



KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2018

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK (TLM)

IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH

Eva Ayu Maharani
Ganjar Noviar



PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2018

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK (TLM)

IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH

Eva Ayu Maharani
Ganjar Noviar

Hak Cipta © dan Hak Penerbitan dilindungi Undang-undang

Cetakan pertama, Agustus 2018

Penulis : *Eva Ayu Maharani, SSi, M.Biomed*
Ganjar Noviar, SST

Pengembang Desain Instruksional : *Adhi Susilo, S.Pt., M.Biotech.St., Ph.D*

Desain oleh Tim P2M2

Kover & Ilustrasi : *Bangun Asmo Darmanto, S.Des.*

Tata Letak : *Fahreis Hertansyah Pohan, S. Sn*

Jumlah Halaman : *322*

DAFTAR ISI

	Halaman
BAB I: PENGANTAR IMUNOLOGI	1
Topik 1.	
Antigen dan Antibodi	3
Latihan	17
Ringkasan.....	19
Tes 1	19
Topik 2.	
Mekanisme Respon Imun	22
Latihan	31
Ringkasan.....	32
Tes 2	33
KUNCI JAWABAN TES	35
GLOSARIUM	36
DAFTAR PUSTAKA	37
BAB 2: SISTEM GOLONGAN DARAH ABO, Rh & GOLONGAN DARAH LAINNYA....	39
Topik 1.	
Golongan darah ABO.....	41
Latihan	50
Ringkasan.....	51
Tes 1	51
Topik 2.	
Golongan darah Rh.....	54
Latihan	61
Ringkasan.....	61
Tes 2	62
Topik 3.	

Golongan darah Lainnya.....	64
Latihan	72
Ringkasan.....	72
Tes 3	73
KUNCI JAWABAN TES	75
GLOSARIUM	76
DAFTAR PUSTAKA	77
 BAB III: KOMPONEN DARAH	 79
 Topik 1.	
Darah.....	84
Latihan	90
Ringkasan.....	91
Tes 1.....	91
 Topik 2.	
Teknologi Pengolahan Darah.....	93
Latihan	112
Ringkasan.....	112
Tes 2.....	112
 Topik 3.	
Jenis dan Fungsi Komponen Darah.....	114
Latihan	128
Ringkasan.....	128
Tes 3.....	129
 Topik 4.	
Penyimpanan Komponen Darah.....	131
Latihan	138
Ringkasan.....	138
Tes 3.....	139
KUNCI JAWABAN TES	141
GLOSARIUM	142
DAFTAR PUSTAKA	143

BAB 4: REAKSI TRANSFUSI **144**

Topik 1.

Reaksi Transfusi Imun.....	146
Latihan	162
Ringkasan.....	163
Tes 1.....	163

Topik 2.

Reaksi Transfusi Non Imun.....	166
Latihan	176
Ringkasan.....	177
Tes 2.....	177
KUNCI JAWABAN TES	180
GLOSARIUM	181
DAFTAR PUSTAKA	182

BAB 5: INFEKSI MENULAR LEWAT TRANSFUSI DARAH..... **184**

Topik 1.

Hepatitis B.....	194
Latihan	206
Ringkasan.....	206
Tes 1.....	206

Topik 2.

Human Immunodeficiency Virus (HIV).....	209
Latihan	221
Ringkasan.....	221
Tes 2.....	222

Topik 3.

Hepatitis C.....	224
Latihan	234
Ringkasan.....	234
Tes 3.....	235

Topik 4.	
Sifilis.....	237
Latihan	247
Ringkasan.....	247
Tes 4.....	248
KUNCI JAWABAN TES	250
GLOSARIUM	251
DAFTAR PUSTAKA	252

BAB 6: PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI (PEMERIKSAAN PRE TRANSFUSI).... 254

Topik 1.	
Persiapan Alat, Reagensia dan Sampel.....	257
Latihan	271
Ringkasan.....	271
Tes 2.....	272

Topik 2.	
Pemeriksaan Golongan Darah ABODan Rhesus.....	273
Latihan	282
Ringkasan.....	282
Tes 2.....	282

Topik 3.	
Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Crossmatch).....	288
Latihan	295
Ringkasan.....	295
Tes 2.....	295

Topik 4.	
Pemeriksaan Coomb's Test.....	297
Latihan	303
Ringkasan.....	303
Tes 4.....	303

Topik 5.	
Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi.....	305
Latihan	310
Ringkasan.....	310
Tes 4.....	311
KUNCI JAWABAN TES	312
GLOSARIUM	313
DAFTAR PUSTAKA	314

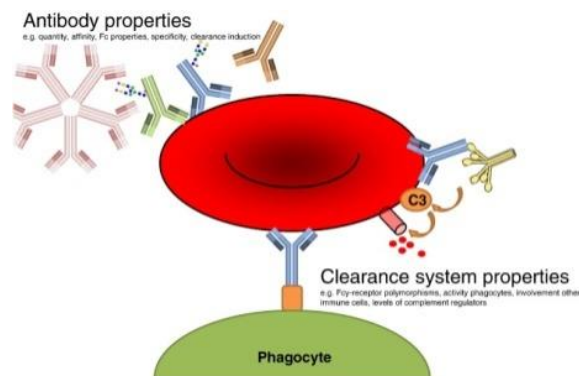
Bab 1

PENGANTAR IMUNOLOGI

Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed.

Pendahuluan

Imunohematologi merupakan ilmu yang mempelajari reaksi antigen (Ag) dan antibodi (Ab) pada sel darah, khususnya sel darah merah. Ilmu ini tidak hanya mencakup imunologi dan hematologi saja, melainkan terdapat juga ilmu lain seperti, genetika, biokimia dan biomolekuler. Pada prakteknya, imunohematologi diaplikasikan pada bidang pelayanan transfusi darah.



Gambar 1.1. Reaksi Ag dan Ab

Sumber. <https://www.sciencedirect.com>

Konsep imunohematologi yang digunakan dalam bidang pelayanan transfusi darah adalah pemeriksaan sebelum transfusi (pre-transfusi test) dan mendeteksi adanya reaksi transfusi yang ditandai adanya Ab terhadap sel darah. Selain pada proses transfusi, kondisi lain yang dapat mencetus Ab terhadap sel darah adalah proses kehamilan.

Konsep dasar imunologi diperlukan untuk memahami reaksi Ag dan Ab. Reaksi Ag dan Ab wajib dipahami terlebih dahulu, karena prinsip dasar metode pemeriksaan untuk transfusi darah, pada umumnya, saat ini masih menggunakan reaksi Ag dan Ab. Selain itu, konsep dasar

mengenai sistem imun tubuh digunakan untuk memahami reaksi transfusi pada pasien serta cara deteksi dan pencegahannya.

Pada Bab 1 ini, akan dibahas mengenai konsep dasar imunologi yang diaplikasikan pada pemeriksaan transfusi darah. Bab ini terdiri atas dua topik, yaitu :

Topik 1. Antigen dan antibodi pada sel darah.

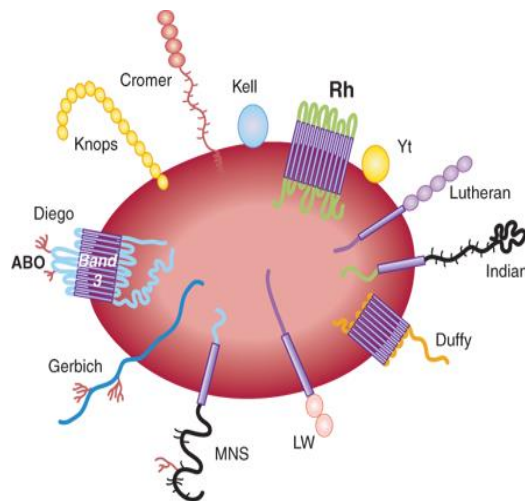
Topik 2. Mekanisme respon imun.

Setelah mempelajari bab ini, Anda diharapkan dapat menjelaskan konsep dasar imunologi yang diaplikasikan pada bidang imunohematologi, yang mencakup: reaksi antigen dan antibodi serta mekanisme respon imun pada reaksi transfusi.

Topik 1

Antigen dan Antibodi

A. ANTIGEN



Gambar 1.2. Ag pada membran sel darah merah

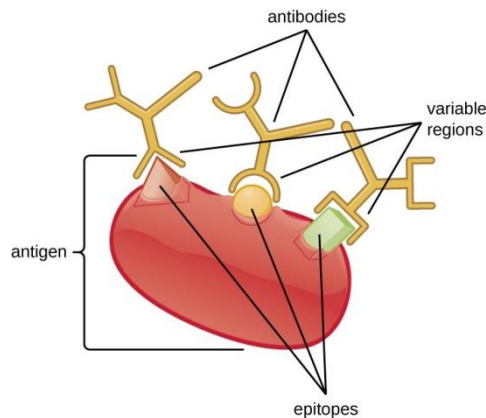
Sumber. <https://basicmedicalkey.com>

Imunohematologi yang diaplikasikan pada transfusi darah lebih mengutamakan reaksi antara antigen (Ag) pada sel darah merah dengan antibodi (Ab) pada serum/plasma. Istilah Ag selalu digunakan pada ruang lingkup analisis laboratorium, namun demikian ketika kita berbicara mengenai respon imun tubuh, maka Ab distimulus oleh substansi asing yang dapat merangsang respon imun tubuh yang disebut dengan imunogen. Istilah imunogen dan antigen, secara teori sedikit berbeda, akan tetapi karena istilah Ag sudah digunakan secara luas, maka Ag dianggap sama dengan imunogen. Hal ini berarti, Ag yang dimaksud pada modul ini yaitu Ag yang bersifat imunogenik yang dapat merangsang respon imun untuk memproduksi Ab.

Sebagai contoh, sel netrofil akan teraktivasi jika ada bakteri masuk ke dalam tubuh dan dapat menghasilkan Ab. Dalam hal ini, unsur bakteri merupakan Ag yang merangsang respon imun.

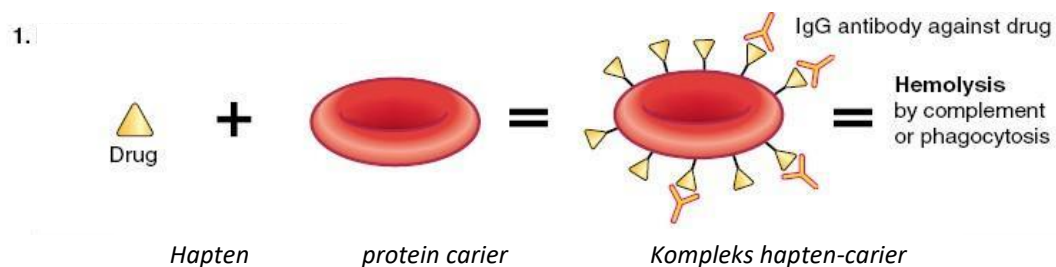
Ag merupakan unsur biologis yang mempunyai bentuk dengan struktur kimia yang kompleks dan mempunyai berat molekul cukup besar untuk menstimulus Ab. Oleh karena itu, umumnya jenis Ag berasal dari molekul protein. Epitop (antigen determinan) merupakan bagian dari Ag yang bereaksi dengan Ab atau dengan reseptor spesifik pada limfosit T. Bentuk epitop biasanya kecil dengan berat molekul ± 10.000 Da. Epitop ini berada pada molekul

pembawa sel darah merah, sehingga pada permukaan membran sel darah merah, terdapat banyak epitop yang menentukan spesifisitas dan kekuatan reaksi Ag dan Ab, seperti terlihat pada Gambar 1.3.



Gambar 1.3. Epitop pada membran sel darah merah
Sumber. <https://courses.lumenlearning.com>.

Suatu substansi dengan berat molekul < 10.000 Da, seperti obat antibiotik umumnya tidak imunogenik, tetapi bila diikat pada protein pembawa yang cukup besar, maka akan membentuk suatu kompleks yang dapat merangsang respon imun untuk memproduksi Ab terhadap molekul tersebut. Substansi tersebut adalah hapten, yang bentuk kompleksnya dapat bereaksi dengan Ab, tetapi ia sendiri tidak imunogenik. Ilustrasi hapten dapat dilihat pada Gambar 1.4 berikut ini.

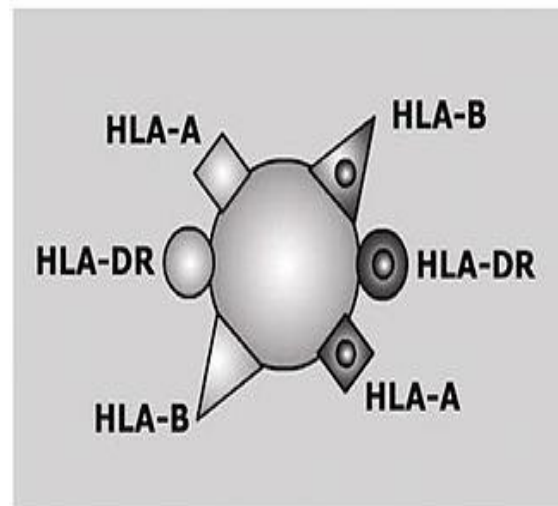


Gambar 1.4. Model hapten obat pada sel darah merah
<http://www.drgaryslupustreatment.org>

A.1. Human Leucocyte Antigen (HLA) dan Human Neutrofil Antigen (HNA)

Sistem HLA diketahui juga sebagai Major Histocompatibility Complex (MHC). HLA merupakan produk dari ekspresi gen HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ, dan gen -DP di kromosom 6. HLA diekspresikan di membran sel berinti, yaitu sel limfosit, granulosit, monosit, trombosit, dan beberapa organ, walaupun diketahui trombosit tidak mempunyai inti sel. Berdasarkan

struktur biokimianya, HLA dikategorikan menjadi HLA kelas I dan II. HLA kelas I terdiri atas : HLA-A, -B, -C. HLA jenis ini berada di sel darah berinti di peredaran darah tepi dan trombosit. HLA kelas II terdiri atas : HLA-DR, -DQ dan HLA-DP. HLA kelas II terdapat di monosit dan limfosit B.



Gambar 1.5. HLA pada sel lekosit
Sumber.<http://www.wikiwand.com>

HLA bersifat sangat imunogenik. Pada proses transfusi, kehamilan dan transplantasi organ, individu normal dapat membentuk Ab terhadap HLA.

Oleh karena itu, pada transplantasi organ, untuk menghindari proses penolakan organ di tubuh pasien, dilakukan terlebih dulu pemeriksaan HLA *typing*, untuk menentukan kecocokan donor dan pasien.

Pada proses transfusi, untuk menghindari reaksi transfusi karena ketidakcocokan HLA donor dan pasien, maka komponen darah yang ditransfusikan dihilangkan sel lekositnya dengan cara disaring menggunakan filter khusus lekosit. Komponen darah ini disebut dengan *leukoreduction* atau *leucopoor*.

Reaksi ketidakcocokan HLA dapat menghasilkan Ab terhadap HLA. Ab HLA biasanya terdapat pada wanita yang mempunyai riwayat sering melahirkan. Jenis Ab ini dapat ditemukan pada reaksi transfusi yang diberi nama : *transfusion related acute lung injury* (TRALI) yang akan dibahas di Bab 4. Selain HLA, terdapat juga jenis Ag lekosit yaitu *Human Netrofil Antigen* / HNA di sel netrofil. Reaksi Ag dan Ab netrofil dapat menyebabkan kondisi penurunan sel netrofil (neutropenia) pada bayi baru lahir dan penyakit TRALI.

A.2 Human Platelet Antigen (HPA)

Pada membran trombosit juga terdapat Ag khusus yang diberi nama *Human Platelet Antigen* (HPA). Sebanyak 33 jenis HPA yang terletak di glikoprotein membran trombosit telah diidentifikasi. Adanya ketidakcocokan HPA menimbulkan Ab terhadap HPA. Antibodi (Ab) terhadap HPA menyebabkan penurunan jumlah trombosit (trombositopenia).

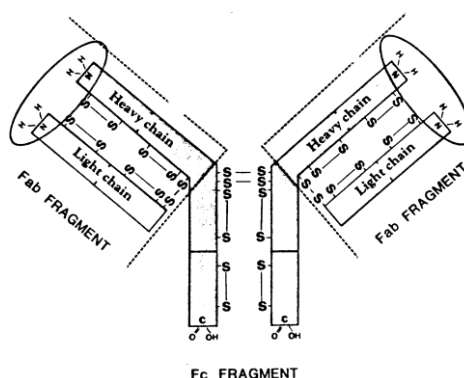
Penurunan jumlah trombosit karena Ab terhadap HPA dapat terjadi pada janin ataupun pada bayi baru lahir. Kondisi ini disebut dengan *Fetomaternal/neonatal alloimmune thrombocytopenia* (FNAIT/NAIT). Selain itu, anti HPA juga dapat menyebabkan reaksi transfusi yang ditandai dengan kegagalan untuk meningkatkan jumlah trombosit setelah transfusi darah dan dapat disertai dengan perdarahan dan timbulnya bintik/bercak merah (purpura).

Antigen pada sel darah merah diklasifikasikan di sistem golongan darah (ABO, Rh Lewis, Kell, Kid, Duffy, dsb). Antigen pada sel lekosit diklasifikasikan pada sistem HLA, HNA. Antigen pada trombosit diklasifikasikan ke dalam sistem HPA. Jenis Ag ini tidak murni hanya berada di satu jenis sel darah saja, terkadang terdapat beberapa jenis Ag sel darah merah yang terdapat di sel darah lain seperti trombosit, contoh: ABO atau HLA yang juga terdapat di trombosit.



B. ANTIBODI

Antibodi merupakan jenis protein yang dihasilkan oleh sel limfosit karena adanya paparan terhadap Ag yang spesifik. Struktur dasar Ab terdiri atas 2 rantai berat (Heavy-chain) dan 2 rantai ringan (Light-chain) yang identik. Setiap rantai ringan terikat pada rantai berat melalui ikatan disulfida (S-S), seperti terlihat pada gambar berikut ini.



Gambar 1.6. Struktur dasar antibodi

Sumber.<http://faculty.madisoncollege.edu>

Fragmen Fab dengan antigen binding site, berfungsi mengikat Ag, oleh karena itu susunan asam amino di area ini berbeda antar molekul Ab yang disesuaikan dengan variabilitas Ag yang merangsang pembentukannya. Fragmen FC merupakan fragmen yang konstan, yang tidak mempunyai kemampuan mengikat Ag, tetapi dapat bersifat sebagai Ag. Fragmen ini mempunyai fungsi sebagai efektor sekunder dan menentukan sifat biologik Ab, misalnya kemampuan untuk melekat pada sel, fiksasi komplemen, kemampuan menembus plasenta, dsbnya.

Jenis Ab terbagi ke dalam lima kelas, yaitu : IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. IgG merupakan satu-satunya immunoglobulin yang mampu melewati plasenta, sedangkan IgM tidak dapat melalui plasenta dan disintesis pertama kali sebagai stimulus terhadap Ag. Pada topik ini akan lebih banyak dibahas IgG dan IgM, karena yang banyak terlibat dalam reaksi transfusi dan terkait dengan pemeriksaan sebelum transfusi (pre-transfusi tes) adalah jenis immunoglobulin tersebut. Adapun jenis immunoglobulin lainnya, seperti IgE, berperan dalam reaksi alergi yang disebabkan oleh transfusi (akan dibahas pada bab 4). IgE berperan dalam reaksi alergi yang mengakibatkan sel melepaskan histamin. IgA ditemukan dalam sekresi eksternal, sebagai contoh pada mukosa saluran nafas, intestinal, urin, saliva, air mata, dsb. Fungsi dari IgA adalah dapat menetralkan virus dan menghalangi penempelan bakteri pada sel epitelium. IgD merupakan penanda permukaan sel B yang matang dengan jumlah yang sedikit di dalam serum.

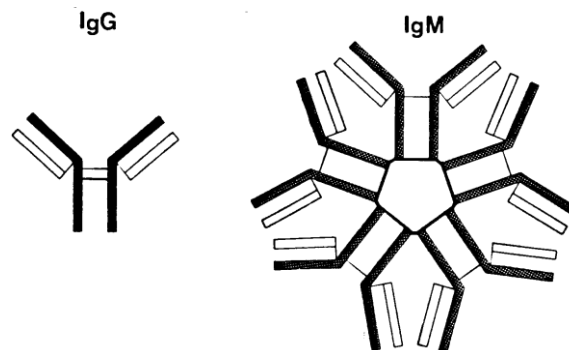
B.1 Antibodi jenis IgG

Ab IgG merupakan jenis Ab yang berperan pada imunitas jangka panjang. Reaksi transfusi, umumnya menghasilkan Ab IgG. Ab jenis ini dapat menghasilkan reaksi hemolisis di dalam pembuluh darah dengan cara Ab mensensitisasi sel darah merah dan mengaktifkan komplemen pada kondisi optimal. Ab IgG tidak dapat beraglutinasi membentuk gumpalan darah secara langsung, hal ini dikarenakan bentuk IgG yang cukup kecil, yang terdiri hanya satu sub unit immunoglobulin (monomer) dengan 2 area pengikatan Ag (antigen binding site). Karena bentuknya yang kecil, maka hanya IgG yang dapat menembus plasenta. Kondisi inilah yang dapat menyebabkan reaksi pada janin (dijelaskan lebih detail pada bab 2). Ab IgG bereaksi optimal pada suhu 37°C, oleh karena itu seringkali disebut dengan 'warm antibody'.

B.2 Antibodi jenis IgM

Ab jenis IgM merupakan jenis Ab yang pertama dibentuk karena adanya paparan terhadap Ag dan respon IgM biasanya pendek yaitu hanya beberapa hari yang kemudian konsentrasinya menurun. Molekul IgM lebih besar dibandingkan IgG, dengan bentuk pentamer yang terdiri atas 5 sub unit immunoglobulin dengan 10 tempat pengikatan Ag (antigen binding site). Ab IgM bereaksi optimal pada suhu 4°C atau di bawah 30°C, dan

seringkali disebut dengan 'cold antibody'. Ab IgM dapat mengikat komplemen dan menghasilkan reaksi lisis. Berikut adalah gambaran antara molekul Ab IgG dan IgM. Perbandingan struktur antara molekul IgG dan IgM dapat dilihat pada Gambar 1.7.



Gambar 1.7. Struktur molekul IgG dan IgM
Sumber.<http://faculty.madisoncollege.edu>

Tabel 1.1. Perbedaan antara Ab IgG dan IgM

Keterangan	IgG	IgM
Bentuk molekul	Monomer (satu sub unit imunoglobulin).	Pentamer (lima sub unit imunoglobulin).
Ag binding site	2	10
Aktivasi komplemen	Dapat mengaktifasi jika kondisi optimal	Komplemen aktivator
Reaksi di plasenta	Dapat menembus plasenta	Tidak dapat menembus plasenta
Suhu reaksi optimum	37 ⁰ C (Warm Ab)	4 ⁰ C / < 30 ⁰ C (Cold Ab)

Jenis antibodi yang dibahas pada modul ini adalah antibodi sistem golongan darah. Umumnya, manusia mempunyai anti A, anti B yang terbentuk secara alami di dalam tubuh. Jenis Ab ini, terbentuk berlawanan dengan jenis Ag yang sudah ada, sebagai contoh, individu yang mempunyai Ag A, akan mempunyai anti B.

Jenis Ab pada sistem golongan darah biasanya adalah jenis IgM atau IgG, dan sejumlah kecil IgA. Ab yang terbentuk secara alamiah, seperti anti A, anti B umumnya adalah jenis IgM. Ab IgM merupakan jenis Ab yang bereaksi optimal di suhu 4⁰ C (seringkali disebut dengan Ab

jenis cold), dan Ab jenis IgM dapat bereaksi langsung mengikat Ag yang sesuai di medium NaCl 0,9% (medium saline).

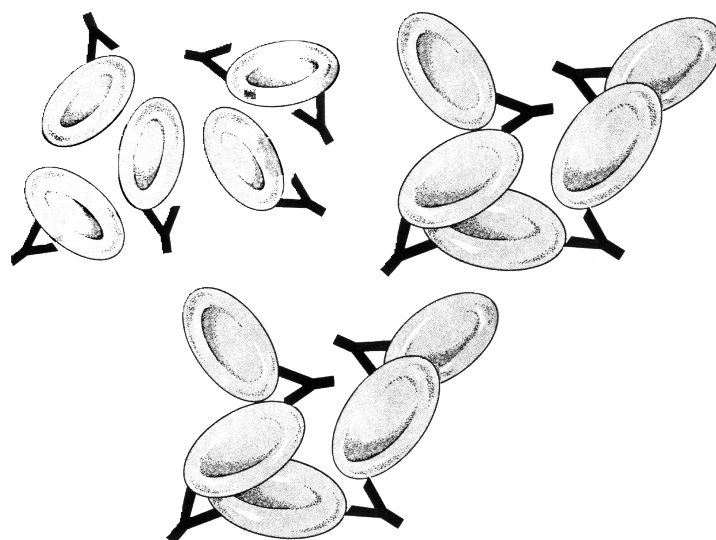
Ab jenis IgG pada sistem golongan darah umumnya merupakan jenis Ab imun, yaitu Ab yang terbentuk karena ada paparan sebelumnya dengan Ag yang sesuai, seperti Ab –Rh, Ab –Kell, Ab –Kidd, dsb. Tidak seperti Ab jenis IgM yang dapat langsung bereaksi pada medium saline, Ab jenis IgG membutuhkan reagensia tambahan seperti anti human globulin (AHG) untuk memperlihatkan aglutinasi terhadap Ag yang sesuai.

C. JENIS REAKSI Ag DAN Ab

Reaksi Ag dan Ab yang akan dibahas di modul ini adalah reaksi Ab dan Ag pada sel darah merah. Reaksi Ag dan Ab dipelajari untuk mengetahui cara deteksi Ag dan Ab yang digunakan pada pemeriksaan transfusi darah.

Reaksi Ab dan Ag pada sel darah merah dimulai ketika Ab dan Ag berada pada suatu medium. Ketika Ab dan Ag pada medium tersebut sesuai, maka Ag mendekat di fragment antigen binding site (Fab) Ab dan Ab mulai tersensitisasi. Tahapan ini tidak dapat diamati. Reaksi ini berlangsung cukup cepat dan dipengaruhi oleh beberapa faktor yang akan dibahas selanjutnya.

Tahap berikutnya adalah, perlekatan Ag dan Ab sehingga membentuk ikatan yang stabil yang terlihat sebagai aglutinasi. Tahapan ini membutuhkan waktu cukup lama untuk dapat diamati secara visual jika dibandingkan tahapan pertama. Untuk memperkuat reaksi Ag dan Ab yaitu aglutinasi, maka dapat dilakukan sentrifugasi. Jika Ag dan Ab tidak sesuai, maka setelah perlakuan, tidak akan terjadi reaksi, seperti aglutinasi.



Gambar 1.8. Tahapan aglutinasi, tahap pertama (kiri) dan tahap kedua (kanan)

Sumber.<http://faculty.madisoncollege.edu>

Terdapat beberapa jenis reaksi Ag dan Ab yang digunakan pada pemeriksaan imunohematologi. Reaksi yang dihasilkan tergantung jenis Ag dan Ab, pereaksi serta jenis medium yang digunakan. Berikut adalah jenis reaksi yang digunakan pada pemeriksaan imunohematologi.

C.1. Reaksi hemaglutinasi

Reaksi hemaglutinasi yaitu reaksi aglutinasi yang terjadi pada sel darah merah. Contoh reaksi hemaglutinasi adalah reaksi pada sistem golongan darah ABO. Adanya Ab pada serum/plasma (contoh : anti A) yang direaksikan dengan sel darah merah yang sesuai (yaitu Ag A) akan membentuk aglutinasi/gumpalan pada sel darah merah, seperti terlihat pada Gambar 1.9. Gumpalan tersebut dapat berupa gumpalan besar sampai dengan kecil. Reaksi ini dapat dilakukan dan diamati di tabung reaksi, mikropate, mikrowell.

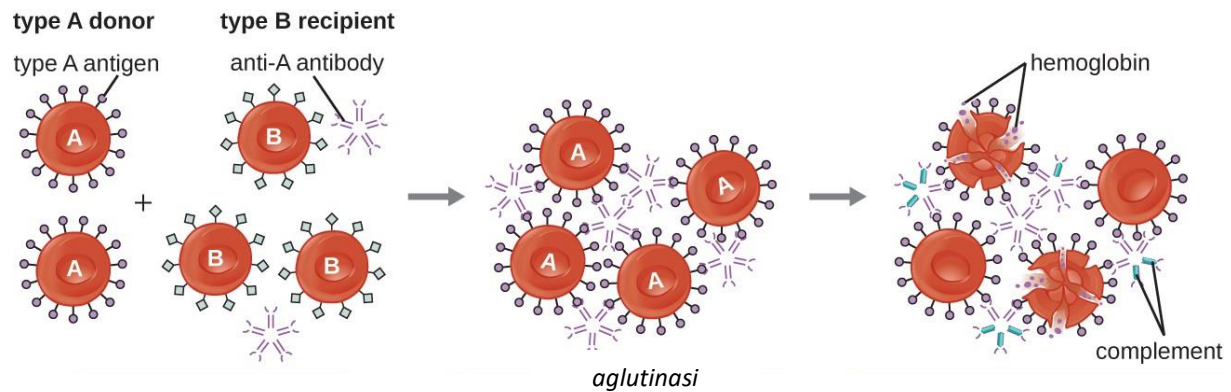


Gambar 1.9. Reaksi aglutinasi pada golongan darah A, Ag A direaksikan dengan anti A (kiri) aglutinasi. Ag A direaksikan dengan anti B (kanan) tidak terjadi aglutinasi

Sumber.<http://www.medical-labs.net>

C.2. Hemolisis

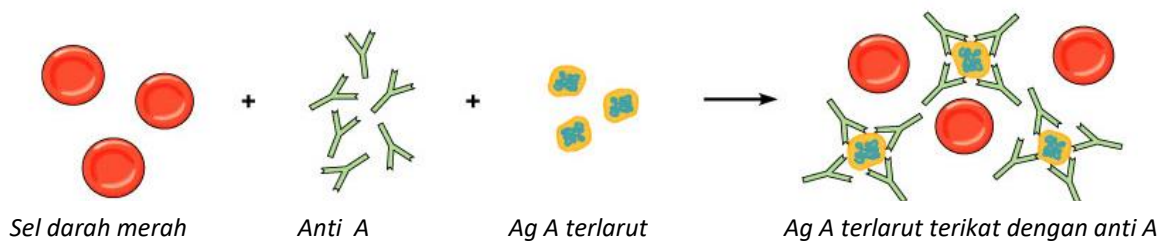
Reaksi Ag dan Ab dapat menghasilkan hemolisis. Hemolisis adalah kondisi pecahnya membran eritrosit, sehingga melepaskan molekul hemoglobin (Hb). Reaksi ini dapat terjadi karena adanya pengaktifan komplemen. Komplemen adalah suatu jenis protein serum yang dapat teraktifkan jika suatu jenis Ab yang sesuai melekat ke Ag atau mensensitisasi sel darah merah. Kondisi tersebut dapat memunculkan reaksi berantai pengaktifan komplemen dengan titik akhirnya adalah hemolisis sel darah merah. Sebagai contoh, pada Gambar 1.10. dapat dilihat Ag A pada donor akan bereaksi dengan anti A pada pasien, menyebabkan sel darah aglutinasi (menggumpal), kemudian mengaktifkan komplemen dan hasil akhir adalah lisis sel darah merah.



Gambar 1.10. Reaksi hemolisis
 Sumber.<http://www.medical-labs.net>

C.3. Netralisasi (Inhibisi aglutinasi)

Reaksi netralisasi biasanya diaplikasikan pada Ag terlarut di cairan tubuh seperti saliva. Saliva yang mengandung Ag A terlarut direaksikan dengan reagensia anti A akan mengalami reaksi netralisasi, yaitu anti A tidak dapat bereaksi dengan Ag A pada sel darah merah yang ditambah sesudahnya, karena Fab pada anti A diinhibisi oleh Ag A terlarut. Ilustrasi reaksi netralisasi dapat dilihat pada Gambar 1.11.



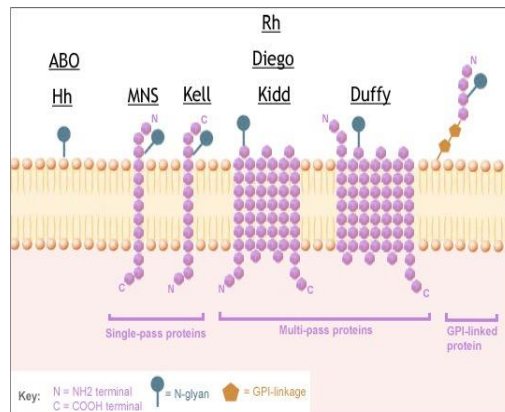
Gambar 1.11. Reaksi netralisasi
 Sumber.<https://www.slideshare.net>

D. FAKTOR YANG MEMPENGARUHI REAKSI Ag DAN Ab

Sebelumnya, telah dibahas mengenai sifat dan jenis reaksi Ag dan Ab. Berikut, akan dijelaskan mengenai faktor yang mempengaruhi reaksi Ag dan Ab. Dengan mengetahui sifat dan jenis reaksi Ag dan Ab serta faktor yang mempengaruhi reaksi, maka dapat digunakan untuk mengetahui metode dan optimasi deteksi Ag dan Ab. Berikut adalah faktor yang dapat mempengaruhi reaksi Ag dan Ab :

D.1. Letak dan jumlah Ag

Letak Ag pada membran sel darah merah dapat mempengaruhi reaksi Ag dan Ab. Letak Ag yang menjorok ke luar membran seperti Ag A, B lebih cepat membentuk reaksi aglutinasi dengan Ab jika dibandingkan dengan jenis Ag yang letaknya tidak terlalu menonjol dari membran sel darah merah (ilustrasi pada Gambar 1.12).



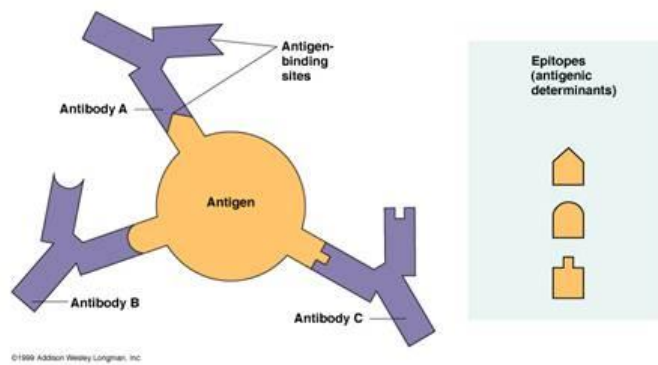
Gambar 1.12. Ag membran sel darah merah

Sumber : blood group & red cell Ag

Jumlah Ag juga dapat mempengaruhi reaksi Ag dan Ab. Sebagai contoh, Ag A, B pada sistem golongan darah ABO mempunyai jumlah sekitar 1 juta dengan letak Ag yang menghadap ke luar membran, sehingga Ag lebih mudah terikat dengan Ab yang sesuai. Sedangkan Ag Rh mempunyai jumlah Ag per eritrosit yang lebih sedikit, yaitu sekitar 10.000 – 30.000 Ag. Selain itu, jenis Ag Rh yang merupakan protein intra membran, dengan letak Ag tidak terlalu menonjol ke luar membran sel, dapat berpengaruh terhadap lamanya reaksi aglutinasi yang tidak secepat Ag A, B.

D.2. Jumlah epitop Ag di membran sel darah

Jika sel darah merah mempunyai epitop Ag (tempat pengikatan Ag) dalam jumlah banyak, maka Ab akan lebih mudah bereaksi dibandingkan dengan sel darah merah yang jumlah epitopnya sedikit di membran. Hal ini berkaitan dengan sifat homozigot atau heterozigot suatu genotip. Jika Ag dengan genotip homozigot (contoh: AA) diekspresikan di sel eritrosit, maka sel tersebut mempunyai lebih banyak epitop (tempat pengikatan Ag) dibandingkan Ag dengan genotip heterozigot (contoh : Aa). Jenis genotip berkaitan dengan dosis Ag (dosage effect), genotip homozigot umumnya disebut dengan 'double dose', dan heterozigot 'single dose'. Ilustrasi epitop Ag dapat dilihat pada Gambar 1.13.

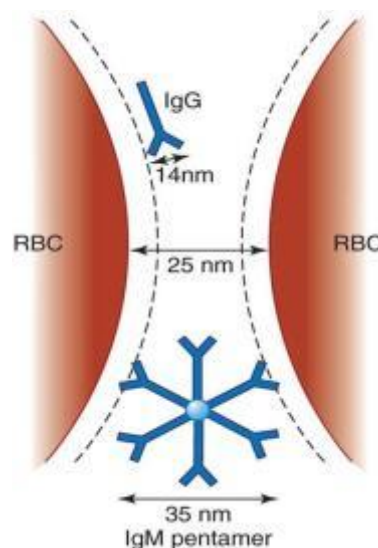


Gambar 1.13. Epitop Ag

Sumber :<https://www.slideshare.net>

D.3. Tempat pengikatan Ag (Fragmen antigen binding sites/Fab) di antibodi

Ag IgM mempunyai 10 Fab, sedangkan Ab IgG hanya mempunyai dua Fab. Untuk reaksi aglutinasi dua sel darah merah, maka satu molekul Ab IgM dapat mengikat beberapa Ag di satu sel darah merah dan beberapa di sel darah merah lainnya. Ikatan yang dihasilkan cukup kuat. Pada molekul Ab IgG, hanya dapat mengikat satu Ag di satu sel darah merah dan satu Ag di sel darah merah lain, atau dapat juga Ab IgG hanya mensensitisasi sel darah merah, artinya hanya mengikat di satu sel darah merah dan tidak mengikat sel darah merah lainnya, sehingga ikatan yang dihasilkan lebih lemah dibandingkan Ab IgM, seperti tampak pada ilustrasi di Gambar 1.14.

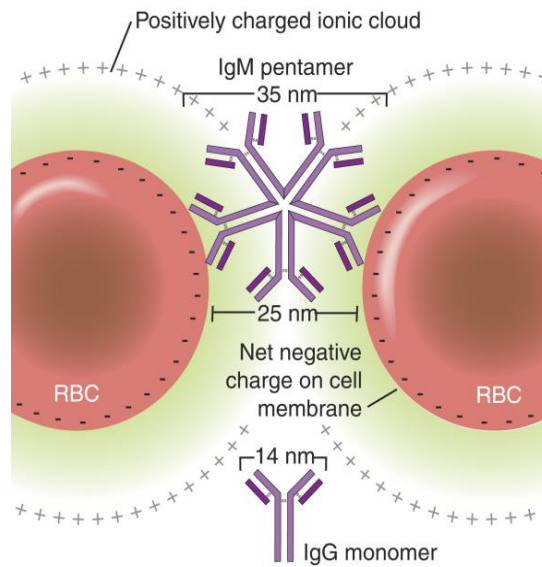


Gambar 1.14. Reaksi IgG dan IgM pada sel darah merah

Sumber :<https://www.studyblue.com>

D.4. Jarak Ag dan Ab

Semakin dekat jarak antara Ag dan Ab, maka reaksi ikatan Ag dan Ab akan lebih cepat terjadi. Sebagai contoh, Ab IgM akan lebih cepat mengikat Ag dibandingkan dengan jenis Ab IgG. Molekul Ab IgM mempunyai panjang 300 Å dan Ab IgG mempunyai panjang 120 Å. Semakin besar bentuk molekul, maka akan memperkecil jarak Ag dan Ab. Ilustrasi bentuk dan jarak Ab IgM dan IgG dapat dilihat pada gambar 1.15.

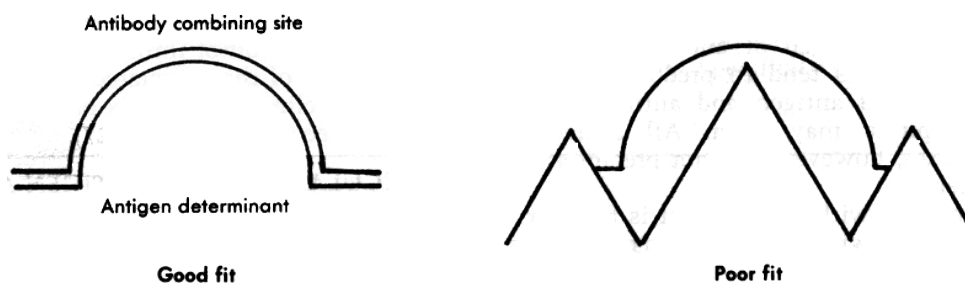


Gambar 1.15. Reaksi IgG dan IgM pada sel darah merah

Sumber :Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods

D.5. Afinitas Ab dan Ag

Reaksi Ag dan Ab bekerja seperti kunci dan gembok. Ketika Ag dan Ab cocok satu sama lain, maka reaksi yang dihasilkan kuat, namun jika afinitas Ag dan Ab tidak terlalu kuat, maka menghasilkan reaksi yang lemah.



Gambar 1.16. Afinitas Ab dan Ag, kiri :Ag dan Ab sesuai, kanan : Ag dan Ab kurang sesuai

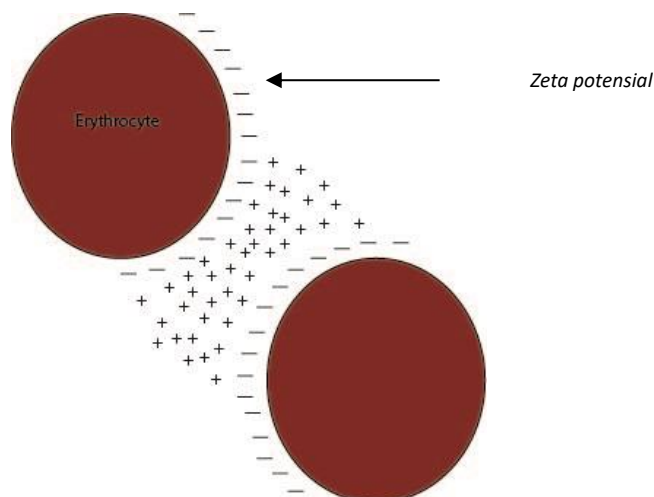
Sumber :<http://faculty.madisoncollege.edu>

D.6. Konsentrasi Ag dan Ab

Reaksi Ag dan Ab yang terbaik, dihasilkan dari Ab dan Ag dalam jumlah seimbang. Kondisi Ag berlebihan (postzone effect) akan mengakibatkan melarutnya kembali kompleks yang terbentuk dan Ab berlebihan (prozone effect) menyebabkan kompleks Ag dan Ab tetap ada dalam larutan.

D.7. Ion negatif antar sel darah merah → Zeta potensial

Setiap sel darah merah mempunyai ion negatif di sekitar area membran yang berfungsi untuk menjaga jarak antar sel darah merah dan mencegah Ab yang mensensitisasi atau melekat pada sel darah merah untuk beraglutinasi. Zeta potensial harus dikurangi jika ingin memperkecil jarak Ab yang mensensitisasi sel darah merah sehingga reaksi aglutinasi dapat dipercepat.



Gambar 1.17. Area zeta potensial

Sumber :<https://www.labce.com/>

Zeta potensial sangat bermakna pada tahapan pemeriksaan imunohematologi. Pada pemeriksaan tertentu, zeta potensial biasanya dikurangi dengan penambahan reagensia bovine albumin 22%, ataupun penambahan enzim tertentu.

D.8. Suhu

Reaksi Ag dan Ab dipengaruhi oleh suhu. Hal ini berkaitan dengan jenis ikatan kimia dan jenis Ag, Ab. Pada ikatan hidrogen, reaksi optimal terjadi pada suhu rendah. Jenis reaksi ini terdapat pada jenis Ag karbohidrat.

Molekul non polar membentuk ikatan hidrofobik, reaksi optimal terjadi pada suhu yang lebih tinggi. Jenis reaksi ini terdapat pada Ag jenis protein.

Suhu reaksi Ag dan Ab juga merupakan indikasi makna klinis jenis Ag dan Ab tersebut. Sebagai contoh, jenis Ab IgG dengan suhu reaksi optimal 37⁰ C (warm Ab) dapat dilemahkan reaksinya dengan menurunkan suhu, sehingga terjadi penurunan reaksi ikatan Ag dan Ab. Jenis Ab cold, akan bereaksi dengan baik untuk aglutinasi maupun sensitisasi sel darah merah pada suhu +2⁰ C s/d +10⁰ C. Jika suhu dinaikkan, maka reaksi Ag dan Ab perlahan akan terdisosiasi atau terlepas.

D.9. Waktu

Reaksi Ag dan Ab membutuhkan waktu optimum untuk inkubasi. Jika waktu inkubasi terlalu cepat, maka Ag dan Ab tidak mempunyai cukup waktu untuk menghasilkan reaksi yang baik. Jika waktu inkubasi terlalu lama, maka ikatan Ag dan Ab yang sudah terjadi, dapat terurai kembali. Pada saat melakukan tahapan inkubasi untuk suatu pemeriksaan, maka waktu optimum inkubasi harus sesuai dan ditepati.

D.10. Konsentrasi ion

Untuk mempercepat reaksi Ag dan Ab, maka konsentrasi ion di suatu larutan harus diperkecil. Hal ini dikarenakan ion yang terdapat di dalam larutan dapat menetralkan muatan molekul Ag dan Ab, sehingga reaksi antar keduanya terganggu. Maka dari itu, pada reaksi Ag dan Ab di imunohematologi disarankan untuk menggunakan larutan dengan kandungan ion rendah, yaitu larutan Low Ionic Strength Saline (LISS).

D.11. pH

Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui derajat basa atau asam suatu larutan. Kisaran pH optimal untuk reaksi Ag dan Ab adalah pH 6,5 – 7,5. Pada kisaran pH tersebut, muatan Ag dan Ab berlawanan, sehingga reaksi Ag dan Ab optimal. Sebagai contoh, anti M bereaksi optimal pada pH di bawah 7. Namun demikian, jika pH terlalu rendah, maka akan meningkatkan reaksi pelepasan ikatan Ag dan Ab.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi pada topik 1, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Jelaskan definisi Ag dan Ab disertai contoh pada bidang transfusi darah.
- 2) Sebutkan perbedaan antara IgG dan IgM dalam kaitannya dengan reaksi imunohematologi
- 3) Lengkapi tabel berikut dengan menuliskan jenis reaksi Ag dan Ab yang diaplikasikan pada pemeriksaan imunohematologi. Nomor 1 sudah dikerjakan sebagai contoh.

No	Jenis reaksi Ag dan Ab	Contoh	Gambaran reaksi
1	Hemaglutinasi	Pemeriksaan golongan darah ABO	Ag A + Anti A → aglutinasi sel darah merah
2			
3			

- 3) Lengkapi tabel berikut dengan menuliskan faktor yang mempengaruhi reaksi Ag dan Ab

No	Faktor	Penjelasan
1		
2		

3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		

Ringkasan

1. Antigen merupakan suatu substansi asing yang dapat bereaksi dengan Ab dan seringkali istilah Ag disamakan dengan imunogen.
2. Semua imunogen dapat memicu respon imun, namun tidak semua Ag dapat memicu respon imun.
3. Untuk menjadi unsur imunogen, maka substansi harus dikenali sebagai 'unsur asing' oleh sistem imun tubuh. Unsur yang bersifat imunogen harus mempunyai berat molekul 10.000 DA dan biasanya merupakan jenis protein atau polisakarida.
4. Jenis Ag spesifik pada sel darah merah adalah ABO, Rh, Kell, Lewis, Duffy, Kidd, dsbnya yang diidentifikasi pada sistem golongan darah.
5. Jenis Ag spesifik pada leukosit adalah HLA, HNA, dan jenis Ag spesifik pada trombosit adalah HPA.
6. Antibodi alamiah merupakan jenis antibodi yang sudah ada di dalam tubuh semenjak lahir, contoh adalah Anti A, B, sedangkan Ab imun adalah jenis Ab yang ada karena paparan terhadap Ag sebelumnya, contoh : anti-Rh, anti Kell, dsb.
7. IgM merupakan jenis Ab yang secara langsung dapat beraglutinasi dengan Ag yang sesuai, sedangkan Ab IgG tidak secara langsung dapat beraglutinasi dengan Ag sel darah merah melainkan harus diberikan pereaksi tambahan.
8. Reaksi Ag dan Ab terjadi pada dua tahap, yaitu tahap pertama, Ag dan Ab mendekat dan mulai tersensitisasi, dan tahap kedua, Ag dan Ab terikat satu sama lain membentuk aglutinasi yang dilihat sebagai gumpalan sel darah merah.
9. Untuk mempercepat dan memperjelas reaksi aglutinasi dapat dilakukan dengan sentrifugasi.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Antigen merupakan suatu unsur yang dapat merangsang respon imun. Berikut adalah jenis Ag sel darah dan tempatnya.
 - A. Ag Rh di leukosit
 - B. ABO di trombosit
 - C. HLA kelas II netrofil

- D. HPA di sel darah merah
 - E. HNA kelas I di sel darah merah
- 2) Antibodi jenis IgM, merupakan Ab dengan sifat
- A. Bisa menembus plasenta
 - B. Dapat mengaktivasi komplemen
 - C. Bereaksi optimal pada suhu 37° C
 - D. Terdiri atas satu sub unit imunoglobulin
 - E. Mempunyai 2 unit tempat pengikatan Ag
- 3) Reaksi hemolisis dapat terjadi karena
- A. Ag dan Ab berikatan
 - B. Adanya Ag terlarut
 - C. Aktivasi komplemen
 - D. Melibatkan sel darah merah
 - E. Jenis Ab yang dapat melisis sel darah
- 4) Mengapa pada reaksi Ab dan Ag sel darah merah digunakan larutan dengan konsentrasi ion rendah?
- A. Menaikkan pH larutan
 - B. Memperjelas reaksi aglutinasi
 - C. Mempercepat waktu inkubasi
 - D. Menurunkan area zeta potensial
 - E. Meningkatkan afinitas Ag dan Ab
- 5) Zeta potensial adalah
- A. Jarak antara Ab dan Ag
 - B. Ion negatif di area membran sel darah merah
 - C. Reaksi aglutinasi antara sel darah merah dan antisera
 - D. Suatu komponen yang dapat mempercepat waktu inkubasi
 - E. Reagensia yang menjembatani IgG untuk berikatan dengan Ag

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 1 dengan kunci jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab 1 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 1, terutama bagian yang belum anda kuasai.

