tetapi sel disuspensi dalam medium Low Ionic Strength Solution (LISS) pada konsentrasi 0,8%.
- 3) Dengan teknik ini, sel panel, dan serum atau plasma pasien ditambahkan pada sumuran microtube yang sudah mengandung gel.
- 4) Satu plastic card terdiri dari 6 atau 8 seumuran/ gel microtube.
- 5) Setelah penambahan sel panel dan serum selama 10 menit. suspensi sel darah merah akan turun dan mengendap di dasar gel.
- 6) Gel mengandung anti-IgG.
- 7) Jika sensitisasi terjadi, anti-IgG akan bereaksi dengan antibodi yang menyelimuti eritrosit sehingga menghasilkan aglutinasi.
- 8) Aglutinasi yang terjadi akan terjebak di permukaan gel.

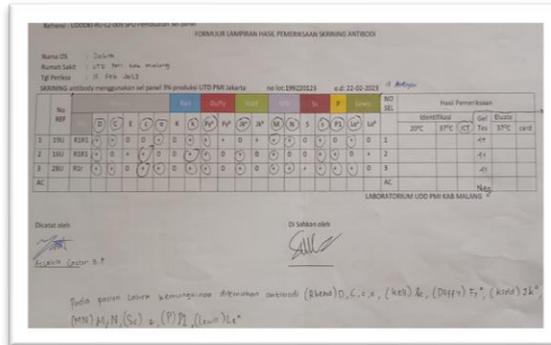
Interpretasi hasil pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi menggunakan metode tabung dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 2.5 Contoh Interpretasi Hasil Pemeriksaan Skrining Antibodi Metode Gel Test (Praktikum UTD PMI Kabupaten Malang, 2023).

Keterangan :

- Sel Panel Kecil/ Primer : S1, S2, S3 menunjukkan hasil pemeriksaan (4+)
- AC : Autokontrol menunjukkan hasil pemeriksaan (Negatif)



Gambar 2.6 Contoh Formulir Lampiran Pemeriksaan Skrining Antibodi (Praktikum UTD PMI Kabupaten Malang, 2023).

Keterangan :

- Disimpulkan pada pemeriksaan skrining antibodi pasien kemungkinan ditemukan antibodi (Rhesus, Kell, Duffy, Kidd, MN, Ss, P, dan Lewis).

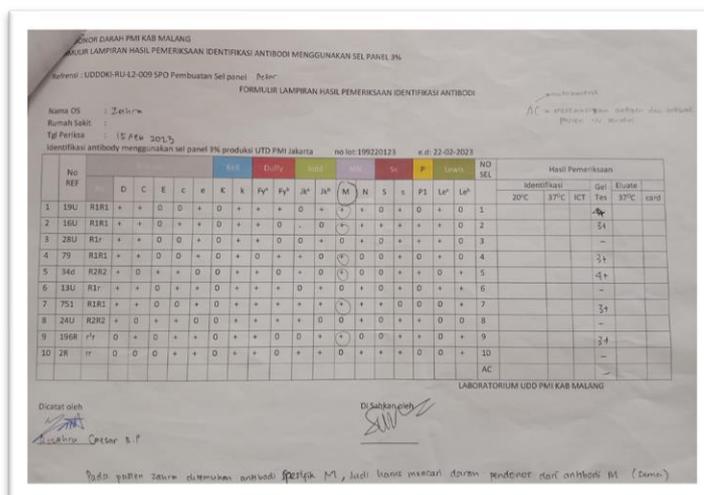


Gambar 2.7 Contoh Interpretasi Hasil Pemeriksaan Identifikasi Antibodi Metode Gel Test (Praktikum UTD PMI Kabupaten Malang, 2023).

Keterangan :

- Sel Panel Besar/Sekunder menunjukkan hasil pemeriksaan :

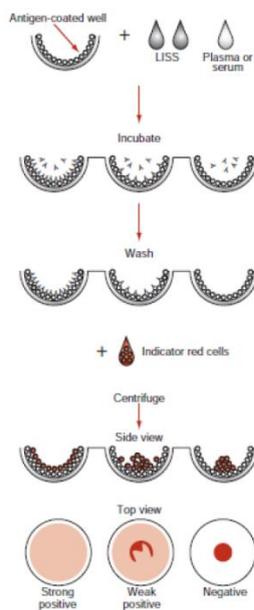
P1 = 4+	P4 = 3+	P8 = Neg
P2 = 3+	P5 = 4+	P9 = 3+
P3 = Neg	P6 = Neg	P10 = Neg
	P7 = 3+	



Gambar 2.8 Contoh Formulir Lampiran Pemeriksaan Identifikasi Antibodi (Praktikum UTD PMI Kabupaten Malang, 2023).