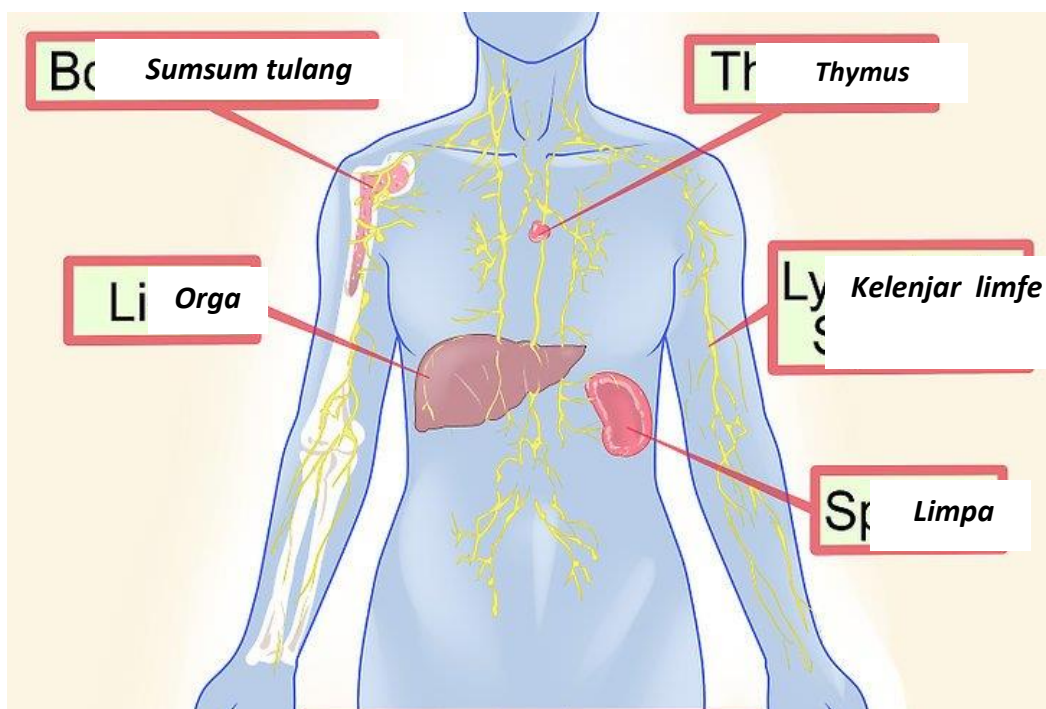
Topik 2

Mekanisme Respon Imun

A. SISTEM DAN MEKANISME IMUN

Sistem imun dirancang sedemikian rupa untuk melindungi tubuh dari substansi asing. Substansi asing bisa dalam bentuk bakteri, virus, parasit, termasuk juga sel darah. Seperti dijelaskan di topik 1, bahwa membran sel darah terdiri atas unsur protein, karbohidrat dan lipid. Komponen ini dapat memicu respon imun jika terjadi ketidakcocokan Ag sel darah pada proses transfusi, maupun kehamilan.

Komponen utama sistem imun berada di : sumsum tulang, organ hati, kelenjar thymus, kelenjar limfe, limpa dan jaringan limfoid lain yang tersebar dalam jaringan submukosa saluran nafas, saluran cerna. Ilustrasi sistem imun dapat terlihat pada Gambar 1.18 berikut.



Gambar 1.18. Sistem imun

Sumber. <https://www.wikihow.com>

Sistem imun tubuh bekerja dengan cara : mendeteksi adanya substansi asing / Ag, prosesing Ag dan menyingkirkan Ag. Terdapat dua jenis sistem imun yang bekerja di dalam tubuh kita, yaitu : imunitas alami dan imunitas didapat.

A.1. Imunitas alami

Imunitas alami merupakan kemampuan tubuh yang sudah ada semenjak lahir untuk mempertahankan diri dari unsur patogen yang berasal dari lingkungan. Respon imunitas alami adalah sama, yaitu tergantung kepada sifat Ag yang memicu dan tidak ada sistem memori yang terlibat yang dapat mengkhususkan suatu jenis Ag. Terdapat tiga macam reaksi imun pada imunitas alami, yaitu:

A.1.1. Reaksi inflamasi

Reaksi inflamasi yaitu pemusatan sel-sel sistem imun pada suatu lokasi infeksi, sehingga mikroorganisme atau unsur asing dapat dihancurkan dan tidak menyebar ke bagian tubuh lainnya. Proses yang terjadi pada reaksi inflamasi adalah :

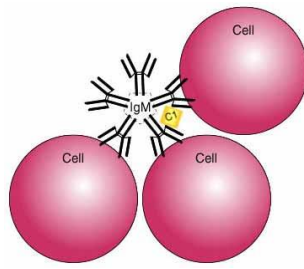
- Peningkatan aliran darah di area infeksi → menyebabkan rasa panas di area infeksi.
- Peningkatan permeabilitas kapiler akibat retraksi sel-sel endotel sehingga molekul-molekul besar dapat menembus dinding vaskular → menyebabkan area menjadi kemerahan.
- Penarikan lekosit ke area infeksi → bukti adanya aktivitas fagositosis dapat berupa adanya pus/nanah.

A.1.2. Fagositosis oleh sel lekosit

Jenis sel darah putih atau lekosit yang berfungsi pada reaksi fagositosis, yaitu : monosit, *polymorphonuclear cells*/PMN (netrofil, eosinofil, basofil). Pada reaksi fagositosis, harus terdapat mediator atau perantara supaya Ag dapat melekat pada sel lekosit. Sitokin merupakan mediator respon imun yang mampu berinteraksi dengan reseptor pada permukaan sel. Selain itu, Ag harus dilapisi oleh Ab atau komplemen (C3b), supaya lebih mudah ditangkap sel fagosit.

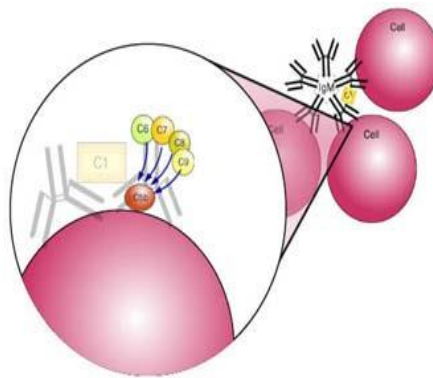
A.1.3. Pengaktifan komplemen

Komplemen merupakan jenis protein yang terdapat di dalam serum dalam bentuk tidak aktif. Aktivasi komplemen dapat terjadi melalui tiga jalur, yaitu : jalur klasik, alternatif dan jalur lectin. Pada jalur klasik, komplemen diaktifkan karena adanya reaksi Ag dan Ab. Jalur alternatif dan lektin dipicu oleh adanya substansi yang bukan Ab, melainkan polisakarida dan lipopolisakarida yang berasal dari permukaan mikroorganisme (bakteri, virus) dan sel tumor, enzim serta endotoksin. Pada modul ini hanya akan dibahas lebih detail mengenai pengaktifan komplemen jalur klasik yang melibatkan Ag dan Ab.



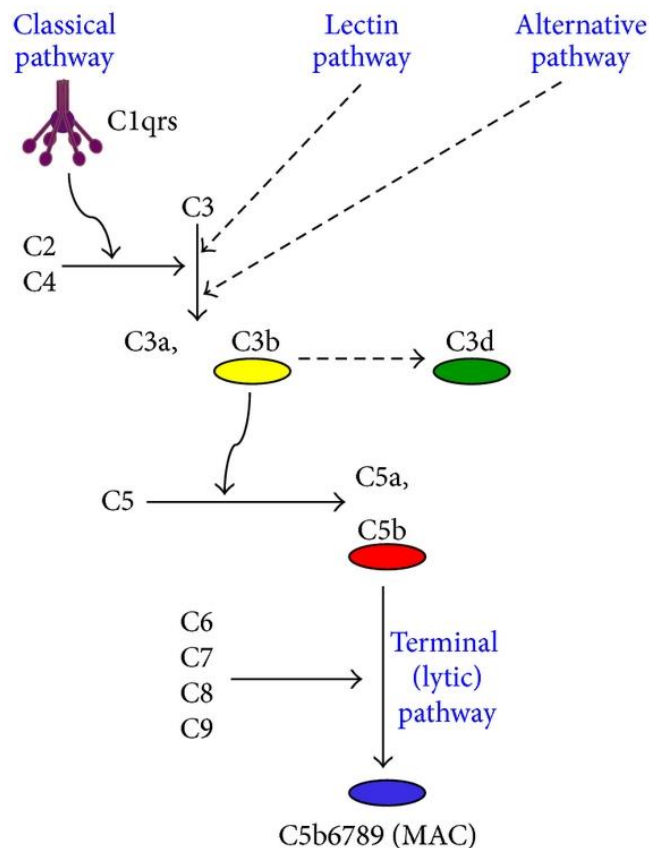
Gambar 1.19. Ab IgM yang menempel ke Ag sehingga komplemen teraktifkan.
Sumber. <http://faculty.madisoncollege.edu>

Untuk mengaktifkan komplemen, diperlukan setidaknya satu molekul Ab IgM yang diilustrasikan pada Gambar 1.19 atau dua molekul IgG dengan posisi dekat Ag. Letak pengaktifan komplemen pada sel darah, dapat dilihat pada Gambar 1.20.



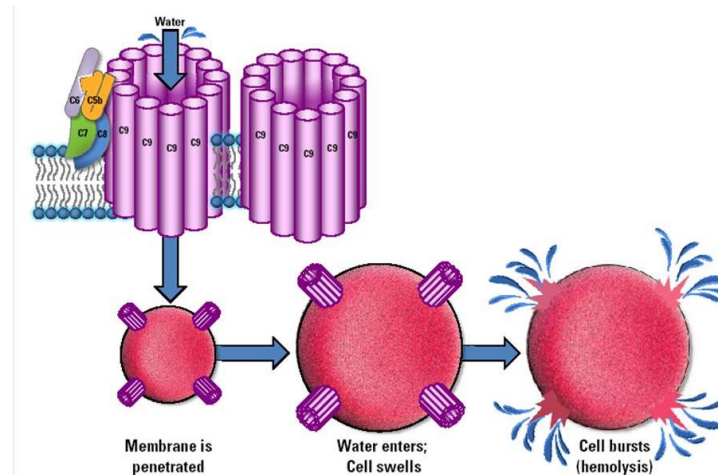
Gambar 1.20. Letak aktivasi komplemen
Sumber. <http://faculty.madisoncollege.edu>

Ketika komplemen teraktifkan, maka akan terbentuk reaksi berantai. Reaksi ini dimulai dengan pengaktifan $C1 \rightarrow C4 \rightarrow C2$. Kompleks ini akan merombak C3, sehingga menghasilkan C3a dan C3b yang melekat pada permukaan sel darah merah. Pada beberapa kondisi, reaksi dapat berhenti pada tahapan ini. Jika tahapan dilanjutkan, maka C3b mengikat C5, yang diikuti dengan C6, C7, C8 dan C9. Kumpulan protein C5 sampai dengan C9 menyebabkan terbentuknya *membrane attachment complex* (MAC) yang menyebabkan lisis sel darah merah. Berikut adalah skema pengaktifan komplemen (Gambar 1.21).



Gambar 1.21. aktivasi komplemen jalur klasik. Jalur alternatif langsung mengaktifkan C3 sedangkan jalur lektin mempunyai pengaktifan melalui protein jenis lain yang ekuivalen dengan C1. Ketiga jalur ini mempunyai proses yang sama pada tahapan aktivasi C3.
Sumber. <https://www.researchgate.net>

Membrane attachment complex (MAC) merupakan hasil akhir dari pengaktifan C1 sampai dengan C9. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, bahwa jenis komplemen yang membentuk MAC adalah C5b6789. Kompleks tersebut menembus membran sel darah merah dan merusak lapisan lipid dan fosfolipid yang terdapat pada membran sekitar kompleks dan menimbulkan lubang sehingga sel tidak dapat mempertahankan integritas bentuknya dan terjadilah lisis sel darah merah, yang diilustrasikan pada Gambar 1.22.



Gambar 1.22. Pembentukan *membrane attachment complex* (MAC)

Sumber. <http://slideplayer.com/slide/4678550/>

Reaksi lisis sel darah merah yang disebabkan komplemen merupakan reaksi hemolisis intravaskular yang berada di dalam sirkulasi darah. Akan tetapi, jika komplemen hanya bereaksi sampai dengan C3b yang melekat pada sel darah merah/Ag, maka kompleks tersebut akan disingkirkan dari sirkulasi darah dengan fagositosis oleh makrofag ataupun netrofil untuk selanjutnya dihancurkan. Reaksi hemolisis ini disebut dengan hemolisis ekstravaskular. Reaksi hemolisis intravaskular dan ekstravaskular akan dibahas pada bagian reaksi transfusi di Bab 4.

Reaksi imun yang melibatkan komplemen mempunyai 2 jenis hasil akhir :

1. Komplemen dapat berada pada kompleks Ag dan Ab tanpa melisis sel darah merah sehingga memicu reaksi fagositosis → hemolisis ekstravaskular.
2. komplemen teraktifkan sampai dengan C9, sehingga sel darah merah lisis → hemolisis intravaskular.



A.2. Imunitas didapat

Imunitas didapat, merupakan kekebalan tubuh yang didapat dari paparan terhadap Ag sebelumnya. Respon imunitas didapat, menghasilkan sel memori yang berfungsi untuk mengenal jenis Ag yang sama pada paparan Ag berikutnya. Mekanisme imun didapat, bekerja dengan cara : interaksi antara Ag *presenting cells*, limfosit T dan limfosit B serta pembentukan Ab.

Imunitas didapat, bereaksi lebih spesifik dibandingkan imunitas alami. Respon imunitas didapat, dimulai dengan aktivitas makrofag atau *antigen presenting cells* (APC) yang dapat mengenali Ag dan memproses sedemikian rupa sehingga dapat mengaktifkan sel-sel sistem imun lainnya. Sel-sel sistem imun yang teraktifkan adalah :

A.2.1. Limfosit T

Limfosit T akan mengenali Ag yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sel T yang teraktifkan tersebut akan bereaksi terhadap Ag yang dipresentasikan dan menghasilkan substansi terlarut yang diberi nama limfokin, yang dapat membantu makrofag menghancurkan Ag. Jenis limfosit T yang bereaksi terhadap Ag yang dipresentasikan oleh MHC adalah sel T-helper / sel T penolong ataupun sel T-sitotoksik.

Sel T-helper akan mengenali Ag melalui MHC (*major histocompatibility complex*) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sel T-sitotoksik berfungsi menghancurkan mikroorganisme secara langsung yang disajikan melalui MHC kelas I.

APC merupakan jenis sel makrofag yang mempresentasikan Ag, sedangkan MHC merupakan bagian dari permukaan sel makrofag, tempat presentasi Ag. MHC dapat disebut juga sebagai HLA.



A.2.2. Limfosit B

Peran limfosit B pada respon imun didapat, terjadi ketika Ag pada makrofag, mengaktifkan sel T-helper. Aktivasi sel T-helper akan menstimulasi limfosit B menjadi sel plasma dan mengekskresikan Ab. Supaya limfosit B berdiferensiasi dan membentuk Ab, diperlukan bantuan limfosit T-helper yang teraktivasi karena sinyal tertentu, baik melalui MHC maupun sinyal yang dilepaskan makrofag. Selain oleh sel T-helper, produksi Ab juga diatur oleh sel T-supresor/sel T-penekan, sehingga produksi Ab seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan.

Jika interaksi tersebut merupakan kontak pertama yang merupakan respon imun primer, maka akan terbentuk klon limfosit atau kelompok sel memori yang dapat mengenali

Ag bersangkutan. Apabila Ag yang sama di kemudian hari masuk ke dalam tubuh, maka klon limfosit tersebut akan berproliferasi dan menimbulkan respon imun sekunder spesifik yang berlangsung lebih cepat dan intensif dibandingkan respon imun primer.

Koordinasi antara sel T dan sel B berjalan sinergis. Sel T teraktifkan karena adanya Ag yang dipresentasikan MHC, dan sel B terstimulus untuk berdiferensiasi dan menghasilkan Ab.



B. RESPON IMUN

B.1. Respon imun primer

Respon imun primer merupakan respon imun yang pertama kali didapat pada suatu individu. Respon imun tersebut akan menghasilkan Ab yang dapat dideteksi pada plasma antara 5 dan 180 hari sesudah paparan dengan Ag. Ab yang terbentuk akan meningkat dan stabil pada satu waktu yang kemudian berangsur-angsur menurun. Jenis Ab yang dihasilkan biasanya adalah IgM.

B.2. Respon imun sekunder

Pada saat Ag masuk ke dalam tubuh untuk yang kedua kali, maka respon imun yang terjadi lebih cepat. Hal ini disebabkan karena adanya sel B memori, sehingga Ab yang dihasilkan lebih banyak dan reaksi lebih efisien dan efektif. Jenis Ab pada respon imun sekunder, umumnya adalah Ab IgG.

Secara umum, jenis Ab yang dihasilkan pada respon imun primer adalah IgM, namun tidak semua respon imun primer menghasilkan Ab jenis IgM. Sebagai contoh, pembentukan anti Rh pertama kali dapat berupa Ab IgG dan IgM, begitu juga pada sistem golongan darah P, anti P yang terbentuk tetap sebagai IgM, walaupun terjadi pada paparan kedua.

C. REAKSI ALLOIMUNISASI TERHADAP ANTIGEN SEL DARAH

Reaksi alloimunisasi merupakan reaksi imun terhadap paparan Ag asing, dalam hal ini adalah Ag sel darah merah asing (berasal dari individu lain) yang masuk berbeda dengan Ag sel darah merah yang dipunya oleh tubuh. Allo Ab merupakan Ab yang terbentuk dari reaksi alloimunisasi. Ab ini terbentuk melalui sistem imun didapat, yaitu melibatkan sel B sehingga menghasilkan Ab yang spesifik. Berikut adalah mekanisme reaksinya.

C.1 Reaksi T-independen

Pembentukan allo Ab terhadap sel darah merah dimulai dari pengenalan sistem imun tubuh terhadap partikel Ag. Produksi Ab IgM tertentu, seperti anti A, anti B dan anti M merupakan hasil dari reaksi T-independen. Reaksi ini tidak melibatkan sel T, melainkan langsung merangsang limfosit B untuk memproduksi Ab.

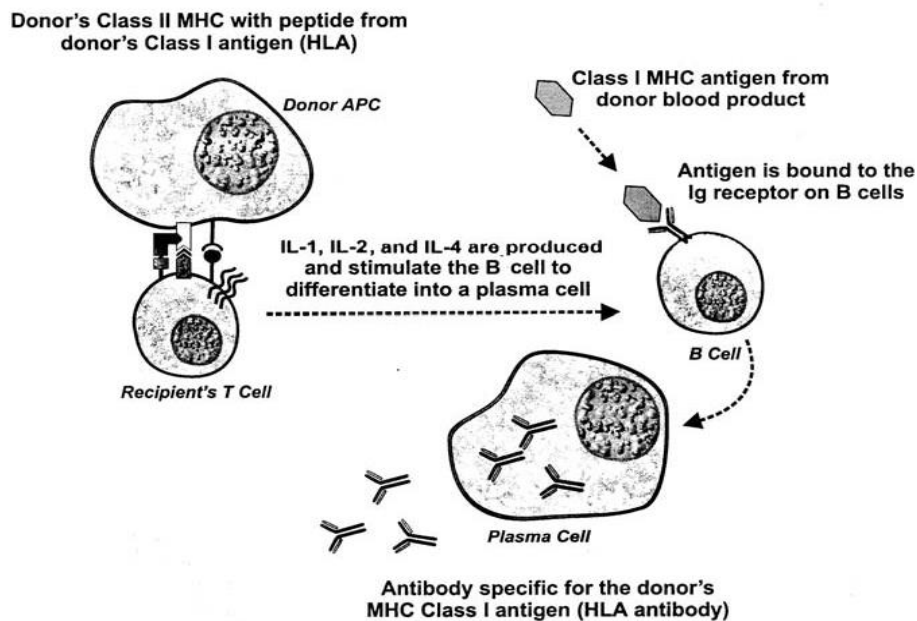
Ag akan langsung bereaksi dengan reseptor sel B (sIg), hal ini dikarenakan adanya reaksi silang pada reseptor sel B sehingga dapat mengenali struktur karbohidrat Ag sel darah merah sebagai substansi asing. Sel B yang teraktifkan berdiferensiasi menjadi sel yang menghasilkan Ab IgM. Respon imun tidak menghasilkan sel B memori, dan tidak ada perubahan kelas Ab IgM menjadi IgG.

C.2 Reaksi T-dependen

Reaksi inkompatibilitas/ketidakcocokan berikutnya adalah pada sel lekosit, yaitu reaksi yang disebabkan karena ketidakcocokan jenis HLA (Human Leucocyte Antigen). Mekanisme reaksi imun T-dependen untuk reaksi aloimunisasi terjadi melalui presentasi Ag oleh APC kepada sel T melalui sel T reseptor (TCR). Presentasi Ag terjadi melalui dua jalur yaitu langsung dan tidak langsung.

Pada jalur langsung, sebagai contoh seperti yang tertera pada Gambar 1.23, pada saat lekosit ditransfusikan ke darah pasien, maka Ag donor yaitu MHC kelas II pada sel makrofag donor / APC secara langsung dikenali oleh sel T helper pasien. Kemudian, sel T mengaktifkan sel B pasien yang juga terikat oleh fragmen Ag MHC kelas I donor, sehingga sel B berproliferasi dan menghasilkan Ab terhadap Ag HLA tersebut. Reaksi ini dikatakan langsung karena APC berasal dari sel donor. Mekanisme ini terjadi hanya pada sel darah yang mempunyai HLA (komponen darah lekosit dan trombosit).

Pada jalur tidak langsung, sistem imun yang bekerja terhadap Ag donor, yaitu APC, sel T dan sel B semua berasal dari pasien. Untuk mencegah reaksi aloimunisasi karena adanya HLA, maka komponen darah untuk transfusi dipilih yang miskin lekosit melalui proses penyaringan.



Gambar 1.23. Ilustrasi mekanisme aloimunisasi HLA karena adanya lekosit pada komponen darah yang ditransfusikan
Sumber.AABB technical manual

C.3. Lisis sel darah merah yang diperantarai oleh Ab

Lisis sel darah merah karena reaksi aloimunisasi disebabkan karena aktivasi komplemen dan atau adanya IgG pada permukaan sel darah merah . Jika lisis sel darah merah terjadi karena aktivasi komplemen sehingga membentuk MAC disebut dengan lisis intravaskular, sedangkan jika lisis sel darah merah karena aglutinasi dengan Ab yang mengaktifkan makrofag untuk fagositosis disebut dengan lisis ekstrasvaskular.

Komplemen yang menempel pada sel darah merah (C3b) dapat terhenti reaksinya sehingga tidak menghasilkan MAC, melainkan hanya tersensitisasi pada sel darah merah. Sel darah merah yang telah tersensitisasi komplemen, tidak efektif untuk memicu reaksi fagositosis, melainkan enzim dapat memecah sel yang tersensitisasi komplemen menjadi fragmen kecil (C3dg) yang terdapat pada permukaan membran sel. Komplemen jenis ini dapat bersirkulasi normal di darah dan tidak akan dikenali oleh sistem imun, karena sel fagosit tidak mempunyai reseptor untuk jenis komplemen ini.

Untuk mencegah reaksi alloimunisasi yang melibatkan sistem imun pada proses transfusi darah, maka darah donor dan pasien harus mempunyai golongan darah yang sama. Selain itu, minimalisir paparan terhadap Ag lekosit maupun trombosit dari individu lain. dengan menggunakan komponen sel darah merah yang miskin lekosit.



D. REAKSI AUTOIMUN

Autoimun merupakan suatu kelainan sistem imun tubuh yang tidak dapat membedakan sel atau jaringan tubuh sendiri (*self*) dengan sel atau jaringan tubuh asing (*non self*). Akibatnya timbul respon imun, seperti kerusakan jaringan tubuh oleh limfosit T atau makrofag, maupun pembentukan Ab yang ditujukan terhadap sel atau jaringan tubuh sendiri, yang disebut dengan autoantibodi (auto Ab). Jika reaksi ini menimbulkan gejala klinis yang mengganggu kesehatan tubuh, maka disebut dengan penyakit autoimun.

Jenis penyakit autoimun, diantaranya adalah :

1. Sistemik lupus erythematosus (SLE), adanya reaksi inflamasi sehingga menghasilkan kerusakan jaringan tubuh. Kondisi ini tidak spesifik pada suatu bagian tubuh tertentu, melainkan tersebar di seluruh tubuh.
2. Purpura trombositopenia autoimun, yaitu reaksi auto Ab terhadap trombosit sendiri, sehingga menyebabkan penurunan jumlah trombosit (trombositopenia).
3. Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) merupakan reaksi adanya Ab terhadap sel darah merah sendiri, sehingga terjadi lisis sel darah merah dan menyebabkan anemia. Reaksi AIHA dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu : AIHA tipe warm yaitu autoantibodi yang dapat menghancurkan sel darah merah sendiri pada suhu $\geq 37^{\circ}\text{C}$ dan AIHA tipe cold yaitu autoantibodi yang dapat menghancurkan sel darah merah sendiri di bawah suhu normal tubuh yaitu $< 37^{\circ}\text{C}$.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Sebutkan perbedaan antara imunitas alami dan imunitas didapat.
- 2) Sebutkan perbedaan antara respon imun primer dan sekunder, serta berikan contohnya.
- 3) Jelaskan dengan singkat reaksi Ag dan Ab yang dapat mengaktifkan komplemen.
- 4) Jelaskan reaksi aloimunitisasi karena ketidakcocokan HLA.
- 5) Jelaskan reaksi imun dan komponen sel imun apa saja yang terlibat jika seorang pasien transfusi, dengan golongan darah B menerima komponen sel darah merah donor dengan golongan darah A.

Ringkasan

1. Komponen utama sistem imun adalah sumsum tulang, kelenjar thymus dan organ hati.
2. Kelenjar Limfe, limpa dan jaringan limfoid lainnya merupakan komponen sekunder.
3. Organ hati, limpa dan kelenjar limfe merupakan sistem reticuloendothelial system (RES).
4. Fungsi sel leukosit pada respon imun adalah sebagai sel fagosit dan menghasilkan Ab.
5. Terdapat dua mekanisme imun untuk pertahanan tubuh, yaitu : secara alamiah dan didapat.
6. Respon imunitas alamiah tidak bervariasi seperti imunitas didapat, yang mempunyai respon lebih kuat terhadap paparan Ag yang sama di waktu yang berbeda.
7. Pada saat sel fagosit diaktifkan, maka akan dilepaskan sitokin yang mengatur kekuatan respon imun.
8. Komplemen merupakan jenis dari protein terlarut yang berada di dalam plasma, yang diaktifkan dengan reaksi Ag dan Ab. Pada saat komplemen teraktifkan, maka akan timbul reaksi berantai.
9. Reaksi pengaktifan awal komplemen, di plasma, yang kemudian menempel di sel target yang dapat dikenali oleh sel fagosit untuk dihancurkan atau reaksi komplemen akan berlanjut menghasilkan lisis sel.
10. Sel limfosit terdiri atas limfosit T dan limfosit B. Sel limfosit T berfungsi pada respon imun selular sedangkan limfosit B berfungsi untuk produksi Ab.
11. Respon imun primer adalah paparan terhadap Ag pertama kali, jenis Ab yang terbentuk biasanya adalah IgM.
12. Respon imun sekunder adalah paparan terhadap Ag yang sama, berikutnya (respon sekunder), jenis Ab yang terbentuk biasanya IgG.
13. Reaksi aloimunisasi terhadap Ag sel darah, dapat terjadi karena adanya ketidakcocokan Ag sel darah antar dua individu pada proses transfusi darah maupun kehamilan.
14. Alloantibodi terhadap Ag sel darah merah terbentuk melalui reaksi T-independent, dengan hasil reaksi hemolisis intravaskular maupun ekstrasvaskular.
15. Alloantibodi terhadap HLA, terbentuk melalui reaksi T-dependent, dengan jalur langsung mengaktifkan sel T-helper ataupun jalur tidak langsung.
16. Pada kondisi tertentu, sistem imun tubuh dapat tidak mengenali sel dan jaringannya sendiri, kondisi inilah yang disebut dengan autoimun.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Pengaktifan komplemen sehingga menghasilkan MAC yang ditandai dengan lisisnya sel darah merah merupakan jenis reaksi imun.....
 - A. Alamiah
 - B. Didapat
 - C. Inflamasi
 - D. Sekunder
 - E. T-dependen
- 2) Berikut ini merupakan pernyataan respon imun didapat
 - A. Diawali dengan fagositosis
 - B. Menghasilkan sel B memori
 - C. Dapat terjadi reaksi inflamasi
 - D. Sudah terbentuk semenjak lahir
 - E. Mengakibatkan lisis sel darah merah
- 3) Fungsi sel B adalah
 - A. Fagositosis Ag
 - B. Presentasi Ag
 - C. Mengaktifkan sel T
 - D. Menghasilkan antibodi
 - E. Perantara komplemen
- 4) Jika seseorang terpapar Ag yang berasal dari sel lekosit, kemudian langsung mendapat respon dari sel T pasien, maka reaksi tersebut termasuk kategori
 - A. Primer
 - B. Sekunder
 - C. Alamiah
 - D. T-dependen
 - E. T-independen
- 5) Reaksi Ag dan Ab yang melibatkan komplemen dapat ditandai dengan terjadinya
 - A. Aglutinasi
 - B. Sensitisasi
 - C. Netralisasi
 - D. Hemolisis
 - E. Presipitasi

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 2 dengan kunci jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab 1 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkatpenguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 1, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1	Test Formatif 2
1) B.	1) A.
2) B.	2) B.
3) C.	3) D.
4) C.	4) D.
5) B.	5) D.

Glosarium

- Alloantibodi : Antibodi yang dihasilkan karena adanya paparan Ag dari individu lain.
- Antibodi : Protein yang diproduksi karena adanya paparan antigen terhadap limfosit.
- Antigen : Suatu substansi yang mampu bereaksi dengan antibodi, yang diproduksi atas rangsangan imunogen.
- Fagositosis : Aktivitas sel fagosit untuk menelan atau memasukkan sel-sel asing.
- Imunogen : Molekul atau gabungan molekul yang dapat merangsang timbulnya respon imun.
- Imunitas : Kekebalan tubuh terhadap pengaruh biologis/mikroorganisme dari lingkungan.
- *Membrane attachment complex* : kumpulan komplemen yang teraktifkan yang berada di membran sel target.

Daftar Pustaka

- AABB. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB, 2005.
- B Armstrong, J Hardwick, L Raman, E Smart et al. ISBT Science Series. Wiley-Blackwell. 2008.
- Conti FM, et al. Diagnosis and management of post transfusion purpura-case report. Blood.2013; 122: 4834.
- Daniels G, Bromilow I. Essential guide to blood groups. Blackwell Publishing. 2007.
- Dean L. Blood group and red cell antigen. NCBI.
- Hillyer, Silberstein, Ness, Anderson, Roback. Blood banking & transfusion medicine basic, principles & practice. 2nd^{ed}. USA: Churchill livingstone elsevier; 2007.
- Kresno SB. Immunologi : Diagnosis dan prosedur laboratorium. Jakarta: FKUI. 1996.
- McPherson, Pincus. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. W. B. Saunders Company, 2006.
- Mota MA. Red cell and human leucocyte antigen alloimmunization in candidates for renal transplantation: a reality. Rev Bras Hematol Hemoter.2013;35(3):153-62.
- Schenowille H. Red blood cell alloimmunization after blood transfusion. Leiden university press.2008.
- <https://basicmedicalkey.com/blood-transfusion/>
- http://faculty.madisoncollege.edu/mljensen/BloodBank/lectures/blood_bank_antigens_and_antibodi.htm
- <http://www.medical-labs.net/blood-group-typing-slide-method-1878/>
- http://www.wikiwand.com/es/Ant%C3%ADgenos_leucocitarios_humanos
- <https://www.slideshare.net/MMASSY/antigen-ab-reactions>

<https://www.slideshare.net/doctorrao/humoral-immunity>

<https://www.studyblue.com/notes/n/mlt-104-practical-anemia/deck/11619767>

https://www.labce.com/spg813211_zeta_potential_and_van_der_waals_forces.aspx

<http://faculty.madisoncollege.edu/mljensen/BloodBank/lectures/complement.htm>

https://www.researchgate.net/figure/The-complement-cascade-simplified-Only-components-relevant-for-this-paper-are-shown_273952816

<http://slideplayer.com/slide/4678550/>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268960X15000314>

<http://transfusion.com.au>

<http://www.msmanuals.com/professional/hematology-and-oncology/anemias-caused-by-hemolysis/autoimmune-hemolytic-anemia#v969916>

<https://www.wikihow.com/Boost-Your-Immunity-to-the-Common-Cold>

<https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/polyclonal-and-monoclonal-antibody-production/>

<http://www.drgaryslupustreatment.org/?hop=dewia25>

<https://www.slideshare.net/septianraha/fungsi-hemoglobin11111-41893425>

Bab 2

SISTEM GOLONGAN DARAH ABO, Rh & GOLONGAN DARAH LAINNYA

Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed.

Pendahuluan

Pernahkah Anda mengisi formulir yang menanyakan jenis golongan darah? Golongan darah merupakan identitas tiap individu. Pada kartu identitas seperti KTP, golongan darah menjadi identitas penyerta selain data pribadi lainnya. Sesungguhnya apa yang dimaksud dengan golongan darah? Apa fungsi golongan darah, dan apa hubungannya dengan donor dan transfusi darah? Kita akan membahasnya pada bab ini.

Jenis golongan darah yang utama adalah golongan darah ABO & Rh. Sebelum ditemukan jenis golongan darah ini, dokter dan ilmuwan mencari cara untuk dapat menyelamatkan pasien transfusi darah. Sampai pada tahun 1901, ilmuwan asal Austria, Karl Landstainer menemukan golongan darah ABO, yang membuat teknik transfusi darah menjadi lebih aman. Tidak hanya itu saja, ternyata ada jenis antigen darah lainnya yang dapat merangsang respon imun pada proses transfusi atau jika seseorang terekspos oleh sel darah dari individu lain seperti pada proses kehamilan. Jenis golongan darah tersebut, yaitu golongan darah Rh, Duffy, Kidd, Lutheran, Lewis, dan sebagainya. Saat ini, *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) telah mengklasifikasikan 33 sistem golongan darah.

Pengetahuan mengenai jenis golongan darah bermanfaat untuk memahami prinsip pemeriksaan pre-transfusi dan reaksi karena transfusi. Untuk itu, anda harus memahami terlebih dahulu fenotip dan genotip golongan darah serta makna klinis tiap golongan darah.

Setelah mempelajari bab ini, anda diharapkan dapat :

1. Mendeskripsikan jenis golongan darah ABO, Rh dan golongan darah lainnya.
2. Menjelaskan genotip, fenotip dan pola pewarisan golongan darah ABO, Rh dan golongan darah lainnya.
3. Menjelaskan jenis Ab dan reaksi klinis yang dihasilkan.

Pada bab ini, anda akan mempelajari tentang golongan darah ABO dan Rh serta golongan darah lainnya dengan susunan topik sebagai berikut :

Topik 1 membahas tentang golongan darah ABO.

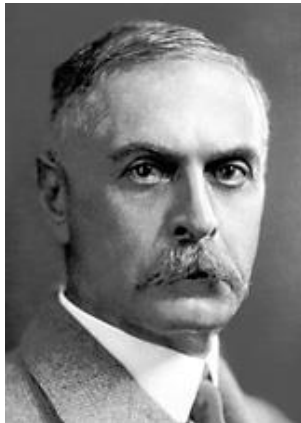
Topik 2 membahas tentang golongan darah Rh

Topik 3 membahas tentang golongan darah lainnya (Kell, Duffy, Kidd, MNS, P, Lewis, Lutheran, dsbnya.)

Topik 1

Golongan darah ABO

A. PENDAHULUAN



Gambar 2.1 Karl Landstainer
(sumber: <https://www.nobelprize.org>)

Sebelum tahun 1901, diperkirakan semua golongan darah adalah sama. Kondisi tersebut mendorong terjadinya reaksi transfusi yang fatal sampai menyebabkan kematian. Sampai pada tahun 1901, ditemukannya sistem golongan darah ABO oleh Karl Landstainer, seorang ilmuwan berkebangsaan Austria yang menyatakan bahwa setiap individu mempunyai karakteristik golongan darah yang dibedakan menjadi golongan darah grup A,B, dan O. Selanjutnya, pada tahun 1902, Alfred Decastello dan Adriana Sturli menemukan golongan darah AB, yang melengkapi sistem golongan darah ABO. Penemuan tersebut menunjukkan bahwa transfusi darah tidak boleh dilakukan pada dua orang dengan golongan darah berbeda.

Istilah sistem golongan darah mengacu pada jenis antigen (Ag) yang terdapat pada sel darah merah yang spesifisitasnya ditentukan dari gen yang berada pada kromosom. Sedangkan Istilah jenis golongan darah mengacu pada spesifisitas hasil reaksi sel darah merah terhadap jenis antisera tertentu.

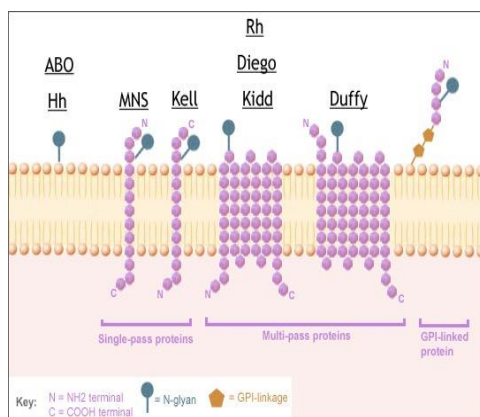
B. ANTIGEN ABH PADA SISTEM GOLONGAN DARAH ABO

Sistem golongan darah ABO ditentukan oleh ada atau tidak adanya Ag A dan atau Ag B yang terekspresikan pada sel darah merah serta ada tidaknya antibodi (Ab) A dan atau B yang terdapat di dalam serum/plasma. Sistem golongan darah ABO terdiri atas 4 golongan darah

yaitu golongan darah A, B, AB dan O. Individu dengan golongan darah A, pada sel darah merahnya terdapat Ag A dan di plasmanya terdapat Ab B. Golongan darah B terdapat Ag B dan Ab A. Golongan darah AB, terdapat Ag AB dan tidak terdapat Ab A maupun B. Golongan darah O tidak mempunyai Ag A dan B, melainkan mempunyai Ab A dan B. Secara lengkap, penjabaran jenis golongan darah pada sistem ABO, dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 1. Sistem golongan darah ABO

No	Jenis golongan darah	Jenis Ag	Jenis Ab	Genotip
1	A	A	Anti-B	AA / AO
2	B	B	Anti-A	BB / BO
No	Jenis golongan darah	Jenis Ag	Jenis Ab	Genotip
3	AB	A dan B	Tidak ada	AB
4	O	Tidak ada	Anti-A dan anti-B	OO

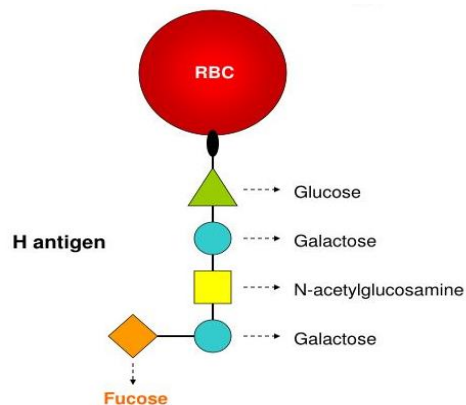


Gambar 2.2. Ag membran sel darah merah
Sumber : blood group & red cell Ag

Antigen (Ag) pada sistem golongan darah ABO merupakan jenis Ag oligosakarida. Jenis Ag ini tidak hanya berada pada sel darah merah saja melainkan juga terdapat pada sel dan jaringan lain , seperti pada sel epitel paru serta cairan tubuh dalam bentuk Ag terlarut.

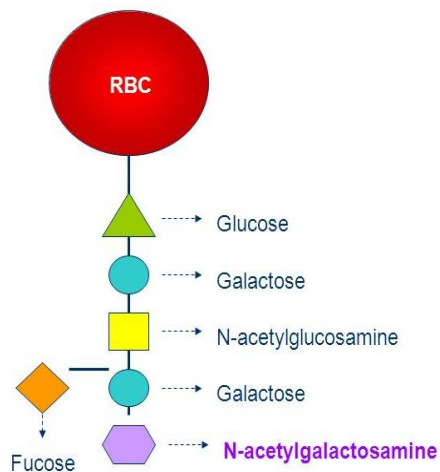
Ag pada sistem ABO merupakan produk dari ekspresi gen H, gen ABO dan gen Se. Ketiga gen tersebut menentukan jenis , sifat dan letak Ag sistem ABO yang terekspresikan.

Gen H berada di lokus H (FUT 1) pada kromosom 19. Gen tersebut mengkode fukosil transferase yang memproduksi Ag H pada sel darah merah. Ag H (Gambar 2.3) merupakan prekursor / cikal bakal terbentuknya golongan darah ABO. Individu dengan antigen H mempunyai genotip HH dan Hh. Individu dengan genotip hh tidak mengkode fukosil transferase sehingga tidak memproduksi Ag H dan tidak bisa mengekspresikan Ag A dan B. Individu tersebut akan teridentifikasi sebagai golongan darah 'O' Bombay (akan dijelaskan berikutnya). Banyaknya Ag H pada sel darah merah yang diubah menjadi Ag A dan Ag B , tergantung pada enzim glikosil transferase yang disintesis dari gen ABO.



Gambar 2.3 Ag H

Sumber : <https://www.slideshare.net>

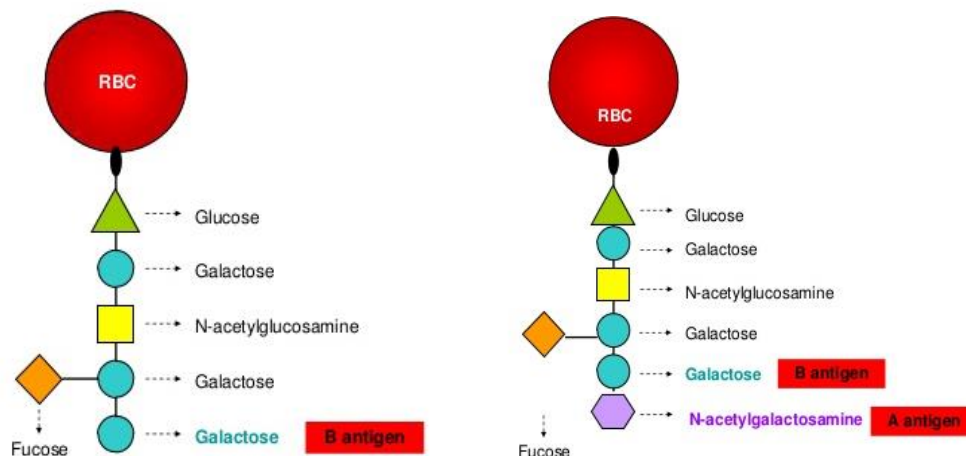


Gambar 2.4. Ag A

Sumber : <https://www.slideshare.net>

Gen ABO berada pada lokus di kromosom 9. Pada lokus tersebut terdapat alel A, B dan O. Alel A mengkode enzim N-acetyl-galactosaminyltrans-ferase yang menambahkan gugus gula N-acetyl-D-galactosamine (GalNac) pada Ag H sehingga terbentuk Ag A (Gambar 2.4). Alel B mengkode galactosyl transferase yang menambahkan gugus gula D-galactose (Gal) pada Ag

H sehingga terbentuk Ag B (Gambar 2.5-kiri). Pada individu dengan golongan darah AB, maka enzim transferase yang diekspresikan menambah dua gugus gula yaitu GalNac dan Galaktosa (Gambar 2.5-kanan). Alel O tidak mengkode enzim fungsional tersebut, sehingga Ag H (Gambar 2.3) tidak berubah bentuk seperti pada individu golongan darah A, B dan AB. Golongan darah O pada individu dengan genotip HH dan Hh mempunyai Ag H dalam jumlah banyak dibandingkan pada individu golongan darah A, B dan AB.



Gambar 2.5: Ag B (kiri) dan Ag AB (kanan)

Sumber : <https://www.slideshare.net>

Individu dengan genotip hh tidak memproduksi antigen H, sehingga tidak dapat memproduksi antigen A ataupun B. Individu dengan genotip hh disebut dengan golongan darah 'O Bombay'. Jenis golongan darah ini mempunyai sifat seperti golongan darah O, karena mempunyai anti A dan B, akan tetapi golongan darah ini juga mempunyai anti H, yang tidak dipunya oleh individu dengan golongan darah O biasa. Individu dengan golongan darah O Bombay tidak menunjukkan gejala penyakit, namun ketika harus transfusi darah, maka individu tersebut harus mendapatkan darah dari golongan O Bombay juga. Jika individu tersebut mendapat darah dari golongan darah O biasa, maka akan terjadi reaksi transfusi hemolitik akut. Golongan darah O Bombay, seringkali dianggap sebagai golongan darah O biasa. Golongan darah O Bombay dapat diketahui dengan cara mereaksikan serum/plasma dengan tes sel O.

Sistem golongan darah ABO terdiri atas Ag yang utama terdapat di membran sel darah merah dan Ab yang secara alamiah terbentuk semenjak lahir. Hal tersebut yang membedakan jenis golongan darah ABO dengan golongan darah lainnya. Individu dengan golongan darah A, B, O dan AB harus mempunyai Ag H walaupun dalam jumlah bervariasi. Ag H paling banyak terdapat pada golongan darah O. Jika tidak mempunyai Ag H, maka individu tersebut adalah golongan darah O Bombay.



C. ABH SEKRETOR

Telah diuraikan sebelumnya, bahwa Ag pada sistem golongan darah ABO tidak hanya terdapat pada sel darah merah, melainkan juga bisa terdapat pada cairan tubuh dalam bentuk Ag terlarut. Gen yang mengkode jenis Ag ini adalah gen Se yang berada pada locus Se (FUT2) di kromosom 19. Gen Se mengkode fukosil transferase yang berperan pada produksi Ag H di cairan tubuh, seperti pada saliva / air liur. Ekspresi Ag A dan B tergantung pada genotip A dan B. Individu dengan genotip Se/Se atau Se/se, disebut dengan sekretor, sedangkan individu dengan genotip se/se disebut dengan non sekretor dan tidak membentuk Ag A, B terlarut.

*Individu golongan darah A sekretor, yang juga terdapat Ag A pada cairan tubuhnya, harus mempunyai gen ABO, gen H dan **gen Se**. Hal yang sama berlaku pada individu golongan darah B, AB dan O sekretor. Ekspresi Ag H di cairan tubuh, tergantung pada status sekretor suatu individu.*



D. SUB GRUP ABO

Pada pemeriksaan golongan darah ABO, terkadang dapat ditemui hasil aglutinasi lemah antara sel darah merah yang direaksikan dengan reagen antisera (forward grouping) atau plasma yang direaksikan dengan reagen tes sel (reverse grouping). Hal ini dapat disebabkan karena Ag A dan B pada membran sel darah merah mempunyai jumlah sedikit. Berdasarkan reaksi serologi yang dihasilkan pada pemeriksaan golongan darah ABO, terdapat sub grup A dan sub grup B. Pada umumnya, sub grup diketahui dari adanya ketidaksesuaian hasil pemeriksaan golongan darah antara forward grouping dan reverse grouping.

Pada sub grup A, urutan jumlah Ag A yang terbanyak adalah : $A_1 > A_2 > A_3 > A_x > A_{end} > A_m > A_{el}$. Pada sub grup A_3 , A_x , A_{end} dapat beraglutinasi dengan anti A, sedangkan sub grup A_m , A_{el} tidak dapat aglutinasi dengan anti A.

Populasi golongan darah dengan subgrup A_1 dan A_2 , keduanya mempunyai Ag A, hanya saja individu dengan golongan darah A_1 , mempunyai jenis Ag A_1 yang tidak dipunya oleh individu dengan A_2 . Individu dengan golongan darah A_1 lebih banyak dibandingkan golongan darah A_2 . Golongan darah A_2 dan A_2B dapat menghasilkan anti A_1 yang dapat bereaksi dengan sel eritrosit A_1 dan A_1B .

Seperti sub grup A, sub grup B juga mempunyai jumlah Ag yang lebih sedikit, sehingga sulit dideteksi. Pada sub grup B, urutan jumlah Ag B yang terbanyak adalah : $B > B_3 > B_x > B_m > B_{el}$.

Golongan darah AB diklasifikasikan menjadi 9 sub tipe berdasarkan jumlah Ag A atau B. Sub tipenya adalah : A_xB , A_1B_x , A_mB , A_1B_m , $A_{el}B$, A_1B_{el} , $cisA_2B_3$, $cisA_2B$, $cisA_1B_3$.

Identifikasi sub grup AB menjadi penting, karena kadangkala dapat ditemui individu yang salah interpretasi golongan darah O, sehingga dapat berakibat fatal jika individu tersebut ditransfusi dengan darah golongan O. Selain itu, pada golongan darah sub grup A_2 dan A_2B dapat terbentuk anti A_1 , sehingga dapat mengakibatkan ketidaksesuaian hasil pemeriksaan golongan darah antara forward grouping dan reverse grouping. Jenis sub grup lainnya, yang dapat mempunyai antibodi A_1 pada serumnya adalah : A_x , A_3 , A_{end} , A_{el} .

Indikasi golongan darah sub grup penting untuk kebutuhan transfusi. Sebagai contoh, Pada individu dengan sub grup A_2 atau A_2B , maka dia akan membentuk anti- A_1 yang akan beraglutinasi dengan sel A_1 , sehingga tidak bisa dilakukan transfusi dengan sembarang golongan darah A.



E. ANTI A, B dan H

Anti A dan B merupakan jenis antibodi yang terbentuk secara alamiah dan dapat dideteksi di dalam serum setelah bayi berusia sekitar 3-6 bulan. Sistem imun tubuh akan membentuk antibodi terhadap antigen yang berlawanan atau yang tidak dipunyai oleh tubuh dan timbul karena adanya paparan terhadap lingkungan (Ab alamiah). Sebagai contoh : golongan darah A akan membentuk antibodi B, dan seterusnya (Tabel 2.1). Jenis Ab A dan B umumnya adalah Immunoglobulin M (IgM). IgM mempunyai sifat dapat mengaktifkan komplemen dan bereaksi optimum pada suhu $20 - 24^{\circ}C$. Ab jenis ini dapat menyebabkan reaksi transfusi yang berbahaya, jika terjadi inkompatibilitas / ketidakcocokan golongan darah ABO.

Anti A dan B juga mempunyai jenis IgG, yang dapat menyebabkan reaksi inkompatibilitas pada ibu golongan darah O yang mengandung anak dengan golongan darah selain O. Reaksi ini menyebabkan lisis sel darah merah (hemolitik) pada bayi baru lahir, namun tidak terlalu berbahaya seperti inkompatibilitas golongan darah Rh.

Anti H, bersama dengan anti A dan anti B dapat ditemukan pada individu dengan genotip hh (golongan darah O Bombay). Anti H dapat beraglutinasi dengan Ag H yang banyak terdapat pada golongan darah O. Hal ini dapat menyebabkan reaksi inkompatibilitas pada individu golongan darah O Bombay yang ditransfusi dengan donor golongan darah O.

Ab pada sistem golongan darah ABO, umumnya adalah jenis IgM (cold antibody), yang sangat cepat beraglutinasi jika Ag dan Ab yang jenisnya sama direaksikan, seperti Ag A dan anti-A. Jika transfusi harus dilakukan, maka donor dan pasien harus mempunyai golongan darah ABO yang sesuai.



Pada transfusi, darah pasien dan donor harus mempunyai jenis golongan darah ABO yang sama. Lengkapi tabel kesesuaian golongan darah donor dan pasien berikut ini (golongan darah pasien O dengan golongan darah donor O dan A dikerjakan sebagai contoh):

Tabel 2. Latihan kesesuaian golongan darah donor dan pasien

Darah Pasien	Donor			
	O	A	B	AB
O	Cocok	Anti A pada plasma pasien dapat beraglutinasi dengan Ag A pada eritrosit donor.		
A				
B				

AB				
----	--	--	--	--

F. POLA PEWARISAN

Seperti diketahui, bahwa golongan darah ABO diturunkan dari orang tua. Jenis golongan darah ditentukan dari gen yang berasal dari kedua orang tua kita. Setiap anak mempunyai kombinasi gen dalam bentuk dua alel, yang berasal dari ayah dan ibu. Terdapat tiga jenis alel golongan darah ABO, yaitu : alel A, B dan O. Kombinasi dari tiga alel tersebut adalah : OO; AO; BO; AB; AA; BB, seperti terlihat pada Tabel 2.

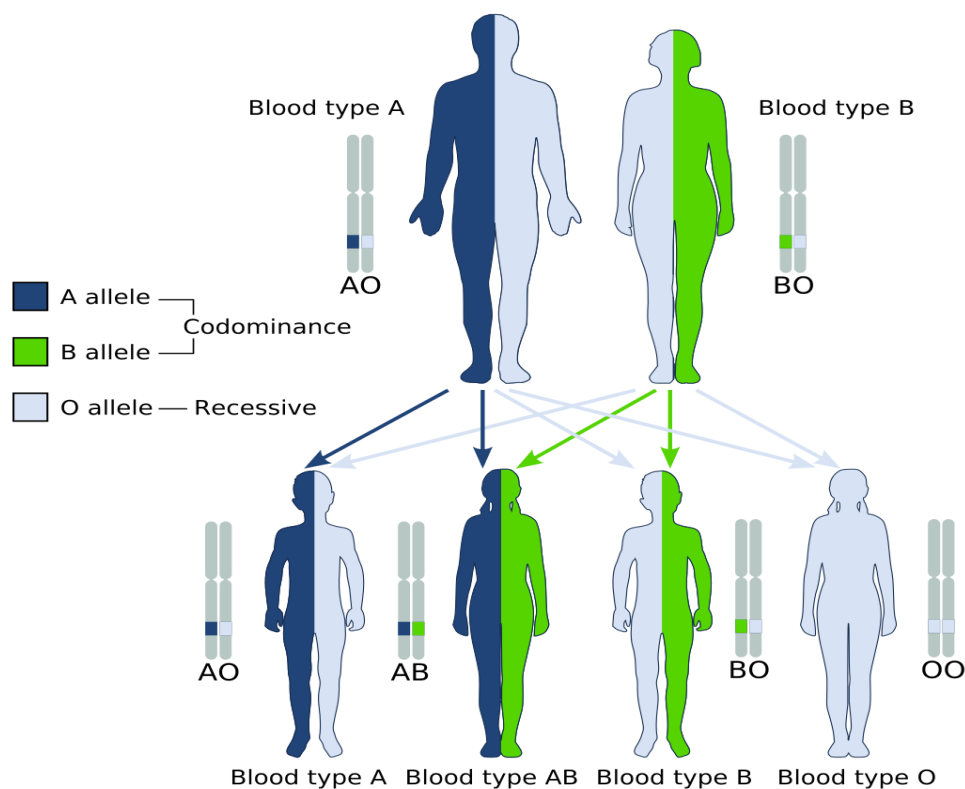
Tabel 3. Genotip ABO

ABO genotype in the offspring		ABO alleles inherited from the mother		
		A	B	O
ABO alleles inherited from the father	A	A	AB	A
	B	AB	B	B
	O	A	B	O

Sumber : Red and blood cell Ag

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa anak golongan darah A, yang mempunyai genotip AA dan AO, mempunyai alel A yang diturunkan dari ayah atau ibu dan alel O yang diturunkan dari ayah atau ibu. Golongan darah B mempunyai genotip BB dan BO, yang mempunyai alel B yang berasal dari ayah / ibu dan alel O yang berasal dari ayah / ibu. Golongan darah AB yang mempunyai genotip AB, mempunyai alel A yang diturunkan dari ayah / ibu dan alel B yang diturunkan dari ayah / ibu. Jenis alel A dan B merupakan tipe kodominan, yaitu alel yang tidak mempengaruhi satu sama lain, sehingga diekspresikan secara bersamaan. Hal tersebut berbeda dengan alel O, jika alel O diekspresikan bersama dengan A atau B (heterozygot), maka alel O tidak terekspresikan, melainkan hanya alel A dan B saja. Alel O akan terekspresikan jika dalam bentuk homozygot, seperti pada golongan darah O, yang mempunyai genotip OO.

Sebagai contoh, jika ayah mempunyai golongan darah A (genotip AO) dan ibu mempunyai golongan darah B (genotip BO), maka kemungkinan golongan darah anaknya adalah : A, B, O dan AB, seperti terlihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Pola pewarisan golongan darah ABO

Sumber : [http:// commons.m.wikimedia.org](http://commons.m.wikimedia.org)

Berdasarkan pola pewarisan golongan darah ABO yang telah dipelajari, lengkapi tabel berikut. Pada tabel tertera golongan darah bapak dan ibu beserta genotipnya. Pada bagian tabel yang kosong, merupakan kemungkinan golongan darah anak. Lengkapi tabel di bagian yang kosong dengan mengacu pada golongan darah dan genotip bapak dan ibunya. Sebagai contoh , dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Tabel 4. Latihan pola pewarisan

Bapak Ibu	A ($I^A I^A / I^A I^O$)	B ($I^B I^B / I^B I^O$)	O ($I^O I^O$)	AB ($I^A I^B$)
A ($I^A I^A / I^A I^O$)		A, B, AB, O		
B ($I^B I^B / I^B I^O$)				
O ($I^O I^O$)				
AB ($I^A I^B$)				

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi topik 1, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan fungsi gen H, ABO dan Se dan hubungan antara ketiga gen tersebut.
2. Apakah yang membedakan golongan darah O Bombay dengan O biasa.
3. Mengapa identifikasi sub grup ABO penting pada transfusi darah
4. Sebutkan sifat anti A dan B yang dapat mengakibatkan reaksi transfusi
5. Jelaskan bagaimana golongan darah ABO diturunkan dari orang tua kepada anaknya.

Untuk membantu anda dalam mengerjakan soal tersebut, silakan pelajari kembali materi tentang :

1. Ag ABH pada sistem golongan darah ABO.
2. Subgrup ABO.
3. Anti ABH.
4. Pola pewarisan golongan darah ABO.

Ringkasan

1. Sistem golongan darah ABO mempunyai Ag dan Ab yang terbentuk secara alamiah di dalam darah dan mempunyai makna klinis sangat penting pada donor dan transfusi darah.
2. Ag pada sistem golongan darah ABO dapat ditemui di cairan tubuh dalam bentuk Ag terlarut. Ekspresi Ag ABH terlarut pada cairan tubuh, tergantung kepada jenis golongan darah ABO individu tersebut.
3. Fucose merupakan jenis gula spesifik pada Ag H yang merupakan prekursor untuk golongan darah ABO.
4. N-Galactosamine merupakan jenis gula spesifik pada Ag A.
5. Galactose merupakan jenis gula spesifik pada Ag B.
6. Umumnya populasi golongan darah A merupakan A₁. Golongan darah A₂ dan A₂B dapat menghasilkan anti A₁ yang dapat bereaksi dengan sel eritrosit A₁ dan A₁B.
7. Pola pewarisan sistem golongan darah ABO mempunyai sifat kodominan untuk alel A dan B serta sifat resesif untuk alel O.
8. Anti A dan B merupakan Ab alamiah yang terbentuk sejak lahir dan umumnya jenis IgM.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Berapakah jenis golongan darah pada sistem ABO
 - A. 5
 - B. 4
 - C. 3
 - D. 2
 - E. 1
- 2) Pada individu dengan golongan darah A, mempunyai antibodi
 - A. A
 - B. B
 - C. O
 - D. AB
 - E. Tidak ada antibodi
- 3) Individu dengan golongan darah A, maka dia harus mempunyai genotip untuk prekursor pada sel darah merahnya adalah

- A. Hh
- B. hh
- C. SeSe
- D. Sese
- E. $I^A I^O$

4) Jika ayah mempunyai golongan darah AB dan ibu mempunyai golongan darah O. maka kemungkinan anak mereka bergolongan darah

- A. A dan O
- B. B dan O
- C. AB dan O
- D. A dan B
- E. A, B dan O

5) Pada individu dengan golongan darah O Bombay

- A. Mempunyai genotip Hh
- B. Mempunyai genotip sese
- C. Mempunyai gugus gula fucose
- D. Tidak mempunyai gugus gula galactose
- E. Tidak mempunyai enzim fucosyl transferase

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 1 dengan kunci jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab 2 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 1, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Topik 2

Golongan darah Rh

A. PENDAHULUAN

Sistem golongan darah Rh merupakan golongan darah utama selain ABO. Jenis golongan darah ini wajib diperiksa pada pemeriksaan pre-transfusi. Golongan darah Rh pertama kali ditemukan karena adanya reaksi transfusi pada seorang ibu yang melahirkan. Anak yang dilahirkan mengalami eritroblastosis fetalis (kelainan sel darah sehingga terjadi lisis eritrosit berlebih). Serum ibu tersebut mengaglutinasi sel darah yang ditransfusikan yang berasal dari suaminya, walaupun keduanya mempunyai golongan darah ABO yang sama. Ternyata, kematian bayi tersebut dan reaksi transfusi yang terjadi pada ibu, berhubungan. Selama kehamilan, ibu tersebut telah terekspos sel darah merah dari janin yang dikandungnya, dan sistem imun ibu membuat Ab terhadap Ag dari sel darah merah bayi yang mempunyai Ag yang sama dengan ayah.

Pada tahun berikutnya, Landsteiner dan Wiener menemukan bahwa serum kelinci yang telah diimunisasi dengan sel darah merah dari kera *Macacus rhesus* dapat mengaglutinasi sel darah merah manusia. Ag dan Ab tersebut diberi nama Rhesus. Akan tetapi, jenis Ag dan Ab tersebut berbeda dengan yang ditemukan pada kasus awal yaitu ibu yang melahirkan bayi eritroblastosis fetalis, walaupun pada awalnya jenis Ag dan Ab tersebut dianggap sama.

Ab yang dihasilkan oleh ibu tersebut berbeda dengan Ab Rhesus. Karena sebutan Rhesus sudah digunakan luas, daripada mengganti nama, maka dipilihlah nama Rh untuk jenis Ab yang terbentuk di dalam darah Ibu tersebut.

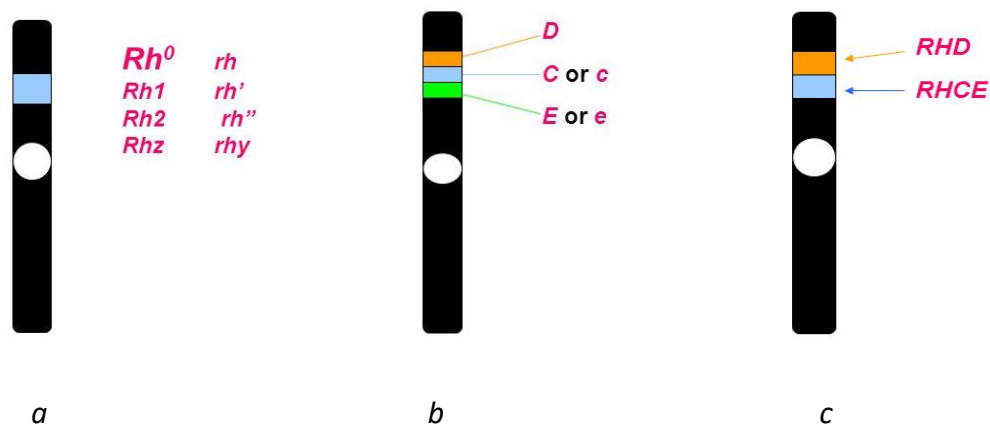
B. POLA PEWARISAN

Terdapat tiga teori yang melatarbelakangi pola pewarisan Ag Rh yaitu teori Wiener, Fisher Race dan Tippett. Gen Rh berada pada kromosom 1 dan diwariskan secara kodominan. Pola pewarisan berdasarkan teori Wiener yaitu satu gen dapat memproduksi lebih dari 1 jenis Ag dengan spesifisitas yang hampir sama, yaitu Rh^0 , $Rh1$, $Rh2$ dan Rhz .

Pola pewarisan berdasarkan teori Fisher-Race, menyatakan bahwa terdapat 3 gen yang berdekatan. Tiap gen masing-masing mengekspresikan satu Ag. Jenis Agnya adalah : D, C atau c, E atau e, dan tidak ada Ag d. Istilah Ag d digunakan untuk menyatakan tidak adanya Ag D.

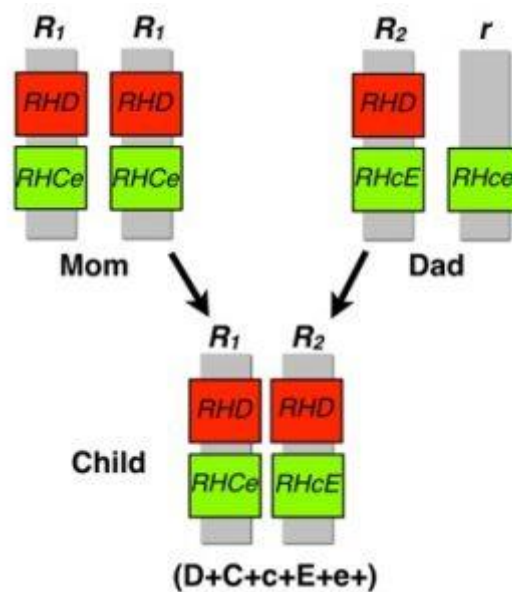
Teori Tippett menyatakan bahwa Ag Rh diturunkan dari 2 gen. Gen RHD memproduksi Ag D dan gen RHCE memproduksi Ag kombinasi C/E. Pendekatan teori Tippett menggunakan teknik biomolekular.

Berikut adalah gambar susunan gen pada kromosom berdasarkan ketiga teori tersebut.



Gambar 2.7. susunan gen pada kromosom berdasarkan teori Wiener (a), Fisher-Race (b) dan Tippett (c) (Sumber <http://slideplayer.com>)

Setiap individu mendapatkan satu *copy* kromosom dari bapak dan ibu. Pada contoh berikut digambarkan bahwa anak tersebut menerima R_1 dari ibu dan R_2 dari ayah. Jenis Ag Rh yang diekspresikan adalah kombinasi gen yang ia terima dari kedua orangtuanya, seperti terlihat pada Gambar 2.8 berikut ini.



Gambar 2.8. pewarisan Ag Rh dari kedua orangtua kepada anaknya (Sumber. <http://www.bbgy.org>)

Seperti dijelaskan sebelumnya, bahwa alel Rh bersifat kodominan. Pada contoh ini (Gambar 2.8), anak yang mempunyai alel RH^{Ce} dan RH^{cE}, maka keempat alel tersebut diekspresikan.

Ilustrasi pola pewarisan Rh juga dapat digambarkan berdasarkan ada tidaknya Ag D. Individu Rh positif mempunyai genotip DD dan Dd. Individu Rh negatif mempunyai genotip dd. Jika Ibu bergolongan darah Rh positif (heterozygot) dan ayah Rh positif (heterozygot), maka salah satu anaknya bergolongan darah Rh positif (homozygot / DD). Berikut adalah gambar pola pewarisan Rh yang lebih sederhana.

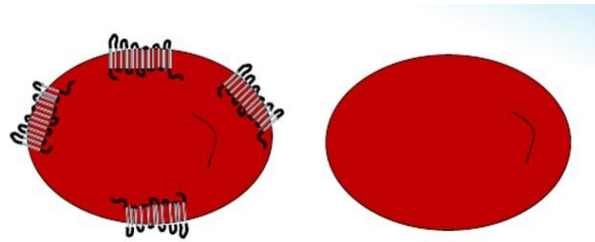
Tabel 5. Pola pewarisan Rh dari orangtua dengan Rh+ (heterozygot)

		Ayah	
		D	d
Ibu	D	DD (Rh+)	Dd (Rh+)
	d	Dd (Rh+)	dd (Rh-)

Berdasarkan Tabel 6, dapat dilihat bahwa ayah dengan golongan darah Rh positif (heterozygot/Dd) dan ibu Rh positif (heterozygot/Dd), maka 75% kemungkinan anak bergolongan darah Rh positif dan 25% kemungkinan golongan darah Rh negatif.

Golongan darah Rh positif berbeda dengan Rhesus. Individu dengan Rh positif adalah individu dengan Ag D. Penulisannya adalah : Rh positif/Rh negatif, D+/D- , RhD Positif/RhD negatif.





Gambar 2.9. Eritrosit dengan Ag D/Rh pos (kiri) dan Rh negatif/tidak ada Ag D (kanan)
Sumber : <http://slideplayer.com/slide/7708542/>

C. ANTIGEN RH

Sistem golongan darah Rh merupakan jenis golongan darah dengan jumlah Ag yang cukup banyak. Lima jenis Ag yang utama adalah Ag D, C, E, c dan e. Ag Rh dibawa oleh protein Rh (Rh-associated glycoprotein/RHAG), sehingga Ag dapat terekspresikan pada permukaan membrane eritrosit. Protein RhD mengekspresikan Ag D, sedangkan protein RhCcEe membawa Ag C/c atau E/e.

Ag Rh merupakan jenis protein integral transmembran yang hanya terdapat di sel darah merah saja. Salah satu jenis Ag Rh, yaitu Ag D bersifat sangat imunogenik (memacu pembentukan Ab). Ag Rh ternyata mempunyai fungsi mempertahankan integritas membran sel darah merah.

Individu dengan Rh positif mempunyai gen RHD dan RHCE, yang diturunkan dari kedua orangtua. Ag yang diekspresikan adalah Ag D dan salah satu kombinasi alel dari RHCE. Individu dengan Rh negatif hanya mempunyai gen RHCE. Pada Tabel 7, dapat dilihat kombinasi ekspresi dari gen Rh.

Tabel 6. PENULISAN AG RH

Gen Rh		Kompleks gen / haplotype Fisher-Race	Nomenklatur Wiener	Keterangan
Gen RHD	Gen RHCE			
D	Ce	DCe	R ₁	Rh positif
D	cE	DcE	R ₂	Rh positif
D	ce	Dce	R ₀	Rh positif
D	CE	DCE	R _z	Rh positif

D	Ce	dCe	r^I	Rh negatif
D	cE	dcE	r^{II}	Rh negatif
D	ce	dce	r	Rh negatif
D	CE	dCE	r^y	Rh negatif

Pada Tabel 7. dapat dilihat jika terdapat Ag D (Rh positif), maka penulisan nomenklatur Wiener adalah R yang diikuti dengan angka atau simbol, seperti R_1 , R_2 dan R_0 . Jika terdapat Ag C, maka penulisan nomenklatur adalah dengan $_1$ atau I . Sebagai contoh, $D_{Ce} = R_1$ dan $d_{Ce} = r^I$. Jika terdapat Ag E, maka penulisan nomenklatur adalah $_2$ atau II , contohnya : $D_{cE} = R_2$ dan $dcE = r^{II}$. Bila hanya ada Ag D, tanpa Ag C dan E, maka penulisan nomenklatur adalah R_0 . Fenotip dCE dan DCE sangat jarang, sehingga penulisan nomenklatur menggunakan y dan z (r_y dan R_z).

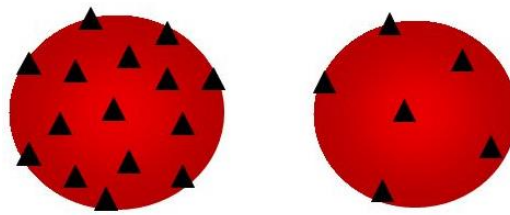
*Individu dengan Rh positif, mempunyai Ag D, penulisan menggunakan huruf kapital D.
Huruf d menandakan tidak mempunyai Ag D.*



Berdasarkan jumlah Ag dan reaksi yang dihasilkan, maka terdapat variasi dari Ag D.

C.1. *Weak 'D'*

Sesuai dengan namanya, variasi golongan darah ini terjadi karena jumlah Ag D yang terekspresikan tidak banyak, sehingga menghasilkan reaksi aglutinasi yang lemah dengan reagen anti-D. *Weak 'D'* disebabkan karena terjadi pergantian asam amino yang berada di area transmembran pada protein RhD. Hal tersebut menghalangi protein RhD (pembawa Ag) masuk ke area membran sel darah merah, sehingga mengurangi Ag Rh yang terekspresikan di membran sel darah merah. *Weak 'D'* biasanya dihubungkan dengan pola pewarisan R_0 . Individu ini tidak bisa membentuk anti-D. Pada donor, golongan darah ini, digolongkan ke dalam Rh positif. Pada eritrosit dengan Ag D normal, terdapat 15.000 – 30.000 tempat Ag/sel sedangkan eritrosit dengan *weak D* hanya mempunyai 70 – 5200 tempat Ag/sel.



Gambar 2.10. Eritrosit dengan Ag D/Rh pos normal (kiri) dan Ag D weak (kanan)

Sumber : <http://slideplayer.com/slide/7708542/>

C.2. *Partial D*

Protein RhD merupakan jenis protein yang melintasi membran eritrosit, sehingga terdapat bagian protein di luar dan di bagian dalam membran. Jika terjadi reaksi pergantian asam amino di protein bagian luar membran sel darah merah, maka epitop dari Ag D bisa berubah atau dapat juga terdapat bentuk Ag baru. Individu ini dapat membentuk anti-D terhadap bagian Ag yang hilang.



Gambar 2.11. Eritrosit dengan Ag D/Rh pos normal (kiri) dan Ag D Partial (kanan)

Sumber : <http://slideplayer.com/slide/4727978/>

*Donor dengan weak D, dianggap sebagai Rh positif, sedangkan pasien weak D dianggap sebagai Rh negatif dan lebih baik ditransfusi dengan Rh negatif.
Pada pasien dengan partial D, dapat membentuk alloantibodi terhadap bagian Ag yang hilang, jika ditransfusikan dengan darah Rh positif.*



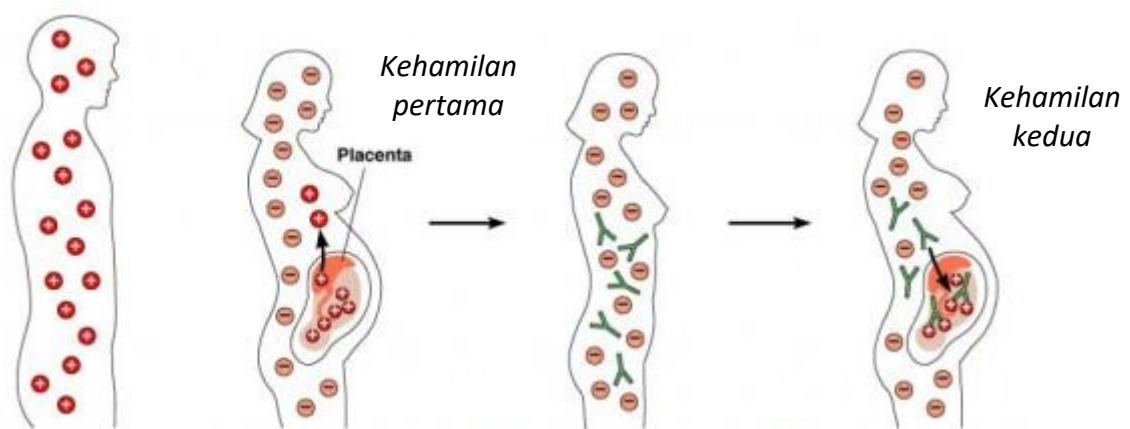
Selain *weak D* dan *partial D*, terdapat juga jenis Ag Rh varian lainnya, seperti Rh_{null}, yang terjadi karena delesi Rh protein, sehingga Ag Rh tidak terekspresikan. Variasi Ag Rh dapat

terjadi karena ; mutasi titik, nonsense mutasi, delesi nukleotida yang dapat menyebabkan perubahan asam amino yang terekspresi.

D. ANTI-RH

Berbeda dengan anti A dan B yang terbentuk secara alami di dalam tubuh, Ab Rh terbentuk kalau ada paparan dengan Ag Rh, baik pada proses transfusi maupun kehamilan. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, Ag Rh mempunyai sifat imunogenik dan dapat merangsang respon imun pada 80% individu Rh negatif pada saat ditransfusi dengan 200 mL darah Rh positif sehingga menyebabkan reaksi hemolitik.

Ab Rh juga bisa didapat melalui proses kehamilan dari perkawinan ibu Rh negatif dengan ayah Rh positif, sehingga Ibu mengandung bayi Rh positif. Pada kehamilan pertama, eritrosit janin dapat masuk ke peredaran darah ibu pada saat pelepasan plasenta dari dinding rahim pada proses kelahiran, dan ibu Rh negatif membentuk Ab dari bayi Rh positif. Pada kehamilan berikutnya, anti D yang terbentuk dari kehamilan pertama, dapat melewati plasenta masuk ke dalam sirkulasi darah janin. Hal tersebut mengakibatkan sel darah merah janin diselimuti dengan Ab Rh sehingga sel darah merah bayi hemolisis. Kondisi ini disebut dengan *Hemolytic Disease of Newborn* (HDN). Skema terjadinya HDN karena inkompatibilitas Rh dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12. Proses terjadinya HDN karena inkompatibilitas Rh

Sumber. <https://www.quora.com>

Umumnya, jenis anti D yang terbentuk adalah jenis IgG dan sebagian IgM. Ab Rh tidak mengaktifkan komplemen. Reaksi optimal pada suhu 37⁰ C. Reaktivitas untuk pengujian Ab dapat ditingkatkan dengan penambahan enzim.

Selain anti D, anti c juga dapat menyebabkan reaksi HDN yang cukup parah. Anti C, anti E dan anti e jarang menyebabkan HDN, walaupun terjadi, reaksinya tidak terlalu parah.

Pada individu dengan *weak* D, tidak bisa membuat anti D, sedangkan individu dengan *partial* D, dapat terbentuk anti-D. Deteksi *weak* D dan *partial* D penting pada proses transfusi darah. Jika donor mempunyai golongan darah *weak* D atau *partial* D, maka harus dianggap

sebagai Rh positif. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari transfusi ke pasien dengan Rh negatif. Sebaliknya, jika pasien mempunyai golongan darah *weak D* atau *partial D*, maka harus dianggap sebagai Rh negatif, supaya tidak terjadi reaksi aloimunisasi pada pasien.



Anti Rh hanya terbentuk jika ada paparan Ag Rh dari proses transfusi darah ataupun kehamilan. Individu Rh negatif, tidak boleh ditransfusi dengan darah Rh positif. Umumnya jenis Ab Rh adalah IgG sehingga dapat terjadi reaksi inkompatibilitas melalui proses kehamilan, reaksi optimal pada suhu 37⁰ C, tidak mengaktifkan komplemen.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Sebutkan jenis antigen Rh
- 2) Bagaimanakah proses pewarisan golongan darah Rh dari bapak Rh positif dan ibu Rh negatif ..
- 3) Jelaskan perbedaan *weak D* dan *partial D*, serta karakteristiknya dalam proses transfusi.....
- 4) Jelaskan reaksi HDN karena inkompatibilitas Rh
- 5) Sebutkan karakteristik Ab Rh

Ringkasan

1. Individu dengan golongan darah Rh positif mempunyai Ag D, sedangkan individu Rh negatif mempunyai Ag selain Ag D.
2. Individu Rh negatif tidak membentuk anti Rh secara alami, melainkan harus ada paparan dengan antigen D terlebih dahulu.
3. Ag D sangat imunogenik, yaitu mudah membentuk Ab. Pada proses transfusi darah harus disesuaikan juga golongan darah Rh nya.
4. Ag Rh hanya terdapat di sel darah merah, dan tidak terdapat pada cairan tubuh maupun jenis sel lainnya.
5. *Weak D* dibedakan dari Ag D normal dari jumlah Ag nya. *Partial D* dibedakan dari Ag D normal dari bentuk Ag nya.

6. individu dengan *weak D* akan dianggap sebagai Rh positif pada donor, sedangkan sebagai pasien, dianggap sebagai Rh negatif.
7. Inkompatibilitas Rh yang terjadi antara Ibu dan bayi yang dikandungnya, dapat menyebabkan HDN. Reaksi HDN terjadi pada kehamilan kedua.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1). Individu dengan golongan darah Rh positif, mempunyai antigen

 - A. D
 - B. C
 - C. c
 - D. E
 - E. e

- 2). Sifat anti Rh adalah

 - A. Beraksi pada suhu 4⁰ C
 - B. Umumnya adalah jenis IgM
 - C. Reaksi optimal pada suhu 32⁰ C
 - D. Dapat mengaktifkan komplemen
 - E. Terbentuk jika ada paparan terhadap Ag Rh

- 3). Jika Ibu dengan Rh positif (DcE) dan ayah dengan Rh positif (DCE), maka anaknya akan mempunyai Rh dengan tipe.....

 - A. Dce
 - B. DcE
 - C. DCe
 - D. DCcE
 - E. DCcEe

- 4). Jenis Ag yang terbentuk karena pergantian asam amino sehingga terjadi perubahan bentuk Ag, merupakan sifat dari jenis Ag

 - A. *Weak D*
 - B. *Partial D*
 - C. Rh_{null}
 - D. RhAG
 - E. RhD

5). Konsep dasar dari HDN (haemolytic disease of newborn) adalah

- A. Janin mentransfer Ab ke ibu yang mengandungnya
- B. Eritrosit janin yang dihancurkan karena inkompatibilitas ABO
- C. Adanya allo antibodi yang merupakan hasil reaksi terhadap Ag bayi
- D. Reaksi yang terjadi karena adanya perdarahan pada saat persalinan fetomaternal
- E. Penghancuran eritrosit pada bayi baru lahir karena reaksi Ab ibu dengan Ag bayi

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 2 dengan kunci jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab 2 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 2, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Topik 3

Golongan darah Lainnya

A. PENDAHULUAN

Selain golongan darah ABO dan Rh, masih terdapat beberapa jenis golongan darah lainnya yang penting untuk dipelajari terkait dengan reaksi yang dihasilkan karena transfusi darah ataupun kehamilan. Seperti diketahui, bahwa membran sel darah terdiri atas berbagai macam molekul protein, karbohidrat maupun lemak. Molekul permukaan sel ini dapat berperan sebagai Ag dengan merangsang respon imun jika ditransfer ke individu lain. Protein / Ag membran sel darah diturunkan secara genetik, dan ada yang memberikan fungsi spesifik pada sel darah, seperti : Ag Rh yang berfungsi untuk mempertahankan integritas sel darah merah.

Melalui berbagai penelitian dan studi kasus, kelompok Ag pada membran sel darah merah yang dapat merangsang respon imun dan membentuk Ab dikelompokkan menjadi berbagai sistem golongan darah. *International Society Blood Transfusion* (ISBT), saat ini telah mengidentifikasi 33 sistem golongan darah dengan lebih dari 300 jenis Ag. Penamaan sistem golongan darah bervariasi, ada yang dituliskan dengan huruf kapital, seperti A, B; M, N, ada yang menggunakan huruf besar dan huruf kecil, seperti : S,s, ; K,k, untuk menunjukkan variasi Ag. ISBT telah menginventaris dan memberikan nomor sebagai identitas golongan darah, yang dapat dilihat di Tabel 8 berikut.

Tabel 7. Sistem golongan darah

No.	Name	Symbol	No. of antigens	Gene name(s)	Chromosome
001	ABO	ABO	4	ABO	9
002	MNS	MNS	43	GYP A, GYP B, GYP E	4
003	P	PI	1	PI	22
004	Rh	RH	49	RHD, RHCE	1
005	Lutheran	LU	19	LU	19
006	Kell	KEL	25	KEL	7
007	Lewis	LE	6	FUT3	19
008	Duffy	FY	6	DARC	1
009	Kidd	JK	3	SLC14A1	18
010	Diego	DI	21	SLC4A1	17
011	Yt	YT	2	ACHE	7
012	Xg	XG	2	XG, MIC2	X/Y
013	Scianna	SC	5	ERMAP	1
014	Dombrock	DO	5	ART4	12
015	Colton	CO	3	AQP1	7
016	Landsteiner-Wiener	LW	3	ICAM4	19
017	Chido/Rodgers	CH/RG	9	C4A, C4B	6
018	Hh	H	1	FUT1	19
019	Kx	XK	1	XK	X
020	Gerbich	GE	8	GYP C	2
021	Cromer	CROM	13	CD55	1
022	Knops	KN	8	CR1	1
023	Indian	IN	2	CD44	11
024	Ok	OK	1	BSG	19
025	Raph	RAPH	1	CD151	11
026	John Milton Hagen	JMH	1	SEMA7A	15
027	I	I	1	GCNT2	6
028	Globoside	GLOB	1	B3GALNT1	3
029	Gill	GIL	1	AQP3	9

Sumber. Essential guide to blood groups

Pada modul ini, hanya akan dibahas Ag pada sistem golongan darah dengan kasus reaksi transfusi yang cukup banyak. Berdasarkan jenis reaksi Ab nya, maka bahasan modul untuk kelompok sistem golongan darah lain, akan dibagi menjadi *Warm* Ab dan *Cold* Ab. *Warm* Ab adalah jenis antibodi yang dihasilkan, yang bereaksi optimal mengikat Ag pada suhu 37⁰ C dan *cold* Ab adalah jenis Ab yang bereaksi optimal pada suhu 22⁰ C / < 37⁰ C.

Jenis golongan darah lain umumnya ditemukan dari protein pada sel darah merah yang dapat membentuk Ab, jika terpapar pada individu lain, melalui proses transfusi maupun kehamilan



B. SISTEM GOLONGAN DARAH DENGAN SIFAT 'COLD ANTIBODY'

B.1. SISTEM GOLONGAN DARAH LEWIS

ANTIGEN

Sistem golongan darah Lewis ditemukan pada tahun 1946 oleh Mourant, dengan jenis Ag-nya adalah : Le^a, Le^b. Ag Lewis, sesungguhnya bukanlah Ag yang terdapat di membran sel darah merah, melainkan Ag tersebut diserap oleh sel darah merah dari plasma darah. Ada tidaknya Ag Lewis ditentukan oleh gen yang terdapat pada 3 lokus yang berbeda, yaitu :

1. Gen H (FUT 1) → menentukan ada tidaknya substansi H (merupakan prekursor dari Ag A dan B).
2. Gen Se (FUT 2) → menentukan ada tidaknya kemungkinan Ag A, B dan H dengan status sekretor.
3. Gen Le (FUT 3) → memproduksi enzim fukosiltransferase yang mengkatalisis perpindahan gugus gula di prekursor H untuk membentuk Le^a dan Le^b.

Ketika terdapat gen H dan gen Se, maka akan menghasilkan substansi H yang terdapat di plasma. Substansi H kemudian diubah menjadi Ag Le^b.

Berdasarkan reaksi antara gen H, gen Se dan gen Le, maka terdapat empat jenis fenotip yang dihasilkan, yaitu :

1. Le (a+b-) → terdapat di individu dengan status ABH-nonsektor, sehingga hanya Ag Le^a yang diproduksi.
2. Le (a-b+) → terdapat di individu dengan status ABH-sektor, sehingga hanya Ag Le^b yang terdeteksi di sel darah merah.
3. Le (a+b+) → terdapat di individu dengan status ABH-sektor. Ag Le^a dan Le^b dapat terdeteksi di sel darah merah.
4. Le (a-b-) → sel darah merah tidak mempunyai Ag Lewis.

Untuk memperjelas jenis fenotip dan interaksi antar gen H, gen Se dan gen Le, berikut digambarkan dalam Tabel 9. :

Tabel 8. Interaksi antara gen Lewis, ABH, dan Se.

Fenotip	Gen	ABH	Keterangan
Le (a+b-)	Le sese	ABH nonsektor	Mempunyai 1 Le fungsional dan tidak mempunyai gen Se.
Le (a-b+)	Le Se	ABH sektor	Mempunyai 1 Le fungsional dan mempunyai gen Se.
Le (a-b-)	lele Se lele sese	ABH sektor ABH non sektor	Tidak mempunyai Ag Lewis.

Le (a+b+)	Lele Se ^w	ABH sekretor	Mempunyai ABH sekretor dengan tipe weak/lemah (Se ^w).
-----------	----------------------	--------------	---

ANTIBODI

Ab Lewis (anti le^a dan le^b) umumnya adalah bentuk IgM. Ab jenis ini biasanya terdapat pada individu dengan fenotip Le (a-b-). Ab Lewis mempunyai karakteristik reaksi optimal pada suhu di bawah 37⁰ C, sehingga bisa dikatakan bahwa Ab Lewis kurang bermakna klinis.

B.2. SISTEM GOLONGAN DARAH I

Pada tahun 1956, Wiener dan tim mendeskripsikan Ag I, setelah mempelajari kasus reaksi hemolisis pada penderita dengan cold Ab (anti I).

ANTIGEN

Ag sistem golongan darah ini adalah Ag I dan i. Ag I ditemukan pada sel darah merah normal. Ekspresi Ag I tergantung pada usia dan adanya penyakit. Ag i ditemukan pada sel darah bayi baru lahir, kemudian pada usia 2 tahun Ag i digantikan menjadi Ag I. Gen yang berfungsi pada sintesis Ag I adalah gen *IGnT* (GCNT2). Selain di sel darah merah, Ag I juga dapat ditemukan di sel limfosit dan trombosit.

ANTIBODI

Jenis Ab I adalah IgM, yang lebih banyak dikenal sebagai *cold* Ab atau cold autoAb, yang dapat menyebabkan penyakit autoimun hemolitik anemia. Anti-I, biasanya terdapat pada pasien yang baru sembuh dari penyakit mononukleosis infeksiosa. Ab jenis ini jarang menimbulkan reaksi alloantibodi.

Pada pasien dengan autoanti-I, maka perlakuan terhadap sampel darahnya berbeda. Untuk menghindari reaksi aglutinasi pada sampel, pada saat pengerjaan sampel, pereaksi dan peralatan penunjang lainnya harus dalam keadaan hangat.

B.3. SISTEM GOLONGAN DARAH P

Sistem golongan darah P pertama kali ditemukan oleh Landsteiner dan Levine pada tahun 1927. Mereka menemukan Ag ini, setelah melakukan percobaan dengan menyuntikkan sel darah merah manusia ke dalam kelinci. Ag P ditemukan pada 79% ras kulit putih.

ANTIGEN

Jenis Ag pada sistem golongan darah P adalah P₁ dan P₂. Individu yang tidak mempunyai Ag P₁, disebut dengan P₂.

ANTIBODI

Anti-P1 umumnya merupakan tipe IgM (*cold Ab*) yang bereaksi optimal pada suhu 4°C, tapi terkadang dapat juga dideteksi pada suhu 37°C dan dapat mengikat komplemen.

B.4. SISTEM GOLONGAN DARAH MNS

ANTIGEN

Sistem golongan darah MNS ditemukan di tahun 1927 oleh Landsteiner dan Levine. Sistem golongan darah ini mempunyai Ag dengan jumlah cukup banyak, yaitu 46 Ag. Sistem ini merupakan perpaduan alel yang bersifat kodominan, yaitu MN dan Ss. Jenis Ag yang umum dikenal adalah : M, N, S, s, U.

Ag MN berada di protein membran sel darah merah ; glycophorin A (GPA) dan Ag Ss berada di glycophorin B (GPB). Fenotip sistem golongan darah MNS yaitu :M+N-S+s-, M+N-S-s+, M+N+S+s-, M+N+S+s+, M+N+S-s+, M-N+S+s-, M-N+S+s-, M-N+S+s+, M-N+S-s+, M+N-S-s-, M+N+S-s-, M-N+S-s-.

ANTIBODI

Anti-M dan anti-N merupakan *cold Ab*, dengan jenis IgM yang lebih banyak dibanding IgG, dan jarang menimbulkan reaksi hemolitik. Anti-S, s dan U dapat menstimulus terjadinya reaksi hemolitik pada transfusi, sehingga Ab ini merupakan jenis Ab yang bermakna klinis.

Sistem golongan darah yang terdiri atas Ag dan Ab yang bermakna klinis, maksudnya adalah jenis Ab tersebut dapat menyebabkan reaksi hemolitik pada pasien transfusi maupun pada bayi baru lahir.



C. SISTEM GOLONGAN DARAH DENGAN SIFAT 'WARM ANTIBODY'

C.1. SISTEM GOLONGAN DARAH KELL

Sistem golongan darah Kell ditemukan pada tahun 1946. Jenis Ag dan Ab ini ditemukan pada kasus hemolitik bayi baru lahir. Ibu mempunyai Ab yang menyerang sel darah merah bayi yang dikandungnya. Jenis Ag tersebut diberi nama Ag K. Tiga tahun kemudian, ditemukan Ag k yang diidentifikasi dari sampel yang berasal dari penderita dengan kasus hemolitik bayi baru lahir. Pada awalnya, diketahui hanya terdapat 2 jenis Ag pada sistem golongan darah Kell,

namun berdasarkan beberapa kasus hemolitik yang terjadi, telah diidentifikasi 28 jenis Ag pada sistem Kell.

ANTIGEN

Ag Kell berasal dari lokus KEL di kromosom 7. Ag Kell merupakan Ag yang sangat imunogenik (merangsang respon imun) setelah Ag ABO dan Rh. Jenis Ag yang umum dikenal adalah : K dan k, Kp^a dan Kp^b, Js^a dan Js^b. Fenotip dari sistem golongan darah Kell adalah : K-k+, K+k+, K+k-, Kp(a+b-), Kp(a-b+), Kp(a+b+), Js(a+b-), Js(a-b+), Js(a+b+). Umumnya, pada suatu populasi, Ag k lebih banyak dibandingkan Ag K.

Ag Kp^a dan Kp^b merupakan perpaduan dari dua alel kodominan pada sistem golongan darah Kell. Individu dengan Ag Kp^b lebih banyak dibandingkan individu dengan Kp^a. Pada Ag Js^a dan Js^b, diketahui bahwa lebih banyak individu dengan Js^b dibandingkan Js^a. Ag Js^a banyak ditemukan pada orang Afrika.

Banyaknya jenis Ag pada golongan darah Kell, disebabkan adanya polimorfisme / variasi dari gen KEL.



ANTIBODI

Anti K dan anti k merupakan jenis Ab IgG yang bereaksi optimal pada suhu 37⁰ C. Ab ini bermakna klinis, karena dapat menyebabkan reaksi hemolitik yang cukup parah. Anti Kp^a, anti Kp^b, anti Js^a dan anti Js^b mempunyai angka insiden yang lebih rendah dibandingkan anti K. Angka insiden terhadap jenis Ab tertentu, tergantung kepada frekuensi jenis Ag negatif pada pasien dan frekuensi jenis Ag positif pada donor. Anti Kell juga dapat menyebabkan reaksi hemolitik pada bayi baru lahir. Hal ini dikarenakan adanya anti Kell yang menyerang sel darah bayi yang berasal dari ibu yang mengandungnya. Ibu mempunyai anti Kell karena adanya paparan Ag Kell dari riwayat transfusi darah atau dari kehamilan sebelumnya.

C.2. SISTEM GOLONGAN DARAH DUFFY

Sistem golongan darah Duffy ditemukan pada tahun 1950 oleh Cutbush dan tim. Golongan darah tersebut berasal dari pasien pria penderita hemofilia yang menerima transfusi darah dalam jumlah banyak dan pasien tersebut memproduksi anti-Fy^a. Satu tahun kemudian, anti-Fy^b ditemukan di serum wanita yang telah melahirkan beberapa anak. Jenis Ag lainnya, yaitu FY3, FY4, FY5 dan FY6 ditemukan 20 tahun kemudian, tetapi hanya Ag FY3 yang bermakna klinis.

ANTIGEN

Jenis Ag utama pada sistem golongan darah Duffy adalah Fy^a dan Fy^b . Ag tersebut berasal dari dua alel kodominan pada gen Duffy (FY) di kromosom1. Gen Duffy juga mengkode glikoprotein yang diekspresikan pada organ lain, seperti : otak, ginjal, limpa, hati dan paru-paru.

Fenotip pada sistim golongan darah Duffy adalah : $Fy(a+b-)$, $Fy(a+b+)$, $Fy(a-b+)$, $Fy(a-b-)$. Ekspresi homozygot dari gen Fy yang menghasilkan fenotip $Fy(a-b-)$ telah dibuktikan resisten dari infeksi malaria, jenis *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium knowlesi*. Hal tersebut merupakan keuntungan pada individu yang hidup di daerah endemis malaria. Umumnya, jenis fenotip ini terdapat pada ras kulit hitam.

Gen mengekspresikan antigen (Ag), pada kondisi tertentu, gen dapat bersifat homozygot resesif , sehingga tidak mengekspresikan Ag / Ag yang diekspresikan dalam jumlah sangat sedikit. Sebagai contoh gen Fy yang menghasilkan fenotip $Fy(a-b-)$ yang tidak mengekspresikan Ag Duffy.

Penulisan fenotip sebagai hasil dari alel kodominan, contohnya adalah : $Fy(a+b+)$, alel FYA diturunkan dari ibu/ayah dan alel FYB turunan dari ayah/ibu. Kedua produk gen, yaitu Ag Fy^a dan Fy^b keduanya diekspresikan di sel darah merah.

ANTIBODI

Anti- Fy^a dan anti- Fy^b merupakan jenis Ab IgG yang dapat terstimulasi melalui proses transfusi maupun kehamilan. Ab Duffy lainnya, seperti $Fy3$ dan $Fy5$ juga berasal dari reaksi transfusi.

C.3. SISTEM GOLONGAN DARAH KIDD

Pada tahun 1951, seorang pasien dengan nama Mrs.Kidd diketahui melahirkan anak ke-6 dengan penyakit hemolitik. Setelah dilakukan pemeriksaan, diketahui, bahwa Mrs.Kidd mempunyai Ab yang menyerang sel darah merah bayi selama kehamilannya. Jenis Ag pada sel darah merah bayi tersebut, diberi nama Jk^a , yang merupakan inisial nama bayi tersebut, yaitu John Kidd. Semenjak itu, dua jenis Ag lainnya, yaitu Jk^b dan $Jk3$ ditemukan. Pada tahun 1959, anti- $Jk3$ ditemukan, dari seorang wanita yang mengalami ikterus setelah transfusi darah, dan

diketahui, wanita tersebut juga mempunyai Ab terhadap Jk^a dan Jk^b . jenis Ab tersebut diberi nama anti- Jk^3 .

ANTIGEN

Ag Kidd dikode oleh gen SLC14A1 (HUT11) di kromosom 18, dan merupakan ekspresi dari dua alel kodominan, yaitu Jk^a dan Jk^b . Fenotip pada individu dengan Ag Jk^a dan Jk^b adalah : $Jk(a+b-)$, $Jk(a-b+)$ dan $Jk(a+b+)$. Ag Jk^3 diekspresikan pada seluruh individu, kecuali individu dengan fenotip $Jk(a-b-)$ yang lebih jarang ditemukan.

Seperti Ag ABH dan Rh, jenis Ag lainnya pada sistem golongan darah lainnya dapat diekspresikan selain di sel darah merah, seperti Ag Kidd yang dapat diekspresikan di ginjal.

ANTIBODI

Anti- Jk^a dan anti- Jk^b umumnya merupakan jenis IgG yang dapat mengaktivasi komplemen yang distimulasi oleh proses transfusi maupun kehamilan. Umumnya, Anti-Kidd ditemukan pada serum yang didalamnya juga terdapat alloantibodi lainnya. Reaksi transfusi yang diakibatkan oleh Ab Kidd umumnya reaksi tunda. Anti- Jk^3 terkadang disebut juga anti- Jk^{ab} , yang dihasilkan dari individu dengan fenotip $Jk(a-b-)$.