Keterangan :

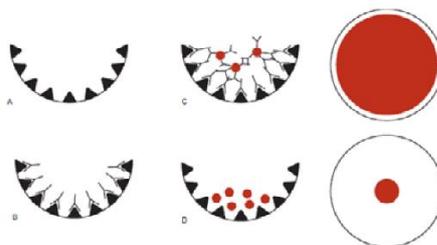
- Disimpulkan pada pemeriksaan identifikasi antibodi pasien ditemukan antibodi spesifik yaitu M, jadi harus mencari darah pendonor dari antibodi M yang sama.
3. Metode pemeriksaan otomatis (Solid Fase Adherence Test)



Gambar 2.9 Prosedur Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi Menggunakan Metode Solid Phase Adherence (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Keterangan :

- a. Pada metode ini antigen eritrosit sudah dilapisi pada microtiter wells.
- b. Serum atau plasma pasien ditambahkan pada masing-masing sumuran bersama LISS.
- c. Dilanjutkan inkubasi pada suhu 37°C untuk memberi kesempatan antibodi bereaksi dengan antigen.
- d. Microtiter wells kemudian dicuci untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat.
- e. Jika sensitisasi terjadi, indikator sel akan bereaksi dengan antibodi yang berikatan dengan antigen yang telah didalam sumuran.
- f. Interpretasi hasil dapat mengamati pola penyebaran di dalam sumuran.

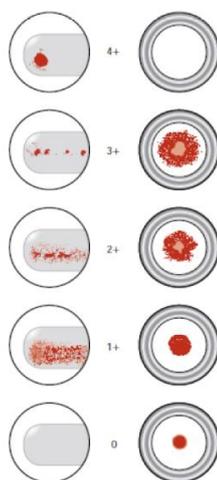


Gambar 2.10 Sistem solid phase adherence test (Trudell, 2014)

Keterangan :

- Gambar A menunjukkan ilustrasi Microtiter wells yang sudah dilapisi antigen eritrosit.
- Gambar B menunjukkan antibodi pasien berikatan dengan antigen dalam Microtiter wells.
- Gambar C menunjukkan reaksi yang terjadi antara antibodi pasien dan indikator sel dan hasil akhir yang bisa dilihat adalah sel menyebar pada Microtiter wells yang menandakan hasil positif.

- Gambar D menjelaskan bila tidak ada antibodi pada serum pasien, indikator sel akan membentuk endapan pada dasar sumuran yang menandakan hasil negatif.



Gambar 2.11 Contoh Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi dengan Perbandingan Metode Tabung dan Metode Solid Phase Adherence (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Metode solid phase adherence test sudah bisa dikerjakan secara otomatis. Keuntungan lain dari metode ini adalah jumlah sampel yang dibutuhkan sangat sedikit jika dibandingkan metode tabung. Faktor yang menyebabkan hasil positif palsu pada pemeriksaan skrining dan identifikasi adalah bentukan rouleaux, adanya fibrin, atau kontaminasi sampel.

Sebagian besar antibodi bereaksi pada pH yang netral yaitu 6,8 - 7,2, ada juga antibodi anti-M yang bereaksi pada pH 6,5 pada kasus ini, perlu teknik pengasaman untuk anti-M dengan jenis antibodi yang lain. Reaksi dipengaruhi juga dengan waktu inkubasi, maka perlu waktu yang telah ditentukan untuk medium reaksi. Pada medium saline, waktu yang dibutuhkan 30 menit sampai 1 jam, dan pada medium lain waktu inkubasi dapat lebih singkat yaitu 10 menit saja.

Berikut tabel macam-macam jenis antigen-antibodi yang kemungkinan akan ditemukan dalam pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi sebagai berikut :

Tabel 2.3 Profil Antigen (Trudell, 2014).