Selain sistem golongan darah yang telah dijelaskan, terdapat juga jenis Ag golongan darah yang tidak terlalu bermakna klinis dan insiden yang terjadi cukup jarang. Salah satu dari sistem golongan darah tersebut adalah sistem Lutheran.

D. SISTEM GOLONGAN DARAH LUTHERAN

Ab terhadap Ag Lutheran pertama kali ditemukan pada tahun 1946. Ab berasal dari serum pasien yang telah mendapat banyak transfusi darah dan serum tersebut dapat mengaglutinasi 8% dari sampel yang disediakan.

ANTIGEN

Sistem Lutheran terdiri atas empat pasang Ag (Lu^a/Lu^b , Lu^6/Lu^9 , Lu^8/Lu^{14} , Au^a/Au^b) dan 10 jenis Ag independen. Jenis Ag Lu^a dan Lu^b merupakan Ag yang utama. Fenotipnya adalah : $Lu(a+b-)$, $Lu(a+b+)$, $Lu(a-b+)$, $Lu(a-b-)$. Ag Lutheran merupakan produk dari gen LU.

ANTIBODI

Anti Lu^a umumnya merupakan jenis Ab IgM, dan Lu^b umumnya adalah tipe IgG. Kedua jenis Ab ini dilaporkan dapat menyebabkan reaksi transfusi tunda. Jenis IgG pada Ag Lutheran umumnya adalah tipe reaksi lemah / *weak* dan belum pernah ada insiden HDN karena anti Lutheran.

Pada 33 sistem golongan darah yang ada, delapan jenis sistem golongan darah sudah dijelaskan. Identitas delapan sistem golongan darah tersebut digunakan pada pemeriksaan skrining dan identifikasi Ab. Adapun jenis golongan darah lainnya yang tidak dijelaskan di topik ini, umumnya adalah jenis golongan darah dengan angka kasus hemolitik yang jarang dan biasanya kurang bermakna klinis.

Klasifikasi jenis golongan darah yang mempunyai struktur karbohidrat adalah : golongan darah ABO, H, P1Pk, I, GLOB. Jenis golongan darah yang berasal dari plasma adalah : golongan darah Lewis, Chido/Rodgers. Jenis golongan darah lainnya merupakan jenis protein dari membran sel darah merah.



Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Sebutkan jenis antibodi yang mempunyai sifat sebagai *cold* Ab dan *warm* Ab.
- 2) Jelaskan perbedaan antara sistem golongan darah Lewis dan Kell.
- 3) Jelaskan pengertian antibodi yang bermakna klinis dan sebutkan contohnya.
- 4) Sebutkan syarat suatu protein di sel darah merah dikategorikan sebagai sistem golongan darah lain selain ABO.

Ringkasan

1. Antigen pada sistem golongan darah Lewis tidak disintesis oleh sel darah merah, melainkan diserap dari plasma oleh sel darah merah.
2. Antibodi Lewis umumnya adalah IgM dan tidak terlalu bermakna klinis.
3. Sistem golongan darah I mempunyai Ag I dan i, umumnya Ag yang terdapat pada sel darah merah bayi adalah i, setelah usia 18 bulan keatas Ag i diubah menjadi I.
4. Anti I, umumnya jenis IgM yang dapat bereaksi menjadi *cold* auto Ab dan bereaksi pada suhu $0^{\circ} - 30^{\circ} \text{C}$.
5. Antigen P, P_1 dan P^k merupakan jenis Ag dari sistem golongan darah P.
6. Anti-P dapat menyebabkan reaksi auto Ab yang dapat menyebabkan penyakit Paroxysmal Cold Hemoglobinuria (PCH).

7. Sistem golongan darah MNS, mempunyai Ag yang utama adalah M, N, S, s dan U.
8. Anti M dan anti N merupakan jenis *Cold Ab*, sedangkan anti S, dan anti s merupakan jenis IgG yang bereaksi optimal pada suhu 37° C.
9. Sistem golongan darah Kell mempunyai Jenis Ag yang utama adalah : K dan k, Kp^a dan Kp^b, Js^a dan Js^b.
10. Anti K umumnya merupakan jenis IgG yang bereaksi optimal pada suhu 37° C dan dapat menyebabkan reaksi hemolitik pada transfusi dan HDN.
11. Sistem golongan darah Duffy mempunyai jenis Ag yang utama adalah Fy^a dan Fy^b.
12. Anti Fy^a dan Fy^b merupakan jenis IgG dan dapat menyebabkan reaksi transfusi tunda.
13. Sistem golongan darah Lutheran mempunyai Ag yang utama adalah Lu^a dan Lu^b.
14. Anti Lu^a umumnya merupakan jenis Ab IgM, dan Lu^b umumnya adalah tipe IgG.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Sistem golongan darah dengan jenis warm antibodi adalah
 - A. Lewis
 - B. Lutheran
 - C. P
 - D. MNSs
 - E. Kell
- 2). Fenotip pada individu yang mempunyai antigen Jk^a adalah
 - A. Jk (a+b-)
 - B. Jk (a+b+)
 - C. Jk (a-b+)
 - D. Jk (a-b-)
 - E. Jk^aJk^a
- 3) Sistem golongan darah yang mempunyai jenis antigen terlarut adalah sistem.....
 - A. Rh
 - B. Kell
 - C. ABH
 - D. Duffy
 - E. MNSs
- 4) Jenis antibodi yang dihasilkan dari paparan dengan antigen pada sel darah merah karena proses transfusi darah disebut dengan

- A. Alloantibodi
- B. Autoantibodi
- C. Cold antibodi
- D. Warm antibodi
- E. Regular antibodi

5) Gen yang mempengaruhi pembentukan sistem golongan darah Lewis adalah

- A. MNSs
- B. H, Se, Le
- C. ABO & H
- D. Rh, Lu, Jk
- E. A₁, A₂, A₂B

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 3 dengan kunci jawaban Tes 3 yang terdapat di bagian akhir bab 2 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 3.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 3, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

- 1) B.
- 2) B.
- 3) A.
- 4) D.
- 5) E.

Test Formatif 2

- 1) A.
- 2) E.
- 3) D.
- 4) B.
- 5) E.

Test Formatif 3

- 1) E.
- 2) A.
- 3) C.
- 4) A.
- 5) B.

Glosarium

Alel :	Gen yang menempati atau terletak pada suatu lokus yang sama.
Cold antibodi	: Jenis antibodi yang bereaksi optimal pada suhu $< 37^{\circ}\text{C}$
Epitop	: Bagian dari antigen yang dapat dikenali oleh sistem imun sehingga dapat mengikat antibodi.
Fenotip	: sifat makhluk hidup yang terekspresikan dan dapat diamati dengan panca indera.
Gen :	Unit pewarisan sifat pada makhluk hidup yang tersimpan pada kromosom di dalam nukleus.
Genotip	: suatu simbol yang ditulis untuk menandakan komposisi genetik suatu makhluk hidup.
Heterozygot	: Kondisi ketika individu memiliki alel yang berbeda pada suatu lokus di setiap kromosom.
Homozygot	: Kondisi ketika individu memiliki alel yang sama pada setiap lokus.
Imunoglobulin	: Protein yang disekresikan dari sel plasma yang dapat mengikat antigen sebagai respon dari sistem imun.
Kromosom	: Pembawa gen yang terdapat di dalam inti sel.
Lokus	: Tempat gen ditemukan.
Warm Antibodi	: Jenis antibodi yang bereaksi optimal pada suhu 37°C .

Daftar Pustaka

AABB. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB, 2005.

Avent, N.D , Reid, M.E. The Rh blood group system:a review. Blood. 2000;95(2):375-384.

B Armstrong, J Hardwick, L Raman, E Smart et al. ISBT Science Series. Wiley-Blackwell. 2008.

Daniels G, Bromilow I. Essential guide to blood groups. Blackwell Publishing. 2007.

Dean L. Blood group and red cell antigen. NCBI.

Flegel W.A. The genetics of the Rhesus blood group system. Blood transfusion 2007;5:50-57.

Harmening DM. Modern blood banking and transfusion practices. 4th ed. Bangkok: F.A Davis Company; 1994.

Hillyer, Silberstein, Ness, Anderson, Roback. Blood banking & transfusion medicine basic, principles & practice. 2nd^{ed}. USA: Churchill livingstone elsevier; 2007.

Mitra R, Mishra N, Rath GP.Blood group system. Indian Journal of Anaesthesia.2014; 58(5):524-528.

Thakral B, Saluja K, Bajpai M, Sharma RR, Marwaha N. Importance of weak ABO sub groups. Lab Medicine. 2005; 36(1): 32-34.

Lawicki s, Covin RB, Powers AA. The kidd (Jk) blood group system. Transfusion Medicine Reviews 2017; 31(3): 165-172.

https://transfusion.com.au/blood_basics/blood_groups/rhesus_phenotypes

<http://slideplayer.com/slide/4728006/>

<http://www.bbguy.org/2016/05/13/rh-blood-group-terminology/>

<https://emedicine.medscape.com/article/1731214-overview>

<https://www.slideshare.net/yogendravigay5/abo-blood-groups-41822072>

<http://slideplayer.com/slide/7708542/>

<http://slideplayer.com/slide/4727978/>

<https://www.quora.com>

Bab 3

KOMPONEN DARAH

Ganjar Noviar, S.ST., M.Biomed

Pendahuluan

Pelayanan transfusi darah merupakan upaya pelayanan kesehatan yang memanfaatkan darah manusia sebagai bahan dasar dengan tujuan kemanusiaan dan tidak untuk tujuan komersial. Darah dilarang diperjualbelikan dengan dalih apapun. Pelayanan transfusi darah sebagai salah satu upaya kesehatan dalam rangka penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan sangat membutuhkan ketersediaan darah atau komponen darah yang cukup, aman, mudah diakses dan terjangkau oleh masyarakat.

Darah merupakan cairan yang terdapat pada semua makhluk hidup (kecuali tumbuhan) tingkat tinggi yang berfungsi mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme dan juga sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri.

Darah adalah produk terapeutik dan harus diambil memenuhi sistem manajemen mutu untuk unit penyedia darah untuk menjamin mutu dan keamanannya, dan untuk meminimalkan potensi kontaminasi bakteri atau mikroorganisme lainnya. Hanya donor yang telah diperiksa sesaat sebelum penyumbangan dan memenuhi kriteria seleksi donor yang ditetapkan Unit Transfusi darah (UTD) yang diperbolehkan untuk menyumbangkan darah. Mereka harus diidentifikasi kembali sebelum penusukan dimulai dan darahnya ditampung di dalam kantong darah steril yang telah disetujui oleh petugas kompeten terlatih menggunakan prosedur yang telah divalidasi.

WHO telah mengembangkan strategi untuk transfusi darah yang aman dan meminimalkan risiko tranfusi. Strategi tersebut terdiri dari pelayanan transfusi darah yang terkoordinasi secara nasional; pengumpulan darah hanya dari donor sukarela dari populasi risiko rendah; pelaksanaan skrining terhadap semua darah donor dari penyebab infeksi, antara lain HIV, Virus Hepatitis, Sifilis dan lainnya, serta pelayanan laboratorium yang baik di semua aspek, termasuk golongan darah, uji kompatibilitas, persiapan komponen, penyimpanan dan transportasi darah/komponen darah; mengurangi transfusi darah yang tidak perlu dengan penentuan indikasi transfusi darah dan komponen darah yang tepat, dan indikasi cara alternatif transfusi.

Apabila darah bisa dikatakan sebagai organ. Mungkin tak banyak yang menyangsikan bahwa darah adalah “organ” yang paling penting dalam tubuh. Begitu pentingnya darah, sampai-sampai darah pun harus didonorkan dan ditransfusikan kepada yang memerlukan. Pengetahuan mengenai transfusi darah mulai berkembang sejak digagaskannya teori sirkulasi darah oleh dokter Willam Harvey pada tahun 1613. Sejak itu, berbagai praktik transfusi darah dari hewan ke hewan, hewan ke manusia, dan manusia ke manusia mulai dicobakan. Di Indonesia, Palang Merah Indonesia (PMI) adalah satu-satunya organisasi yang diperbolehkan oleh pemerintah (tertuang dalam Peraturan Pemerintah No.18 tahun 1980) untuk melakukan prosedur transfusi darah. Meskipun demikian, sebenarnya prosedur transfusi darah sudah dilakukan sejak zaman perjuangan revolusi oleh PMI.

Seleksi Donor merupakan upaya untuk menjaga keselamatan pendonor darah dan penerima darah/resipien. Tujuan seleksi donor antara lain :

- 1) Menjaring donor sukarela (*Voluntary Blood Donors*), yaitu donor yang tidak mengharapkan imbalan.
- 2) Mencari donor dari kelompok resiko rendah yaitu donor yang sehat dan tidak beresiko menularkan penyakit lewat transfusi darah.
- 3) Menyeleksi kelompok donor resiko tinggi, yaitu donor yang dapat menyebabkan penularan penyakit pada pasien.

Untuk proses seleksi donor ini ada beberapa syarat donor yang telah ditetapkan dan harus dipenuhi oleh seorang pendonor, antara lain :

- 1) Sehat jasmani dan rohani
- 2) Usia minimal 17 tahun sampai dengan 60 tahun, sedangkan pendonor rutin dengan umur > 65 tahun dapat menjadi pendonor dengan perhatian khusus berdasarkan pertimbangan medis kondisi kesehatan.
- 3) Berat badan
 - a. Donor darah lengkap
 - ≥ 55 kilogram untuk penmbangan darah 450 mL
 - ≥ 45 kilogram untuk penyumbangan darah 350 mL
 - b. Donor apheresis : ≥ 55 kilogram
- 4) Suhu Tubuh normal yaitu 36,5 sampai dengan 37°C
- 5) Denyut nadi : 50 hingga 100 kali per menit dan teratur
- 6) Tekanan Darah :
 - Sistolik : 90 hingga 160 mm Hg
 - Diastolik : 60 hingga 100 mm Hg

Dan perbedaan antara sistolik dengan diastolik lebih dari 20 mmHg Kadar

- 7) Kadar Haemoglobin 12,5 sampai dengan 17,0 gr/dL.
- 8) Tidur malam cukup yaitu minimal 5 jam.

- 9) Bagi wanita tidak sedang haid/hamil/menyusui./
- 10) Jarak Penyumbangan donor lebih dari 8 Minggu untuk donasi darah lengkap (*Whole Blood*) yaitu maksimal 5 kali dalam setahun.
- 11) Kulit donor terlihat sehat tanpa kelainan dan tidak ada bekas tusukan jarum.
- 12) Riwayat transfusi darah , untuk calon donor tidak boleh mendonorkan darah 12 bulan setelah mendapatkan transfusi darah.
- 13) Riwayat imunisasi, donor dapat menyumbangkan darah 8 minggu setelah imunisasi.
- 14) Riwayat operasi, dapat mendonorkan darah setelah 5 hari pencabutan gigi, 6 bulan setelah operasi kecil dan 12 bulan setelah operasi besar.
- 15) Riwayat pengobatan, dapat mendonorkan darah 3 hari setelah meminum obat aspirin/piroxicam, mendonorkan trombosit (pada 3 hari sebelumnya tidak mengkonsumsi obat yang mengandung salisilat), dan 12 bulan sembuh dari sifilis juga Gonorrhoe.
- 16) Tidak pecandu alkohol dan narkotik
- 17) Tidak bertato
- 18) Tidak mempunyai riwayat penyakit :
 - Tekanan darah tinggi/rendah
 - Kurang darah (anemia)
 - Penyakit gangguan pembekuan darah
 - Kencing manis
 - IMLTD (HIV, Hepatitis B, Hepatitis C, Sifilis)
 - Penyakit hati, ginjal, jantung dan paru2
 - Ayan(epilepsi)/kejang
 - Kanker
 - Malaria

Setelah calon donor memenuhi persyaratan, maka calon donor dipersilahkan mengisi informed consent yang disediakan kemudian diperiksa kadar hemoglobin donor serta berat badan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan fisik donor oleh dokter, meliputi melakukan penilaian hasil pengisian status donor di formulir pendaftaran, anamnesis / tanya jawab, pemeriksaan kesehatan dengan inspeksi (melihat), palpasi (meraba nadi), auskultasi (mendengar denyut jantung) serta melakukan pemeriksaan tekanan darah. Apabila seluruh persyaratan sudah terpenuhi, maka donor dapat diambil darahnya oleh petugas.

Palang Merah Indonesia

PALANG MERAH INDONESIA
UNIT DONOR DARAH
DKI JAKARTA
JL. Kramat Raya No.47
Jakarta 10450 Indonesia
Telp : (021) 3906666
Fax : (021) 3101107
Website : www.pmi-jakarta.org
Email : dki@pmi-jakarta.org

1. Menjaga kesehatan donor.
2. Mencegah resiko penularan penyakit kepada penerima darah.

PENYAKIT YANG DAPAT MENULAR LEWAT TRANSFUSI DARAH

1. HIV/AIDS
Disebabkan virus yang disebut HIV (*Human Immuno-deficiency Virus*). Sekali seseorang terinfeksi HIV, dia dapat menularkan HIV kepada orang lain seumur hidupnya.

Orang terinfeksi HIV disebut juga HIV reaktif. Orang yang HIV reaktif tidak berarti menderita AIDS karena gejala AIDS baru akan muncul rata-rata 2 s/d 10 tahun sejak orang tersebut terinfeksi HIV.

Sebelum muncul gejala-gejala AIDS, seorang pengidap HIV masih merasa dan tampak sehat, bahkan pemeriksaan laboratorium bisa negatif kalau orang tersebut baru saja terinfeksi HIV. Masa antara masuknya HIV kedalam tubuh manusia sampai terbentuknya antibodi terhadap HIV atau disebut juga HIV reaktif, memerlukan waktu antara 2 minggu sampai dengan 3 bulan.

Periode itu disebut periode jendela (*window period*). Sebelum muncul gejala-gejala AIDS, penderita HIV dapat menularkan kepada orang lain secara tidak sengaja karena dia sendiri tidak tahu kalau terinfeksi HIV.

AIDS adalah singkatan dari *Acquired Immune Deficiency Syndrome*, yaitu suatu penyakit/kumpulan gejala penyakit yang disebabkan karena hilangnya/rusaknya system kekebalan tubuh manusia, sehingga penyakit yang sebenarnya tidak berbahaya, bagi penderita AIDS dapat menyebabkan kematian.

MOHON DIBACA SEBELUM MENYUMBANGKAN DARAH.
SETELAH DIISI DAN DITANDA TANGANI, DIKEMBALIKAN KEPADA PETUGAS UDD
PMI DKI JAKARTA PADA WAKTU MENYUMBANGKAN DARAH

Yth. Donor yang budiman,
Menyumbangkan darah adalah perbuatan mulia. Darah Anda dapat menyelamatkan jiwa orang lain. Sebagai seorang donor, tentunya Anda perlu yakin kalau Anda memberikan darah yang sehat dan aman kepada penderita yang membutuhkannya.

Tetapi kadang-kadang darah Anda tidak dapat diberikan kepada penderita, hal ini dapat terjadi meskipun Anda merasa sehat. Darah Anda dapat membawa virus/kuman penyebab penyakit sehingga dengan tidak sengaja dapat menularkan penyakit tersebut kepada penerima darah. Oleh karena itu sebelum mengambil darah perlu dilakukan seleksi donor/pemeriksaan donor dengan tujuan :

Cara Penularan HIV

- Selain dapat menular melalui darah (transfusi darah, jarum suntik, jarum tindik, tato, dan alat tusuk lainnya).
- HIV dapat juga menular melalui :
 - Hubungan seksual tanpa pengamanan dengan pasangan tidak tetap dan berganti-ganti.
 - Ibu hamil yang HIV reaktif kepada janin/bayi yang dikandungnya.

Karena itu semua darah donor sebelum diberikan kepada yang memerlukan, diperiksa lebih dahulu terhadap kemungkinan terinfeksi HIV.

Orang-orang yang resiko tinggi/besar kemungkinan mendapat HIV/AIDS dan yang tidak boleh menyumbangkan darah adalah :

- Orang yang sering berganti-ganti pasangan seksual baik hetero seksual maupun homoseksual.
- Pasangan seks dari orang tersebut diatas (suami/istri/mitra seks)
- Sudah pernah/sedang menderita penyakit menular seksual (PMS) seperti kencing nanah (GO) sifilis.
- Pengguna narkoba yang memakai suntikan.
- Seseorang dengan tanda dan gejala seperti AIDS; berkeringat sengal banyak pada malam hari, demam, berat badan turun, pembengkakan kelenjar leher, ketiak, diare yang menetap atau kanker.
- Seseorang yang hasil pemeriksaan laboratorium HIV-nya reaktif.

Seseorang Tidak Dapat Tertular HIV karena Menyumbangkan Darah

HIV/AIDS atau penyakit lainnya tidak dapat karena menyumbangkan darahnya. Karena semua alat yang dipakai untuk mengambil darah donor selalu steril dan sekali pakai.

2. HEPATITIS (RADANG HATI)
Hepatitis adalah penyakit radang hati dengan gejala :
a. Kuning diseluruh badan.
b. Sakit perut kanan atas.
c. Demam.
d. Nafsu makan berkurang.
e. Mual.
f. Muntah.

Pada beberapa orang ada yang tidak mempunyai gejala dan tidak sakit, namun ditemukan pertanda laboratorium reaktif terhadap hepatitis B/C, sehingga bila darah diberikan kepada penderita, secara tidak sengaja menularkan kepada penderita. Cara penularan Hepatitis B/C sama dengan HIV.

3. SIFILIS
Apabila Anda pernah sakit sifilis atau pemeriksaan laboratorium VDRL/RPR/TPHA yang positif maka darah Anda tidak dapat diberikan kepada orang sakit.

4. MALARIA
Malaria merupakan penyakit dengan gejala utamanya demam, dapat disertai menggigil. Penyakit ini sering hilang timbul, oleh karena itu apabila Anda baru saja datang dari daerah malaria, serta mempunyai gejala tersebut, Anda diminta untuk menunda donasi dahulu.

Kami yakin Anda sebagai donor darah sukarela, menyumbangkan darah untuk menolong penderita maka setelah Anda membaca penjelasan ini, bila merasa sehat dan tidak beresiko tinggi, kami mohon Anda mengisi formulir pernyataan dan menanda tangani.

Terima kasih atas kesediaan Anda untuk tidak menyumbangkan darah apabila Anda beresiko tinggi

Gambar 3.1. Contoh lembar Informed Consent donor di UTD PMI DKI Jakarta halaman 1-2

DIISI OLEH DONOR (MOHON DIISI LENGKAP DENGAN HURUF (CETAK))

Tempat Penyumbangan : **UDD PMI DKI JAKARTA** Tanggal : _____

Nama Donor : _____ ☐ Laki-Laki / ☐ Perempuan
No. Identitas/KTP/SIM : _____ RT/RW : _____ No. : _____
Alamat Rumah : _____ Kecamatan : _____
Kelurahan : _____ Telp/Hp : _____
Wilayah : _____
Pekerjaan : 1. TNI/POLRI 2. Peg. Negeri 3. Peg. Swasta 4. Mahasiswa/Pelajar
5. Petani/Buruh 6. Wiraswasta 7. Lain-Lain

Tanggal Lahir : _____ Bulan : _____ Tahun : _____ No. Donor : _____
Penghargaan yang telah diterima : ☐ 10x ☐ 25x ☐ 50x ☐ 75x ☐ 100x
Bersediakah saudara donor pada waktu bulan puasa : ☐ Ya ☐ Tidak
Donor terakhir tanggal : _____ Sekarang donor yang ke : _____ kali

Pendaftaran : _____ Transaksi : _____

DIISI OLEH PETUGAS HB

Nama Petugas HB : _____
Macam Donor : ☐ SUKARELA ☐ PENGGANTI ☐ LANGSUNG
Kadar Hb : _____ gr% (HB : 12,5 – 17 gr%)
Berat Badan : _____ Kg
Golongan Darah : **[A] [B] [AB] [O]**

DIISI OLEH DOKTER

Riwayat Medis : tua / lain-lain : _____ TD : _____ Nadi : _____ Suhu : _____
☐ Ditolak ☐ Diambil sebanyak : 250 cc ☐ 350 cc ☐ 450 cc
Kantong : ☐ S / ☐ DK / ☐ DB / ☐ T / ☐ O / ☐ CK
Kode Dokter : _____ Tanda Tangan : _____

DIISI OLEH PETUGAS AFTAP

Nama Donor, Gol. Darah, No. Kantong, No. Sampel cocok dengan yang tertera di formulir : ☐ Ya ☐ Tidak
Pengambilan : ☐ Baik ☐ Tidak Lancar ☐ Bocor ☐ Stop ☐ cc
Reaksi Donor : ☐ Pusing ☐ Pingsan ☐ Lain-Lain
Nama Petugas Aftap : _____ No. Kantong : _____
Jam Mulai : _____ Selesai : _____

Palang Merah Indonesia UNIT TRANSFUSI DARAH DAERAH PMI DKI JAKARTA
Jl. Kramat Raya No.47 Jakarta 10450
Telp. (021) 3906666, (Hunting) Fax. (021) 3101107

Selamat datang, terima kasih atas kesediaan Anda meluangkan waktu untuk menyumbangkan darah. Semoga Tuhan membalas amal kebajikan Anda. Selamat menyumbangkan darah.
Mohon diisi dengan sejujurnya untuk keselamatan Anda dan calon penerima darah Anda.
(Beri tanda x (silang) pada jawaban Anda)

Apekah Anda :	Ya	Tidak	TidakTah
1. Sehat pada hari ini	☐	☐	☐
2. Sedang minum obat-obatan (aspirin, antibiotik) dalam 1 minggu terakhir	☐	☐	☐
3. Memiliki riwayat penyakit : Kuning/Hepatitis	☐	☐	☐
- Sifilis	☐	☐	☐
- Malaria	☐	☐	☐
- Gangguan darah (hemofilia)	☐	☐	☐
- Jantung (jantung koroner, gagal jantung)	☐	☐	☐
- TBC	☐	☐	☐
- Alergi	☐	☐	☐
- Sesak nafas (asma)	☐	☐	☐
- Kencing manis (diabetes)	☐	☐	☐
- Gigitan	☐	☐	☐
4. Sering Pingsan (kejang-kejang)	☐	☐	☐
5. Dalam 12 bulan terakhir : - Operasi	☐	☐	☐
- Transfusi darah	☐	☐	☐
- Vaksinasi	☐	☐	☐
- Cuci darah	☐	☐	☐
- Transplantasi organ	☐	☐	☐
- Tato/tindik/akupunktur tidak menggunakan jarum steril	☐	☐	☐
6. Apakah Anda petugas kesehatan	☐	☐	☐
7. Memiliki anggota keluarga dengan riwayat penyakit kuning	☐	☐	☐
8. Pemah kontak darah dengan penderita penyakit kuning (Hepatitis)	☐	☐	☐
9. Pemah kontak darah dengan penderita HIV/AIDS	☐	☐	☐
10. Pemah menggunakan narkoba atau memakai jarum suntik bergantian	☐	☐	☐
11. Pemah berganti-ganti pasangan tanpa menggunakan pengaman (kondom)	☐	☐	☐
12. Bagi wanita : sedang hamil/menstruasi	☐	☐	☐

INFORMASI TENTANG PEMERIKSAAN LABORATORIUM

- Darah Anda akan diperiksa terhadap penyakit Hepatitis B dan C, HIV dan Sifilis.
- Hasil pemeriksaan laboratorium Anda tidak diinformasikan kepada orang lain.

Yth. UDD PMI DKI Jakarta

Saya telah membaca dengan saksama informasi yang diberikan dan menjawab pertanyaan-pertanyaan dengan jujur. Saya mengerti dan bersedia menyumbangkan darah 250 cc lebih dan setuju diambil contoh darah untuk keperluan pemeriksaan laboratorium atau ritual sebanyak 5-10 cc. Selain itu, bila ternyata pemeriksaan laboratorium reaktif atau merugikan, saya setuju darah saya tidak ditransfusikan pada orang sakit dan setuju diberi kabar ke alamat :

Tanda tangan dokter : _____ Tanda tangan donor : _____
() ()

Silahkan mengisi pendaftaran donor :>

Gambar 3.2. Contoh lembar Informed Consent donor di UTD PMI DKI Jakarta halaman 3-4

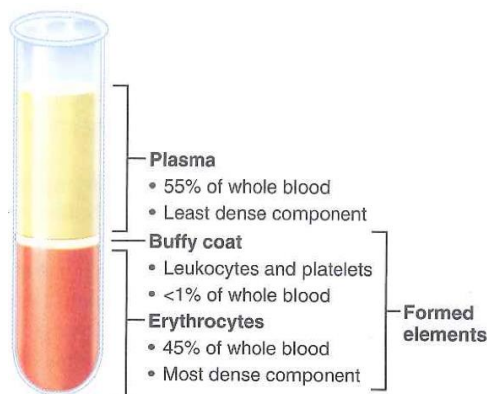
Pada bab ini akan dibahas tentang darah beserta komponen penyusunnya, pengolahan darah dan juga macam-macam komponen darah, antar lain : sel darah merah pekat (DMP=PRC (Packed Red Cell)), sel darah merah miskin leukosit (leukodepleted PRC), leukosit (Buffy Coat) dan trombosit konsentrat (Thrombocyte Concentrate=TC). Sedangkan komponen darah non selular, antara lain : plasma donor tunggal, plasma segar beku (Fresh Frozen Plasma=FFP) dan Kriopresipitat. Selain itu juga fraksionasi plasma memungkinkan kita secara terpisah mengambil albumin, gamaglobulin, dan faktor pembekuan (FVIII pekat, FIX pekat) serta sebagian serin protease seperti alfa-1 antitripsin dan antitrombin II dari kumpulan plasma donor dalam jumlah besar.

Topik 1

Darah

A. DARAH DAN KOMPONEN PENYUSUNNYA

Darah adalah jaringan cair pada tubuh manusia yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebesar 55% dan korpuskuler / sel darah (bagian padat darah) sebesar 45% .Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Volume total darah orang dewasa diperkirakan sekitar 5-6 liter atau 7% - 8% dari berat tubuh seseorang.



Gambar 3.3 Komposisi Darah

(Sumber : Human Anatomy and Physiology 2nd Edition, Marieb)

1) Plasma Darah

Plasma darah adalah salah satu penyusun darah yang berwujud cair serta mempengaruhi sekitar 5% berat badan manusia. Plasma darah memiliki warna kekuning-kuningan yang didalamnya terdiri dari 90 % air, 8 % protein, 0,9% (mineral, oksigen, enzim, antigen) dan sisanya adalah bahan organik (lemak, kolesterol, urea, asam amino, dan glukosa).

Plasma darah adalah cairan darah yang berfungsi mengangkut dan mengedarkan sari-sari makanan ke seluruh bagian tubuh manusia, serta berfungsi mengangkut zat sisa metabolisme dari sel-sel tubuh atau dari seluruh jaringan tubuh untuk dibuang ke organ pengeluaran.

Beberapa protein terlarut dalam plasma darah, antara lain :

- Albumin berfungsi untuk memelihara tekanan osmotik.
- Globulin berfungsi untuk pembentukan antibodi.
- Faktor pembekuan darah untuk proses hemostasis.

Seperti telah disebutkan diatas bahwa darah yang berbentuk cairan terdapat sekitar 55% dari darah dan untuk mendapatkan bagian itu kita bisa lakukan dengan cara memutarnya dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.

Sejumlah darah didalam wadah apabila dibiarkan, maka selang beberapa waktu kemudian darah tersebut akan membeku dan selanjutnya akan mengalami retraksi sehingga cairan didalam darah seolah-olah diperas keluar dari bagian yang padatnya. Proses pembekuan ini biasanya terjadi selama $\frac{1}{2}$ - 2 jam dan proses retraksi yang sempurna terjadi selama 24 jam.

Cairan yang diperas dari bekuan darah berwarna kuning, inilah yang disebut sebagai SERUM, yaitu cairan darah yang tidak mengandung fibrinogen karena dalam proses pembekuan tidak diberi anti pembeku darah sehingga fibrinogen diubah menjadi fibrin. Apabila darah itu diberi anti pembeku darah maka fibrinogen ini tidak diubah menjadi fibrin sehingga dalam cairan darah tersebut masih mengandung fibrinogen dan dikenal dengan PLASMA, itulah bedanya plasma dengan serum.

2) Korpuskuler (Bagian Padat Darah)

Bagian padat darah atau sel-sel darah, terdiri dari :

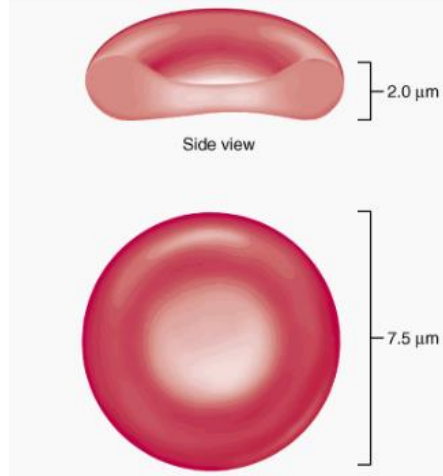
a) Sel darah merah (eritrosit)

Sel darah merah atau sering juga disebut eritrosit berasal dari bahasa Yunani, yaitu erythos yang berarti merah dan kythos yang berarti selubung atau sel. Eritrosit merupakan bagian darah yang mengandung hemoglobin (Hb). Hemoglobin merupakan biomolekul pengikat oksigen, sedangkan darah yang berwarna merah ini dipengaruhi oleh oksigen yang diserap dari paru-paru. Pada saat darah mengalir ke seluruh tubuh, hemoglobin melepaskan oksigen ke sel dan mengikat karbon dioksida. Jumlah hemoglobin pada orang dewasa kira-kira 11,5 sampai dengan 15,0 gram per cc darah.

Normal kadar hemoglobin dalam darah akan bervariasi tergantung pada usia, jenis kelamin. Selain kedua faktor tersebut ketinggian suatu tempat juga berpengaruh terhadap kadar hemoglobin serta dipengaruhi juga oleh faktor makanan. Pada orang yang normal, konsentrasi hemoglobin pada orang yang tinggal di daerah dataran yang tinggi akan lebih tinggi kadar hemoglobinnya dari pada orang yang tinggal di dataran rendah, hal ini berhubungan dengan kadar oksigen di udara. Pada bayi yang baru lahir kadar hemoglobinnya tinggi diatas orang dewasa yaitu 17 – 23 gr/dl. Kadar hemoglobin ini akan menurun setelah bayi berumur 2 bulan yaitu sekitar 9-14 gr/dl. Pada usia 10 tahun kadar normalnya sekitar 12-14 gr/dL untuk wanita, sedangkan laki-laki 14-18 gr/dL. Angka normal ini akan menurun pada usia diatas 50 tahun.

Sel darah merah memerlukan protein karena strukturnya terdiri dari asam amino dan memerlukan juga zat besi, sehingga diperlukan diet seimbang zat besi. Di dalam tubuh jumlah

sel darah merah ini bisa berkurang, ataupun terjadi penurunan kadar hemoglobin dalam sel darah merah. Kadaan tersebut dikenal sebagai anemia yang biasanya bisa disebabkan oleh pendarahan hebat, anemia hemolitik, dan kelainan eritropoiesis.



Gambar 3.4 Struktur Eritrosit

Bentuk sel darah merah adalah cakram bikonkaf dengan diameter 6-8 μm dan tebalnya sekitar 2 μm. Eritrosit merupakan sel yang paling kecil jika dibandingkan dengan sel sel lain dalam tubuh manusia selain trombosit dan juga jumlahnya paling banyak jika dibandingkan dengan sel darah lainnya. Secara normal, didalam darah seorang laki-laki dewasa terdapat 25 triliun sel darah merah atau setara dengan 5 juta sel darah merah dalam satu mm³. Sedangkan pada perempuan dewasa terdapat 4,5 juta sel darah merah dalam satu mm³.

Masa hidup sel darah merah (eritrosit) adalah 120 hari. Proses dimana pembentukan eritrosit disebut eritropoiesis. Sel darah merah yang rusak akan pecah atau lisis dan menjadi partikel-partikel kecil dalam hati dan limpa. Sebagian besar sel darah merah akan dihancurkan di limpa, sebagian yang loos akan dihancurkan oleh hati. Organ hati menyimpan kandungan zat besi dari hemoglobin yang akan kemudian diangkut oleh darah ke sumsum tulang untuk membentuk sel darah merah yang baru. Sumsum tulang akan memproduksi eritrosit dengan laju produksi sekitar 2 juta eritrosit per detik. Produksi ini distimulasi oleh hormon eritropoietin (EPO) yang di produksi oleh ginjal. Hormon ini juga sering digunakan para atlet dalam suatu pertandingan sebagai doping.

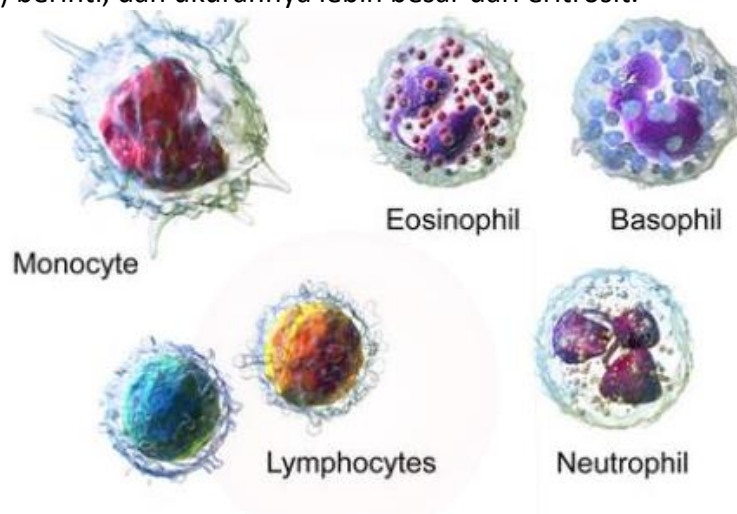
Eritrosit muda yang ada didalam darah dinamakan retikulosit yang masih mengandung asam ribonukleat (RNA). Retikulosit ini berjumlah 1 % dari semua darah yang beredar. Retikulosit terdapat pada sumsum tulang maupun darah tepi. Di dalam sumsum tulang memerlukan waktu kurang lebih 2-3 hari untuk menjadi sel yang matang, sesudah itu retikulosit akan masuk ke dalam darah. Retikulosit masuk ke sirkulasi darah tepid an bertahan kurang lebih selama 24 jam sebelum akhirnya mengalami pematangan menjadi eritrosit.

Untuk mengidentifikasi RNA pada retikulosit harus menggunakan pewarnaan khusus diantaranya *brilliant cresyl blue* atau *new methylene blue solution*.

b) Sel darah putih (leukosit)

Sel darah putih atau leukosit memiliki ukuran yang lebih besar jika dibandingkan dengan eritrosit. Jumlah normal pada orang dewasa mengandung 4.000-10.000 sel leukosit /mm³. Tidak seperti sel darah merah, sel leukosit memiliki inti (nukleus) dan sebagian besar leukosit dapat bergerak seperti amoeba serta dapat menembus dinding kapiler. Sel darah putih diproduksi dalam sumsum tulang, kelenjar limfa dan juga limpa.

Sel darah putih memiliki ciri-ciri, antara lain tidak berwarna (bening), bentuk tidak tetap (amoeboid) berinti, dan ukurannya lebih besar dari eritrosit.



Gambar 3.5 Jenis Leukosit

Berdasarkan ada tidaknya granula pada sitoplasma, leukosit dibagi menjadi :

➤ Leukosit bergranula (granulosit)

- 1) Neutrofil adalah sel darah putih yang paling banyak, yaitu sekitar 60%. Ada dua jenis neutrofil yaitu neutrofil batang (stab) dan juga neutrofil segmen. Neutrofil segmen disebut juga neutrofil polimorfonuclear, karena inti selnya terdiri atas beberapa segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam berjumlah 3 – 6 lobus dan dihubungkan dengan benang-benang kromatin. Apabila jumlah lobus pada neutrofil lebih dari 6 lobus, disebut dengan neutrofil hipersegmen. Granula sitoplasma tampak tipis dengan prosedur pewarnaan pada umumnya yaitu menggunakan pewarna giemsa. Jumlah neutrofil segmen kurang lebih 50-70% dari keseluruhan leukosit. Sedangkan neutrofil batang merupakan bentuk sel neutrofil muda dan sering disebut juga neutrofil tapal kuda., karena mempunyai inti seperti tapal kuda. Seiring pematangannya sel neutrofil batang ini bentuk intinya akan berubah menjadi bersegmen menjadi neutrofil segmen.

Pada umumnya neutrofil berfungsi sebagai fagositosis terutama terhadap bakteri. Neutrofil bersirkulasi di dalam darah sekitar 10 jam dan dapat hidup selama 1-4 hari di dalam jaringan ekstrasvaskular. Sekali bermigrasi menuju jaringan ekstrasvaskular, neutrofil tidak akan kembali lagi ke dalam darah. Populasi neutrofil di sepanjang permukaan endotel pembuluh darah akan dengan cepat berubah pada saat terjadi stres atau infeksi.

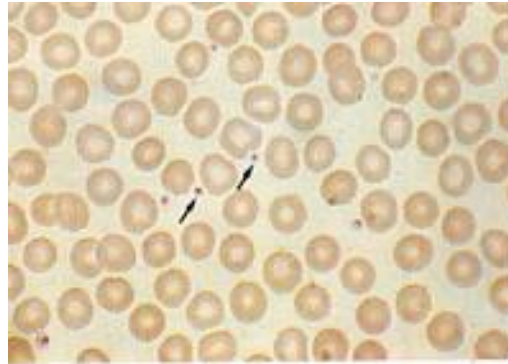
- 2) Eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah –orange (eosinofilik) yang tampak pada apusan darah tepi. Intinya bersegmen (pada umumnya dua lobus). Fungsi eosinofil juga sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terutama terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Jumlah eosinofil normal adalah 2-4% dan akan meningkat bila terjadi reaksi alergi atau infeksi parasit.
- 3) Basofil mengandung granula kasar berwarna ungu atau biru tua dan seringkali menutupi inti sel yang bersegmen. Merupakan jenis leukosit yang jumlahnya paling sedikit yaitu < 2% dari jumlah keseluruhan leukosit. Granula pada basofil mengandung heparin (antikoagulan) histamin, dan substansi anafilaksis. Basofil berperan dalam reaksi hipersensitivitas yang berhubungan dengan Immunoglobulin F (IgF).

➤ Leukosit tidak bergranula (agranulosit)

- 1) Limfosit adalah leukosit yang tidak bergranula yang jumlahnya kedua paling banyak setelah neutrofil, yaitu 20-40% dari total leukosit. Jumlah limfosit pada anak-anak relatif lebih banyak dibandingkan dengan jumlahnya pada orang dewasa, dan jumlah limfosit ini meningkat apabila terjadi infeksi virus. Ada beberapa jenis leukosit berdasarkan ukurannya, antara lain:
 - *Resting Lymphocyte*, biasanya berukuran kecil (7-10µm), hampir sama dengan ukuran eritrosit dengan inti sel berbentuk bulat atau oval.
 - *Reactive(atypical) Lymphocyte*, berukuran paling besar dan jumlah meningkat apabila terjadi infeksi, misalnya mononukleosis.
 - *Large granular Lymphocyte*, berukuran lebih besar daripada limfosit kecil yang mengandung granula kasar azurofilik. Limfosit ini berperan sel natural killer (sel NK) dalam imunologi.

Berdasarkan fungsinya, limfosit dibagi atas sel B dan sel T. Sel B terutama berefek pada sistem imun humoral, yang berkembang ada sumsum tulang dan dapat ditemukan dalam limfonodus, limpa, dan organ lainnya selain berada dalam darah. Setelah terjadi rangsangan dari antigen, sel B akan berkembang menjadi sel plasma yang dapat memproduksi antibodi.

- 2) Monosit, jumlahnya sekitar 3-8% dari total jumlah leukosit. Setelah 8-14 jam berada dalam darah, monosit menuju ke jaringan dan akan menjadi makrofag (disebut juga histosit). Monosit adalah jenis leukosit yang berukuran paling besar. Inti selnya mempunyai granula kromatin halus yang menekuk menyerupai ginjal / biji kacang. Monosit mempunyai dua fungsi, yaitu sebagai fagosit mikroorganisme (khususnya jamur dan bakteri) dan benda asing lainnya serta berperan dalam reaksi imun.
- c) Keping-keping darah (trombosit)



Gambar 3.6. Bentuk trombosit pada sediaan hapus darah tepi

Trombosit adalah sel darah yang berperan penting dalam proses hemostasis. Trombosit melekat pada lapisan endotel darah yang robek (luka) dengan membentuk plug atau sumbat trombosit. Trombosit tidak mempunyai inti sel, berukuran 1-4 μm dan sitoplasmanya berwarna biru dengan granula ungu kemerahan. Trombosit merupakan derivat dari megakariosit yaitu berasal dari fragmen-fragmen sitoplasma megakariosit. Normalnya dalam darah jumlah trombosit sekitar 150.000 sampai dengan 350.000 sel / mL darah. Granula trombosit mengandung faktor pembekuan darah, adenosin difosfat (ADP) dan adenosin trifosfat (ATP), kalsium, serotonin, serta katekolamin. Sebagian besar diantaranya berperan dalam merangsang mulainya proses pembekuan darah dan umur trombosit sekitar 10 hari.

Pada saat kita mengalami luka, permukaan luka tersebut akan menjadi kasar. Jika trombosit menyentuh permukaan luka tersebut, maka trombosit akan pecah. Pecahnya trombosit ini akan menyebabkan keluarnya enzim trombokinase yang terkandung didalamnya. Enzim trombokinase dengan bantuan kalsium (Ca) dan vitamin K yang terdapat dalam tubuh, akan mengubah protrombin menjadi trombin. Selanjutnya trombin merangsang fibrinogen untuk membuat fibrin segera membentuk anyaman untuk menutup luka sehingga darah tidak keluar lagi.

B. FUNGSI DARAH

Darah terbagi menjadi bagian cair (plasma) dan bagian padat (sel darah). Bagian-bagian tersebut memiliki fungsi tertentu dalam tubuh. Secara garis besar, tiga fungsi utama darah adalah sebagai berikut :

- 1) Sebagai transportasi substansi berikut :
 - a. Transportasi O₂ dan CO₂ dengan jalur melalui paru-paru dan seluruh tubuh.
 - b. Transportasi nutrisi hasil pencernaan ke seluruh tubuh.
 - c. Transportasi hasil pembuangan tubuh untuk didetoksifikasi atau dibuang oleh hati dan ginjal
 - d. Transportasi hormon dari kelenjar → target sel
 - e. Membantu mengatur suhu tubuh.
- 2) Sebagai proteksi, darah banyak berperan dalam proses inflamasi :
 - a. Leukosit berfungsi menghancurkan mikroorganisme patogen dan sel kanker.
 - b. Antibodi dan protein lainnya menghancurkan / mengeliminasi substansi patogen.
 - c. Trombosit menginisiasi faktor pembekuan darah untuk meminimalisir kehilangan darah.
- 3) Sebagai regulator, darah berperan dalam meregulasi (mengatur) :
 - a. pH oleh interaksi asam dan basa
 - b. Keseimbangan air dalam tubuh menjaga pertukaran air dari luar jaringan atau sebaliknya.⁵

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Darah dan komponen penyusunnya.
- 2) Komponen penyusun plasma darah.
- 3) Komponen penyusun bagian padat darah (korpuskular)
- 3) Fungsi darah.

Ringkasan

1. Setiap donor yang akan menyumbangkan darahnya harus memenuhi syarat-syarat donor untuk menjaga keselamatan pendonor darah dan penerima darah/resipien.
2. Darah adalah jaringan cair pada tubuh manusia yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah (bagian cair darah) sebesar 55% dan korpuskuler / sel darah (bagian padat darah) sebesar 45%. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu eritrosit, leukosit dan trombosit. Volume total darah orang dewasa diperkirakan sekitar 5-6 liter atau 7% - 8% dari berat tubuh seseorang.
3. Bagian cair (plasma) dan bagian padat (sel darah) pada darah memiliki fungsi tertentu dalam tubuh.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Berikut ini adalah salah satu tujuan dari seleksi donor, **yaitu.....**
 - a. Menjaring donor sukarela (Voluntery Blood Donors)
 - b. Mencari donor dari kelompok resiko tinggi.
 - c. Mendapatkan keuntungan dari penjualan darah
 - d. Menyebarkan infeksi menular lewat transfusi darah
 - e. Mencari donor bayaran.
- 2) Plasma darah tersusun dari beberapa komponen, kecuali
 - a. 90 % air,
 - b. 8 % protein,
 - c. 0,9% (mineral, oksigen, enzim, antigen)
 - d. Bahan organik (lemak, kolesterol, urea, asam amino, dan glukosa).
 - e. Ekstran dan fenol
- 3) Berikut ini adalah yang bukan termasuk bagian padat darah (sel darah) adalah
 - a. Sel darah merah (eritrosit)
 - b. Trombosit
 - c. Faktor pembekuan
 - d. Agranulosit (monosit dan limfosit)
 - e. Granulosit (netrofil, basofil dan eosinofil)

- 4) Salah satu fungsi komponen darah adalah berperan dalam pembekuan darah (hemostasis), yaitu:
- a. Trombosit
 - b. Eritrosit
 - c. Limfosit
 - d. Netrofil
 - e. Monosit
- 5) Komponen darah adalah berperan dalam transportasi oksigen dan karbon dioksida hasil metabolisme di dalam tubuh adalah.....
- a. Trombosit
 - b. Eritrosit
 - c. Limfosit
 - d. Netrofil
 - e. Monosit

Topik 2

Teknologi Pengolahan Darah

A. PENGOLAHAN DARAH SECARA MEKANIK

Komponen darah adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara fisik/mekanik tanpa menambahkan bahan kimia kedalamnya (dengan cara pengendapan/pemutaran). Derivat darah/plasma adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara kimiawi (dengan menambahkan bahan kimia pada proses pembuatannya).³

Pengolahan komponen darah adalah tindakan memisahkan komponen darah donor dengan prosedur tertentu menjadi komponen darah yang siap pakai. Dalam proses tersebut aspek kualitas dan keamanan harus terjamin untuk mendapatkan produk akhir yang diharapkan. Satu unit darah terdiri dari elemen-elemen selular dan non selular yang mempunyai fungsi beragam. Pemisahan komponen darah harus dilakukan dengan cara aseptik, menggunakan kantong darah ganda, kantong darah triple ataupun kantong darah quadriples dan juga kantong darah tunggal dengan “transfer bag”.



Gambar 3.7. Jenis Kantong Darah

Bagi yang sudah pernah mendonorkan darah, mungkin Anda sudah paham benar alur pendonor. Mulai dari pendaftaran, pengisian formulir, cek hemoglobin dan pengambilan darah. Tapi setelah pengambilan darah, tahukah Anda kalau darah yang disumbangkan itu perlu menjalani proses penyaringan kembali sebelum nantinya diberikan pada pasien yang membutuhkan. Secara umum, golongan darah dibedakan dengan A, B, AB, atau O serta dua jenis Rhesus positif (Rh+) dan Rhesus negatif (Rh-).

Setelah kantong darah dipisahkan berdasarkan golongan, semua darah ini masuk laboratorium komponen darah. Di tempat inilah, tiap-tiap darah dipisahkan menjadi trombosit, sel darah merah, plasma, frozen plasma, serta anti hemofili. Proses pemisahan darah menggunakan dua cara yaitu memakai alat otomatis dan manual, biasanya untuk kantong darah yang 450 ml menggunakan mesin otomatis tapi untuk kantong darah 350 ml

menggunakan manual. Gambar di bawah ini adalah peralatan yang diperlukan untuk proses pemisahan komponen darah.



(a)



(b)

Centrifuge Balance
CB220



(c)



(d)

Gambar 3.8. (a) Refrigerated Centrifuge dan mangkok centrifuge, (b) Blastfreezer, (c) Balance/timbangan, (d) Plasma ekstraktor dan sealer

Berikut ini adalah alat, bahan dan cara kerja untuk pemisahan komponen darah secara manual:

- Alat
 - Refrigerated Centrifuge

- Mangkok centrifuge
- Balance/timbangan
- Blastfreezer (untuk membuat FFP)
- Plasma ekstraktor
- Sealer
- Bahan
 - Kantong darah (double/triple)
 - Pemberat (karet gelang)
- Cara Kerja
 - a. Pengolahan darah menggunakan kantong darah triple
 - 1) Alat dan bahan disiapkan.
 - 2) Periksa identitas kantong darah.
 - 3) Masukkan kantong darah ke dalam mangkok centrifuge. Seimbangkan kantong darah pada balance/timbangan. Apabila kantong darah belum seimbang, gunakan pemberat (karet gelang) untuk menyeimbangkan beratnya.
 - 4) Tempatkan mangkok centrifuge yang sudah seimbang ke dalam centrifuge dengan posisi saling berhadapan.
 - 5) Atur kecepatan, suhu dan waktu pada centrifuge.
 - 6) Angkat mangkok centrifuge secara perlahan, tempatkan kantong utama pada plasma ekstraktor dengan perlahan-lahan agar darah tidak tercampur kembali. Jepit dan pasang klem plastik pada selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit.
 - 7) Alirkan plasma ke dalam kantong satelit I, tinggalkan plasma ke dalam kantong utama $\pm 3\text{cm}$ atau 2 jari dari permukaan sel darah merah pekat.
 - 8) Seal selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit Gunting selang penghubung.
 - 9) Masukkan kantong plasma ke dalam mangkok sentrifuge. Seimbangkan kantong plasma pada balance/timbangan. Apabila kantong plasma belum seimbang, gunakan pemberat (karet gelang) untuk menyeimbangkan beratnya.
 - 10) Tempatkan mangkok centrifuge yang sudah seimbang ke dalam centrifuge dengan posisi saling berhadapan.
 - 11) Atur kecepatan, suhu dan waktu pada sentrifuge.
 - 12) Angkat mangkok centrifuge secara perlahan, tempatkan kantong plasma pada plasma ekstraktor dengan perlahan-lahan agar darah tidak tercampur kembali. Jepit dan pasang klem plastik pada selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit.

- 13) Alirkan supernatan ke dalam kantong satelit II, tinggalkan plasma 30-50ml pada kantong satelit I.
- 14) Seal selang penghubung antara kantong utama dengan kantong satelit dan gunting selang penghubung.
- 15) Simpan komponen darah yang telah didapat pada suhu dan kondisi yang sesuai.
 - Kantong utama : Packed Red Cell (PRC) suhu 2-6°C
 - Kantong satelit I : Trombosit Concentrate (TC) suhu 20-25°C
 - Kantong satelit II : *Fresh Frozen Plasma* (FFP) suhu -30 s/d -39°C atau plasma cair suhu 2-6°C

b. Pembuatan *Fresh Frozen Plasma* (FFP)

- 1) Plasma segar dipisahkan ke dalam kantong satelit. Waktu pemisahan dan pembekuan plasma segar dilakukan 6 – 8 jam setelah pengambilan darah donor
- 2) Dipasang klem pada slang penghubung kantong.
- 3) Plasma segar dibekukan pada suhu – 55°C menggunakan alat blastfreezer atau menggunakan biang es + alkohol. Pembekuan cepat pada suhu – 50° s/d – 55°C , bertujuan untuk mempertahankan faktor pembekuan labil agar tidak rusak
- 4) PRC yang telah dipisahkan dimasukkan kotak dengan suhu 4°C.

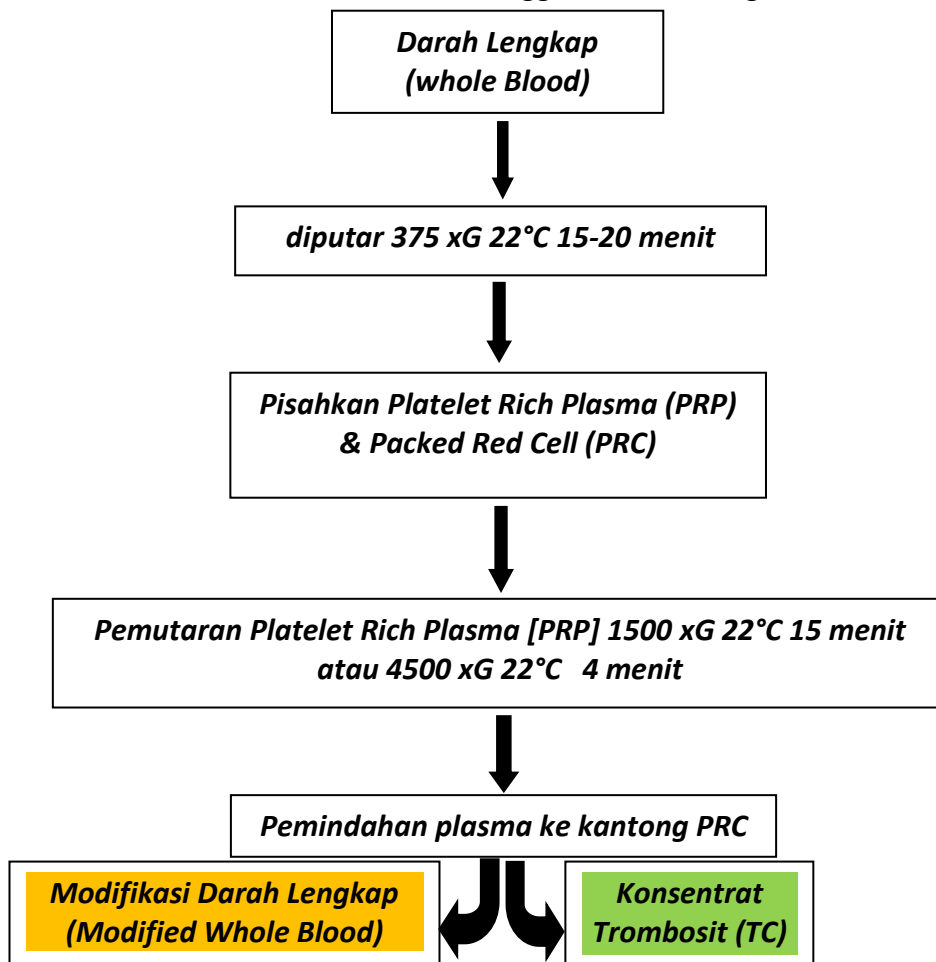
c. Pembuatan Kriopresipitat

- 1) Pencairan FFP pada suhu 4 °C, dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :
 - Meletakkan FFP dalam lemari pendingin darah atau dalam kamar dingin selama 12 jam , atau
 - Memasukkan FFP ke dalam penangas air 4°C selama ≤ 60 menit . Kantong plasma dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kantong plastik yang bersih , baru dimasukkan ke dalam penangas air , untuk mencegah kemungkinan kontaminasi kantong plasma dengan mikroba dalam air dan air dalam penangas dibubuhi antiseptik.
- 2) Bagian yang masih beku pada suhu 4°C tersebut dinamakan kriopresipitat.
- 3) Pisahkan plasma dan Kriopresipitat dengan cara memindahkan plasma ke kantong satelit.
- 4) Simpan kriopresipitat pada suhu – 18°C atau lebih rendah.

➤ Berikut ini adalah skema pemisahan komponen darah dari darah lengkap (*whole blood*) :

- 1) Pengolahan darah lengkap (WB) menggunakan kantong darah double

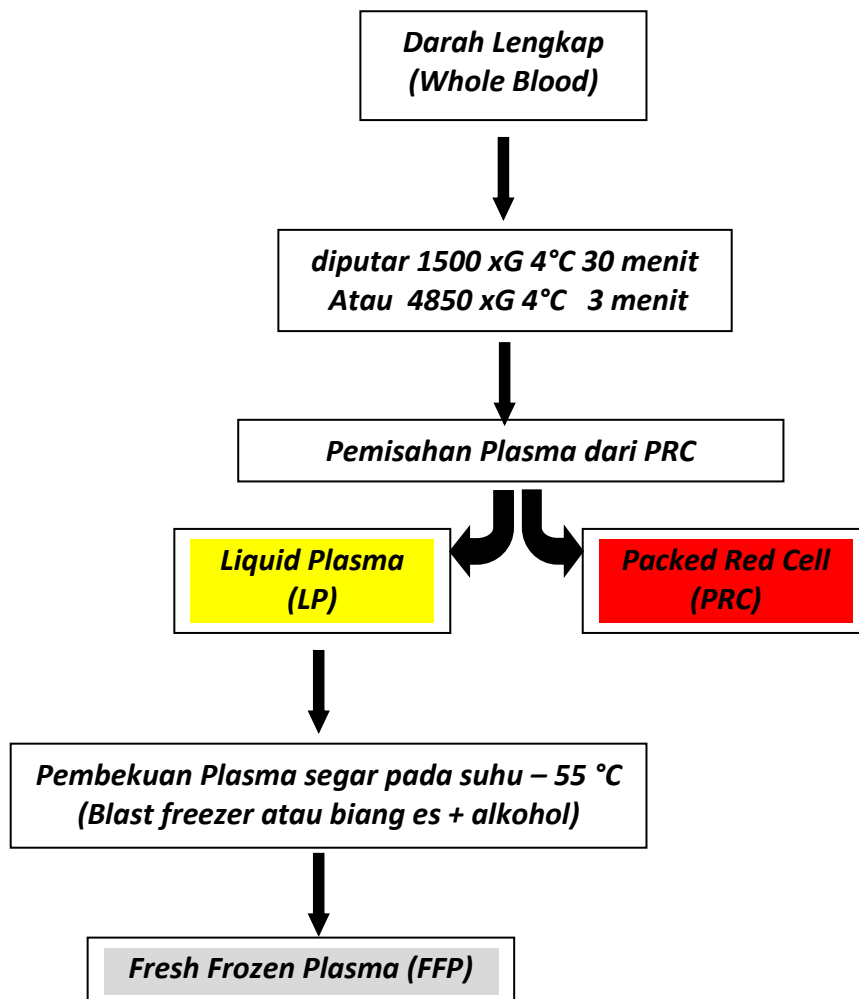
- a. Pemisahan konsentrat trombosit menggunakan kantong darah double



Gambar 3.9 Skema pemisahan konsentrat trombosit menggunakan kantong darah double

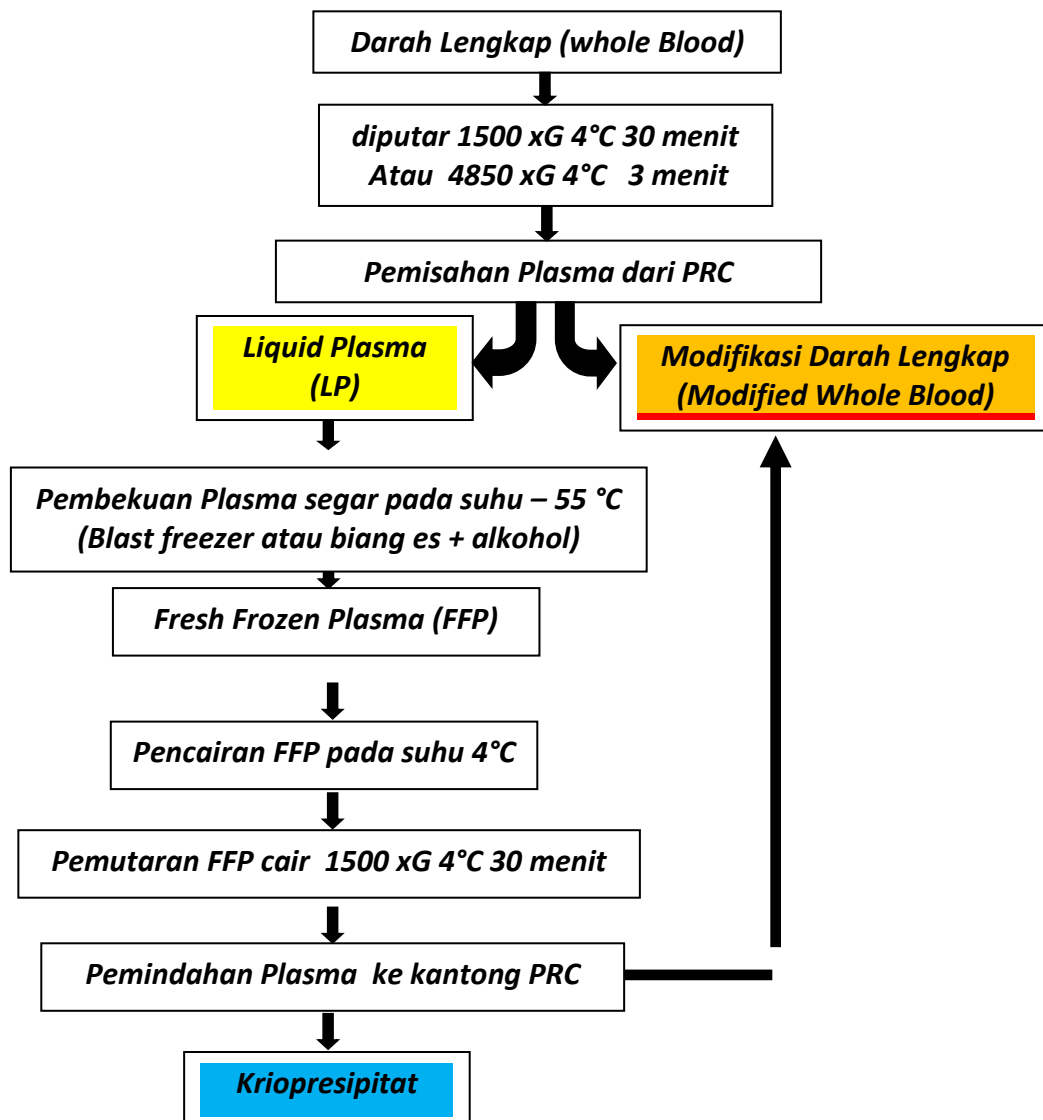
- **Catatan** : *Thrombocyte Concentrate* dipisahkan dalam waktu 6-8 jam setelah pengambilan darah lengkap, apabila lebih dari 8 jam maka yang dipisahkan adalah *packed red cell (PRC)* dan *liquid plasma (LP)*

- b. Pemisahan PRC dan LP serta pembuatan FFP menggunakan kantong darah double



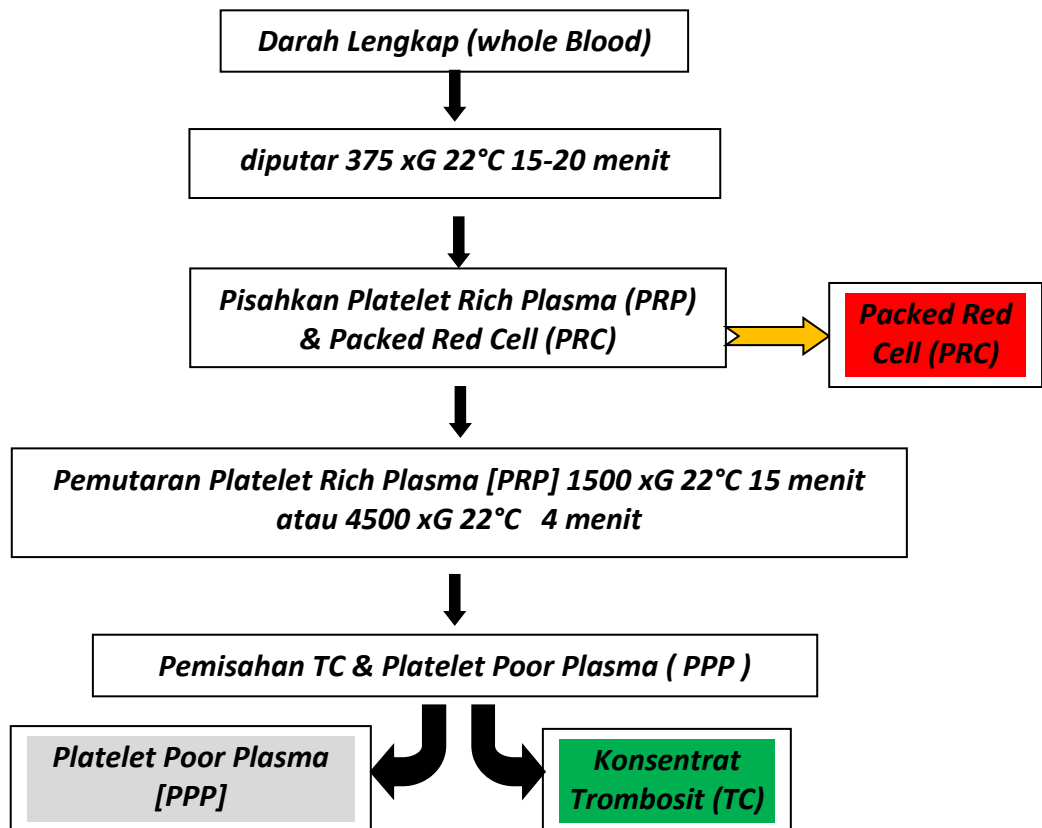
Gambar 3.10 Skema pemisahan PRC dan LP serta pembuatan FFP menggunakan kantong darah double

- c. Pembuatan Kriopresipitat menggunakan kantong darah double



Gambar 3.11 Skema Pembuatan Kriopresipitat menggunakan kantong darah double

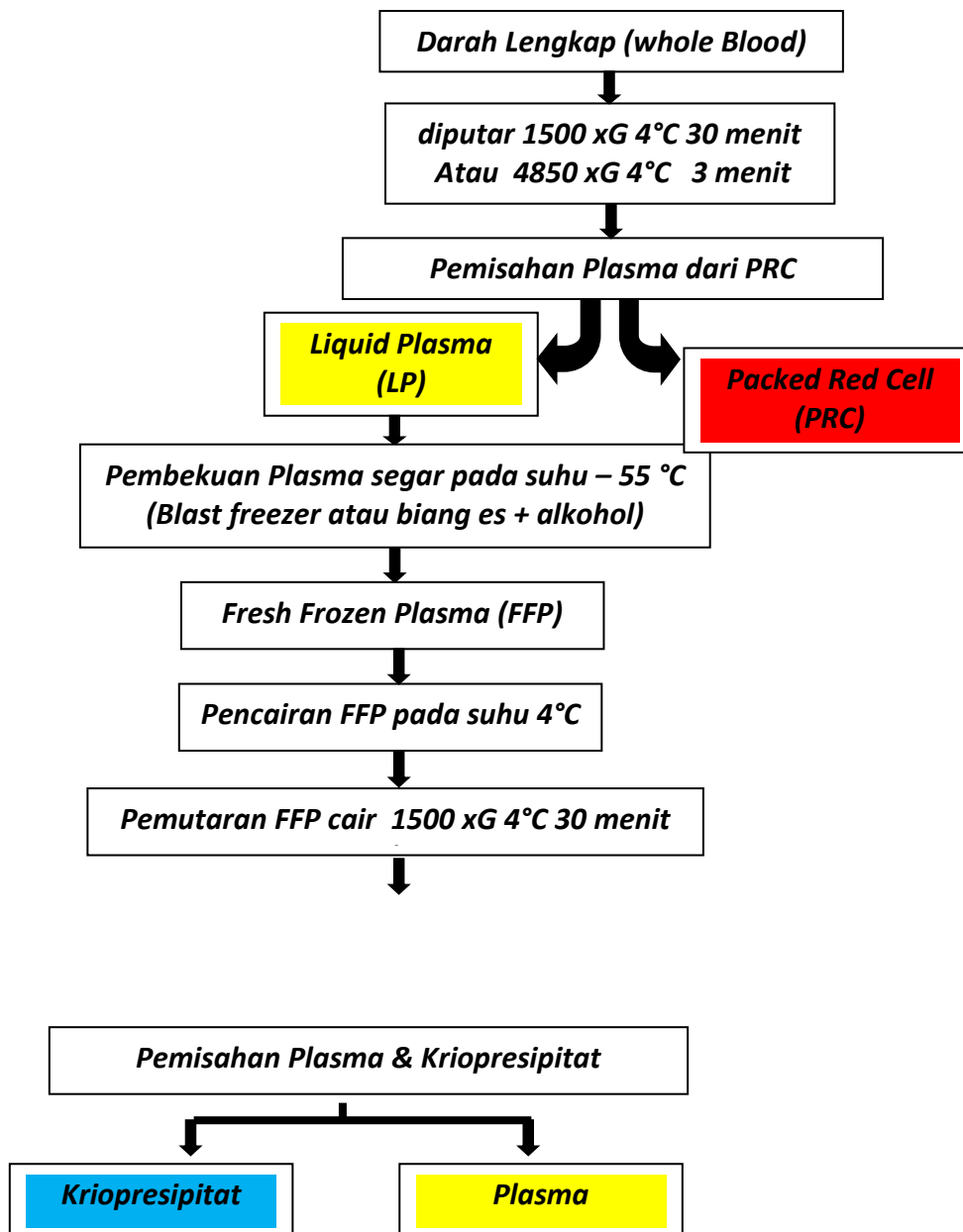
- 2) Pengolahan darah lengkap (WB) menggunakan kantong darah triple
- a. Pemisahan konsentrat trombosit menggunakan kantong darah triple



Gambar 3.12 Skema pemisahan konsentrat trombosit menggunakan kantong darah triple

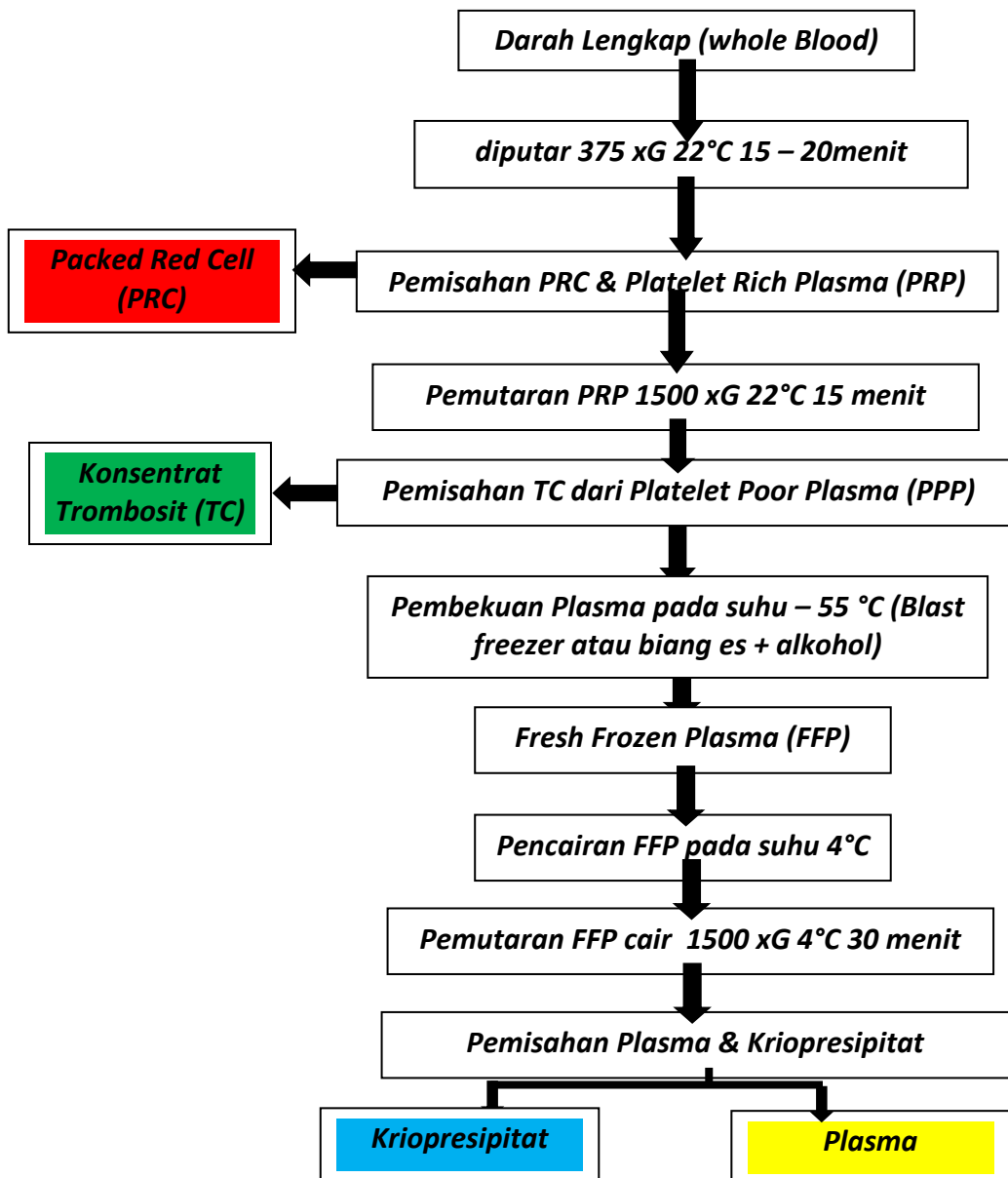
b. Pemisahan PRC dan pembuatan Kriopresipitat menggunakan kantong darah triple

a.



Gambar 3.13 Skema pemisahan PRC dan pembuatan Kriopresipitat menggunakan kantong darah triple

3) Pengolahan darah lengkap (WB) menggunakan kantung darah quadripole



Gambar 3.14. Skema pengolahan darah lengkap (WB) menggunakan kantung darah quadripole

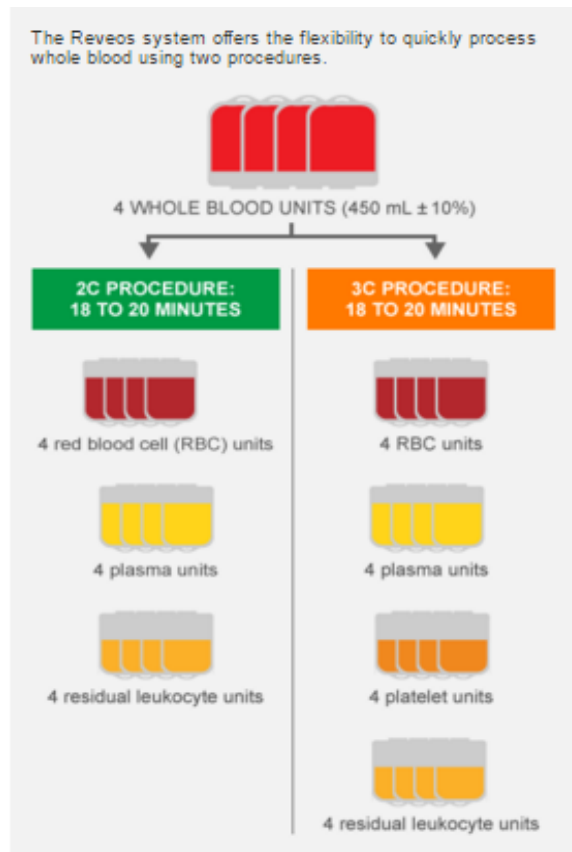
4) Pengolahan darah secara otomatis

Persiapan komponen darah dari darah lengkap (*whole blood*) bisa menjadi prosedur yang memakan waktu banyak dan melibatkan banyak langkah. Saat ini untuk mendapatkan komponen darah untuk transfusi dapat dilakukan secara otomatis oleh mesin, pertama tama darah lengkap (*whole blood*) diproses menjadi *Packed Red Cell*, unit plasma dan buffy coat. Kemudian buffy coat diproses untuk menghasilkan konsentrat trombosit.



Gambar 3.15 REVEOS® automated blood processing system dari Terumo.

Salah satu alat yang sudah digunakan adalah REVEOS® automated blood processing system dari Terumo. Yang memiliki keuntungan, diantaranya Menghasilkan produk berkualitas tinggi , peningkatan hasil produk secara konsisten, memiliki alur kerja yang optimal, penghematan ruang dengan GMP yang baik. Beberapa tahap pada alat yang dilakukan secara otomatis yaitu menyeimbangkan, sentrifugasi, pemisahan, penyegehan, penentuan kadar volume dan platelet serta proses perekaman dan proses data.



Gambar 3.16 Skema proses penolahan darah menggunakan REVEOS® automated blood processing system dari Terumo

B. PENGOLAHAN DARAH SECARA KIMIAWI

Plasma manusia adalah bahan biologis yang kompleks yang terdiri dari ratusan kandungan biokimia, beberapa di antaranya belum sepenuhnya ditandai. di antaranya adalah albumin, berbagai kelas imunoglobulin, faktor koagulasi, antikoagulan, inhibitor protease, dan faktor pertumbuhan.

Konsentrasi dari berbagai komponen protein bervariasi dari sekitar 40 g / liter (albumin) hingga beberapa nanogram / ml untuk beberapa faktor koagulasi, protein plasma massa molekul bervariasi dari beberapa juta Dalton (Von Willebrand multimer kompleks) sampai puluhan ribu Dalton (untuk albumin). Plasma manusia untuk fraksionasi adalah bahan awal untuk pembuatan dari berbagai produk obat yang digunakan untuk pengobatan berbagai cedera dan penyakit mengancam kehidupan. Tabel 10. menjelaskan turunan plasma.

Tabel 9. Turunan Plasma Manusia
Selected proteins of human plasma

Major proteins	Daltons	mg/litre
• Albumin	68 000	40 000
• IgG	150 000	12 500
Protease inhibitors		
• Alpha-2-macroglobulin	815 000	2 600
• Alpha-1-antitrypsin	52 000	1 500
• C1-esterase inhibitor	104 000	170
• Antithrombin	58 000	100
• Heparin cofactor II	65 000	100
• Alpha-2-antiplasmin	69 000	70
Protease		
• ADAMTS13	190	1
Fibrinolytic proteins		
• Plasminogen	92 000	200
• Histidine-rich glycoprotein	75 000	100
Coagulation factors and anti-coagulant proteins		
• Fibrinogen	340 000	3 000
• Fibronectin	250 000	300
• Prothrombin	72 000	150
• Factor XIII	320 000	30
• Protein S	69 000	29
• Von Willebrand Factor (monomer)	220 000	10
• Factor II ^a	72 000	150
• Factor X	59 000	10
• Factor V	286 000	7
• Factor XI	80 000	5
• Factor IX	57 000	5
• Factor XII	76 000	40
• Protein C	57 000	4
• Factor VII	50 000	0.5
• Factor VIII	330 000	0.3
Cytokines^b		
• Interleukin-2	15 000	Traces
• Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)	20 000	< 30 pg/ml
• Erythropoietin	34 000	0.3 µg/litre

Source: Adapted from references 5 and 6.

^a Factor II is the zymogen plasma protein which upon activation generates thrombin, one of the components of fibrin sealant (fibrin glue).

^b There are several cytokines present in traces in plasma. G-CSF and erythropoietin for therapeutic use are obtained by recombinant technology.

Proses skala besar dimana plasma donor dipisahkan menjadi bagian-bagian fraksi protein merupakan turunan plasma, yang kemudian dimurnikan untuk penggunaan obat, difraksinasi produk plasma atau plasma derived (sebagai produk obat). Istilah fraksinasi digunakan untuk menggambarkan urutan proses, termasuk:

- 1) Pemisahan protein plasma (metode presipitasi atau kromatografi), menggunakan dextran atau Hydroxyethyl starch (HES).
- 2) Tahap pemurnian (metode ion exchange atau kromatografi)
- 3) Langkah-selanjutnya untuk inaktivasi atau penghapusan agen infeksi melalui darah (virus dan mungkin prion).¹

Fractionator adalah sebuah perusahaan atau organisasi melakukan fraksinasi plasma untuk memproduksi derived plasma sebagai produk obat. Untuk mendapatkan homogenitas

dalam batch plasma dari ribuan sumbangan plasma donor dan mengurangi risiko penularan virus, sebelum dirilis yang pasti untuk kemasan, produk plasma selalu menjalani beberapa langkah inaktivasi virus tergantung pada produk akhir, seperti:

- a) Pasteurisasi
- b) Pemanasan beku kering produk
- c) Deterjen / pengobatan pelarut
- d) Nanofiltrasi
- e) PH rendah
- f) Chromatography
- g) Filtrasi steril.¹

Plasma manusia untuk fraksinasi dapat diperoleh dengan pemisahan plasma dari darah lengkap atau dengan apheresis.

Tabel 10. Prosesing plasma yang digunakan fraksinasi untuk stabilitas faktor VIII.

Processing of plasma for fractionation to optimize factor VIII stability

Steps	Recommendations
Whole blood storage before plasma separation	• Up to 18 to 20 h at 22 °C ± 1 °C • Not more than 8 h at 4 °C
Freezing	• As soon as possible, within 24 hrs of blood collection or apheresis procedure^a
Freezing rate and temperature	• As specified by plasma fractionator, following relevant regulations pertaining to the countries where plasma will be fractionated and products will be marketed • < -20 °C or colder
Storage temperature	• -20 °C or colder, constant
Transportation temperature	• -20 °C or colder, constant

^a Collection of plasma by apheresis makes it possible to freeze plasma immediately after the end of the collection procedure by contrast to whole blood processing.

Dari tabel di atas menunjukkan suhu pada proses, penyimpanan dan transportasi harus konstan untuk mendapatkan stabilisasi F VIII sebelum dilakukan proses fraksinasi.

C. AFERESIS

Aferesis berasal dari kata *apairores* (Yunani) dan *aphairesis* (Romawi), yang secara harfiah berarti mengambil. Aferesis merupakan teknologi medis di mana darah donor atau pasien dilewatkan melalui suatu alat yang memisahkan keluar satu komponen tertentu dan mengembalikan sisanya ke sirkulasi (tubuh donor).

Sejarah aferesis dimulai pada tahun 1914, John Abel dari Johns Hopkins University melakukan Plasmapheresis (pengambilan plasma dengan mengembalikan sel darah merah) pertama kali pada seekor anjing dalam penelitian ginjal buatan. Pada tahun 1940-1941, Dr. Edwin Cohn dari Harvard mengembangkan fraksinasi etanol dingin untuk menghasilkan

albumin. Tahun 1959, Skoog dan Adams menggunakan plasmapheresis manual pada pasien penderita Waldenstrom untuk mengurangi kekentalan serum. Selanjutnya tahun 1966, Dr. Emil Freireich melakukan leukopheresis pertama kali pada pasien CML menggunakan pemisah darah sentrifugal.



Gambar 3.17. Proses pengambilan darah secara aferesis

Tujuan Aferesis antara lain :

- 1) **Untuk donor**, yaitu memudahkan pengumpulan komponen darah dari donor: PRC, Trombosit, Granulosit, plasma.
- 2) **Untuk terapi**, yaitu menghilangkan zat yang tidak diinginkan seperti antibodi, lipid, mengurangi kelebihan WBC/Trombosit dan untuk penderita thalasemia.

Saat ini ada beberapa jenis donor apheresis, antara lain :

- 1) Trombaferesis yaitu proses apheresis untuk mengambil trombosit;
- 2) Eritraferesis yaitu proses apheresis untuk mengambil sel darah merah;
- 3) Leukaferesis yaitu proses apheresis untuk mengambil sel darah putih; dan
- 4) Plasmaferesis yaitu proses apheresis untuk mengambil plasma.

Syarat untuk menjadi donor apheresis juga ada perbedaan dengan syarat donor biasa, yaitu dalam hal:

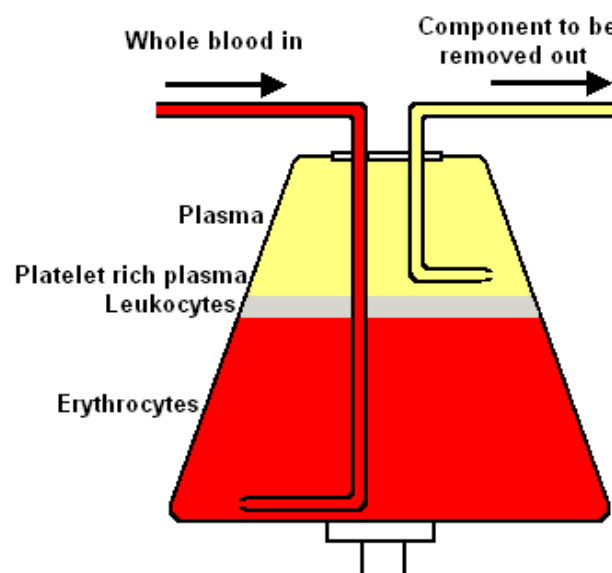
- Usia 17-60 tahun
- Berat badan Berat Badan Pria minimal 55 kg dan wanita minimal 60 kg
- Kesehatan baik, tidak sedang demam atau mengkonsumsi obat seperti antibiotik, aspirin
- Tekanan darah:

- sistole : 110-150 mmHg
- diastole : 70-90 mmHg
- Berat Badan Pria minimal 55 kg dan wanita minimal 60 kg.
- Kadar Hb 13-17 gr/%.
- Interval donor minimal 2 minggu sekali. Tetapi khusus untuk eritraferesis, minimal 8 minggu sekali dan untuk plasmaferesis, minimal 1 minggu sekali.

Khususnya donor trombosit, setelah melakukan donor platelet apheresis, maka jumlah trombosit akan pulih kembali 100% dalam waktu 2 x 24 jam. Adapun pada eritraferesis, jumlah eritrosit akan pulih dalam 4-8 minggu. Dengan demikian, para pendonor apheresis dapat melakukan donor lebih banyak dari donor biasa yaitu maksimal 24 kali per tahun (interval donor minimal 2 minggu sekali).

Metode pemisahan komponen darah secara aferesis dibagi menjadi dua metode:

- 1) Sentrifugasi, prinsip kerja pemisahan komponen darah berdasarkan densitas.



Gambar 3.18. Aferesis metode sentrifugasi

Metode sentrifugasi aferesis, dibagi menjadi dua, yaitu :

a. Continuous flow centrifugation (CFC)

Pada dasarnya membutuhkan dua situs penusukan untuk penarikan darah dan pengembalian secara terpisah. Darah dikumpulkan, dipisahkan dengan pemutaran dan dikembalikan secara bersamaan oleh mesin. Keuntungan utama dari sistem ini bekerja pada prosedur volume extracorporeal kecil, dan prinsip ini memiliki keuntungan besar pada orang tua dan anak-anak. Contoh alat yang menggunakan metode ini antara lain :

Terumo BCT (COBE Spectra, Trima, Trima Accel, Spectra Optia), Fenwal (fresenius Kabi (Amicus , Alyx), Fresenius Kabi (AS 104, Com.Tec).



Gambar 3.19 COBE Spectra metode Continuous flow centrifugation aferesis

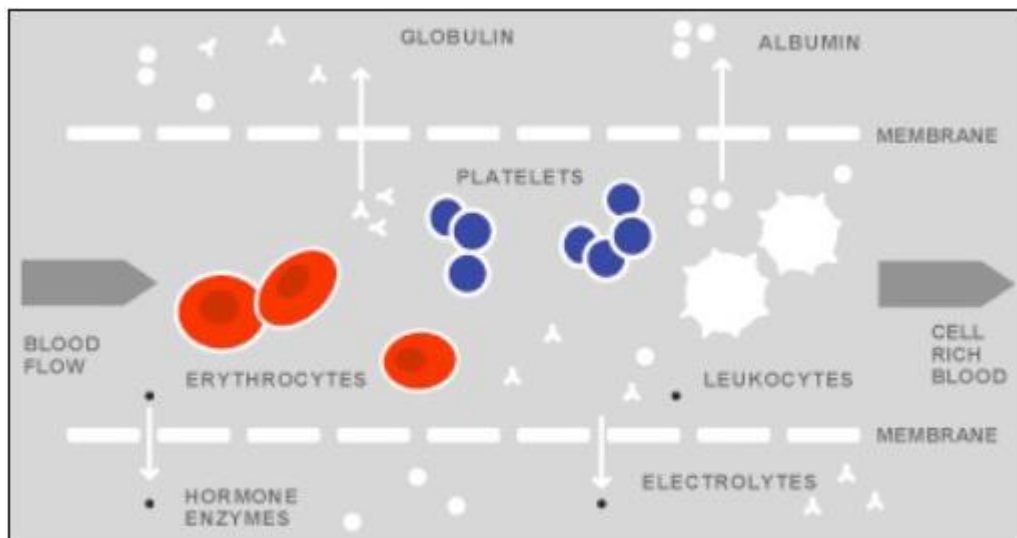
b. Intermittent flow centrifugation/ Discontinuous flow centrifugation (DFC)

Unit sentrifugasi yang bekerja berdasarkan siklus, dimana unit mengumpulkan darah, berputar memisahkan komponen yang diinginkan dari darah dan kemudian mengembalikan komponen sisanya ke donor. Keuntungan utama metode ini membutuhkan situs venipuncture tunggal. Untuk menghentikan darah dari pembekuan, antikoagulan secara otomatis dipompa dan dicampur dengan darah ke dalam mesin aphaeresis. Contoh alat yang menggunakan metode ini antara lain Haemonetics (PCS-2, MCS+8150, MCS+9000, Cymbal), Therakos UVAR – XTS.



Gambar 3.20. Haemonetics MCS+9000 metode Intermittent flow centrifugation aferesis

- 2) Pemisahan melalui filtrasi membran, prinsip kerja pemisahan komponen darah berdasarkan berat molekul. Darah dipompa melewati serat berpori, menggunakan kapiler penyaring plasma dengan ukuran pori yang bervariasi. Berupa membran serat berongga (hollow fiber membran). Pori-pori untuk pemisahan plasma : 0,2 s/d 0,6 μ m. Beberapa parameter harus dikontrol ketat.



Gambar 3.21. Aferesis metode filtrasi membrane

Beberapa alat yang menggunakan metode ini antara lain PrismaFlex (gambro-Baxter), NxStage, Bbraun.



Gambar 3.22 PrismaFlex (gambro-Baxter) aferesis metode filtrasi membran

➤ Prosedur donor aferesis

1) Melakukan skrining golongan darah dan infeksi:

- Donor diambil contoh darah untuk pemeriksaan golongan darah dan skrining infeksi terhadap HIV, HBV, HCV, dan Sifilis, paling cepat dua hari sebelum donor aferesis dilaksanakan
- Contoh darah diambil sebanyak 5-10 ml di daerah lengan yang tidak akan digunakan untuk pengambilan darah aferesis
- Metode pemeriksaan infeksi sesuai standar WHO yaitu ELISA

2) Melakukan skrining hematologi:

- Donor diambil contoh darah untuk pemeriksaan skrining hematologi sesaat sebelum aferesis dilaksanakan.
- Contoh darah diambil sebanyak 3-5 ml di daerah lengan yang tidak akan digunakan untuk pengambilan darah aferesis .

3) Lama proses pengambilan darah aferesis

- Tromboferesis memerlukan waktu 60-90 menit
- Eritroferesis memerlukan waktu $\pm$ 2 jam
- Plasmaferesis memerlukan waktu $\pm$ 1 jam

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Metode-metode pengolahan darah donor.
- 2) Prosedur-prosedur pengolahan darah donor.
- 3) Alat-alat yang dibutuhkan untuk proses pengolahan darah donor.

Ringkasan

1. Pengolahan komponen darah adalah tindakan memisahkan komponen darah donor dengan prosedur tertentu menjadi komponen darah yang siap pakai. Satu unit darah terdiri dari elemen-elemen selular dan non selular yang mempunyai fungsi beragam. Pemisahan komponen darah harus dilakukan dengan cara aseptik, menggunakan kantong darah ganda, kantong darah triple ataupun kantong darah quadruple dan juga kantong darah tunggal dengan “transfer bag” .
2. Setelah kantong darah dipisahkan berdasarkan golongan, semua darah dipisahkan menjadi trombosit, sel darah merah, plasma, frozen plasma, serta anti hemofili. Proses pemisahan darah menggunakan dua cara yaitu memakai alat otomatis dan manual.
3. Aferesis merupakan teknologi medis di mana darah donor atau pasien dilewatkan melalui suatu alat yang memisahkan keluar satu komponen tertentu dan mengembalikan sisanya ke sirkulasi (tubuh donor). Jenis donor apheresis, antara lain Trombaferesis, Eritraferesis, Leukaferesis, dan Plasmaferesis

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Tindakan memisahkan komponen darah donor dengan prosedur tertentu menjadi komponen darah yang siap pakai adalah
 - a. pengolahan komponen darah
 - b. sentrifugasi
 - c. pembekuan sel darah
 - d. pencucian sel darah
 - e. penghancuran komponen darah

- 2) Berikut ini peralatan untuk pengolahan komponen darah secara manual, kecuali....
- a. Refrigerated Centrifuge dan mangkok centrifuge,
 - b. Blastfreezer,
 - c. Balance/timbangan,
 - d. Plasma ekstraktor dan sealer
 - e. Agitator
- 3) Teknologi medis di mana darah donor atau pasien dilewatkan melalui suatu alat yang memisahkan keluar satu komponen tertentu dan mengembalikan sisanya ke sirkulasi (tubuh donor) disebut....
- a. Penyardapan darah
 - b. Aferesis
 - c. Sentrifugasi
 - d. Degliserolisasi
 - e. Pemeriksaan pre transfusi
- 4) Metode sentrifugasi aferesis yang memerlukan dua situs penusukan untuk penarikan darah dan pengembalian secara terpisah, dimana darah dikumpulkan, dipisahkan dengan pemutaran dan dikembalikan secara bersamaan oleh mesin dengan volume extracorporeal kecil adalah
- a. Pengolahan darah secara kimiawi
 - b. Pengolahan darah secara manual
 - c. Pengolahan darah secara otomatis
 - d. Continuous flow centrifugation (CFC)
 - e. Intermittent flow centrifugation/ Discontinuous flow centrifugation (DFC)
- 5) Proses apheresis untuk mengambil sel darah putih disebut.....
- a. Trombaferesis
 - b. Eritraferesis
 - c. Exchange transfusion
 - d. Leukaferesis
 - e. Plasmaferesis

Topik 3

Jenis dan Fungsi Komponen Darah

A. PENDAHULUAN

Terapi transfusi ditujukan untuk mengganti komponen-komponen darah yang berkurang pada pasien simptomatik. Setiap produk selalu memiliki resiko terkait dan perbandingan resiko dengan keuntungan harus selalu dipertimbangkan. Manfaat darah diolah menjadi komponen darah diantaranya :

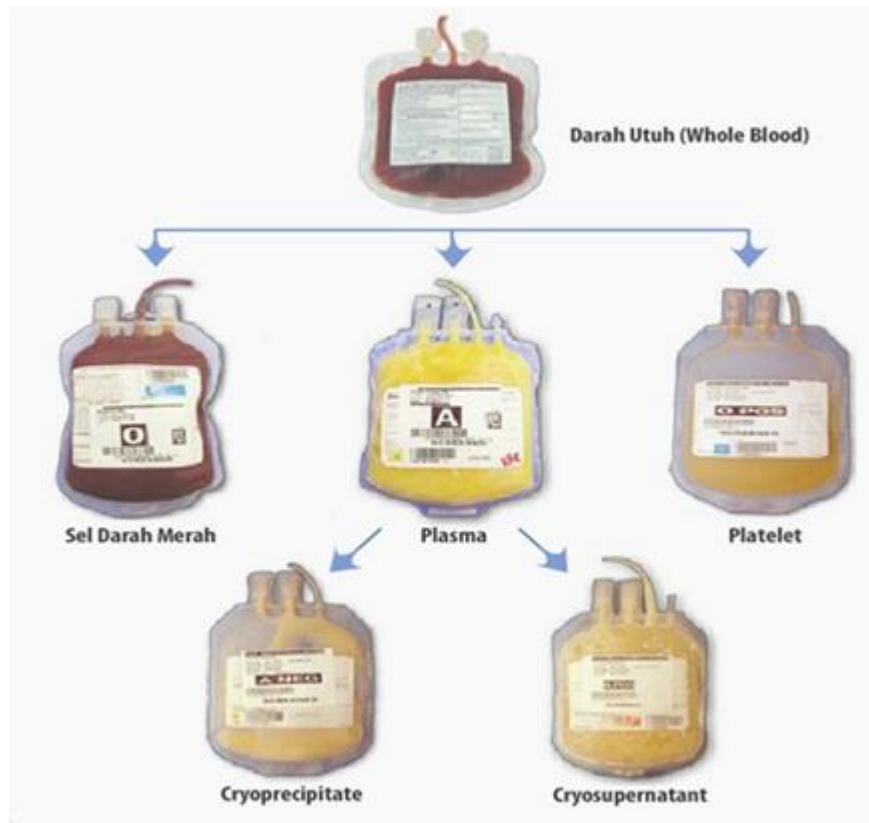
- 1) Pasien memperoleh hanya komponen darah yang diperlukan.
- 2) Mengurangi reaksi transfusi.
- 3) Mengurangi volume transfusi.
- 4) Meningkatkan efisiensi penggunaan darah .
- 5) Mengurangi masalah logistik darah.
- 6) Memungkinkan penyimpanan komponen darah pada temperatur yang optimal.