Sist gol drh	Ag	Antibodi	Tipe Antibodi	suhu	Mengikat komplemen	HDN/HTR	Teknik
Kell	K	Anti-K	IgG (IgM)	32 (22)	Jarang	HDN & HTR	Salin/IAT
	k	Anti-k	IgG (IgM)	37	Tidak		Salin/IAT
	Kp ^a	Anti-Kp ^a	IgG	37	Tidak		IAT
	Kp ^b	Anti-Kp ^b	IgG (IgM)	37	Tidak		IAT
	Js ^a	Anti-Js ^a	IgG (IgM)	37	Tidak		IAT
	Js ^b	Anti-Js ^b	IgG	37	Tidak		IAT
Duffy	Fy ^a	Anti-Fy ^a	IgG (IgM)	37	Jarang	HDN & HTR	IAT
	Fy ^b	Anti-Fy ^b	IgG (IgM)	37	Jarang		IAT
Kidd	Jk ^a	Anti-Jk ^a	IgG (IgM)	37	Ya	HDN & HTR	IAT/enzim
	Jk ^b	Anti-Jk ^b	IgG (IgM)	37	Ya		IAT/enzim
MNSs	M	Anti-M	IgM & IgG	4,22 (37)	Tidak	Tidak	Saline/ IAT
	N	Anti-N	IgM (IgG)	4,22 (37)	Tidak	Tidak	Saline/ IAT
	S	Anti-S	IgG (IgM)	22 (37)	Kadang	HDN & HTR	Saline/ IAT
	s	Anti-S	IgG (IgM)	37	Jarang	HDN & HTR	Saline/ IAT
Lewis	Le ^a	Anti-Le ^a	IgM (IgG)	22 (37)	Ya	HTR	Salin/enzim
	Le ^b	Anti-Le ^b	IgM (IgG)	22 (37)	Ya	Tidak	Salin/enzim
Lutheran	Lu ^a	Anti-Lu ^a	IgG & IgM	37/22	Jarang	HDN & HTR	Saline/ IAT
	Lu ^b	Anti-Lu ^b	IgG & IgM	37/22	Jarang		Saline/ IAT
P	P1	Anti-P1	IgM (IgG)	22	Ya	Kadang HTR	Saline
li-collection	I	Anti-I	IgM (IgG)	4,22	Ya	Jarang HDN	
	i	Anti-I	IgM (IgG)	4,22	Ya		

2.3.6 Metode Pemeriksaan Uji Silang Serasi

Berikut prosedur pemeriksaan uji silang serasi berdasarkan metode urutan fase pemeriksaannya menurut teori buku (Kadek M & Wayan S.P., 2016), yaitu :

1. Metode Pemeriksaan Immediate-Spin (IS) Crossmatch.
 - a. Siapkan suspensi sel darah merah donor 2-5% yang disuspensi dalam larutan normal salin atau Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) salin. Beberapa ahli serologi menggunakan sampel serum yang direaksikan dengan sel darah merah donor yang disuspensi dalam larutan EDTA salin karena titer anti-A atau anti-B yang tinggi dapat menginisiasi pelapisan komplemen sehingga menghalangi aglutinasi.

- b. Label tabung untuk masing-masing suspensi sel darah merah donor yang akan dites dengan serum pasien
 - c. Tambahkan 2 tetes serum atau plasma pasien ke dalam masing-masing tabung
 - d. Tambahkan 1 tetes suspensi sel darah merah donor pada tabung sesuai dengan label
 - e. Campur isi tabung dan lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 RPM selama 1 menit
 - f. Baca ada tidaknya hemolisis, resuspensi endapan eritrosit pada bagian bawah tabung dan baca ada tidaknya aglutinasi
 - g. Lakukan interpretasi dan catat hasil pemeriksaan
2. Metode Pemeriksaan Tube Test/Metode Manual Coomb's Test.