Komponen darah adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara fisik atau mekanik tanpa menambahkan bahan kimia kedalamnya yaitu dengan cara pengendapan atau pemutaran. Derivat darah (plasma) adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara kimiawi (dengan menambahkan bahan kimia pada proses pembuatannya).

Pengolahan komponen darah adalah tindakan memisahkan komponen darah donor dengan prosedur tertentu menjadi komponen darah yang siap pakai. Dalam proses tersebut aspek kualitas dan keamanan harus terjamin untuk mendapatkan produk akhir yang diharapkan. Satu unit darah terdiri dari elemen-elemen selular dan non selular yang mempunyai fungsi beragam. Pemisahan komponen darah harus dilakukan dengan cara aseptik, menggunakan kantong darah ganda, kantong darah tunggal dengan “transfer bag” .

Berikut ini adalah macam-macam komponen darah selular, antara lain : sel darah merah pekat (DMP=PRC (Packed Red Cell)), sel darah merah miskin leukosit (leukodepleted PRC), leukosit (Buffy Coat) dan trombosit konsentrat (TC). Sedangkan komponen darah non selular, antara lain : plasma donor tunggal, plasma segar beku (Fresh Frozen Plasma=FFP) dan Kriopresipitat.

Plasma mengandung berbagai protein pembekuan, albumin, imunoglobulin dan banyak konstituen lain. Fraksionasi plasma memungkinkan kita secara terpisah mengambil albumin, gamaglobulin, dan faktor pembekuan (FVIII pekat, FIX pekat) serta sebagian serin protease seperti alfa-1 antitripsin dan antitrombin II dari kumpulan plasma donor dalam jumlah besar.



Gambar 3.23. Komponen Darah

B. WHOLE BLOOD (DARAH LENGKAP)



Gambar 3.24. Whole Blood

Darah lengkap (whole Blood) adalah cairan yang mengandung berbagai macam sel darah yang bergabung dengan cairan kekuningan yang disebut plasma. Sel darah ini terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit. Satu unit darah lengkap mengandung sekitar 450 mL darah dan 63 mL antikoagulan. Nilai hematokritnya 36-44% , darah lengkap yang disimpan pada suhu 4 ± 2 °C. Karena trombosit dan leukosit tidak

dapat hidup lama pada temperatur dingin (1 sampai 6°C), maka secara fungsional (isi utama whole blood) terdiri dari sel darah merah dan plasma. Masa hidup sel darah merah tergantung dari preservasi (pengawet) yang digunakan pada kantong darah (CPD 21 hari, CPDA 35 hari). Kadar 2,3 DPG intrasitoplasmik molekul yang memfasilitasi pelepasan oksigen dari hemoglobin, akan berkurang selama penyimpanan dan beregenerasi setelah transfusi darah. Penyimpanan darah lengkap lebih dari 24 jam, menyebabkan penurunan platelet atau granulosit. Adapun jumlah faktor pembekuan V dan VIII berkurang seiring dengan penyimpanan. Lain halnya, kadar faktor pembekuan stabil, albumin dan globulin tetap terjaga pada unit darah lengkap selama penyimpanan.

Perubahan metabolik terjadi pada sel darah merah dan plasma selama penyimpanan. Penggunaan whole blood sebenarnya dapat ditegakkan hanya bila kapasitas pembawa oksigen dan ekspansi volume diperlukan. Kejadian reaksi transfusi juga lebih tinggi dengan menggunakan whole blood. Secara keseluruhan penggunaan whole blood telah berkurang atau jarang digunakan, karena telah ada pemisahan komponen darah. Pasien yang mempunyai volume darah normal, tetapi kadar hemoglobinnya rendah jika di transfusi whole blood dikhawatirkan dapat mengalami gagal jantung kongestif dikarenakan kelebihan volume cairan tubuh (hipervolemia). Pelayanan whole blood untuk transfusi darah harus melalui uji cocok serasi mayor dan minor antara donor darah dan pasien. Peningkatan hemoglobin (Hb) setelah transfusi 450 mL whole blood berkisar antara $0,9 \pm 0,12$ g/dL, sedangkan nilai hematokrit berkisar antara 3-4%.³

Komponen darah lengkap menyediakan daya dukung oksigen dan penambahan volume darah. Terutama digunakan pada pasien dengan indikasi primer yaitu pasien dengan pendarahan aktif yang telah kehilangan 25% dari volume total darahnya. Dampak negatif penggunaan darah lengkap kemungkinan menyebabkan kelebihan cairan. Darah lengkap yang kurang dari 7 hari bermanfaat untuk transfusi penggantian pada neonatus untuk pencegahan hiperkalemia.

C. KOMPONEN SEL DARAH

1) Sel Darah Merah Pekat (*Packed Red Cell*)



Gambar 3.25. Sel Darah Merah Pekat (Packed Red Cell)

Isi utama dalam sel darah merah pekat adalah eritrosit. Darah merah pekat mengandung nilai hematokrit 70%. Temperatur simpan 4 ± 2 °C. pelayanan darah merah pekat dilakukan melalui uji cocok silang serasi antara darah donor dan pasien. Apabila dibuat dengan sistem terbuka, maka lama simpan selama 24 jam, sedangkan apabila darah merah pekat dibuat dengan sistem tertutup, maka masa simpan darah lengkap asalnya.

Darah merah pekat/ packed red cell (PRC) berguna untuk meningkatkan jumlah eritrosit. Peningkatan kadar hemoglobin (Hb) dan hematokrit post transfusi PRC yang berasal dari 450 mL sama dengan darah lengkap. PRC bermanfaat untuk mengurangi volume transfusi, memungkinkan transfusi cocok serasi tidak identik ABO pada keadaan darurat (seperti PRC : golongan darah O). Sel-sel darah merah dapat dipisahkan dari bagian darah lainnya dengan proses sentrifugasi. Sediaan sel darah merah yang terbentuk tetap memiliki semua kapasitas mengangkut oksigen semula tanpa banyak plasma yang mengencerkan efek teurapetiknya. Hal ini terutama penting untuk pasien dengan anemia kronis, gagal jantung kongestif atau orang lain yang mengalami kesulitan mengatur volume darahnya. Sel darah merah lebih efektif dibandingkan sel darah merah lengkap dalam menyediakan kapasitas mengangkut oksigen dan meningkatkan hematokrit pasien. Seperti darah lengkap sel darah merah dengan Citrate Phosphate Dextrose-Adenin (CPD-A) yang disimpan dalam lemari pendingin memiliki waktu simpan 35 hari. Dengan pemakaian larutan antikoagulan aditif (Aditif Solution-AS1, Adsol dan nutricel), waktu simpan dapat diperlama menjadi 42 hari. Jumlah plasma dan sel darah putih yang tersisa dalam sel darah merah yang disimpan di lemari pendingin tidak cukup untuk memicu imunisasi atau menimbulkan reaksi imun pada resipien.

Konsentrat eritrosit merupakan terapi pilihan untuk orang yang mengalami penurunan kapasitas mengangkut oksigen simptomatik akibat anemia akut atau kronis. Konsentrat eritrosit merupakan terapi pilihan untuk orang yang mengalami penurunan kapasitas mengangkut oksigen simptomatik akibat anemia akut atau kronis. Konsentrat eritrosit harus digunakan hanya apabila individu mengalami gejala digunakan untuk meningkatkan hematokrit ke suatu kada tertentu tanpa adanya gejala, walaupun hal ini kadang-kadang dibenarkan sebelum pembedahan.

2) Darah Merah Pekat Miskin Leukosit (*Leukodepleted PRC*)

Isi utama darah merah pekat miskin leukosit adalah eritrosit. Temperature simpan $4\pm 2^{\circ}\text{C}$. Lama simpan selama 24 jam dengan sistem terbuka, sedangkan dengan metode tertutup lama simpannya sama dengan darah lengkap asal. Berguna dengan meningkatkan jumlah eritrosit pasien yang sering memerlukan transfusi darah. bermanfaat untuk mengurangi reaksi panas dan alergi. Satu unit sel darah merah biasanya mengandung 10^9 leukosit.

Leukodepleted adalah komponen darah dengan jumlah leukosit yang sudah dikurangi menurut standar PMK 91 tahun 2015 menjadi kurang dari 1×10^6 per unit. Ada beberapa metode yang digunakan, antara lain : metode pencucian PRC dengan salin, metode sentrifugasi dan penghilangan buffy coat, metode pembekuan dan degliserolisasi, serta metode filtrasi. Metode pencucian PRC dapat menurunkan jumlah leukosit menjadi 10^7 per unit, metode sentrifugasi dan penghilangan buffy coat menurunkan jumlah leukosit menjadi 10^8 per unit, metode pembekuan dan degliserolisasi dapat menurunkan jumlah leukosit menjadi 10^6 - 10^7 per unit, sedangkan metode filtrasi dapat menurunkan jumlah leukosit menjadi kurang dari 1×10^6 per unit.



(a)



(b)

Gambar 3.26 : Leukodepleted metode filtrasi

(a) Proses filtrasi, (b) Kantong darah filter untuk *leukodepleted*.

Irradiasi PRC merupakan cara lain yang belum dilakukan secara rutin di Indonesia untuk mengeliminasi infeksi virus. Menurut penelitian Olivo RA et al, irradiasi komponen darah untuk menghancurkan DNA limfosit sehingga menghambat proliferasi sel yang terinfeksi virus dan mengurangi kejadian transfusion-associated graft-versus-host disease (TA-GVHD). Dosis optimal untuk irradiasi PRC adalah 25 Gy. Apabila menggunakan dosis 15 Gy hasilnya tidak dapat menghambat proliferasi sel, sedangkan dosis 50 Gy dapat menyebabkan kerusakan sel darah. Selain itu kekurangan metode ini adalah dapat meningkatkan kadar kalium plasma, hemolisis, biaya mahal dan penyimpanan hanya 14 hari setelah irradiasi. Jika dibandingkan dengan leukodepleted metode filtrasi, metode irradiasi kurang cocok untuk diterapkan di unit transfusi darah sebagai usaha pencegahan infeksi CMV.

Beberapa indikasi penggunaan produk darah leukodepleted PRC adalah untuk mencegah reaksi demam non hemolitik (Febrile nonhemolitik transfusion reaction, FNHHTR), aloimunisasi HLA dan pencegahan penularan infeksi Cytomegalovirus (CMV) melalui transfusi darah pada wanita hamil, transfusi intra-uterus pada bayi prematur, transfusi pasien defisiensi sistem imun, transfusi pada pasien kelainan darah, pasien yang akan melakukan transplantasi autologus atau alogenik hemopoetik stem sel dan pasien transplantasi organ. Komponen sel darah merah yang sudah dicuci diindikasikan untuk pasien dengan defisiensi IgA yang pernah mengalami reaksi anafilaktoid terhadap plasma.

Komponen PRC yang dibekukan dan degliserolisasi ini hampir sama sekali tidak mengandung trombosit dan plasma serta biasanya diperlukan darah donor yang jarang (misal, dari simpanan donor yang jarang). Sel-sel darah merah tidak dapat diletakkan begitu saja di dalam lemari pendingin untuk disimpan; harus terdapat suatu zat pelindung beku (cryoprotective) untuk mencegah kerusakan pada dinding sel. Gliserol adalah bahan yang paling sering digunakan. Pada saat sel-sel darah merah terpajan larutan gliserol, semua sisa plasma dan hampir semua trombosit dan sel darah putih disingkirkan.

Sel-sel darah merah dapat disimpan dalam keadaan beku berahun-tahun, pada rekonstitusi paling sedikit 70% dari sel semula akan bertahan hidup secara normal apabila ditransfusikan dengan benar. Waktu simpan yang dianjurkan untuk sel-sel beku adalah 3 tahun, tetapi komponen ini dapat disimpan sampai 10 tahun apabila disimpan pada temperature penyimpanan -65°C atau kurang. Setelah sel-sel didegliserolisasi waktu kadaluarsa adalah 24 jam. Sel-sel darah merah yang dibekukan didegliserolisasi diindikasikan bagi orang yang pernah mengalami reaksi hebat terhadap leukosit dan komponen plasma pada packed red cell (PRC) dan khususnya bagi mereka yang pernah mengalami reaksi demam atau anafilaktoid terhadap sel-sel darah merah yang sudah dicuci. Darah yang dibekukan juga dapat digunakan untuk transfusi autologus, walaupun hal ini sangat membutuhkan biaya besar. Pasien yang mengalami sensitisasi berat terhadap protein plasma atau sel darah putih, biasanya dapat ditoleransi transfusi dengan sel darah merah digliserolisasi yang sudah dicairkan tanpa mengalami efek merugikan. Penyimpanan dengan pembekuan juga berguna untuk manajemen inventaris atau dalam bidang kedokteran militer karena sel darah merah yang disimpan dengan cara ini memiliki waktu simpan yang lama. Penyimpanan ini juga mempermudah penyimpanan darah dari golongan-golongan darah yang jarang diperlukan oleh pasien dengan masalah antibodi yang sulit. Banyak unit transfusi darah yang mendorong pasien dengan antibodi kompleks terhadap antigen tertentu untuk menyimpan sel darah merah sendiri jika diperlukan di masa mendatang.

3) Sel darah merah Cuci (*Washed Red Cell*)

Washed red cell diperoleh dengan mencuci packed red cell 2-3 kali dengan saline (NaCl 0,9%), dan kemudian sisa plasma terbuang habis. Karena proses pencucian berlangsung dengan sistem terbuka, produk harus digunakan dalam waktu 24 jam. Mencuci sel darah merah menghilangkan protein plasma, beberapa leukosit, dan sisa trombosit. Produk ini ditunjukkan untuk pasien yang telah mengalami alergi berat akibat transfusi berulang dan reaksi yang tidak bisa dicegah oleh antihistamin. Berguna untuk penderita yang tidak bisa diberi komponen plasma, diantaranya dipakai dalam pengobatan acquired hemolytic anemia dan exchange transfusion. Kelemahan washed red cell yaitu bahaya infeksi sekunder yang terjadi selama proses serta masa simpan yang pendek (4-6 jam).



Gambar 3.27 Kantong pencucian sel darah Merah (washing bag PRC)

Pencucian PRC dibagi dua cara , yaitu :

a) Cara manual :

- Menggunakan kantong cuci (*washingbag*)
- Tambahkan NaCl 0.9 % ke dalam kantong darah yang akan dicuci sampai penuh , melalui slang 1
- Putar 1500 xG 30 menit atau 4850 xG 4°C 3 menit
- Buang supernatan melalui slang 2
- Ulangi prosedur sampai 3 kali melalui slang 3 , 4, dst
- Tinggalkan supernatan sampai Ht 70 %

b) Dengan mesin :

- masukkan PRC kedalam mangkok khusus
- putar
- alirkan NaCl 0.9 % secara terus menerus.
- supernatan dibuang secara kontinyu.
- PRC yang telah dicuci dipindahkan ke dalam kantong darah dengan Ht 70 %.

4) Leukosit Pekat (*Buffy Coat*)

Isi utama leukosit pekat (*Buffy Coat*) adalah granulosit. Leukosit pekat disiapkan dalam bentuk buffy coat dengan volume berkisar antara 50-80 mL. Temperature simpan berkisar antara $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sedangkan lama simpan harus segera ditransfusikan dalam 24 jam. Leukosit pekat berguna untuk meningkatkan jumlah granulosit. Pelayanan pre transfusi adalah melalui uji cocok serasi darah donor dan pasien. Efek samping yang ditimbulkan urtikaria, mengigil, demam.



Gambar 3.28. leukosit pekat(buffy coat)

Saat ini leukosit pekat(buffy coat) jarang digunakan, data yang menunjukkan pemakaian transfusi leukosit pekat pada pasien dewasa septic granulositopenik kurang memuaskan, tetapi granulosit buffy coat yang dikumpulkan dari satu atau dua unit darah segar mungkin bermanfaat dalam penatalaksanaan sepsis pada bayi baru lahir. Cairan granulosit buffy coat ini adalah suspensi granulosit dalam plasma yang dibuat dengan sitaferesis, yang lebih tepat disebut granulosit feresis (granulositoferesis). Komponen ini, sebaiknya mengandung minimal 1×10^{10} granulosit. Granulositoferesis menghasilkan sekitar 1×10^{10} granulosit dalam 300 mL sampai 500 mL plasma, sekitar 25 mL sel darah merah pasti akan mencemari produk granulosit dan juga terdapat trombosit dalam jumlah yang bermakna. Transfusi granulosit jarang menjadi regimen pengobatan untuk leukemia, tetapi pemakaian optimal masih diperdebatkan dan transfusi komponen darah ini seharusnya diberikan hanya dengan protokol yang sesuai.

5) Konsentrat Trombosit (*Thrombocyte Concentrate*)

Isi utama trombosit pekat adalah trombosit dengan volume sekitar 50 mL, temperatur simpan berkisar antara 20 ± 2 °C dan lama simpan 3 hari tanpa goyangan dan 5 hari dengan goyangan. Trombosit pekat berguna untuk meningkatkan jumlah trombosit pasien. Peningkatan post transfusi pada dewasa, rata-rata 5000-10000/ μL . Efek samping yang mungkin timbul setelah transfusi trombosit pekat: urtikaria, menggigil, demam, aloimunisasi antigen trombosit donor.

Saat ini tersedia dua jenis konsentrat trombosit donor yaitu:

1. Konsentrat trombosit unit tunggal yang disebut trombosit dari darah lengkap yang mengandung trombosit lebih dari $5,5 \times 10^{10}$ yang tersuspensikan dalam sejumlah kecil plasma.
2. Konsentrat tromboferesis (*platelet pheresis concentrates*) disisapkan dari sitaferesis, mengandung minimal 3×10^{11} Trombosit (trombosit, feresis). Konsentrat tromboferesis

dari satu donor darah mengandung ekuivalen 6-8 unit trombosit yang berasal dari 6-8 donor acak darah lengkap. Prosedur hemaferesis memungkinkan kita memproses sejumlah besar darah dari satu donor darah karena sel darah merah dan elemen lain segera dikembalikan ke donor. Sejumlah besar plasma, trombosit atau sel darah putih juga dapat diolah dengan teknik ini. Konsentrasi tromboferesis berasal dari satu donor sehingga mengurangi pajanan donor dibandingkan dengan konsentrat yang dikumpulkan secara acak dan berasal dari darah lengkap. Akibatnya, risiko imunisasi atau infeksi terkait transfusi berkurang.



(a)



(b)

Gambar 3.29. (a) Konsentrat trombosit secara manual , (b) Konsentrat trombosit secara aferesis (tromboferesis)

Trombosit dapat disimpan sampai 5 hari pada temperatur $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pada agitator trombosit untuk mencegah penggumpalan trombosit. Masa hidup trombosit yang lebih singkat daripada sel darah merah, dimana trombosit bertahan hidup hanya 8 sampai 10 hari secara *in vivo*, sedangkan eritrosit masa hidupnya sampai 120 hari. Kelangsungan hidup trombosit secara *in vitro* bahkan lebih singkat. Trombosit memiliki waktu simpan maksimum 5 hari, tetapi kelangsungan hidup dan efektifitas pascatransfusi sangat menurun selama penyimpanan.

Efek terapeutik konsentrat trombosit, rata-rata satu unit konsentrasi trombosit mengandung $5,5 \times 10^{10}$ trombosit. Walaupun angka spesifik sangat bervariasi, hal ini merupakan angka rata-rata realistik yang dipengaruhi oleh teknik pemilihan donor, flebotomi, persiapan, penyimpanan, dan pengangkutan yang benar. Pada pasien yang stabil secara hematologis, transfusi satu unit trombosit meningkatkan jumlah trombosit sekitar 5000-10000 permikroliter per meter persegi luas permukaan tubuh. Peningkatan pasca transfusi biasanya diukur pada satu jam dan 24 jam setelah transfusi. Indikasi utama terapi trombosit adalah untuk individu dengan trombositopenia simptomatik. Trombositopenia memiliki banyak mekanisme, dan transfusi trombosit paling efektif jika terjadi gangguan pembentukan trombosit, seperti yang terjadi pada aplasia sumsum tulang (misalnya

pascakemoterapi, atau pada kegagalan sumsum tulang). Selain itu trans fusi trombosit diberikan pada pasien trombositopenia yang berkaitan dengan destruksi sekunder atau sekuestrasi perifer. Apabila trombosit diberikan kepada pasien yang sedang mengalami pendarahan dan rendahnya jumlah trombosit, trombosit yang ditransfusikan akan mengalami destruksi serupa dengan yang dialami trombosit pasien. Pada kasus-kasus ini, transfusi trombosit hanya menyebabkan sedikit perbaikan klinis. Pasien dengan limpa yang besar atau dengan destruksi trombosit akibat autoimun tidak banyak memperoleh manfaat dari transfusi trombosit. Infeksi atau demam tinggioleh sebab apapun juga mempercepat kelangsungan hidup trombosit yang ditransfusikan. Bagaimanapun, evaluasi peningkatan trombosit setelah transfusi, terutama 1 jam dan 24 jam, sangat bermanfaat dalam menentukan kelangsungan hidup trombosit in vivo. Hal ini penting secara klinis dalam penilaian apakah orang yang mendapat transfusi trombosit mengalami aloimunisasi terhadap trombosit tersebut dan juga dalam menentukan dan mendefinisikan terapi trombosit yang paling efektif.

6) Liquid Plasma (LP)

Isi utama liquid plasma adalah plasma yang mengandung faktor pembekuan stabil dan protein plasma, volume pada kantong darah 150 – 220 ml . Suhu simpan pada $4^{\circ}\pm 2^{\circ}$ C sampai dengan 5 hari setelah tanggal kadaluarsa darah lengkap asal. Penggunaan liquid plasma bertujuan untuk :

- a) Meningkatkan volume plasma , tetapi pemakaian cairan pengganti lebih dianjurkan.
- b) Meningkatkan faktor pembekuan stabil [Faktor II , VII , IX , X , XI]



Gambar 3.30. Liquid Plasma (LP)

Pelayanan liquid plasma dengan cara mencocokkan ABO dan Rhesus donor dengan eritrosit pasien. Efek samping yang ditimbulkan, antara lain : urtikaria , menggigil , demam , hipervolemia. Waktu pemisahan dari darah lengkap kapan saja sampai 5 hari setelah tanggal kadaluarsa darah lengkap asal. Metoda pemisahan bisa dilakukan dengan metode plasmaferesis dan juga pemutaran darah lengkap/ whole blood.

7) Plasma Segar Beku (*Fresh Frozen Plasma*)

Isi utama FFP adalah plasma dan faktor pembekuan labil. Volume FFP berkisar antara 150 sampai 220 mL. Temperatur simpan FFP adalah -18°C atau lebih rendah. Lama simpan satu tahun. FFP berguna untuk meningkatkan faktor pembekuan labil apabila faktor pembekuan pekat/kriopresipitat tidak ada. Pelayanan untuk FFP adalah cocok untuk golongan darah ABO dengan eritrosit pasien. Ditransfusikan dalam waktu 6 jam setelah dicairkan. FFP berguna untuk meningkatkan faktor pembekuan. Efek samping pemberian FFP adalah urtikaria, mengigil, demam, hipervolemia. FFP merupakan bagian cair dari unit darah lengkap yang diambil dan dibekukan dalam 6 sampai 8 jam dan disimpan pada temperature -18°C . Karena diproses sedemikian cepat, plasma beku segar juga mengandung faktor koagulasi labil (VIII,V), semua faktor pembekuan lainnya, dan protein plasma.



Gambar 3.31. Fresh Frozen Plasma (FFP)

Indikasi utama pemakaian plasma beku segar adalah pada defisiensi faktor pembekuan dengan gangguan hemostatik di mana masih belum diketahui faktor pembekuan apa yang menjadi penyebab atau terjadi defisiensi multiple. Plasma beku segar seyogyanya jarang, walaupun pernah, diberikan untuk ekspansi volume. Namun, larutan ini dapat secara memuaskan digunakan untuk rekonstruksi sel darah merah untuk transfusi tukar pada bayi baru lahir.

Plasma yang dibekukan dalam 24 jam setelah pengambilan dan plasma yang kurang mengandung kriopresipitat adalah produk sampingan persiapan komponen dan sering lebih murah daripada FFP. Kadar faktor-faktor koagulasi yang labil lebih bervariasi daripada FFP, tetapi produk ini memiliki kadar faktor koagulasi stabil, albumin, zat bakterisidal, opsonin dan konstituen lain yang sama dengan FFP. FFP yang kurang mengandung kriopresipitat merupakan komponen pilihan yang digunakan untuk pengobatan Purpura Trombositopenik

Trombotik (PTT) karena tidak mengandung multimer faktor willebrand yang diperkirakan penting dalam pathogenesis PTT dan berisi aktivitas protease pemecah vWF.³

8) Kriopresipitat (Cryoprecipitate)

Isi utama kriopresipitat adalah faktor pembekuan VIII, faktor pembekuan XIII, faktor von willebrand dan fibrinogen. Temperature simpan -18°C atau lebih rendah dan lama simpan selama 1 tahun. Kriopresipitat berguna untuk meningkatkan faktor pembekuan VIII, faktor pembekuan XIII, faktor von Willebrand (vWF) dan fibrinogen. Pelayanan kriopresipitat dengan mencocokkan golongan ABO dengan eritrosit pasien dan harus ditansfusikan dalam waktu 6 jam setelah dicairkan. Efek samping setelah pemberian kriopresipitat adalah demam dan alergi. Kriopresipitat merupakan bagian plasma yang dingin dan tidak larut yang diproses dari FFP. Kriopresipitat adalah residu gelatinosa yang diperoleh dengan membekukan dan mencairkan secara lambat plasma yang baru diambil. Kriopresipitat mengandung 80 sampai 100 IU faktor VII, vWF dan sekitar 250 mg fibrinogen (minimum 150 mg) dalam volume 10-15 mL/unit.³



Gambar 3.32. Kriopresipitat

Kriopresipitat bermanfaat untuk mengobati pendarahan ringan sampai sedang pada pasien dengan penyakit von willebrand. Apabila diperlukan konsentrasi vWF yang sangat tinggi, seperti pada perdarahan yang mengancam nyawa atau untuk prosedur bedah, lebih baik digunakan beberapa konsentrat komersial yang mengandung vWF. Plasma beku segar dan kriopresipitat juga merupakan sumber terbaik untuk vWF, yang tinggi terdapat di banyak konsentrat faktor VIII komersial. Kriopresipitat juga bermanfaat dalam manajemen keadaan hipofibrinogemia dan pada koagulasi intravascular diseminat dengan konsumsi fibrinogen. Kriopresipitat juga dapat dikenai prosedur-prosedur inaktivasi virus seperti pemanasan dan pemberian pelarut deterjen. Kecenderungan yang sekarang meningkat adalah pemakaian

kriopresipitat untuk menyediakan fibrinogen, yang kemudian dapat diaktifkan menjadi fibrin oleh thrombin di tempat pendarahan selama pembedahan. “Lem Fibrin” ini sekarang menjadi praktek standar di banyak prosedur bedah vascular.³

9) Konsentrat faktor VIII

Komponen ini adalah suatu konsentrat liofilisasi plasma yang berasal dari 30000 donor, yang terutama mengandung faktor VIII, tetapi juga sejumlah kecil fibrinogen dan protein lain. Tersedia preparat dengan kemurnian sedang, kemurnian tinggi dan kemurnian sangat tinggi yang sesuai dengan metode pemurniannya. Sebagian besar prosedur pemurnian antibody monoclonal (afinitas) menghasilkan konsentrasi yang kemurniannya sangat tinggi dengan hanya sedikit protein pencemar. Kandungan faktor VIII spesifik (unit aktifitas faktor VIII per mg protein berbeda-beda dan hal ini dicantumkan di setiap vialnya. Rentang aktifitas faktor VIII total biasanya adalah 800 sampai 1600 IU/mg. Molekul faktor VIII telah berhasil diklon dan juga tersedia sebagai protein rekombinan. Preparat ini lebih mahal daripada konsentrat yang berasal dari plasma, tetapi memiliki keunggulan karena tidak menularkan penyakit infeksi terkait plasma. Namun preparat ini masih mungkin bersifat imunogenik dan memicu respon imun, termasuk aloimunisasi (inhibitor faktor VIII).

10) Konsentrat Faktor IX

Komponen ini mengandung konsentrat faktor-faktor dependen vitamin K, yaitu faktor II, VII, IX dan X yang berasal dari kumpulan ribuan donor. Dengan demikian, komponen ini memiliki faktor resiko serupa dengan konsentrat faktor VIII, namun konsentrat ini dibuat dengan fraksionisasi plasma bukan kriopresipitasi. Produk-produk ini merupakan terapi pilihan untuk perdarahan atau profilaksis pada pasien penyakit Critsmas (defisiensi faktor IX). Indikasi lain adalah defisiensi congenital faktor protrombin, VII dan X. Pengolahan komponen ini juga dilakukan dengan pemanasan dan atau pelarut detergen, seperti faktor VIII. Beberapa konsentrat faktor IX juga mengandung sejumlah kecil faktor koagulasi aktif sehingga dapat berguna dalam penanganan pasien hemophilia dengan inhibitor terhadap faktor VIII. Sekarang juga tersedia konsentrat faktor IX rekombinan.³

11) Preparat Globulin serum dan Inhibitor Protease Plasma

Fraksionasi plasma komersial juga dapat memekatkan gamaglobulin untuk diberikan kepada pasien dengan defisiensi antibody humoral yang parah. Kumpulan plasma yang mengandung gamaglobulin spesifik dengan titer tinggi dapat digunakan sebagai preparat serum gamaglobulin hiperimun untuk penanganan pasien yang pernah terpajan ke globulin imun-varisela-zoster (VZIG) atau serum imun hepatitis B. Plasma normal juga mengandung inhibitor-inhibitor alamiah terhadap protein yang diaktifkan selama proses fisiologik, seperti

thrombin pada koagulasi, tripsin pada pencernaan protein, atau C1 esterase pada pengaktifan komplemen. Beberapa inhibitor alamiah ini juga dipekatkan selama fraksionasi plasma untuk digunakan dalam terapi keadaan-keadaan defisiensi congenital dan didapat (misalnya, trombofobia defisien-antitrombin, defisiensi alfa 1-antitripsin (enfisema) dan defisiensi C1-esterase (edema angio-neurotik).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Tujuan pemberian komponen darah
2. Macam-macam komponen darah dan fungsinya.
3. Pelayanan dan efek samping dari masing-masing komponen darah

Ringkasan

1. Komponen darah adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara fisik atau mekanik tanpa menambahkan bahan kimia kedalamnya yaitu dengan cara pengendapan atau pemutaran.
2. Derivat darah (plasma) adalah bagian-bagian darah yang dipisahkan dengan cara kimiawi (dengan menambahkan bahan kimia pada proses pembuatannya).
3. Pengolahan komponen darah adalah tindakan memisahkan komponen darah donor dengan prosedur tertentu menjadi komponen darah yang siap pakai yang dilakukan dengan cara aseptik, menggunakan kantong darah ganda, kantong darah tunggal dengan "transfer bag".
4. Macam-macam komponen darah selular, antara lain : sel darah merah pekat (DMP=PRC (Packed Red Cell)), sel darah merah miskin leukosit (leukodepleted PRC), leukosit (Buffy Coat) dan trombosit konsentrat (TC). Sedangkan komponen darah non selular, antara lain : plasma donor tunggal, plasma segar beku (Fresh Frozen Plasma=FFP) dan Kriopresipitat.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Berikut ini yang bukan manfaat darah diolah menjadi komponen darah adalah.....
 - a. Pasien memperoleh hanya komponen darah yang diperlukan.
 - b. Mengurangi reaksi transfusi dan mengurangi volume transfusi.
 - c. Meningkatkan efisiensi penggunaan darah serta mengurangi masalah logistik darah.
 - d. Memungkinkan komponen darah tidak terkontaminasi bakteri.
 - e. Memungkinkan penyimpanan komponen darah pada temperatur yang optimal.
- 2) Berikut ini adalah macam-macam komponen darah selular, **kecuali**
 - a. sel darah merah pekat (DMP=PRC (*Packed Red Cell*)),
 - b. *Fresh Frozen Plasma* (FFP)
 - c. sel darah merah miskin leukosit (leukodepleted PRC),
 - d. leukosit (*Buffy Coat*)
 - e. trombosit konsentrat (TC).
- 3) Berikut ini komponen darah non selular yang bermanfaat untuk mengobati pendarahan ringan sampai sedang pada pasien dengan penyakit von Willebrand adalah
 - a. Plasma donor tunggal (liquid plasma)
 - b. Plasma segar beku (*Fresh Frozen Plasma*=FFP)
 - c. Kriopresipitat.
 - d. Stem cell
 - e. *Packed Red Cell* (PRC)
- 4) Komponen darah yang mengandung faktor koagulasi labil (F VIII dan F V), semua faktor pembekuan lainnya, dan protein plasma adalah
 - a. Plasma donor tunggal (liquid plasma)
 - b. Plasma segar beku (*Fresh Frozen Plasma*=FFP)
 - c. Kriopresipitat.
 - d. Stem cell
 - e. *Packed Red Cell* (PRC)
- 5) Metode leukodepleted PRC yang paling efektif menurunkan leukosit sampai *kurang dari 1×10^6 per unit* adalah
 - a. Metode pencucian PRC dengan salin

- b. Metode sentrifugasi dan penghilangan buffy coat
- c. Metode pembekuan dan degliserolisasi,
- d. Metode filtrasi
- e. Metode Irradiasi

Topik 4

Penyimpanan Komponen Darah

A. PENDAHULUAN

Penyimpanan darah secara invitro merupakan upaya untuk mengurangi perubahan-perubahan yang terjadi selama darah disimpan. Untuk dapat mempertahankan kualitas darah donor harus, maka harus memperhatikan syarat – syarat dalam penyimpanan darah invitro.

Pada keadaan invivo ada keseimbangan antara produksi dan destruksi, sintesa dan pemecahan protein dan lain-lain. Sel darah memerlukan energi untuk mempertahankan bentuk sel dan melakukan fungsi sel. Untuk mendapatkan energi tersebut sel perlu metabolisme yang memerlukan bahan serta memerlukan oksigen terutama untuk trombosit dan leukosit.

Metabolisme eritrosit merupakan proses glikolitik atau pemecahan glukosa, pada proses ini memerlukan hampir 20 macam enzim, memerlukan 2 mol ATP, memproduksi 4 mol ATP dengan hasil akhir 2 mol ATP. ATP yang dihasilkan ini merupakan sumber energi dan hasil akhir proses glikolitik adalah asam laktat.

Pada penyimpanan darah invitro seperti dalam kantong darah tidak ada keseimbangan antara produksi dan destruksi ataupun sintesa dan pemecahan protein, hanya ada destruksi tanpa produksi. Sehingga sel darah memerlukan energi untuk metabolisme dan itu memerlukan bahan-bahan serta oksigen. Cara yang paling efektif yaitu disimpan pada temperatur rendah 2°- 6°C, sehingga metabolismenya diperlambat dan pemberian cadangan kalori yaitu dekstrosa.

B. SYARAT –SYARAT PENYIMPANAN DARAH SECARA INVITRO

Cara penyimpanan darah secara invitro harus dapat memenuhi syarat-syarat, berikut :

- 1) Harus mempertahankan sel darah tetap hidup.
- 2) Harus mempertahankan sel darah tetap berfungsi

Ada 2 faktor penting yang harus diperhatikan dalam penyimpanan darah secara invitro, yaitu temperatur simpan dan pengawet / pelindung. Dalam perkembangannya pengawety darah dipakai untuk menyimpan darah dalam bentuk cair, semakin lama semakin dilengkapi komposisinya dengan tujuan agar masa simpan darah invitro dapat diperpanjang.

Antikoagulan adalah zat untuk mencegah terjadinya darah membeku, yang digunakan dalam kepentingan transfusi adalah sitrat. digunakan karena dapat mempertahankan darah tetap cair dengan cara mengikat kalsium (Ca^{2+}) dalam darah, aman bagi manusia, efek samping keracunan terjadi apabila digunakan dengan konsentrasi tinggi berupa gejala kesemutan

sekitar mulut, rasa tertekan pada diafragma akibat turunnya kadar kalsium (Ca^{2+}) dalam darah. Netralisasi sitrat dengan memberikan kalsium glukonas 10% sebanyak 10 mL untuk dewasa dan 4-6 mL untuk bayi. Keracunan dapat terjadi pada transfusi masif dan cepat, transfusi pada pascain gangguan hati, transfusi tukar pada bayi 5 mL/unit. Sedangkan bahan pengawet yaitu bahan-bahan yang diperlukan untuk metabolisme sel. Berikut ini adalah jenis antikoagulan dan pengawet darah dalam penyimpanan bentuk cair, antara lain :

- 1) Natrium sitrat konsentrasi 3,4 – 3,8 %, dapat mengawetkan darah selama 2-3 hari pada suhu 4°C.
- 2) ACD = Acid – Citric – Dextrose, dengan penambahan dektrosa masa simpan dapat diperpanjang menjadi 3 minggu (21 hari).
- 3) CPD = Citric – Phosphate – Dextrose, dengan penambahan senyawa fosfat, maka sel darah mendapat tambahn sumber energi. Larutan CPD lebih baik jika dibandingkan larutan ACD, yaitu hemolisis lebih kecil dan viabilitas sel post transfusi juga lebih baik, dan fungsi transpot oksigen lebih baik. Masa simpan darah dalam larutan CPD adalah 28 hari.
- 4) CPD-A = Citric – Phosphate – Dextrose – Adenine, dengan penambahan 17 mg adenin ke komposisi CPD dapat memperpanjang masa simpan menjadi 35 hari (5 minggu).
- 5) Larutan aditif, terdiri AS-1 (Adsol), AS-3 (Nutricel) dan AS-5 (Optisol) dapat memperpanjang masa simpan menjasi 42 hari.

Berikut ini adalah isi dari larutan pengawet yang digunakan dalam kantong darah donor:

Tabel 11. Komposisi antikoagulan dan pengawet dalam kantong darah 450 mL (mg/63 mL)

	CPD	CP2D	CPDA-1
Ratio (mL solution to blood)	1.4:10	1.4:10	1.4:10
FDA-approved shelf life (days)	21	21	35
Content			
Sodium citrate	1660	1660	1660
Citric acid	206	206	206
Dextrose	1610	3220	2010
Monobasic sodium phosphate	140	140	140
Adenine	0	0	17.3

With 500 mL collections, the volume is 70 mL and the content 10% to 11% higher.

Tabel 12. Komposisi larutan aditif (mg / 100 mL)

	AS-1 (Adsol)	AS-3 (Nutricel)	AS-5 (Optisol)
Dextrose	2200	1100	900
Adenine	27	30	30
Monobasic sodium phosphate	0	276	0
Mannitol	750	0	525
Sodium chloride	900	410	877
Sodium citrate	0	588	0
Citric acid	0	42	0

Pada kantong darah 450 ml terdapat pengawet dan antikoagulan sebanyak 63 ml dan pada kantong darah 500 ml terdapat pengawet dan antikoagulan sebanyak 70 ml. Jika volume darah kurang dari 300 ml, maka ratio volume antikoagulan-pengawet dengan darah adalah 1,4 : 10.

C. PENYIMPANAN DARAH DONOR

Penyimpanan darah donor secara invitro , dibagi menjadi dua yaitu penyimpanan dalam bentuk cair dan penyimpanan dalam bentuk beku.

2) Penyimpanan dalam bentuk cair.

➤ Temperatur Simpan

- Setiap komponen darah mempunyai temperatur simpan optimal yang berbeda-beda.
- Eritrosit dalam bentuk cair, temperatur optimal 4 ± 2 °C dan metabolisme 1/40 pada suhu 37 °C. Temperatur maksimum dalam penyimpanan darah adalah 10 °C, jika di atas temperatur tersebut kerusakan eritrosit berlangsung cepat. Temperatur 0°C dapat merusak eritrosit, karena terjadi pembekuan air yang dapat merusak membran sel kecuali dengan proses tertentu.

➤ Temperatur simpan komponen darah dalam bentuk cair :

Tabel 13. Temperatur simpan komponen darah dalam bentuk cair

Temperatur	Jenis Komponen
$4 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$	- Darah Lengkap (<i>whole blood</i>) - Darah Merah Pekat (<i>PRC</i>) - Plasma
$22 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$	- Trombosit Konsentrat - Leukosit pekat (<i>Buffy Coat</i>)

3) Penyimpanan dalam bentuk beku.

Tujuan penyimpanan darah dalam bentuk beku adalah untuk memperpanjang masa simpan darah invitro. Komponen darah yang bisa disimpan dalam bentuk beku diantaranya : eritrosit, trombosit, sel induk darah (stem sel). Disamping itu kriopresipitat, dan FFP juga disimpan dalam bentuk beku. Penyimpanan beku trombosit dinilai kurang efisien karena kerusakan trombosit pada penyimpanan beku lebih dari 5%.

Untuk menyimpan beku eritrosit, dipakai pelindung gliserol dalam kadar yang kecil gliserol tidak toksik bagi tubuh. Untuk menyimpan beku sel induk darah (stem sel) dan trombosit dipakai Dimetil Sulfoksida (DMSO).

Tabel 14. Temperatur simpan komponen darah dalam bentuk beku

Temperatur	Jenis Komponen
-18 °C ± -30 °C	- Plasma Segar Beku (FFP) - Kriopresipitat
-85 °C	- Sel darah merah pekat (PRC) - Sel Induk Darah (Stem Sel)
-196 °C	- Sel Induk Darah (Stem Sel)

3) Masa simpan komponen darah

Tabel di bawah ini menggambarkan lama simpan masing-masing komponen darah.

Tabel 15. Lama Simpan Komponen Darah

Table 8-5. Expiration Dates for Selected Blood Components⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Category	Expiration
Whole Blood	ACD/CPD/CP2D – 21 days CPDA-1 – 35 days
Whole Blood Irradiated	Original outdate (see outdates above per anticoagulant) or 28 days from date of irradiation, whichever is sooner
Red Blood Cells (RBCs)	ACD/CPD/CP2D – 21 days CPDA-1 – 35 days Open system – 24 hours Additive solutions – 42 days
RBCs Washed	24 hours
RBCs Leukocytes Reduced	ACD/CPD/CP2D – 21 days CPDA-1 – 35 days Open system – 24 hours Additive solutions – 42 days
RBCs Rejuvenated	24 hours
RBCs Rejuvenated Washed	24 hours
RBCs Irradiated	Original outdate above or 28 days from date of irradiation, whichever is sooner
RBCs Frozen 40% Glycerol	10 years
RBCs Frozen 20% Glycerol	10 years
RBCs Deglycerolized	24 hours – or 14 days depending on method
RBCs Open System	24 hours
RBCs Open System – Frozen	10 years, 24 hours after thaw
RBCs Closed System – Frozen	10 years, 2 weeks after thaw as approved by the FDA
RBCs Frozen – Liquid Nitrogen	10 years
Platelets	24 hours to 5 days, depending on collection system*
Platelets Pooled or in Open System	4 hours, unless otherwise specified
Platelets Leukocytes Reduced	Open system – 4 hours Closed system – no change from original expiration date*
Platelets Irradiated	Open system – 4 hours Closed system – no change from original expiration date
Granulocytes	24 hours
FFP	12 months (–18 C) 7 years (–65 C), as approved by the FDA

4) Alat-alat penyimpanan darah secara invitro

Berikut ini adalah alat-alat yang digunakan untuk penyimpanan komponen darah.



(A) UPRIGHT REFRIGERATOR



(B) CEST REFRERIGERATOR



(C) AGITATOR



(D) Ice-lined blood bank refrigerators



(E) COLD ROOM

Gambar 3.33. alat penyimpanan darah secara invitro

D. EFEK PENYIMPANAN DARAH INVITRO

1) Perubahan bentuk dan daya hidup sel

- Daya hidup eritrosit akan menurun sebanding dengan masa simpan. Pada saat penyadapan hancur 1-5%, apabila disimpan 2 minggu dalam ACD sel eritrosit hancur sekitar 10%, dan 4 minggu dalam ACD sel eritrosit musnah mencapai 25%.
- Daya hidup trombosit menurun sebanding dengan masa simpan dan temperatur simpan. Daya hidup trombosit pada suhu 2-6°C lebih buruk dibandingkan pada suhu 18-22°C.
- Daya hidup leukosit menurun dengan cepat sebanding dengan masa simpan. Masa simpan 48 jam terjadi perubahan bentuk, sedangkan masa simpan 72 jam fungsi leukosit hilang.

2) Perubahan kadar ATP

Akibat penurunan kadar ATP, maka terjadi hilangnya lipid membran sel, perubahan bentuk sel dari bentuk bikonkaf menjadi bulat, berkurangnya elastisitas sel sehingga menjadi kaku.

3) Perubahan kadar 2,3 DPG

Akibat penurunan kadar 2,3 DPG, maka daya ikat oksigen pada molekul hemoglobin menjadi kuat, pelepasan oksigen ke jaringan menjadi berkurang. Darah dengan 2,3 DPG rendah tidak menambah oksigenisasi jaringan walaupun kadar hemoglobin naik. Darah dengan 2,3 DPG rendah tidak tepat untuk pasien yang memerlukan oksigenisasi cepat / resusitasi.

4) Perubahan elektrolit

Peningkatan Kalium (K^+) plasma, disebabkan karena sel tidak mampu mempertahankan Kalium (K^+) dalam sel, akibatnya masuknya natrium (Na^+) beserta air ke dalam sel. Darah dengan kalium plasma yang tinggi kurang tepat untuk penderita penyakit ginjal.

5) Perubahan asam laktat dan pH

Perubahan pH disebabkan penumpukan asam laktat sebagai hasil akhir proses glikolitik oleh sel eritrosit. Dengan bertambahnya asam laktat akan menyebabkan penurunan pH (asam)

6) Perubahan amonia

Disebabkan penghancuran / destruksi protein. Darah dengan amoniak plasma yang tinggi kurang tepat untuk penderita penyakit hati.

7) Peningkatan Hb plasma

Peningkatan Hb plasma dikarenakan banyaknya eritrosit yang lisis.

8) Perubahan faktor pembekuan

Diantara faktor pembekuan F I sampai dengan F XIII, F V dan F VIII merupakan faktor pembekuan labil secara invitro. Faktor ini hanya bertahan selama 4-6 jam dalam keadaan invitro, sehingga darah simpan tidak mengandung F V dan F VIII (*labile factor*).

9) Perubahan metabolisme sel

Perubahan pH menjadi asam menyebabkan terganggunya fungsi enzim-enzim untuk metabolisme sel, sehingga metabolisme sel terganggu dan sel akan lisis.

Tabel di bawah ini menggambarkan perubahan biokimia sel darah putih dan sel darah merah selama penyimpanan secara invitro.

Tabel 16. Perubahan biokimia sel darah putih dan sel darah merah

Table 8-4. Biochemical Changes in Stored Non-Leukocyte-Reduced Red Blood Cells

Variable	CPD		CPDA-1				AS-1	AS-3	AS-5
	Whole Blood		Whole Blood	Red Blood Cells	Whole Blood	Red Blood Cells	Red Blood Cells	Red Blood Cells	Red Blood Cells
Days of Storage	0	21	0	0	35	35	42	42	42
% Viable cells									
(24 hours posttransfusion)	100	80	100	100	79	71	76 (64-85)	84	80
pH (measure at 37 C)	7.20	6.84	7.60	7.55	6.98	6.71	6.6	6.5	6.5
ATP (% of initial value)	100	86	100	100	56 ($\pm$ 16)	45 ($\pm$ 12)	60	59	68.5
2,3-DPG (% of initial value)	100	44	100	100	<10	<10	<5	<10	<5
Plasma K ⁺ (mmol/L)	3.9	21	4.20	5.10	27.30	78.50*	50	46	45.6
Plasma hemoglobin	17	191	82	78	461	658.0*	N/A	386	N/A
% Hemolysis	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.5	0.9	0.6

*Values for plasma hemoglobin and potassium concentrations may appear somewhat high in 35-day stored RBC units; the total plasma in these units is only about 70 mL.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Tujuan penyimpanan darah invitro
- 2) Syarat-syarat penyimpanan darah invitro.
- 3) Temperatur dan lama simpan komponen darah
- 4) Efek penyimpanan darah secara invitro.

Ringkasan

1. Penyimpanan darah secara invitro merupakan upaya untuk mengurangi perubahan-perubahan yang terjadi selama darah disimpan. Untuk dapat mempertahankan kualitas darah donor harus, maka harus memperhatikan syarat – syarat dalam penyimpanan darah invitro.
2. Penyimpanan darah donor secara invitro dapat disimpan dalam bentuk cair dan bentuk beku.
3. Efek penyimpanan darah invitro, antara lain :perubahan bentuk dan daya hidup sel , perubahan kadar ATP, perubahan kadar 2,3 DPG, perubahan elektrolit, perubahan asam

laktat dan pH, perubahan amonia, peningkatan Hb plasma, perubahan faktor pembekuan dan perubahan metabolisme sel

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Syarat yang harus dipenuhi dalam penyimpanan darah secara invitro adalah
 - a. Harus mempertahankan sel darah tetap hidup dan berfungsi.
 - b. Harus membuat sel metabolisme sel darah berhenti.
 - c. Harus dapat mengikat ion kalsium (Ca^{2+})
 - d. Harus dapat disimpan dalam jangka waktu lama
 - e. Tidak ada perubahan biokimia selama penyimpanan sel darah
- 2) Jenis antikoagulan dan pengawet darah yang mempunyai masa simpan sampai 35 hari adalah.....
 - a. Natrium sitrat 3,4 – 3,8%
 - b. ACD
 - c. CPD
 - d. CPD-A
 - e. Larutan aditif (AS-1 (adsol), AS-3 (nutricel) dan AS-5 (optisol))
- 3) Berikut ini komponen darah yang memiliki temperatur simpan pada $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ adalah.....
 - a. Trombosit konsentrat dan leukosit pekat (*buffy coat*)
 - b. Fresh Frozen plasma dan stem cell
 - c. Whole blood
 - d. Packed Red Cell
 - e. Wash Red cell
- 4) Suhu simpan komponen darah FFP dan Kriopresipitat adalah
 - a. $-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm -30\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - b. $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - c. $-198\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - d. $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - e. $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$

- 5) Efek penyimpanan secara darah secara invitro yang menyebabkan daya ikat oksigen pada molekul hemoglobin menjadi kuat, pelepasan oksigen ke jaringan menjadi berkurang adalah.....
- a. Perubahan bentuk dan daya hidup sel
 - b. Perubahan kadar ATP
 - c. Perubahan kadar 2,3 DPG
 - d. Perubahan elektrolit
 - e. Perubahan asam laktat dan pH

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1 1. A 2. E 3. C 4. A 5. B Test Formatif 2 1. A 2. E 3. B 4. D 5. D	Test Formatif 3 1. D 2. B 3. C 4. B 5. D Test Formatif 4 1. A 2. D 3. A 4. A 5. C
---	---

Glosarium

Unit Transfusi Darah : fasilitas pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan donor darah, penyediaan darah, dan pendistribusian darah.

Voluntary Blood Donors : donor sukarela yang memberikan darah, plasma atau komponen darah lainnya atas kehendaknya dan tidak menerima pembayaran, baik dalam bentuk tunai atau hal lainnya sebagai pengganti uang.

Transfer bag : merupakan kantung darah yang terbuat Polivinil Klorida (PVC) dan telah di sterilkan dengan berbagai ukuran 150 mL, 250 mL, 350 mL, 450 mL yang digunakan untuk pemisahan dan penyimpanan komponen darah.

Faksionasi : proses pemisahan sejumlah plasma yang dipisahkan selama transisi fasa menjadi sejumlah kecil bagian (fraksi-fraksi), yang mana komposisinya bervariasi sesuai gradiennya.

Demam anafilaktoid : sindrom klinis akibat reaksi analogis (reaksi alergi) yang bersifat sistemik serta cepat dan menyebabkan gangguan respirasi, sirkulasi, pencernaan dan kulit.

Daftar Pustaka

- AABB. 2008. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB
- Bima Ariotejo. 2014. Laporan Pelatihan dokter baru UDD PMI 2014. Malang.
- BPPSDM-Kes. 2010. Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit. Jakarta: PPSDM Kemenkes RI
- British Society for Haematology. 2003. Guidelines for the use of platelet transfusions. Brit J Haematol.
- Departemen Kesehatan RI. 2001. Buku pedoman pelayanan transfusi darah: skrining untuk penyakit infeksi. Modul 2. Jakarta : Depkes RI
- Kiswari R. 2014. Hematologi dan Transfusi. Semarang : Erlangga
- Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. United Kingdom: Blackwell Publishing; 2005.
- Kumar H, Gupta PK, Mishra DK, [Jaiprakash](#) M. 2006. Leucodepletion and Blood Product. MJAFL.; 62(2):174-177
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah [Internet]. 2015 [tanggal akses 2 Juli 2016], didapat dari : http://www.academia.edu/22672312/Permenkes_91_tahun_2015_Standar_Pelayanan_Transfusi_Darah
- WHO. 2007. Recommendations for the production, control and regulation of human plasma for fractionation. WHO Technical Report Series No 941,

Bab 4

REAKSI TRANSFUSI

Eva Ayu Maharani, AMAK, S.Si, M.Biomed.

Pendahuluan

Transfusi merupakan pengobatan yang digunakan untuk menyembuhkan pasien dari kondisi yang dapat mengancam jiwa atau dapat juga sebagai terapi jangka panjang terhadap suatu penyakit tertentu. Mengingat fungsinya yang sangat vital, oleh karena itu, proses transfusi harus dilakukan sebaik dan se-aman mungkin, sehingga pasien mendapat manfaat dari proses transfusi tersebut.

Proses transfusi tidak lepas dari resiko komplikasi atau reaksi yang menimbulkan gejala klinis pada pasien. Gejala klinis yang timbul pada pasien bervariasi, dari yang ringan sampai dengan berat, yang bisa saja membahayakan kondisi pasien. Gejala klinis yang timbul karena reaksi transfusi bervariasi, bisa berupa demam, mual, terdapat bercak merah di kulit, sesak napas hingga dapat mengakibatkan kematian pasien. Umumnya reaksi tersebut, terjadi karena ketidakcocokan (inkompatibilitas) antara darah donor dan pasien. Selain itu, reaksi transfusi, juga dapat terjadi pada komponen darah dengan kualitas yang kurang baik.

Setiap reaksi yang terjadi, dapat memberikan gejala klinis yang khusus maupun umum. Gejala klinis yang timbul pada pasien transfusi, dapat terjadi pada kisaran 24 jam semenjak proses transfusi (reaksi transfusi akut) atau setelah 24 jam pasca transfusi (reaksi transfusi tunda). Reaksi tersebut dapat melibatkan sistem imun (reaksi Ag dan Ab) ataupun tidak (non imun).

Pada bab ini, pembahasan mengenai reaksi transfusi, terdiri atas dua topik, yaitu : topik 1 membahas reaksi transfusi imun yang terdiri atas reaksi transfusi imun akut dan tunda beserta cara pencegahannya dan topik 2 membahas reaksi transfusi non imun akut dan tunda serta cara pencegahannya. Penatalaksanaan dan pengobatan karena reaksi transfusi tidak dibahas pada modul ini, mengingat ruang lingkup pekerjaan teknologi laboratorium medik tidak ke ranah klinis atau tidak melakukan penanganan terhadap pasien.

Setelah mempelajari bab ini, anda diharapkan dapat :

1. Menguraikan konsep dasar reaksi transfusi.
2. Mendeskripsikan jenis reaksi transfusi imun (akut dan tunda), non imun (akut dan tunda).

3. Mendeskripsikan gejala klinis yang ditimbulkan karena reaksi transfusi.
4. Menguraikan cara pencegahan reaksi transfusi.

Topik 1

Reaksi Transfusi Imun

A. KONSEP DASAR

Reaksi transfusi imun yang dimaksud adalah semua jenis reaksi yang terjadi pada pasien saat proses transfusi dan setelah transfusi. Reaksi tersebut, terjadi melalui mekanisme imun tubuh, melibatkan antigen (Ag) dan antibodi (Ab). Reaksi imun yang terjadi, mengakibatkan timbulnya gejala klinis pada pasien. Gejala klinis yang timbul bervariasi, mulai dari gejala ringan sampai berat dan bersifat akut atau tunda.

Seperti dijelaskan di paragraf awal, bahwa reaksi transfusi imun terjadi karena reaksi Ag dan Ab. Ag yang dimaksud di sini adalah Ag sel darah dan Ab yang berasal dari plasma. Seperti sudah dijelaskan di Bab 1, bahwa membran sel darah kita terdiri atas unsur protein, karbohidrat dan lipid. Molekul tersebut dapat menjadi Ag dan memicu respon imun jika dipaparkan ke individu lain.

Jenis Ag yang terdapat pada sel darah merah, leukosit dan trombosit serta Ab yang terbentuk karena paparan terhadap Ag tersebut dikategorikan ke dalam suatu sistem. Ag dan Ab pada sel darah merah dikelompokkan ke dalam sistem golongan darah. Ag dan Ab pada leukosit dikelompokkan ke dalam sistem *human leucocyte antigen* (HLA) dan *human neutrophil antigen* (HNA). Ag dan Ab pada trombosit dikelompokkan ke dalam sistem *human platelet antigen* (HPA). Adanya ketidakcocokan antara darah donor dengan pasien yang melibatkan Ag dan Ab pada darah dapat menyebabkan reaksi transfusi imun.

Jenis Ab pada sistem golongan darah dapat mempengaruhi berat atau tidaknya reaksi transfusi. Untuk meminimalisir dan mencegah reaksi transfusi, maka sebelum dilakukan transfusi darah, dilakukan pemeriksaan terlebih dahulu yang mencakup kecocokan jenis golongan darah dan reaksi antara darah donor dan pasien secara *in vitro*/di luar tubuh. Pemeriksaan ini disebut dengan pemeriksaan pre-transfusi (akan dibahas pada bab 6).

Jenis reaksi imun yang akan dibahas pada topik ini, yaitu : reaksi transfusi imun akut (hemolitik, febrile non hemolytic transfusion reaction (FNHTR), alergi, reaksi anafilaktik dan anaphylactoid, *transfusion related acute lung injury* / TRALI). Reaksi transfusi imun tunda (hemolitik, aloimunisasi, *post transfusion purpura* (PTP), *transfusion associated graft versus host disease* / TA-GVHD).

B. REAKSI IMUN AKUT

B.1 Reaksi hemolitik akut

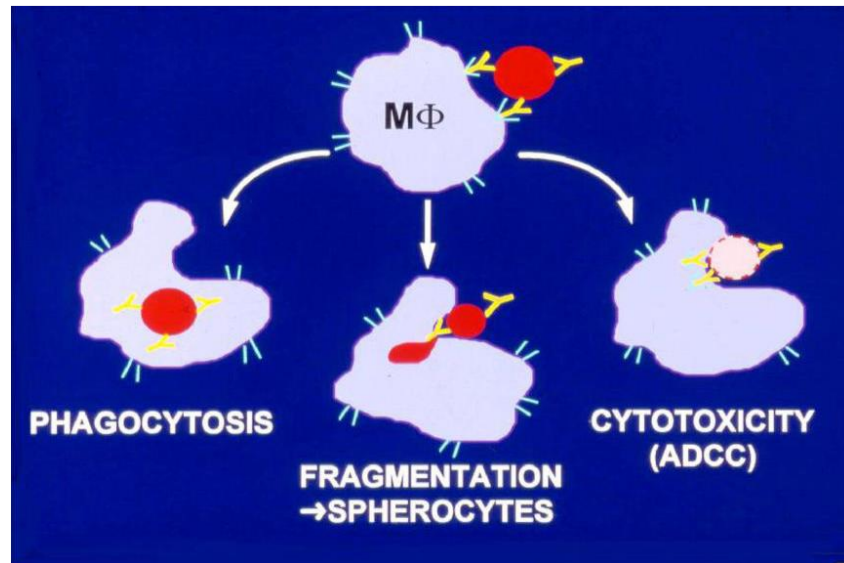
Reaksi hemolitik akut merupakan jenis reaksi transfusi yang berbahaya dan dapat menyebabkan kematian. Reaksi hemolitik merupakan reaksi lisis sel darah merah dari darah donor ataupun darah pasien karena adanya ketidakcocokan jenis golongan darah antara donor dan pasien.

Hemolisis dapat terjadi karena interaksi Ab pada plasma pasien dan Ag sel darah merah donor yang disebut dengan inkompatibilitas mayor atau dapat juga karena interaksi plasma donor dengan Ag sel darah merah pasien yang disebut dengan inkompatibilitas minor. Selain itu, terdapat juga inkompatibilitas inter donor yaitu reaksi Ab pada plasma donor dengan Ag sel darah merah donor lainnya jika pasien mendapat transfusi darah lebih dari satu donor yang bereaksi pada darah pasien. Reaksi hemolitik akut terjadi sesaat setelah transfusi dan berlangsung cepat. Jenis Ab pada sistem golongan darah merah yang lebih sering menyebabkan reaksi imun hemolitik akut adalah : anti-A, anti-Kell, anti-Jk^a dan anti-Fy^a.

Mekanisme lisis sel darah merah karena reaksi transfusi dapat terjadi melalui mekanisme hemolisis ekstravaskular maupun intravaskular.

B.1.1. Hemolisis ekstravaskular

Hemolisis ekstravaskular merupakan lisis sel darah merah yang terjadi karena reaksi Ag donor yang disensitisasi/dilekati oleh Ab dan atau komplemen pasien. Kompleks Ag, Ab dan atau komplemen tersebut dikenali dan disingkirkan ke luar pembuluh darah oleh sel makrofag menuju ke hati atau limpa untuk dihancurkan. Pada saat makrofag menempel dan terikat pada sel darah merah, maka proses fagositosis dapat terjadi melalui tiga cara, yaitu : (i) sel darah merah difagositosis dan dihancurkan di dalam makrofag, (ii) sel darah merah difagositosis dan dihancurkan sebagian, sedangkan sisanya dapat tidak terfagositosis dan beredar di sirkulasi sebagai sel sferosit yang mempunyai masa hidup pendek, (iii) sel darah merah berada di luar makrofag dan dilisiskan melalui mekanisme antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), yaitu makrofag mengeluarkan substansi yang bersifat toksik, sehingga sel darah merah yang menempel pada makrofag dapat lisis, tanpa melisiskan makrofag. Mekanisme fagositosis dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut ini.



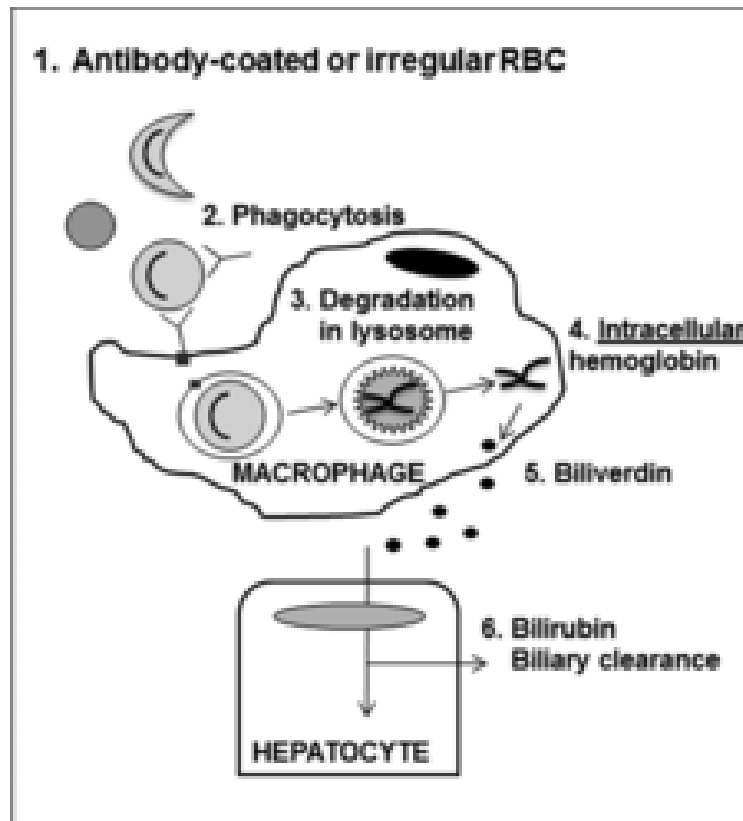
Gambar 4.1. Mekanisme fagositosis

Sumber. Transfusion journal

Pada saat sel darah merah dihancurkan di dalam makrofag (Gambar 4.2), maka akan melepaskan molekul Hb dari sel darah merah yang kemudian dipecah menjadi bagian heme dan globin. Protein globin akan dimanfaatkan kembali oleh tubuh, sedangkan molekul heme diubah menjadi biliverdin yang pada proses berikutnya akan diubah menjadi bilirubin indirek. Bilirubin indirek akan dibawa ke hepatosit untuk dirubah menjadi bilirubin direk (larut dalam air). Pada hemolisis ekstravaskular, umumnya konsentrasi bilirubin indirek meningkat, karena terlalu banyak molekul heme yang diubah menjadi bilirubin, sampai hepatosit tidak mampu memproses kelebihan bilirubin.

Bilirubin direk kemudian dieksresikan ke dalam sistem gastrointestinal yang kemudian diubah menjadi urobilinogen dan dieksresikan melalui feses dalam bentuk sterkobilinogen.

Jenis Ab yang bereaksi dengan Ag pada reaksi hemolisis ekstravaskular adalah jenis Ab yang tidak mengaktifkan komplemen, seperti : Rh, Duffy, Kell. Mekanisme lisis ekstravaskular dapat dilihat pada Gambar 4.2.

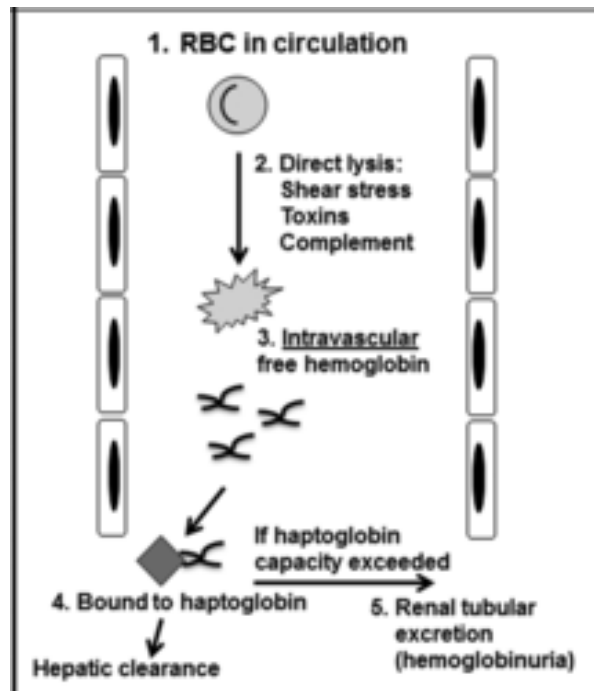


Gambar 4.2. Mekanisme hemolisis ekstrasvaskular
Sumber. <http://pedsinreview.aappublications.org>

B.1.2. Hemolisis intravaskular

Hemolisis intravaskular merupakan lisis sel darah merah yang terjadi di pembuluh darah. Reaksi terjadi jika Ab pasien bereaksi dengan Ag yang berasal dari donor. Ikatan Ag dan Ab tersebut mengaktifkan komplemen dan membentuk *membrane attachment complex* (MAC) dan sel darah merah lisis/pecah. Molekul Hb yang keluar dari sel darah merah yang telah lisis akan diikat oleh haptoglobin. Kompleks Hb-haptoglobin akan disingkirkan dari plasma oleh sel retikuloendotelial hati. Jika jumlah haptoglobin berkurang atau bahkan habis, maka molekul Hb akan berada bebas di dalam darah (hemoglobinemia), sehingga ikut tersaring di ginjal dan Hb dapat berada di urin (hemoglobinuria), sehingga mengakibatkan warna urin menjadi merah/gelap.

Sebagai contoh, pasien golongan darah O ditransfusi dengan darah golongan A, maka anti A pasien akan bereaksi dengan Ag A dari darah donor. Komplemen akan teraktifkan dan mengakibatkan sel darah merah lisis. Jenis Ab yang dapat menyebabkan reaksi hemolisis intravaskular selain anti A dan anti B adalah anti-Jk^a, -Jk^b, Vel, -PP1PPk, -Le^a. Mekanisme hemolisis intravaskular dapat dilihat pada Gambar 4.3 berikut ini.



Gambar 4.3. Mekanisme hemolisis intravaskular
 Sumber. <http://pedsinreview.aappublications.org>

Hemolisis ekstravaskular terjadi karena adanya aktivasi makrofag yang akan memfagositosis ikatan Ag, Ab dan atau komplemen yang tidak membentuk MAC, proses lisis lebih banyak terjadi di luar pembuluh darah, sedangkan hemolisis intravaskular terjadi karena adanya aktivasi komplemen sampai membentuk MAC sehingga sel darah merah lisis di dalam pembuluh darah.



Perbedaan klinis antar kedua jenis hemolisis, yaitu intravaskular dan ekstravaskular, melibatkan banyaknya sel darah merah yang dihancurkan. Hemolisis ekstravaskular terbatas pada kapasitas sistem retikuloendotelial (RES) dalam menghancurkan sel darah merah. Sebagai contoh, pada pasien dengan berat badan 70 Kg, RES dapat menghancurkan sel darah merah sebanyak 18 mL pada komponen *Packed Red Cells* dalam waktu 1 jam, dan lebih dari 400 mL selama 24 jam. Sementara, hemolisis intravaskular dapat menghancurkan 200 mL sel darah merah atau lebih, dalam waktu 1 jam. Kondisi ini dapat menurunkan kadar Hb sebanyak 5 g/dL dalam waktu 1 jam, yang dapat berakibat fatal jika tidak segera ditransfusikan dengan darah yang sesuai.

Setelah membaca penjelasan mengenai hemolisis intravaskular dan ekstrasvaskular, jawablah pertanyaan berikut :

Sebutkan minimal tiga perbedaan antara lisis ekstrasvaskular dan intravaskular.

No.	Perbedaan	Hemolisis ekstrasvaskular	Hemolisis intravaskular
1			
2			
3			

Reaksi hemolitik akut dapat terjadi melalui mekanisme lisis intravaskular maupun ekstrasvaskular. Penyebab reaksi hemolitik akut, yang paling utama adalah inkompatibilitas golongan darah ABO. Jenis inkompatibilitas ini, seringkali disebabkan karena kesalahan interpretasi golongan darah atau adanya kesalahan penulisan label antara komponen darah donor dan pasien.

Pada awalnya, gejala klinis hemolitik akut seringkali tidak spesifik. Jika reaksi terjadi pada pasien dengan kondisi sadar, maka tubuh pasien menggigil, pasien akan merasakan panas di area infus, nyeri di bagian dada, perut atau punggung, kepala pusing, mual dan muntah. Gejala lainnya yang dapat terjadi pada pasien yang tidak sadarkan diri, seperti, demam (peningkatan suhu tubuh $> 1^{\circ}\text{C}$), perubahan kondisi kulit (seperti pembengkakan/oedem, pucat), takikardia (detak jantung di atas normal), tekanan darah di bawah nilai normal (hipotensi), dan perubahan warna urin menjadi kemerahan karena adanya Hemoglobin (Hb) pada urin. Pasien dapat mengalami reaksi koagulasi intravaskular diseminata (*disseminated intravascular*

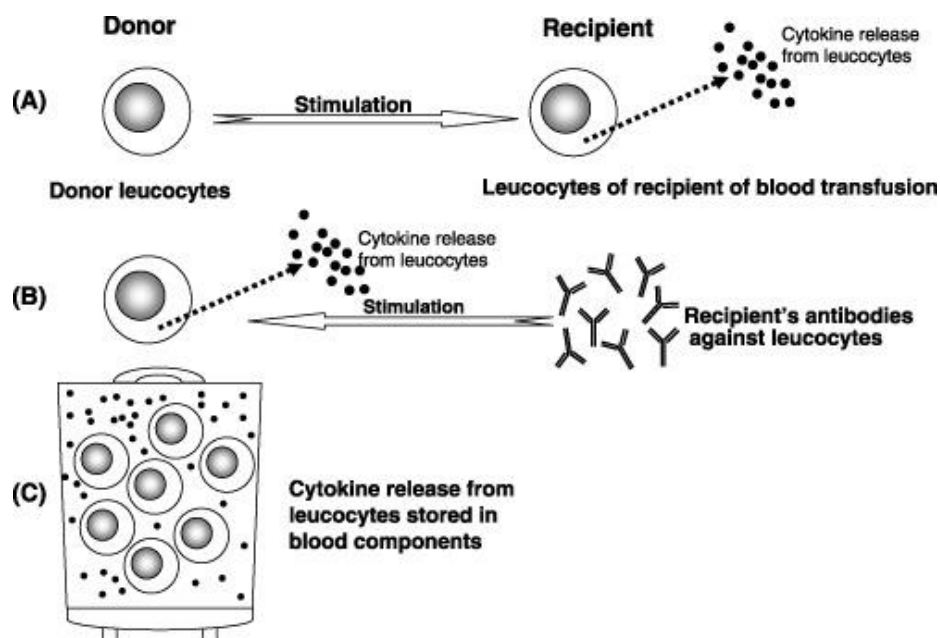
coagulation/DIC) karena adanya perdarahan cukup luas yang dapat memicu faktor koagulasi pasien bekerja ekstra sehingga terbentuk bekuan dan menutup pembuluh darah. Selain itu pasien dapat mengalami anuria karena ginjal tidak dapat memproduksi urin (gagal ginjal). Kondisi ini dapat menyebabkan kematian pasien.

Gejala klinis reaksi hemolitik akut intravaskular lebih berat dibandingkan hemolisis ekstrasvaskular.

B.2. Febrile non hemolytic transfusion reaction (FNHTR)

FNHTR merupakan reaksi transfusi dengan gejala klinis yang ditimbulkan berupa demam dan tidak diikuti dengan reaksi hemolisis sel darah merah. Reaksi FNHTR terjadi karena dilepaskannya sitokin dari sel lekosit. Pelepasan sitokin dari sel lekosit dapat terjadi melalui tiga mekanisme yang dapat dilihat pada Gambar 4.4, yaitu : (A) Sel lekosit donor yang dapat mengaktifasi sistem imun pasien, sehingga lekosit pasien menghasilkan dan melepaskan sitokin. (B) Reaksi antara Ab lekosit pada plasma pasien dengan komponen darah donor yang mengandung Ag lekosit (HLA/HNA) yang sesuai. Ab akan bereaksi dengan lekosit membentuk kompleks Ag – Ab dan menyebabkan dilepaskannya sitokin. Mekanisme ketiga (C) yaitu sitokin dilepaskan oleh sel lekosit selama proses penyimpanan komponen darah.

Sitokin yang dilepaskan melalui berbagai mekanisme tersebut akan merangsang hipotalamus sehingga pasien merasakan demam. Mekanisme pelepasan sitokin dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Mekanisme pelepasan sitokin pada reaksi FNHTR

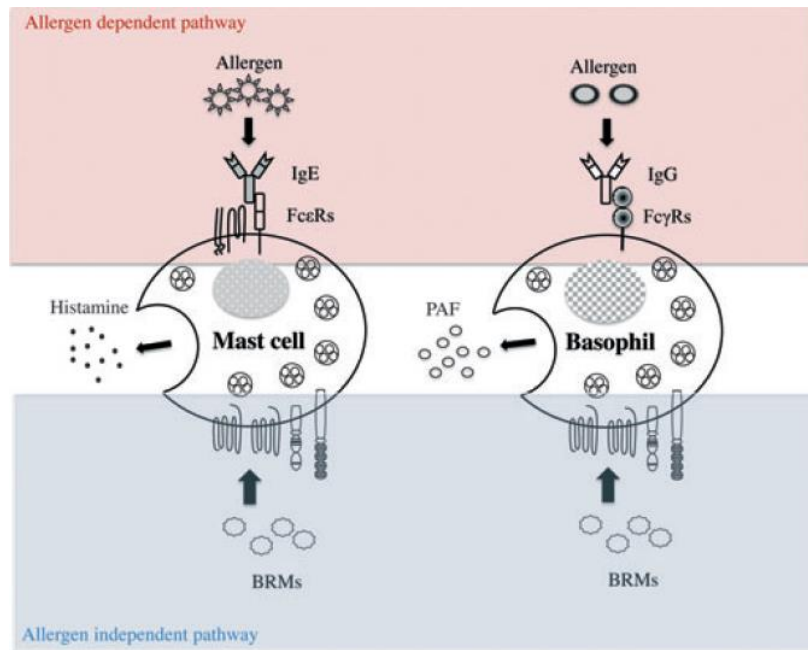
Sumber. <https://www.researchgate.net>

FNHTR terjadi jika terdapat kenaikan suhu tubuh $> 1^{\circ}\text{C}$ pada saat atau selama 24 jam paska transfusi yang disertai dengan gejala menggigil, demam, sakit kepala, nyeri otot. Selain itu, pasien dapat menderita hipotensi, muntah dan pernapasan terganggu.

B.3. Alergi

Reaksi alergi merupakan jenis reaksi transfusi yang cukup sering terjadi. Reaksi ini terjadi karena berbagai unsur yang bertindak sebagai alergen yang dapat mengaktifkan sel mast maupun basofil. Mekanisme terjadinya reaksi alergi terbagi melalui tiga jalur, yaitu :

1. *Allergen dependent pathway* (yang ditunjukkan dengan warna pink pada Gambar 4.5.) mempunyai mekanisme yaitu alergen yang dapat berupa protein plasma, protein makanan ataupun zat kimia seperti *methylen blue* akan terikat pada Ab (IgE/IgG) yang kemudian akan menempel dan terikat pada reseptor (FcRs) sel mast maupun basofil. Sel yang teraktivasi mengeluarkan substansi kimia, seperti histamin maupun *platelet activating factor* (PAF). Pada reaksi alergi yang melibatkan sel mast, (*allergen-dependent-mast cell mediated sub-pathway*), unsur lain yang terlibat adalah IgE dan FcεRs, sehingga sel mast teraktivasi dan menghasilkan substansi histamin . Pada reaksi alergi yang melibatkan sel basofil (*allergen-dependent-basophil mediated sub-pathway*) , unsur lain yang terlibat adalah IgG dan FcγRs sehingga sel basofil teraktivasi dan melepaskan substansi PAF.
2. *Allergen independent pathway* (yang ditunjukkan dengan warna biru muda pada Gambar 4.5. mempunyai mekanisme alergen yang disebut dengan *biological response modifiers* (BRMs) berupa sitokin yang dihasilkan selama proses penyimpanan komponen darah. BRMs dapat terikat langsung ke reseptor (FcRs) sel mast maupun basofil, sehingga sel teraktivasi. Mekanisme reaksi alergi dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Mekanisme reaksi alergi
Sumber. British Journal of Haematology

Alergen yang dapat memicu reaksi alergi, bisa berasal dari darah donor ataupun pasien yang akan bereaksi dengan Ab yang berasal dari darah pasien maupun komponen darah donor.



Pelepasan substansi karena adanya aktivasi sel mast, yaitu histamin akan menyebabkan vasodilatasi (pelebaran pembuluh darah) yang ditandai dengan warna kulit kemerahan. Gejala klinis lainnya yang dapat dirasakan pasien adalah gatal, pembengkakan pada area wajah, termasuk bibir atau mulut. Jika kondisi semakin parah, pasien dapat kesulitan bernapas. Reaksi alergi biasanya terjadi pada saat transfusi atau satu jam setelahnya.

B.4. Reaksi anafilaktik dan anaphylactoid

Reaksi anafilaktik dan anaphylactoid merupakan reaksi hipersensitivitas pada respon sistem imun yang merupakan bagian dari reaksi alergi. Komplikasi ini jarang terjadi, namun dapat membahayakan jiwa pasien. Reaksi dapat terjadi pada individu dengan defisiensi/kekurangan terhadap jenis Ab / immunoglobulin / protein tertentu, dalam hal ini adalah defisiensi terhadap immunoglobulin A (IgA), sehingga terdapat Ab terhadap IgA karena adanya riwayat paparan dengan IgA sebelumnya. Gejala klinis pasien akan terjadi setelah

transfusi beberapa mL plasma atau transfusi komponen darah yang terdapat plasma di dalamnya.

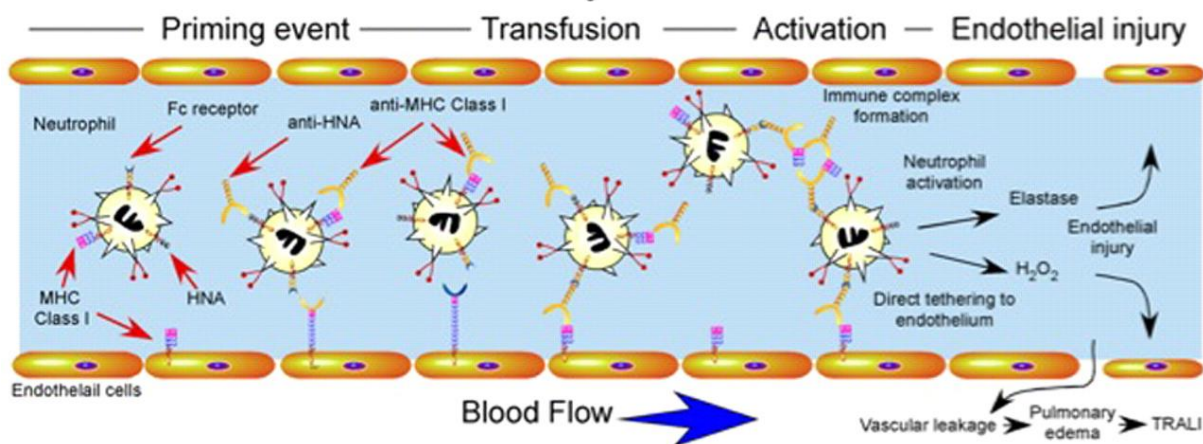
Reaksi anafilaktik dan anaphylactoid dibedakan dari jenis IgA yang lebih spesifik dan gejala klinisnya. Reaksi anafilaktik, yaitu reaksi terhadap individu dengan defisiensi IgA, sehingga mempunyai anti-IgA dari paparan sebelumnya. Gejala klinis reaksi anafilaktik berupa : batuk, sesak napas, mual, muntah, sakit di bagian dada, hipotensi, diare, bisa menyebabkan shock, hilang kesadaran yang dapat berujung pada kematian. Reaksi anaphylactoid terjadi pada pasien dengan konsentrasi IgA normal, tetapi mempunyai beberapa jenis IgA yang dapat bereaksi dengan bagian rantai ringan (*light chain*) IgA donor. Reaksi anaphylactoid, biasanya tidak separah reaksi anafilaktik, dengan gejala klinis berupa : urtikaria, sesak napas.

B.5. *Transfusion related acute lung injury* (TRALI)

TRALI merupakan reaksi transfusi yang dapat membahayakan jiwa pasien, hal ini disebabkan karena organ yang diserang adalah paru-paru, sehingga pasien mengalami sulit napas. Gejala klinis, biasanya terjadi pada kisaran 6 jam selama proses transfusi.

TRALI disebabkan oleh Ab terhadap lekosit (anti-HLA) atau Ab terhadap sel netrofil (anti-HNA) pada plasma donor. Ab yang berasal dari donor diperoleh dari riwayat paparan Ag sebelumnya pada donor, yang disebabkan, donor pernah transfusi darah sebelumnya atau donor mempunyai riwayat melahirkan beberapa kali (wanita multipara).

Ab yang terdapat di plasma dapat mengaktivasi netrofil pasien pada saat ditransfusikan. Sel netrofil bermigrasi ke paru-paru dan menempel pada bagian kapiler paru, serta melepaskan berbagai macam substansi, seperti enzim proteolitik, oksigen yang bersifat radikal bebas. Pelepasan berbagai macam substansi tersebut akan merusak sel endotel kapiler paru, yang berakibat pada kebocoran kapiler, sehingga cairan dan protein akan keluar menuju alveoli dan berakibat pembengkakan pada paru-paru. Mekanisme reaksi TRALI dapat dilihat pada Gambar 4.6. berikut. Gejala klinis yang timbul pada pasien berupa demam, hipotensi, sesak napas, penurunan tekanan oksigen di dalam tubuh. Pada kondisi ini, pasien membutuhkan suplai oksigen.



Gambar 4.6. Mekanisme reaksi TRALI

Sumber. Blood journal

Ket. gambar : Anti-HNA / anti-MHC kelas I / anti-HLA yang berasal dari komponen darah yang ditransfusikan dapat mengaktivasi netrofil yang terdapat pada pembuluh darah kapiler. Anti MHC kelas I juga dapat langsung mengenali dan menempel pada MHC kelas I di endotel pembuluh darah. Selain itu, kompleks imun antara anti HNA / anti MHC kelas I dan HNA / MHC kelas I terlarut juga dapat mengaktifasi netrofil. Aktivasi netrofil pada pembuluh darah kapiler menyebabkan kerusakan sel endotel kapiler.

Setelah membaca penjelasan mengenai reaksi transfusi imun akut, kerjakan latihan berikut :

No	Jenis reaksi	Penyebab	Pemicu reaksi	Gejala klinis
1	Hemolitik akut			
2	FNHTR			

3	Alergi			
No	Jenis reaksi	Penyebab	Pemicu reaksi	Gejala klinis
4	Anafilaktik & anaphylactoid			
5	TRALI			

C. REAKSI IMUN TUNDA

C.1. Reaksi hemolitik tunda

Reaksi hemolitik tunda disebabkan karena respon imun sekunder terhadap Ag pada sel darah merah donor. Hal ini terjadi karena pasien sudah pernah terpapar dengan jenis Ag yang sama sebelumnya sehingga pasien sudah mempunyai Ab terhadap Ag tersebut. Jenis Ab pada respon imun sekunder, biasanya adalah jenis IgG yang berada pada jumlah maksimal selama 3 – 7 hari setelah paparan dengan Ag yang sesuai. Pada kisaran hari tersebut, sel darah merah donor masih berada di aliran darah pasien, dan dapat dihancurkan secara cepat karena bereaksi dengan Ab yang sesuai.

Ab yang dapat menyebabkan reaksi hemolitik tunda, adalah Ab yang berasal dari sistem Rh, Kidd, Duffy, Kell dan MNSs. Jenis Ab tersebut adalah anti-c, anti-E, anti-Jk^a, anti-K, anti-Fy^a, anti-Jk^b, anti-M, anti-s, anti-Fy^b, anti-Fy3, anti-Kp^a, anti-N dan anti-U.

Gejala klinis pada pasien dengan reaksi transfusi tunda lebih ringan dibandingkan reaksi transfusi akut. Gejalanya antara lain : demam dan gejala anemia. Adanya penurunan Hb dan ikterus dapat terjadi 1 minggu setelah transfusi, terkadang dapat terjadi hemoglobinuria, namun tidak sampai terjadi gagal ginjal.

Gejala klinis pada pasien seperti demam, hipotensi berasal dari aktivitas sitokin yang dilepaskan sel leukosit yang distimulus pada reaksi hemolisis intravaskular maupun ekstrasvaskular.



C.2. Aloimunisasi

Reaksi komplikasi jangka panjang karena transfusi, salah satunya adalah reaksi aloimunisasi yaitu terbentuknya Ab terhadap paparan dengan Ag sel darah merah, leukosit maupun trombosit sebelumnya. Reaksi aloimunisasi biasanya terjadi pada pasien yang mendapat beberapa kali transfusi darah.

Gejala klinis yang timbul, umumnya tidak terlalu parah, seperti demam dan penurunan konsentrasi Hb. Namun demikian, reaksi aloimunisasi dapat mempunyai gejala klinis yang berat jika terjadi perdarahan, sebagai contoh : pada transfusi trombosit terjadi reaksi antara Ab trombosit pada pasien dengan trombosit yang ditransfusikan, sehingga terjadi penurunan trombosit yang signifikan (trombositopenia), jika reaksi berlanjut dapat menyebabkan perdarahan. Jika allo Ab yang terbentuk mempunyai reaksi yang kuat, efeknya dapat sulit untuk menemukan komponen darah yang sesuai pada transfusi berikutnya.

Untuk deteksi ada tidaknya reaksi aloimunisasi, dapat dilakukan pemeriksaan Coomb's test maupun skrining dan identifikasi Ab.

C.3. *Post transfusion purpura* (PTP)

PTP merupakan reaksi transfusi yang melibatkan komponen trombosit. Kondisi ini terjadi karena reaksi allo Ab terhadap trombosit yang ditransfusikan. Allo Ab trombosit melekat pada permukaan trombosit yang memicu dekstruksi ekstrasvaskular oleh retikuloendotelial sistem (RES), sehingga terjadi penurunan jumlah trombosit (trombositopenia).

Gejala klinis yang terjadi berupa purpura (kulit kemerahan) dan trombositopenia sekitar 1 – 2 minggu setelah transfusi. Trombositopenia berat dapat terjadi dengan penurunan jumlah trombosit sampai 10.000/ μ L darah. Reaksi tersebut dapat mendorong terjadinya hematuria, perdarahan pada saluran pencernaan sehingga terjadi kondisi melena.

C.4. *Transfusion-associated graft vs host disease (TA-GVHD)*

Reaksi ini cukup jarang terjadi pada transfusi, namun dapat bersifat fatal. Reaksi yang terjadi adalah limfosit T donor yang memicu sistem imun pasien. Sel limfosit donor dikenali sebagai substansi asing oleh sistem imun pasien, sehingga sel limfosit yang ditransfusikan dihancurkan di dalam tubuh pasien. Terdapat tiga faktor yang dapat mempengaruhi reaksi ini, yaitu; status imun pasien, kecocokan HLA antara donor dan pasien, dan berapa banyak sel T yang teraktifkan karena proses transfusi.

Jika darah yang mengandung limfosit ditransfusikan pada pasien dengan gangguan sistem imun, seperti pasien AIDS atau pada pasien yang sedang terapi penyakit kanker, maka reaksi TA-GVHD tidak terjadi. Namun demikian, pada kondisi tersebut, sel limfosit dapat berproliferasi dan menimbulkan penyakit yang lebih serius. Sel limfosit donor juga tidak dihancurkan di tubuh pasien, jika HLA donor dan pasien mempunyai *haplotype* yang sama.

Reaksi TA-GVHD seringkali tidak dikenali dan salah diagnosis dengan reaksi sepsis atau reaksi pengobatan. Gejala klinis terjadi 1 – 6 minggu setelah transfusi, yaitu berupa : diare, sakit pada bagian perut, mual dan muntah. Jika organ hati terkena, maka terjadi peningkatan konsentrasi bilirubin. Warna kulit kemerahan jika reaksi mempengaruhi kulit. Reaksi yang paling fatal terjadi, jika melibatkan sumsum tulang.

Setelah membaca penjelasan mengenai reaksi transfusi imun tunda, kerjakan latihan berikut.

No	Jenis reaksi	Penyebab	Pemicu reaksi	Gejala klinis
1	Hemolitik tunda			
2	Aloimunisasi			
3	PTP			

4	TA-GVHD			

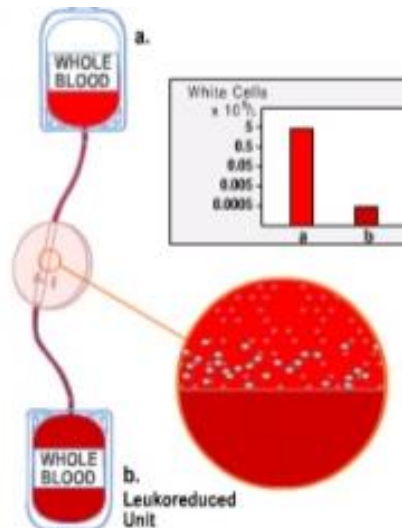
D. PENCEGAHAN REAKSI TRANSFUSI IMUN

Terapi transfusi darah mempunyai manfaat untuk menyembuhkan pasien bahkan dapat menyelamatkan jiwa pasien, akan tetapi, proses transfusi mempunyai resiko atau efek samping. Upaya pencegahan-pun dilakukan untuk meminimalisir dan mencegah reaksi tersebut.

Upaya yang dilakukan untuk pencegahan reaksi transfusi dimulai dari pengambilan darah donor, kontrol kualitas komponen darah yang akan diberikan ke pasien sampai dengan proses distribusi darah ke pasien. Setiap proses yang dilakukan harus terstandar dengan baik dan dikontrol. Sebagai contoh, penentuan dan penulisan jenis golongan darah donor dan pasien tidak boleh ada kesalahan, baik pada proses pemeriksaannya, maupun pelaporan dan penulisan hasil, karena jika terjadi kesalahan dapat fatal akibatnya. Validasi pemeriksaan dan *crosscheck* terhadap hasil golongan darah ABO pasien dan donor dapat mencegah kesalahan penentuan golongan darah donor yang dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik akut.

Reaksi transfusi hemolitik tunda maupun reaksi aloimunisasi dapat dicegah dengan melakukan pemeriksaan pre-transfusi yang disertai dengan pemeriksaan khusus skrining dan identifikasi Ab sebelum proses transfusi dilakukan. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya allo Ab yang terbentuk karena riwayat paparan dengan Ag sel darah merah sebelumnya. Pemeriksaan harus dilakukan pada pasien yang mempunyai riwayat transfusi sebelumnya, terlebih pada pasien yang menjalani terapi transfusi rutin, seperti : penderita thalasemia. Selain itu, baik dilakukan juga pada pasien yang beresiko terpapar oleh Ag sel darah merah lain, yaitu pada pasien yang mempunyai riwayat pernah melahirkan beberapa kali (multipara). Pada pencegahan reaksi TRALI yang banyak disebabkan oleh anti-HNA dapat dilakukan dengan meminimalisir wanita dengan riwayat multipara untuk donor plasma.

Pembuatan dan pengolahan komponen darah untuk transfusi juga memegang peranan penting untuk mencegah reaksi transfusi. Reaksi FNHTR, TRALI, PTP dapat dicegah dengan memberikan komponen darah 'miskin' leukosit (*leukopoor / leukoreduced*), yaitu darah yang diproses tertentu sehingga leukosit dapat berkurang secara efektif. Proses pengurangan atau penyingkiran leukosit dapat dilakukan dengan proses penyaringan menggunakan filter khusus yang terdapat pada bagian selang kantong darah (Gambar 4.7.).



Gambar 4.7. proses filtrasi lekosit pada sel darah merah

Sumber. <https://www.slideshare.net/rafiqagh/transfusion-med-prac>

Selain pembuatan komponen darah ‘miskin’ lekosit, cara lainnya untuk menyingkirkan lekosit maupun trombosit, dapat dilakukan dengan pembuatan komponen ‘*washed erythrocyte*’ (WE), yaitu sel darah merah yang dibuang bagian plasmanya dan dicuci dengan larutan NaCl 0.9%. Komponen WE juga dapat diberikan untuk mencegah reaksi alergi setelah transfusi. Pada pasien transfusi dengan indikasi alergi, dapat dilakukan tahapan pencegahan, yaitu : penulisan / dokumentasi riwayat alergi sebelumnya, diberikan obat pencegah alergi, sebelum transfusi dilakukan dan tranfusi dengan komponen darah yang *leukopoor* ataupun komponen darah dengan pengurangan bagian plasma. Komponen darah miskin plasma , juga baik digunakan untuk mencegah reaksi anafilaktik dan anaphylactoid.

Pasien dengan indikasi klinis ke arah gangguan sistem imun yang dapat mengalami reaksi transfusi TA-GVHD dapat diberikan komponen darah yang diberi perlakuan radiasi sinar gamma.

Proses penyimpanan komponen darah juga memberikan efek terhadap reaksi transfusi darah. Hal ini berkaitan dengan proses metabolisme darah selama proses penyimpanan. Tempat penyimpanan harus disesuaikan dengan suhu, kapasitas penampungan, supaya mencegah atau meminimalisir kerusakan komponen darah dan teraktivasinya berbagai substan sel darah selama penyimpanan. Penggunaan komponen darah PRC dengan masa simpan < 14 hari dan trombosit < 2 hari dapat mengurangi efek aktivitas Ab, protein dan unsur biologis lainnya yang terdapat di dalam plasma.

Dokumentasi terhadap reaksi transfusi baik digunakan untuk mencegah reaksi transfusi pada pasien dengan kondisi khusus, yaitu : alergi pada protein plasma, reaksi aloimunisasi, dan sebagainya. Dokumentasi tersebut dapat digunakan untuk rekomendasi terhadap

pemeriksaan pre-transfusi khusus seperti pemeriksaan skirining dan identifikasi Ab pada reaksi aloimunisasi, pemeriksaan terhadap Ab HLA untuk mencegah reaksi PTP atau pemberian komponen darah khusus, seperti komponen darah yang diberikan sinar radiasi untuk mencegah reaksi TA-GVHD. Pengetahuan dan latihan untuk mengenali gejala klinis terhadap reaksi transfusi juga dapat digunakan untuk mencegah kemungkinan reaksi transfusi pada pasien.

Setelah membaca penjelasan mengenai pencegahan reaksi transfusi imun tunda, kerjakan latihan berikut.

No	Jenis reaksi transfusi	Pencegahan

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi pada topik 1, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan definisi reaksi transfusi imun
2. Sebutkan perbedaan antara reaksi transfusi hemolitik akut dan tunda.
3. Sebutkan perbedaan antara hemolisis ekstrasvaskular dan intravaskular. Dari kedua jenis hemolisis, manakah yang paling berbahaya, dan jelaskan alasannya.
4. Jelaskan mekanisme terjadinya reaksi transfusi FNHTR
5. Jelaskan secara singkat mekanisme terjadinya reaksi alergi karena transfusi
6. Sebutkan perbedaan antara reaksi alergi dan reaksi anafilaktik, anaphylactoid.
7. Jelaskan definisi TRALI, mengapa reaksi tersebut dapat membahayakan jiwa pasien.
8. Sebutkan perbedaan reaksi transfusi antara TA-GVHD, aloimunisasi dan PTP
9. Sebutkan cara pencegahan dari tiap-tiap reaksi transfusi imun.

Ringkasan

Terapi transfusi dapat menyelamatkan jiwa pasien, namun demikian, tenaga kesehatan harus mengetahui dan mengenali reaksi transfusi dan bagaimana cara pencegahannya serta penanggulangan reaksi yang terjadi.

Jenis reaksi imun akut adalah : reaksi hemolitik akut, FNHTR, alergi, anafilaktik dan anaphylactoid, TRALI. Jenis reaksi imun tunda adalah : reaksi hemolitik tunda, aloimunisasi, PTP, TA-GVHD.

Reaksi hemolitik akut maupun tunda dapat terjadi melalui mekanisme lisis ekstravaskular maupun intravaskular.

Reaksi transfusi akut yang terjadi, umumnya melibatkan organ vital, yang jika tidak tertanggulangi dengan baik, dapat menyebabkan kematian pasien.

Jenis reaksi transfusi yang sering terjadi adalah reaksi alergi, namun reaksi ini tidak sampai membahayakan jiwa pasien.