Metode tube test atau manual coomb's test memiliki 3 fase, berikut prosedur 3 fase pemeriksaannya :

- a. Fase I. Medium salin (salin room temperature technique).
 - 1) Siapkan tiga buah tabung gelas yang bersih dan kering, masing-masing tabung berisi komponen berikut :
 - Tabung I (crossmatch mayor) : 2 tetes serum pasien + 1 tetes suspensi sel donor 2-5%
 - Tabung II (crossmatch minor) : 2 tetes plasma donor + 1 tetes suspensi sel pasien 2-5%
 - Tabung III (AC) : 2 tetes serum pasien + 1 tetes suspensi sel pasien 2-5%
 - 2) Campur masing-masing tabung dan inkubasi selama 45-60 menit

- 3) Lakukan sentrifugasi selama satu menit pada kecepatan 1000 RPM
 - 4) Amati adanya aglutinasi atau hemolisis pada tabung. Jika terjadi aglutinasi atau hemolisis pada semua atau salah satu tabung pada tahap ini, maka hasil crossmatch dinyatakan tidak cocok atau incompatible dan fase berikutnya tidak perlu dilanjutkan. Bila reaksi negatif atau kompatibel, lanjutkan ke fase II (Kadek M & Wayan S.P., 2016).
- b. Fase II. Fase Inkubasi suhu 37°C dalam medium Bovine Albumin 22%.
- 1) Tambahkan 2 tetes bovine albumin 22% ke dalam semua tabung pada fase I yang memberikan hasil negatif.
 - 2) Inkubasi semua tabung pada suhu 37°C selama 30 menit
 - 3) Lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 RPM selama 1 menit
 - 4) Baca ada tidaknya hemolisis atau aglutinasi. Hemolisis atau aglutinasi pada semua atau salah satu tabung menandakan hasil positif atau incompatible dan pemeriksaan tidak perlu dilanjutkan ke fase III. Apabila hasil negatif pada semua tabung, lanjutkan ke fase III.
- c. Fase III. Fase Anti Human Globulin (AHG) atau fase Indirect Antiglobulin Test (IAT).
- 1) Cuci sel sebanyak 3 kali dengan menggunakan salin pada semua tabung yang memberikan hasil negatif pada fase II.
 - 2) Buang seluruh supernatan bekas pencucian
 - 3) Tambahkan 2 tetes reagen AHG

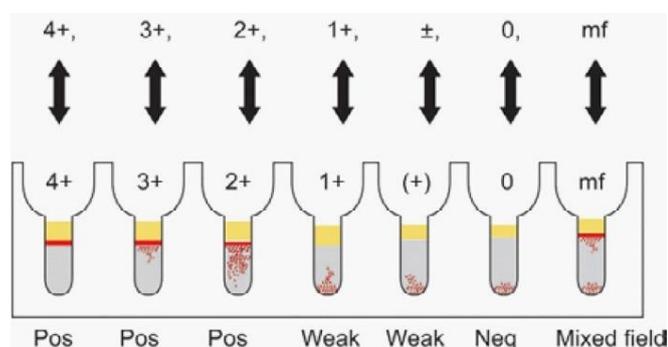
- 4) Lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 RPM selama 1 menit
- 5) Resuspensi dengan lembut endapan sel pada bagian bawah tabung
- 6) Lihat dan catat ada tidaknya aglutinasi. Bila aglutinasi hasil crossmatch dinyatakan inkompatibel. Bila pada semua tabung, hasil dinyatakan negatif atau kompatibel dan lanjutkan dengan penambahan coomb's control cell (CCC) sebanyak 1 tetes dan dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 1000 RPM. Penambahan CCC akan memberikan hasil positif pada semua hasil negatif yang menunjukkan hasil pemeriksaan valid. Bila dengan penambahan CCC reaksi tetap negatif, maka pemeriksaan dinyatakan invalid dan harus dilakukan pengulangan. Tujuan dari penambahan CCC ini adalah untuk mengecek apakah benar atau valid hasil yang didapat dalam pemeriksaan dari fase I hingga fase III (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

3. Metode Pemeriksaan Gel Test Crossmatch.

- a. Siapkan 2 buah tabung ukuran 12 x 75 mm dan berikan label
- b. Tabung pertama diisi 5 μ m sel darah merah donor dan ditambahkan 500 μ m LISS
- c. Tabung kedua 5 μ m sel darah merah pasien dan tambahkan 500 μ m LISS
- d. Beri label pada plastic card (identitas pasien dan nomor donor) serta berikan tanda pada microtube mana reaksi mayor, minor, dan autokontrol

- e. Suspensi sel dari tabung 1 diambil 50 μL kemudian dimasukkan ke dalam microtube dan tambahkan serum atau plasma pasien sebanyak 25 μL (mayor)
- f. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50 μL kemudian dimasukkan ke dalam microtube dan tambahkan plasma donor sebanyak 25 μL (minor)
- g. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50 μL kemudian dimasukkan ke dalam microtube dan tambahkan serum atau plasma pasien sebanyak 25 μL (AC)
- h. Sampel dimasukkan ke dalam microtube dengan posisi miring. Suspensi sel darah merah dan serum atau plasma dimasukkan tepat pada reaction chamber dalam microtube
- i. Plastic card diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit
- j. Baca dan catat hasil reaksi yang terjadi (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Interpretasi hasil pemeriksaan uji silang serasi menggunakan metode gel test, seperti gambar berikut :



Gambar 2.12 Contoh Derajat Aglutinasi Pada Pemeriksaan Uji Silang Serasi dengan Metode Gel Test (Kadek M & Wayan S.P., 2016).

Keterangan :

- 4+ : sel yang diaglutinasi membentuk lapisan sel diatas media gel
- 3+ : sel-sel yang digalutinati mulai menyebar ke dalam media gel dan terkonsentrasi di dekat bagian atas tabung mikrotube.
- 2+ : sel-sel yang diaglutinasi menyebar ke dalam media gel dan diamati sepanjang mikrotube.
- 1+ : sel-sel yang diaglutinasi menyebar ke seluruh media gel dan mungkin terkontaminasi di bagian bawah tabung microtube.
- Negatif : semua sel melewati media gel dan membentuk pantat sel dibagian bawah tabung microtube.
- Mixed-Field : sel yang diaglutinasi membentuk lapisan dibagian atas media gel. Sel-sel yang tidak diagregasi lolos ke bagian bawah tabung microtube.

2.3.7 Permasalahan Dalam Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Syafitri, 2016).

Permasalahan dalam pemeriksaan uji silang serasi adalah darah yang inkompatibel atau salah satu pemeriksaan antara mayor, minor, dan AC pada pemeriksaan fase I hingga fase III sudah dilakukan, hasil pemeriksaan didapatkan tetap positif (Syafitri, 2016).

2.3.8 Faktor-faktor Penyebab Terjadinya Inkompatibel Uji Silang Serasi

Darah Inkompatibel tidak dapat di tranfusikan, sehingga perlu mencari penyebab reaksi Inkompatibel (Kemenkes RI, 2015). Menurut teori (Ria Syafitri,2016), penyebab Inkompatibel yaitu :

1. Golongan darah ABO pasien atau donor tidak benar.
2. Adanya alloantibodi pada serum pasien yang bereaksi dengan antigen yang ada pada sel darah merah donor. Hasil AC harus negatif, kecuali pada pasien yang baru ditransfusi dengan sel yang Inkompatibel.
3. Adanya autoantibodi dalam serum pasien yang juga bereaksi dengan sel

darah merah donor, biasanya terjadi karena ada penyakit keganasan dalam darah pasien yang diperiksa.

4. Eritrosit Pasien di selubungi antibodi atau protein (DCT pasien positif).
5. Kelainan dalam serum pasien, menyebabkan terjadinya false positif (rouleaux formasi). Semua test termasuk AC akan menunjukkan hasil positif.
6. Kontaminasi pada pemeriksaan, misalnya tabung yang kotor, kontaminasi sampel dan reagen oleh bakteri (Syafitri, 2016).

2.3.9 Karakteristik Darah Inkompatibel

Karakteristik darah yang Inkompatibel berdasarkan tipe inkompatibel, usia, jenis kelamin, golongan darah ABO Rhesus, dan diagnosis penyakit memiliki berbagai faktor penyebab Inkompatibelnya adalah sebagai berikut :

1. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan tipe Inkompatibel Mayor-AC
Menurut jurnal penelitian (Fatmasari L. & Laili N.H., 2020) meneliti tentang gambaran kasus Inkompatibel mayor pada permintaan darah PRC di UDD PMI Kota Surakarta pada bulan Januari-Maret 2020. Jumlah sampel 119 sampel didapatkan hasil pengolahan data diperoleh jumlah kasus Inkompatibel mayor pada permintaan komponen darah PRC terbanyak yaitu hasil mator positif AC positif sebanyak 93 (78%) sampel.

Proses terjadinya Inkompatibel pada mayor dan AC dikarenakan adanya irreguler antibodi pada serum pasien. Sehingga perlu dilakukan pemeriksaan lanjutan DCT pada sel darah donor. Pemeriksaan Direct Coombs Test (DCT). Hasil pemeriksaan DCT Positif lakukan pemeriksaan ulang golongan darah, minta sampel baru, dicocokkan maksimal dengan 6 kantong darah donor

segolongan dengan pasien. Jika hasil masih sama Hb pasien lebih dari 5 gr/dl, pasien tidak disarankan transfusi. Hb pasien kurang dari 5 gr/dl darah diberikan dengan reaksi mayor lebih rendah dari Auto Kontrol (AK) Pasien.

2. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan tipe Inkompatibel Minor-AC

Menurut jurnal penelitian (Puwati D., Rofinda D. Z., & Husni, 2018) meneliti tentang karakteristik pasien transfusi darah dengan Inkompatibilitas crossmatch di UTD RSUP Dr. M. Djamil Padang bulan Juli-Desember 2018 dengan 103 sampel ditemukan Inkompatibilitas minor (87,37%) 90 sampel.

Hal ini disebabkan oleh darah donor DCT positif atau serum pasien mengandung alloantibodi. Sikap yang harus diambil yaitu lakukan pemeriksaan DCT pada donor, bila positif ganti darah donor, dan lakukan skrining dan identifikasi antibodi pada serum pasien. Bila skrining dan identifikasi antibodi tidak bisa, pemeriksaan dirujuk atau lakukan crossmatch ulang dengan beberapa unit darah donor lain.

3. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan tipe Inkompatibel AC

Menurut jurnal penelitian (Anita S., AM Rachmawati, & Arif M., 2015) meneliti tentang Description of Antiglobulin Test in Incompatibility di Unit Bank Darah RSUP bulan Januari-Juni 2015 dengan 409 sampel ditemukan hasil yang Inkompatibel AC (100%) positif.

Hal ini menunjukkan bahwa proses autoimun berperan serta untuk kejadian Inkompatibilitas. Berdasarkan hasil pemeriksaan DAT pada Inkompatibilitas didapatkan 405 (99%) yang positif menunjukkan adanya antibodi yang menyelubungi antigen yang terdapat pada permukaan eritrosit pasien yang bereaksi dengan AHG. Hasil DAT positif berasal dari antibodi yang

didapat atau alloantibodi, hal ini dapat diperlihatkan dari riwayat pernah transfusi sebanyak 115 pasien (28,4%).

4. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan Usia

Menurut jurnal (Situmorang P. R, 2023) meneliti tentang analisis Inkompatible pada pemeriksaan uji silang serasi dengan metode gel test di UTD PMI Kota Medan tahun 2023 dengan jumlah sampel 53 sampel pada bulan Maret s/d April tahun 2023, ditemukan Inkompatibel berdasarkan usia terbanyak pada rentang umur 25-29 dan 50-54 dengan masing-masing sebanyak 6 orang (11,3%). Banyaknya hasil Inkompatibel pada umur tersebut berhubungan dengan masa produktif dimana dalam aktivitas keseharian yang dilakukan rawan terjadi kecelakaan terutama pada anak milenial sehingga menyebabkan banyaknya permintaan darah pada usia tersebut.

5. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan jenis kelamin

Menurut jurnal penelitian (Aljannah N.F & Supadmi F. R. S, 2021) meneliti tentang Incompatible Results on Matched Cross Test Examination di UTD PMI Kabupaten Kulon Progo pada 78 sampel yang diteliti, ditemukan terbanyak pada jenis kelamin perempuan (64,1%) 50 sampel. Inkompatibel perempuan terjadi akibat penyakit anemia. Prevalensi anemia pada perempuan lebih tinggi (23,9%) dibanding laki-laki (18,4%).

Anemia paling banyak terjadi pada perempuan disebabkan karena wanita akan kehilangan darah akibat menstruasi sepanjang usia produktif. Jumlah yang hilang selama 1 periode menstruasi antara 20-25 cc. Jumlah ini menunjukkan adanya kehilangan zat sekitar 12,5-15 mg/bulan atau sekitar 0,4-0,5 mg dalam sehari (Priyanto, L. D., 2018).

Inkompatibel yang terjadinya biasanya terjadi karena adanya antibodi ireguler. Antibodi ireguler dapat terbentuk karena ada paparan terhadap antigen yang tidak dimiliki pasien ketika mendapatkan transfusi darah atau terdapat riwayat kehamilan sebelumnya. Hal ini yang dapat menyebabkan Inkompatibel karena riwayat transfusi ketika kehamilan sebelumnya (Ningrum N. R. & Ritchie N. K., 2018).

6. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan golongan darah ABO

Menurut penelitian (Srihartaty & Uswiyanti .O., 2021) meneliti tentang karakteristik pasien transfusi darah dengan hasil uji silang serasi Inkompatibel di UTD PMI Kabupaten Bekasi bulan Januari-Mei 2021 dengan 168 sampel, ditemukan hasil Inkompatibel berdasarkan golongan darah ABO terbanyak yakni golongan darah O adalah 59 sampel (35%), dari pada golongan darah lainnya yakni golongan darah A sebanyak 46 sampel (27%), dan golongan darah B sebanyak 49 sampel (29%), golongan darah AB sebanyak 14 sampel (8%).

Faktor Inkompatibel banyak terjadi pada golongan darah O karena lebih banyak mayoritas penduduk Indonesia bergolongan darah O Rh Positif, orang bergolongan darah O tidak memiliki antigen pada permukaan selnya, dan memiliki antibodi A dan B dalam serum. Sehingga orang dengan golongan darah O mendonorkan darah kepada orang dengan golongan darah ABO dan disebut juga sebagai donor universal.

7. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan Rhesus

Menurut penelitian (Rahman I., 2019) meneliti tentang gambaran Inkompatibel pasien kanker penerima darah donor di RSUP H. Adam Malik Medan bulan Mei-Juni 2019 dengan 50 sampel didapatkan hasil terbanyak

Inkompatibel pasien pada rhesus positif 50 sampel (100%). Manusia memiliki dua tipe Rh yaitu positif dan negatif. Seseorang yang tidak memiliki faktor Rh di permukaan sel darah merahnya memiliki golongan darah Rh negatif. Mereka yang memiliki faktor Rh pada permukaan sel darah merahnya disebut memiliki golongan darah Rh positif (Ridwan, M, 2020).

Pemeriksaan antibodi terhadap sistem golongan darah Rh termasuk di dalamnya karena pemeriksaan golongan darah Rh yang rutin dilakukan selama ini hanya terhadap antigen D, sedangkan antigen Rh lainnya (antigen C, c, E, e) diketahui dapat menyebabkan aloimunisasi dan aloantibodi yang terbentuk menimbulkan masalah. Deteksi aloantibodi eritrosit penting pada resipien karena aloantibodi dapat menyebabkan berbagai permasalahan seperti mengganggu pemeriksaan crossmatch, menghambat ketersediaan produk darah, memboroskan tenaga dan biaya penyediaan unit darah yang cocok, dapat memperpendek usia hidup eritrosit donor, dan berpotensi menyebabkan reaksi transfuse hemolitik (pada beberapa kasus dapat mengancam jiwa) (Perwitasari, dkk, 2017).

8. Karakteristik darah Inkompatibel berdasarkan jenis diagnosis penyakit

Menurut jurnal penelitian (Gunawan .D, 2020) meneliti tentang gambaran anemia pada lansia di Panti Wreda Yogyakarta dan Panti Wreda Palembang bulan Mei 2020 dengan 52 sampel di Yogyakarta dan 31 sampel di Palembang, ditemukan diagnosis terbanyak adalah penyakit anemia. Anemia pada orang tua sering terjadi dan sering multifactorial, anemia pada lansia dengan kadar hemoglobin tidak normal disebabkan oleh penurunan kinerja sumsum tulang, penyakit kronis yang mendasari, proses autoimun, dan kurang asupan gizi.