Jenis reaksi transfusi yang bersifat fatal, dapat terjadi karena inkompatibilitas ABO, TRALI.

Reaksi transfusi tunda dapat dicegah melalui dokumentasi terhadap riwayat transfusi sebelumnya.

Penyediaan komponen darah dengan menggunakan teknologi pengolahan darah dapat membantu mengurangi reaksi transfusi, yaitu : proses penyaringan darah menggunakan filter khusus dapat mencegah reaksi FNHTR, TRALI, PTP.

Pencegahan terhadap reaksi transfusi tidak hanya terbatas pada pengobatan terhadap pasien saja, melainkan unsur-unsur yang terlibat pada proses penyediaan komponen darah, dimulai dari kriteria donor, pengambilan darah donor, pengolahan komponen darah, kontrol kualitas komponen darah, penyimpanan komponen darah, pemeriksaan pre-transfusi sampai dengan distribusi darah donor ke pasien.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Pada proses lisis sel darah merah secara intravaskular, tahapan apakah yang terjadi
 - A. Heme dan Fe dibawa ke organ hati
 - B. Makrofag memfagositosis Ag dan Ab
 - C. C5b, C6, C7, C8 dan C9 membentuk MAC
 - D. Bilirubin akan dieksresikan melalui ginjal
 - E. Komplemen hanya teraktivasi sampai C3, kemudian disingkirkan
2. Reaksi alergi setelah proses transfusi dapat disebabkan karena

- A. Terbentuknya kompleks imun
 - B. Vasodilatasi pada pembuluh darah
 - C. Adanya alergen pada darah donor
 - D. Terbentuknya Ab terhadap darah donor
 - E. Reaksi antara sel limfosit T donor dan resipien
3. Seorang pria usia 50 tahun, harus mendapatkan terapi transfusi karena adanya perdarahan. Sesaat setelah dilakukan transfusi, pasien tersebut merasakan demam, panas dingin dengan kenaikan suhu tubuh. Pemeriksaan laboratorium menunjukkan tidak ada penurunan Hb dan tidak terjadi hemoglobinuria. Reaksi trahsfusi yang terjadi pada pasien tersebut adalah
- A. PTP
 - B. FNHTR
 - C. TRALI
 - D. GVHD
 - E. Hemolitik
4. Proses yang dilakukan untuk mencegah terjadinya komplikasi FNHTR adalah
- A. Melakukan pemeriksaan HLA typing
 - B. Dilakukan uji silang serasi sebelum proses transfusi
 - C. Komponen darah yang ditransfusi harus leukoreduction
 - D. Hentikan proses transfusi jika dilihat pasien dalam kondisi tidak nyaman
 - E. Mengetahui riwayat pasien, apakah ada riwayat pernah transfusi sebelumnya
5. Pasien transfusi trombosit konsentrat. Setelah transfusi, tampak bintik merah yang meluas di lengan pasien. Reaksi yang terjadi pada pasien tersebut adalah
- A. PTP
 - B. Alergi
 - C. FNHTR
 - D. TRALI
 - E. GVHD

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 1 dengan kunci jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir bab 4 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 1.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 1, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Topik 2

Reaksi Transfusi Non Imun

A. KONSEP DASAR

Reaksi transfusi non imun yang dimaksud di sini adalah reaksi yang tidak melibatkan sistem imun (reaksi Ag dan Ab) secara langsung. Reaksi transfusi non imun lebih banyak disebabkan oleh efek pemberian komponen darah yang berpengaruh terhadap metabolisme tubuh, seperti penumpukan zat besi (Fe) di dalam tubuh pasien, maupun efek karena penyimpanan komponen darah yang menghasilkan berbagai macam substansi yang mempengaruhi metabolisme tubuh. Berdasarkan waktu munculnya gejala klinis pada pasien, reaksi transfusi non imun dapat bersifat akut maupun tunda. Reaksi transfusi non imun yang bersifat akut termasuk kontaminasi bakteri, oversirkulasi darah, dan reaksi fisik serta kimia terkait penyimpanan komponen darah. Reaksi non imun yang bersifat tunda, yaitu adanya infeksi menular lewat transfusi darah seperti infeksi virus dan parasit (akan dibahas tersendiri di bab 5) serta akumulasi Fe di dalam darah.

B. REAKSI TRANSFUSI NON IMUN AKUT

B.1 Sepsis karena kontaminasi bakteri di dalam kantong darah

Sepsis merupakan reaksi tubuh terhadap infeksi yang cukup berat, jika tidak tertangani dengan baik, maka dapat terjadi kerusakan organ. Kontaminasi bakteri merupakan penyebab utama terjadinya infeksi pada pasien paska transfusi. Berdasarkan beberapa studi, diketahui bahwa resiko kontaminasi bakteri pada komponen darah lebih besar dibandingkan infeksi menular lewat transfusi darah, seperti : HIV, hepatitis C (HCV), hepatitis B (HBV). Jenis komponen darah yang sering terkontaminasi bakteri adalah komponen trombosit.

Kontaminasi umumnya berasal dari bakteri kontaminan yang berasal dari kulit lengan donor pada saat pengambilan darah. Proses antisepsis kulit donor yang kurang baik menyebabkan bakteri yang normal terdapat di kulit donor dapat ikut bersama dengan aliran darah ke dalam kantong darah.

Proses pengolahan komponen darah, juga rentan terhadap kontaminasi bakteri dalam kantong darah donor. Pembuatan komponen darah yang tidak aseptik memungkinkan bakteri dapat tumbuh dan memperbanyak diri di dalam kantong komponen darah. Pada pembuatan komponen *wash erythrocyte* (WE) kemungkinan darah di dalam kantong dapat kontak dengan udara luar dan memperbesar resiko kontaminasi bakteri. Oleh karena itu, masa simpan komponen darah ini pendek.

Kontaminasi juga bisa terjadi pada proses penyimpanan komponen darah. Seperti diketahui, komponen darah untuk transfusi disimpan dalam kisaran suhu yang beragam,

sebagai contoh : komponen trombosit yang disimpan pada suhu $22 \pm 2^{\circ} \text{C}$. Kondisi tersebut memungkinkan bakteri dapat tumbuh dan memperbanyak diri. Selain itu, jenis kantong komponen trombosit yang berpori, dapat meningkatkan kemungkinan kontaminasi bakteri dari lingkungan sekitar. Oleh karena itu, masa penyimpanan trombosit maksimal adalah lima hari. Selain itu, jika komponen darah yang disimpan pada suhu dingin, kemudian ditaruh di suhu ruang lebih dari 30 menit, maka dapat meningkatkan reaksi kontaminasi bakteri.

Komponen sel darah merah juga dapat terkontaminasi oleh bakteri yang berasal dari donor, akan tetapi tidak menimbulkan gejala klinis pada donor, sehingga tidak terdeteksi pada saat seleksi donor. Sebagai contoh, bakteri *Yersinia enterocolitica* yang tidak terlalu menampakkan gejala klinis, yaitu donor hanya menderita diare ringan. *Yersinia enterocolitica*, diketahui juga dapat memproduksi toksin pada suhu rendah.

Beberapa jenis bakteri dapat tumbuh dan berkembang pada suhu dingin, sehingga memungkinkan komponen sel darah merah, dengan suhu simpan $4 \pm 2^{\circ} \text{C}$ dapat terkontaminasi bakteri. Jenis bakteri yang dapat mengontaminasi yaitu : Bakteri batang Gram negatif (*Yersinia enterocolitica*, *E.coli*, *Enterobacter/Pantoea sp*, *Serratia marcescens* dan *S.líquifaciens*, *Pseudomonas sp*) dan bakteri kokus Gram positif (*Staph. Epidermidis*, *Propionibacteria*, *Staph aureus*). Kontaminasi bakteri juga dapat mencetus sel lekosit yang ada di dalam kantong darah untuk memproduksi sitokin yang dapat memicu efek demam pada pasien.

Gejala klinis pasien yang diakibatkan karena kontaminasi bakteri, yaitu : demam (kenaikan suhu dapat $> 2^{\circ} \text{C}$), menggigil, mual, muntah, hipotensi dan dapat terjadi shock. Gejala ini dapat terjadi beberapa menit pada saat transfusi. Jika reaksi sepsis terjadi pada pasien transfusi, dengan gejala kenaikan suhu tubuh $> 2^{\circ} \text{C}$ dan hipotensi, maka komponen darah yang ditransfusikan perlu diperiksa dengan pewarnaan Gram dan kultur bakteri. Sampel pasien setelah transfusi juga dikultur, untuk mengetahui kesamaan dari jenis bakteri yang terdapat pada masing-masing sampel.

Setelah membaca penjelasan mengenai reaksi sepsis karena kontaminasi bakteri di dalam kantong darah, kerjakan latihan berikut :

Sebutkan dan jelaskan tiga cara, bakteri dapat mengontaminasi kantong darah donor.

B.2. Efek transfusi terhadap komponen darah simpan

Komponen darah yang disimpan dalam jangka waktu tertentu, akan memberikan reaksi transfusi terhadap pasien. Faktor fisik sel darah maupun faktor kimia dari komponen darah dapat mempengaruhi kualitas komponen darah simpan. Faktor fisik diantaranya adalah : kerusakan sel darah terutama sel darah merah (hemolisis) pada proses pengolahan komponen darah dan penyimpanan. Faktor kimia terkait dengan unsur kimia yang teraktivasi pada proses pengolahan maupun komponen darah, sebagai contoh, kalium yang keluar dari dalam sel darah ke plasma selama proses penyimpanan darah.

Selama penyimpanan komponen darah, perubahan-perubahan metabolik terjadi baik di dalam sel darah maupun di plasma. Perubahan yang terjadi dapat mempengaruhi efek terapi dan pengobatan yang diberikan. Pada proses penyimpanan komponen darah tidak ada keseimbangan antara produksi dan destruksi, sintesis dan pemecahan protein, hanya ada destruksi tanpa ada produksi sehingga hasil produk metabolisme dan penghancuran sel darah merah terakumulasi pada larutan di dalam kantong darah. Beberapa perubahan tersebut dapat mempengaruhi fungsi sel darah yang ditransfusikan.

Sel darah merah pada komponen darah simpan dapat lisis, kondisi ini biasanya ditunjukkan oleh Hb bebas di dalam plasma/medium komponen darah. Lisis sel darah merah pada komponen darah sebelum ditransfusikan disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya : (i) stress mekanik pada sel yang terjadi selama proses pengolahan darah, seperti sentrifugasi, homogenisasi, (ii) kontaminasi bakteri, (iii) variasi sel darah merah donor seperti donor dengan sferositosis hereditas, donor dengan defisiensi glukosa 6 fosfat dehydrogenase. Kondisi lisis sel darah merah menyebabkan komponen darah tersebut tidak mempunyai efek terapi yang diinginkan, bahkan pada kadar tertentu adanya Hb bebas di dalam darah pasien dapat meningkatkan kadar bilirubin dalam darah.

Bertambahnya waktu penyimpanan komponen darah, menyebabkan terjadinya beberapa reaksi oksidatif yang dapat menyebabkan sel darah merah dilisis oleh sistem imun pasien. Penghancuran sel darah merah yang ditransfusikan di sirkulasi mengurangi efek terapi dari transfusi, mengaktifkan sistem retikuloendotelial sistem (RES) pasien dan terakumulasinya Fe di dalam tubuh pasien.

Berkurang/hilangnya fungsi pompa kation dalam sel darah merah pada komponen darah simpan menghasilkan ketidakseimbangan kadar natrium (Na) dan kalium (K). Kalium yang berada di dalam sel darah akan keluar ke plasma, sedangkan Na yang berada di luar sel akan masuk ke dalam sel darah. Pompa Na^+/K^+ inaktif pada suhu 4°C . Hal ini menyebabkan peningkatan konsentrasi kalium darah (hiperkalemia) pada pasien pasca transfusi. Penurunan konsentrasi kalium di dalam sel dan peningkatan kalium di luar sel sekitar 1 mEq/L/hari. Peningkatan kalium dalam plasma dapat menyebabkan komplikasi jantung dan bisa berakhir

dengan kematian pasien. Biasanya komplikasi hiperkalemia karena transfusi terjadi pada bayi baru lahir, pasien gagal ginjal, pasien dengan kondisi hipotermia dan asidosis.

Mikroagregat yang terdiri atas sel leukosit, trombosit dan benang fibrin yang terbentuk selama penyimpanan komponen darah dapat menyebabkan reaksi transfusi. Beberapa studi menunjukkan bahwa mikroagregat dapat menimbulkan komplikasi di organ paru-paru.

Setelah membaca penjelasan mengenai efek transfusi terhadap komponen darah simpan ,
kerjakan latihan berikut :

Sebutkan perubahan yang terjadi pada sel darah selama penyimpanan komponen darah dan jenis reaksi transfusi yang dihasilkan.

No	Perubahan pada komponen darah selama penyimpanan	Reaksi transfusi yang dihasilkan

B.3. Efek transfusi dalam jumlah dan volume besar

Jika transfusi dilakukan pada pasien yang mengalami perdarahan parah dan harus ditransfusi dengan jumlah darah yang cukup banyak (6 unit kantong darah dewasa) dalam waktu kurang dari 24 jam, maka berbagai macam reaksi transfusi non imun dapat terjadi.

Reaksi hipotermi dapat terjadi pasca transfusi, yaitu pasien yang ditransfusi secara cepat dengan komponen darah yang disimpan pada suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$. Kondisi ini dapat menurunkan suhu di dalam tubuh, yang dapat mempengaruhi hemostasis tubuh pasien. Kondisi hipotermia menurunkan metabolisme sitrat dan laktat serta meningkatkan derajat hipokalsemia, dan menurunkan tingkat pelepasan Hb ke jaringan. Efek samping lainnya berupa penurunan fungsi trombosit dan faktor koagulasi, sehingga akan lebih meningkatkan resiko perdarahan.

Keracunan sitrat juga dapat terjadi ketika sejumlah besar volume komponen plasma yang mengandung antikoagulan sitrat ditransfusikan ke pasien. Transfusi komponen plasma dalam jumlah besar dapat mengakibatkan ketidakseimbangan elektrolit tubuh pasien, yaitu menurunnya kalsium darah (hipokalsemia), menurunnya kadar magnesium darah (hipomagnesemia), dan jenis elektrolit lainnya.

Hipokalsemia merupakan ciri utama dari keracunan sitrat. Hal ini dikarenakan, ketika antikoagulan sitrat yang berasal dari komponen darah ditransfusikan, maka sitrat akan mengikat ion kalsium. Jenis kation lainnya, seperti magnesium dan zinc juga dapat diikat oleh sitrat jika jumlah sitrat yang masuk ke dalam tubuh pasien berasal dari 6 atau lebih kantong darah donor. Pada saat sitrat masuk ke dalam tubuh pasien, biasanya langsung dimetabolisme menjadi bikarbonat di jaringan yang kaya akan mitokondria, seperti : organ hati, otot rangka dan ginjal. Oleh karena itu, pasien dengan kelainan organ hati, gagal ginjal, disfungsi paratiroid merupakan pasien dengan resiko tinggi terjadi keracunan sitrat pada transfusi komponen darah yang mengandung plasma atau komponen plasma. Jumlah sitrat pada satu kantong darah tidak akan mempengaruhi konsentrasi kalsium darah.

Gejala klinis yang terjadi pada pasien dengan keracunan sitrat adalah : kejang otot, kram, mual, muntah, detak jantung yang tidak teratur dan lebih lambat dari normal, hipotensi, jika kondisi pasien makin parah, maka dapat terjadi tetani.

Pada transfusi dalam jumlah besar, ada kemungkinan terjadinya mikroagregat trombosit, fibrin dan leukosit. Mikroagregat tersebut tidak bisa disingkirkan dengan filter darah biasa dengan ukuran $170\ \mu\text{m}$.

Kalium (K) merupakan jenis elektrolit utama yang mempunyai fungsi pada otot. Transfusi dalam jumlah besar dapat menyebabkan peningkatan kalium (hiperkalemia) maupun penurunan kalium (hipokalemia).

Hiperkalemia terjadi karena efek darah simpan yang menyebabkan kalium dapat ke luar sel darah merah. Hiperkalemia terjadi jika pasien mendapat transfusi dengan 6 atau lebih kantong darah dewasa.

Penurunan konsentrasi kalium darah (hipokalemia) juga dapat terjadi pada pasien yang mendapat transfusi darah dalam jumlah banyak. Komponen darah simpan merupakan sel darah merah dengan konsentrasi kalium di dalam sel yang berkurang pada proses penyimpanan. Pada saat ditransfusikan, kalium yang berada pada plasma pasien akan pindah secara osmosis ke dalam sel darah merah untuk memenuhi kebutuhan kalium di dalam sel darah yang ditransfusikan.

Reaksi transfusi berikutnya adalah oversirkulasi yang terjadi jika volume darah pasien meningkat di atas kapasitas sistem kardiopulmonari tubuh pasien. Hal ini terjadi ketika terlalu banyak volume darah yang ditransfusikan tidak sebanding dengan volume darah yang hilang. Biasanya, kondisi ini terjadi pada pasien bayi atau anak kecil, jika komponen darah yang ditransfusikan tidak seimbang dengan berat badan dan total volume darah pasien. Selain itu, pasien lansia maupun penderita anemia berat dengan kadar hemoglobin < 5 g/dL juga bisa menderita oversirkulasi paska transfusi.

Gejala klinis yang terjadi berupa : susah napas, denyut jantung yang lebih dari normal (takikardia), hipotensi dan kondisi menjadi parah jika terjadi pembengkakan paru-paru. Gejala, biasanya terjadi pada kisaran 6 jam pada saat transfusi.

Setelah membaca penjelasan mengenai efek transfusi dalam jumlah dan volume besar ,
kerjakan latihan berikut :

Lengkapi tabel di bawah ini dengan menuliskan jenis reaksi transfusi karena komponen dan volume darah yang banyak.

No	Jenis reaksi transfusi karena volume komponen darah yang banyak	Reaksi transfusi yang dihasilkan

C. REAKSI TRANSFUSI NON IMUN TUNDA

C.1. Akumulasi Fe

Akumulasi/penumpukan Fe merupakan reaksi transfusi pada pasien dengan terapi transfusi rutin, seperti : pasien thalasemia, *sickle cell* dan penyakit anemia kronis lainnya. Akumulasi Fe berasal dari molekul hemoglobin sel darah merah yang dihancurkan. Satu unit komponen PRC mengandung 250 mg Fe. Pada saat sejumlah sel darah merah ditransfusikan dan kemudian dihancurkan, maka tubuh tidak bisa mengeluarkan Fe dalam jumlah besar, sehingga Fe disimpan di dalam tubuh sebagai hemosiderin dan feritin. Akumulasi Fe pada RES, organ hati, jantung, limpa dan organ endokrin akan menimbulkan kerusakan organ lebih lanjut.

Gejala klinis yang timbul pada pasien adalah : kelemahan otot, kelelahan, penurunan berat badan, ikterus, anemia, denyut jantung yang tidak teratur.

D. PENCEGAHAN REAKSI TRANSFUSI NON IMUN

Reaksi transfusi non imun lebih banyak disebabkan karena menurunnya kualitas komponen darah yang ditransfusikan. Sebagai contoh, adanya peningkatan hemolisis (sel darah merah rusak dan lisis) selama penyimpanan, sehingga menimbulkan ketidakseimbangan elektrolit. Selain itu, kemungkinan adanya kontaminasi bakteri pada komponen darah selama penyimpanan. Oleh karena itu, perlu diperhatikan proses kontrol kualitas (*quality control*/QC) mulai dari seleksi donor, pengambilan darah donor, pembuatan komponen darah sampai dengan distribusi komponen darah ke pasien. Setiap langkah kegiatan yang dilakukan harus sesuai dengan standar yang dimiliki oleh unit transfusi darah yang melakukan kegiatan tersebut.

Pada saat seleksi donor, harus diperhatikan riwayat donor, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan terhadap infeksi menular lewat transfusi darah. Proses tersebut berguna untuk mencegah donor yang terindikasi mempunyai infeksi kronis yang dapat menular lewat transfusi darah dan kemungkinan adanya infeksi bakteri yang dapat mengontaminasi komponen darah.

Proses berikutnya, yaitu antisepsis lengan donor pada saat pengambilan darah donor. Beberapa studi di dalam maupun luar negeri menunjukkan, jika antisepsis lengan donor tidak dilakukan dengan benar, maka komponen darah beresiko besar terkontaminasi oleh bakteri normal yang berasal dari lengan donor. Pada saat pengambilan darah donor, ada baiknya menggunakan kantong darah khusus yang dapat memisahkan 42 mL aliran darah pertama, sehingga bakteri yang kemungkinan berasal dari lengan donor dapat disingkirkan.

Selain pada proses pengambilan darah donor, sterilitas komponen darah harus dijaga selama proses persiapan dan pengolahan komponen darah serta proses pencairan plasma darah yang beku (*fresh frozen plasma* / FFP, *cryoprecipitate*) di waterbath. Waterbath harus dibersihkan dengan menguras air di dalamnya dan didesinfeksi setiap minggu untuk mencegah pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* dan *B.cepacia* yang biasa mengontaminasi waterbath. Selain itu. Komponen plasma juga harus dijaga supaya tetap kering selama proses pencairan plasma di waterbath dengan bungkus plastik.

Berdasarkan studi, diketahui bahwa penggunaan komponen darah apheresis dapat mengurangi tingkat kontaminasi bakteri dibandingkan pengolahan pada komponen darah yang dikumpulkan (pooling) , seperti pada komponen trombosit.

Patuh terhadap SOP dan bekerja dengan memperhatikan aspek sterilitas komponen darah dapat mencegah terjadinya kontaminasi bakteri pada komponen darah. Langkah pencegahan lainnya, yaitu melakukan pengamatan visual terhadap kemungkinan adanya perubahan warna komponen darah menjadi merah keunguan atau coklat, adanya bekuan, maupun hemolisis. Hal ini juga dapat membantu mencegah kemungkinan adanya kontaminasi bakteri maupun kerusakan komponen darah.

Bakteri akan mudah untuk memperbanyak diri selama proses penyimpanan komponen darah, mengingat darah merupakan medium yang baik untuk hidup dan berkembangnya bakteri. Ada tidaknya bakteri yang tumbuh di komponen darah dapat dideteksi dengan pemeriksaan kultur bakteri, yang dapat dilakukan untuk pemeriksaan QC rutin maupun pemeriksaan skrining sebelum transfusi.

Pencegahan lainnya terhadap efek komponen darah simpan, yaitu melakukan pemeriksaan terhadap lisis sel darah merah terkait lamanya masa simpan yang juga dapat merupakan petanda adanya kontaminasi bakteri. Pemeriksaan terhadap penurunan derajat keasaman (pH) komponen trombosit juga dapat merupakan indikator adanya kontaminasi bakteri. Masa simpan komponen darah juga berpengaruh terhadap kualitas komponen darah yang dihasilkan. Semakin lama masa simpan darah, maka kualitas komponen darah akan menurun.

Penggunaan alat juga harus divalidasi, seperti : validasi suhu pada tempat penyimpanan komponen darah. Jika suhu tempat pengolahan dan penyimpanan komponen darah tidak dicek dan divalidasi setiap hari, maka komponen darah akan beresiko besar terjadi kerusakan selama penyimpanan.

Pada saat akan didistribusikan untuk transfusi, harus diperhatikan makroskopis / penampakan komponen darah, seperti : komponen trombosit yang beragregasi / mengumpul, warna sel darah merah yang terlalu pekat, cek ada tidaknya kebocoran pada kantong darah.

Indikasi pemberian komponen darah dan volume yang ditransfusikan untuk mencegah terjadinya oversirkulasi. Pada pasien oversirkulasi, transfusi tidak bisa dilakukan secara cepat dalam periode 4 jam pertama sesuai standar, melainkan transfusi harus dilakukan perlahan dan bisa saja satu komponen darah dibagi dalam beberapa kantong. Riwayat klinis terkait penyakit dan reaksi transfusi sebelumnya juga dapat mencegah reaksi oversirkulasi pada transfusi berikutnya.

Maksimal waktu yang digunakan dari distribusi komponen darah sampai dengan ditransfusikan ke pasien harus memenuhi ketentuan prosedur pendistribusian darah. Hal ini dilakukan untuk mencegah penurunan kualitas komponen darah.

Untuk mencegah reaksi transfusi berupa hipotermia, maka pasien yang harus transfusi darah dalam jumlah banyak dan cepat bisa menggunakan alat penghangat darah (*blood warmer*) yang sesuai.

Pada pasien yang harus menjalani terapi rutin transfusi darah, untuk mencegah terjadinya reaksi akumulasi Fe di dalam tubuh, dapat dilakukan pengobatan berupa pemberian *chelating agent* yang dapat mengikat Fe dan mengeluarkan dari dalam tubuh.

Setelah membaca penjelasan mengenai pencegahan reaksi transfusi non imun, kerjakan latihan berikut :

Lengkapi tabel di bawah ini dengan menuliskan jenis reaksi transfusi dan cara pencegahannya.

No	Jenis reaksi	Cara Pencegahannya

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi pada topik 2, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Apakah yang dimaksud dengan reaksi transfusi non imun.
- 2) Sebutkan perbedaan reaksi antara transfusi non imun akut dan tunda.
- 3) Mengapa komponen trombosit rentan untuk terjadinya kontaminasi bakteri yang dapat menimbulkan reaksi sepsis.
- 4) Sebutkan penyebab reaksi hemolitik non imun pada komponen darah.
- 5) Apakah yang dimaksud dengan efek transfusi terhadap komponen darah simpan.
- 6) Apakah yang dimaksud dengan efek transfusi dalam jumlah dan volume besar.

Ringkasan

- 1) Transfusi merupakan tindakan menambahkan sejumlah volume darah yang tidak sedikit, dan tubuh dapat bereaksi terhadap penambahan volume darah tersebut.
- 2) Reaksi transfusi non imun lebih banyak terjadi karena efek mekanis terhadap komponen darah simpan, terutama pada pasien dengan terapi transfusi rutin dan dalam jumlah banyak.
- 3) Efek darah simpan yang menyebabkan reaksi transfusi terjadi karena ketidakseimbangan metabolisme sel darah, salah satunya adalah kondisi hiperkalemia dan dapat menyebabkan komplikasi jantung.
- 4) Berdasarkan lamanya gejala klinis yang timbul pada pasien, reaksi transfusi non imun terdiri atas : reaksi transfusi non imun akut dan tunda.
- 5) Reaksi transfusi akut merupakan reaksi yang seringkali mempunyai gejala klinis berat.
- 6) Reaksi transfusi non imun yang bersifat akut adalah sepsis karena kontaminasi bakteri di dalam kantong darah, hiperkalemia, hipokalemia, hipotermia, keracunan sitrat, oversirkulasi darah.
- 7) Reaksi non imun yang bersifat tunda , yaitu akumulasi Fe di dalam darah.
- 8) Efek transfusi dalam volume dan jumlah besar, akan terjadi jika jumlah kantong darah yang ditransfusikan 6 kantong atau lebih dalam waktu kurang dari 24 jam.
- 9) Pencegahan reaksi transfusi non imun dikhususkan pada peningkatan kualitas komponen darah yang terkait SOP dan Kontrol kualitas (QC) tiap tahapan dari seleksi donor, pengolahan dan penyimpanan komponen darah sampai dengan distribusi komponen darah.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Apakah penyebab reaksi transfusi non imun
 - A. Reaksi Ag dan Ab
 - B. Aktivitas komplemen
 - C. Demam karena adanya sitokin
 - D. Peningkatan bilirubin karena hemolisis
 - E. Penumpukan Fe pada pasien thalaemia
2. Jika seorang pasien mendapat transfusi dalam jumlah banyak dan volume besar, maka reaksi transfusi yang dapat terjadi adalah

- A. Alergi
- B. Sepsis
- C. Demam
- D. Hemolisis
- E. Oversirkulasi

3. Apakah dampak negatif yang dapat terjadi karena transfusi dengan komponen darah simpan

- A. Sel darah hemolisis
- B. Terakumulasinya Fe
- C. Keracunan sitrat
- D. Oversirkulasi
- E. Hipotermia

4. Reaksi transfusi non imun dapat dicegah dengan cara

- A. Pemeriksaan skrining dan identifikasi Ab
- B. Membuat komponen darah *leukoreduced*
- C. Melakukan proses QC pada komponen darah
- D. Komponen darah dilakukan radiasi sinar gamma
- E. Pelatihan mengenai penanganan pasien transfusi

5. Pemberian chelating agent dapat dilakukan untuk mencegah reaksi transfusi

- A. Sepsis
- B. Oversirkulasi
- C. Hiperkalemia
- D. Hipocalsemia
- E. Akumulasi Fe

Cocokkanlah jawaban anda pada Tes 2 dengan kunci jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir bab 4 ini. Hitunglah jawaban yang benar, kemudian gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan anda terhadap materi Topik 2.

$$\text{Jumlah jawaban yang benar} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang benar}}{\text{jumlah soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan : 90 – 100% = baik sekali

80 – 89% = baik

70 – 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, anda dapat meneruskan ke bab selanjutnya. Tetapi, jika penguasaan materi anda masih di bawah 80%, anda harus mengulangi materi Topik 2, terutama bagian yang belum anda kuasai.

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

- 1) C.
- 2) C.
- 3) B.
- 4) C.
- 5) A.

Test Formatif 2

- 1) E.
- 2) E.
- 3) A.
- 4) C.
- 5) E.

Glosarium

- Transfusi : proses menyalurkan darah atau produk-nya dari satu orang ke sistem peredaran darah orang lain.
- Sitokin : molekul protein yang dikeluarkan oleh sel ketika diaktifkan oleh antigen untuk meningkatkan respon imun.
- Hemolisis : pecahnya membran sel darah merah sehingga hemoglobin keluar dari dalam sel ke medium sekelilingnya, yaitu plasma.
- Fagositosis : suatu proses sel fagosit menelan sel-sel asing.
- Sferosit : jenis kelainan sel darah merah dengan bentuk kecil dan padat.
- Ikterus : kondisi adanya penumpukan bilirubin sehingga kulit dan bagian sklera mata menjadi kuning.
- Hepatosit : sel parenkimal pada hati.
- Sistem gastrointestinal : sistem pencernaan untuk menerima makanan, mencerna, menyerap zat gizi dan energi dan membuang bagian makanan yang tidak dapat dicerna.
- Hemoglobinemia : Adanya Hb bebas di dalam plasma **darah** karena reaksi hemolisis.
- Hipotalamus : pusat pengendali fungsi tubuh dan sistem syaraf untuk menjaga agar kondisi tubuh selalu konstan dan stabil.
- Alergen : suatu substansi yang dapat menginduksi pembentukan IgE dan menghasilkan reaksi alergi.
- Hipotensi : tekanan darah kurang dari nilai normal.

Daftar Pustaka

B Armstrong, J Hardwick, L Raman, E Smart et al. ISBT Science Series. Wiley-Blackwell. 2008.

Beutler E, West C. The storage of Hard Packed Red Blood Cells in CPD and CPDA-1. Blood .1979; 54(1).

Flegel WA. Pathogenesis and mechanisms of antibody-mediated hemolysis. Transfusion. 2015;55(0):S47-S58.

Flagel WA. Fresh blood for transfusion: how old is too old for red blood cell units?. Blood transf 2012;10:247-51.

Hart S, Gazdewich CMC, McCluskey SA. Red cell transfusion and the immune system. Anaesthesia.2015;70(Suppl.1):38-45.

Harmening DM. Modern blood banking and transfusion practices. 4th ed. Bangkok: F.A Davis Company; 1994.

Hillyer, Silberstein, Ness, Anderson, Roback. Blood banking & transfusion medicine basic, principles & practice. 2nd^{ed}. USA: Churchill livingstone elsevier; 2007.

Hirayama F. Current understanding of allergic transfusion reactions: incidence, pathogenesis, laboratory tests, prevention and treatment. British journal of haematology. 2013;160:434-444.

Kim H, et al. Anaphylactic transfusion reaction in a patient with anhapto globinemia: the first case in Korea. Annals of laboratory medicine. 2012;32(4):304-306.

Maxwell MJ, Wilson MJA. Complications of blood transfusion. British journal of anaesthesia. 2006;6(6):225-229.

Sahu S, Hemlata, Verma A. Adverse events related to blood transfusion. Indian journal of anaesthesia. 2014;58(5):543-551.

Simon TL, et al. Rossi's principles of transfusion medicine. 4th ed. UK : Wiley-Blackwell; 2009.

Sowemimo-coker SO. Red blood cell hemolysis during processing. Transfusion medicine reviews. 2002;16(1):46-57.

Strobel E. Hemolytic transfusion reactions. Transfusion medicine and hemotherapy. 2008;35:346-353.

Yoshida T, Shevkoplyas SS. Anaerobic storage of red blood cells. Blood transfusion. 2010;8:220-36.

<http://pedsinreview.aappublications.org/content/pedsinreview/37/6/235.full.pdf>

https://www.labce.com/spg404296_febrile_nonhemolytic_transfusion_reactions_definit.aspx

https://www.researchgate.net/figure/Figure-1-Pathophysiology-of-febrile-non-haemolytic-transfusion-reactions-FNHTR-three-different_fig3_227999306

<https://www.slideshare.net/rafiqagh/transfusion-med-prac>

http://www.bbguy.org/pdf/2012_11_TX_RXNs.pdf

<https://academic.oup.com/labmed/article-abstract/33/5/380/2657230>

<https://www.cdc.gov/sepsis/basic/index.html>

https://transfusion.com.au/adverse_transfusion_reactions/taco

https://www.clpna.com/wp-content/uploads/2013/02/ed_Adverse_Transfusion_Reactions.pdf

<http://www.irondisorders.org/Websites/idi/Images/TIOtrifold.pdf>

<http://www.eclinpath.com/chemistry/liver/cholestasis/bilirubin/bilirubin-and-hemolysis/>

<https://www.med-ed.virginia.edu/courses/path/innes/rcd/hemo.cfm>

<https://watermark.silverchair.com/labmed33>

Bab 5

INFEKSI MENULAR LEWAT TRANSFUSI DARAH

Ganjar Noviar, S.ST., M.Biomed

Pendahuluan

Sampai saat ini telah dikenal 4 kelompok mikro organisme penyebab infeksi, yaitu : virus, bakteri, protozoa dan jamur. Dari ke-4 jenis mikro organisme tersebut, diantaranya telah terbukti dapat ditularkan melalui pelayanan transfusi darah yaitu virus, bakteri dan protozoa. Infeksi jamur serius biasanya membuat orang menjadi terlapau sakit dan ditolak menjadi donor.

Pada Bab ini akan membahas beberapa agen penyakit yang dapat ditularkan lewat transfusi darah serta pemeriksaan uji saring yang dilakukan untuk mencegah penularan agen penyakit lewat transfusi darah tersebut. Virus merupakan penyebab yang paling umum ditularkan melalui transfusi darah, dimana virus merupakan bentuk kehidupan yang paling sederhana dan dapat menginfeksi semua bentuk kehidupan. Virus tidak bersifat seluler, karena tidak memiliki komponen yang diperlukan untuk hidup dan tumbuh sendiri. Untuk memperoleh komponen-komponen yang hilang ini, virus tergantung pada sel penjamu (host) yang mereka infeksi.

Setelah menginfeksi sel penjamu yang sesuai, virus tersebut mempengaruhi fungsi-fungsi normal dari sel host. Asam nukleat virus menyebabkan sel tersebut membuat partikel virus baru yang disebut virion, yang akan di lepaskan dari sel host dan menginfeksi sel-sel lainnya. Protein yang terdapat dalam lapisan virus dan inti virus dikenali melalui respon kekebalan dari organisme tersebut. Beberapa contoh virus yang umum, antara lain : virus hepatitis A, virus hepatitis B dan Human Immunodeficiency Virus (HIV).

Beberapa virus memiliki sifat kelatentan (latency), yaitu kemampuan suatu virus untuk menggabungkan asam nukleatnya dengan asam nukleat dari sel host. Para agen mikroba menular melalui transfusi darah dapat menyebabkan kecacatan dan kematian pada resipien. Untuk menular melalui darah, agen infeksi biasanya memiliki karakteristik sebagai berikut:

- Kehadiran dalam darah untuk waktu yang lama, kadang-kadang dengan titer tinggi
- Stabil dalam darah jika disimpan pada 4°C atau lebih rendah

- Masa inkubasi lama sebelum munculnya tanda-tanda klinis
- Fase asimtomatik atau gejala hanya ringan dalam donor darah, maka tidak dapat diidentifikasi selama proses seleksi donor darah .

Volume darah atau komponen darah yang besar diberikan kepada pasien selama terapi transfusi dengan jumlah virus yang rendah dapat menyebabkan infeksi di penerima. Sangat penting bahwa layanan transfusi darah sudah memiliki sistem penyaringan efektif untuk mendeteksi, memisahkan dan menghapus donor darah reaktif dan semua komponen yang berasal dari sumbangan tersebut dari bagian karantina sehingga tidak digunakan sebagai persediaan. Hanya darah dan komponen darah yang non-reaktif dapat diberikan untuk penggunaan klinis atau manufaktur.

Berbagai penanda infeksi muncul pada waktu yang berbeda setelah infeksi. Setiap infeksi menular lewat transfusi darah memiliki satu atau lebih periode jendela, mulai dari beberapa hari sampai bulan, tergantung pada agen infeksi, skrining penanda yang digunakan dan teknologi penyaringan dipakai. Selama periode ini, penanda skrining tertentu belum terdeteksi pada individu yang baru terinfeksi, meskipun individu itu mungkin menularkan.

Asam nukleat dari bagian agen infeksi itu sendiri adalah yang pertama terdeteksi sebagai target, diikuti dalam beberapa hari oleh antigen, dan kemudian oleh terbentuknya antibodi sebagai perkembangan respon imun. Satu atau kombinasi dari penanda infeksi dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi tertentu selama proses uji saring. Berbagai sistem uji dikembangkan untuk skrining darah dalam mendeteksi:

- Antibodi yang menunjukkan respon imun terhadap agen infeksi
- Antigen yang dihasilkan oleh agen infeksi dan menunjukkan
- Kehadiran agen melalui asam nukleat (RNA / DNA) dari agen infeksi.

Setiap kantong darah yang disumbangkan harus diuji saring terhadap IMLTD dan hanya dikeluarkan jika hasilnya non reaktif. Uji saring harus secara formal disetujui untuk digunakan dan paling sedikit untuk mendeteksi petanda infeksi, antara lain : Hepatitis B surface antigen (HBsAg), antibodi HIV 1/HIV 2 (anti-HIV1/HIV2), antibodi Hepatitis C (anti-HCV) dan Sifilis.

Di negara-negara non-endemik, di mana populasi donor darah termasuk wisatawan atau pendatang dari daerah endemis, strategi alternatif mungkin diperlukan berdasarkan pada penangguhan selektif donor darah atau dengan tes skrining yang sesuai jika tersedia. Beberapa infeksi, seperti Cytomegalovirus (CMV) pada manusia dapat menimbulkan risiko untuk kelompok penerima tertentu saja. Dalam situasi ini, skrining selektif donor penerima tertentu biasanya diadopsi.

Untuk meminimalkan risiko penularan infeksi melalui transfusi, dilakukan strategi sebagai berikut:

- 1) Semua darah dan sumbangan apheresis seluruhnya harus diskriming untuk bukti adanya infeksi sebelum darah dan komponen darah diberikan untuk penggunaan klinis atau manufaktur.
- 2) Semua darah sumbangan harus wajib untuk melakukan skrining sebagai berikut:
 - HIV-1 dan HIV-2: skrining baik untuk kombinasi antigen-antibodi HIV atau antibodi HIV
 - Hepatitis B: skrining untuk antigen permukaan hepatitis B (HBsAg)
 - Hepatitis C: skrining baik untuk kombinasi antigen-antibodi HCV atau antibodi HCV
 - Sifilis (*Treponema pallidum*): skrining untuk antibodi *Treponema* tertentu.
- 3) Skrining penyumbangan untuk infeksi lain, seperti yang menyebabkan malaria atau penyakit Chagas, harus didasarkan pada bukti epidemiologi lokal.
- 4) Skrining harus dilakukan dengan menggunakan tes yang sangat sensitif dan spesifik yang telah secara khusus dievaluasi dan divalidasi untuk skrining darah.
- 5) Kualitas skrining harus menjamin semua sumbangan menggunakan dengan metode serologi sebelum menggunakan teknologi tambahan seperti pengujian asam nukleat.
- 6) Hanya darah dan komponen darah yang reaktif di semua tes skrining untuk semua penanda harus dihilangkan agar tidak dipakai untuk penggunaan klinis atau manufaktur.
- 7) Semua unit reaktif harus ditandai jelas (dilabel) dan dihilangkan dari stok karantina dan disimpan secara terpisah dengan aman sampai unit dibuang atau disimpan untuk tujuan jaminan kualitas atau penelitian sesuai dengan kebijakan nasional.

Pengujian konfirmasi darah yang reaktif harus dilakukan untuk pemberitahuan donor, konseling dan rujukan untuk pengobatan, penanggulangan atau *recall* untuk sumbangan masa depan, dan melihat kembali donasi.

Alat tes yang paling umum digunakan dirancang untuk mendeteksi antibodi, antigen atau asam nukleat dari agen infeksi. Namun, tidak semua tes cocok dalam segala situasi dan setiap pemeriksaan memiliki keterbatasan yang perlu dipahami dan dipertimbangkan ketika memilih pemeriksaan tersebut.

Jenis utama dari uji yang digunakan untuk skrining darah adalah:

- 1) Immunoassays (IAS):
 - Enzim immunoassay (EIAs)
 - Chemiluminescent immunoassays (CLIAs)
 - Hemaglutinasi (HA) / Tes partikel aglutinasi (PA)
 - Tes cepat / sederhana sekali pakai (Rapid Test)
- 2) Tes teknologi amplifikasi asam nukleat (NAT).

Dalam konteks skrining darah, evaluasi yang tepat diperlukan dalam memilih jenis tes untuk setiap infeksi menular lewat transfusi darah, berdasarkan pentingnya karakteristik pemeriksaan, seperti sensitivitas dan spesifisitas, serta biaya dan kemudahan penggunaan.

- **Immunoassays (IAS)**

Immunoassays adalah sistem uji yang tersedia dalam beberapa format yang dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi, antigen atau kombinasi dari keduanya. Umumnya, tes yang paling sederhana untuk deteksi antibodi didasarkan pada penggunaan antigen amobil (fase diam) yang menangkap setiap antibodi spesifik yang ada dalam sampel uji (IA tidak langsung/indirect). Umumnya tes deteksi antigen digunakan didasarkan pada penggunaan antibodi bergerak ke menangkap antigen patogen spesifik hadir dalam sampel.

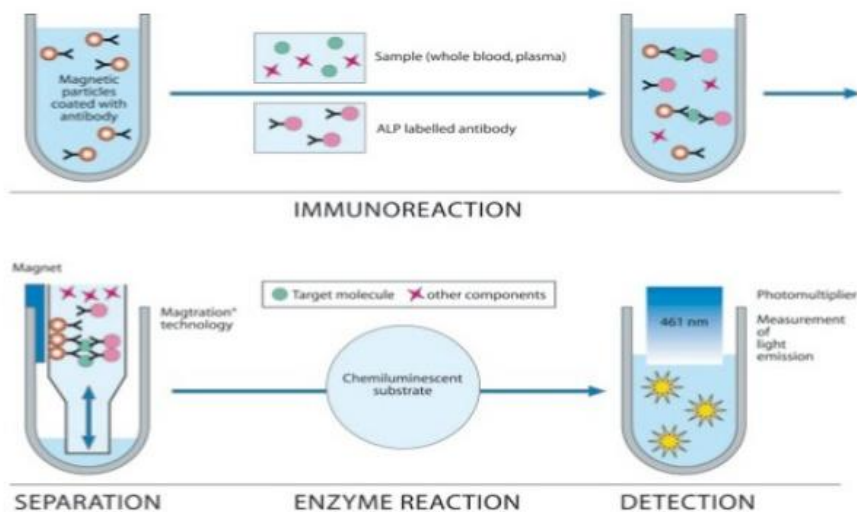
Immunoassays dapat digunakan dalam situasi yang berbeda dari laboratorium dengan otomatisasi penuh atau untuk laboratorium menengah dengan semi-otomasi, dan juga laboratorium kecil, seperti di daerah-daerah terpencil yang melakukan sejumlah tes secara manual.

2.3.2 Enzim immunoassay (EIAs) dan Immunoassays Chemiluminescent (CLIAs)

Enzim immunoassay (EIAs) dan Immunoassays Chemiluminescent (CLIAs) adalah tes yang paling umum digunakan untuk skrining IMLTD darah donor. Desain EIAs dan CLIAs mirip dan mereka hanya berbeda dalam cara deteksi kompleks imun dalam pembentukan kompleks warna dalam EIAs dan pengukuran cahaya yang dihasilkan oleh reaksi bahan kimia di CLIAs. Salah satu jenis dari pemeriksaan imunoserologi (Immunoassay/IA) dengan sensitivitas tinggi, pada umumnya diperlukan mendeteksi penanda target infeksi dan harus dievaluasi dengan benar untuk skrining darah serta menjaga kualitas mutu hasil pemeriksaan.

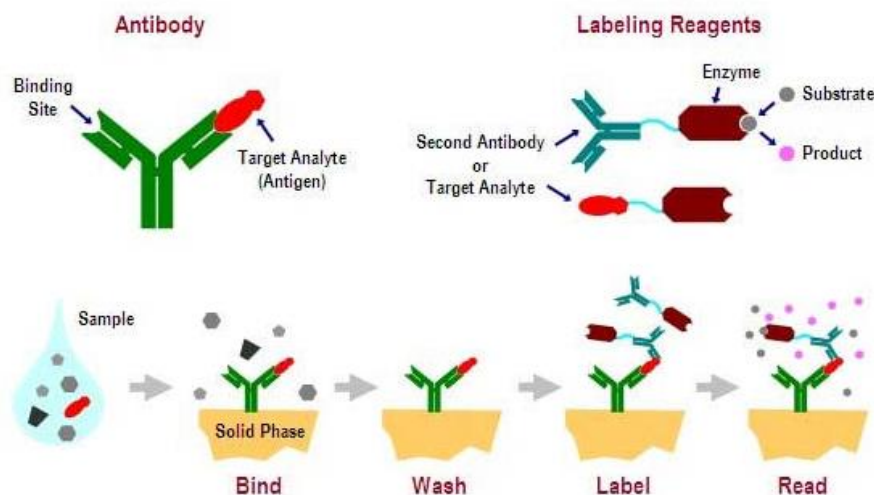
EIAs dan CLIAs cocok untuk jumlah besar sampel dan membutuhkan berbagai peralatan khusus. Tes ini dapat dilakukan baik non manual atau sistem pengolahan uji otomatis (sistem terbuka) dan sistem otomatis (sistem tertutup). EIAs dan CLIAs memiliki fase padat yang berbeda untuk menangkap antigen atau antibodi. Paling umum, fase padat yang digunakan adalah:

- 1) Dasar dan sisi dari microwell polystyrene
- 2) Permukaan polystyrene atau bahan lainnya
- 3) Micro-partikel
- 4) Permukaan perangkat pakai tertentu yang digunakan dalam sistem otomatis biasanya polystyrene
- 5) Strips dari nilon atau membran nitro-selulosa, khusus digunakan di Western Blot dan line assay.



Gambar 5.1. Prinsip Kerja CLIA

Pada gambar 5.1, prinsip kerja CLIA ke dalam well dimasukkan antibodi yang dicoated dengan partikel magnetic, kemudian ditambahkan sampel yang mengandung target antigen dan ditambahkan juga antibodi yang dilabel ALP. Inkubasi untuk terjadi reaksi imulogi. Kemudian dipisahkan komponen yang tidak dibutuhkan dengan teknologi magnetisasi dan kemudian ditambahkan substrat akridium ester yang mengakibatkan reaksi enzimatik dan kemudian pendaran di deteksi dengan luminometer dengan panjang gelombang 461 nm.



Gambar 5.2. Prinsip Kerja ELISA/EIA

Hambar 5.2 menunjukkan ke dalam well dilekatkan (coated) antibodi spesifik, kemudian ditambahkan sampel yang mengandung target antigen dan dilakukan pencucian untuk menghilangkan analit yang tidak bereaksi. Ditambahkan juga antibodi kedua yang dilabel enzim dan kemudian ditambahkan substrat dan stop solution, maka akan terjadi perubahan

warna. Perubahan warna yang terbentuk diukur dengan fotometer dengan panjang gelombang tertentu. Hasil reaktif jika nilai absorban > dari nilai cut off.

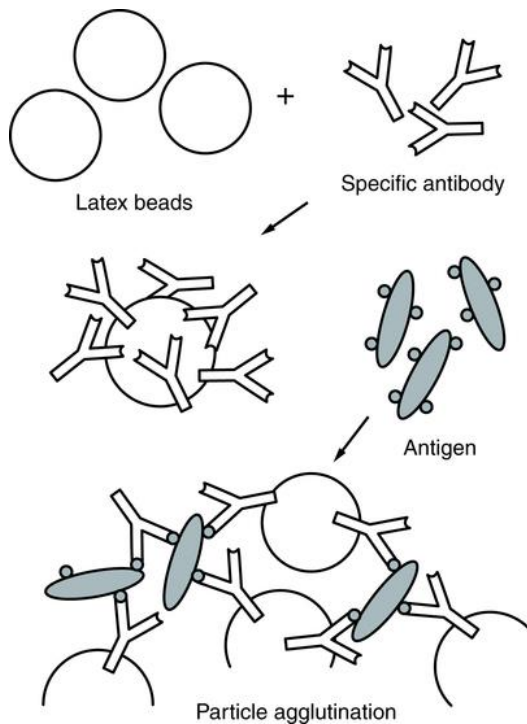
Berikut ini adalah perbedaan EIA dan CLIA berdasarkan tabel 18 di bawah ini.

Tabel 17. Perbedaan EIA dan CLIA

Perbedaan	EIA	CLIA
Pembawa antigen/antibodi	Berupa permukaan well	Mikropartikel
Substrat yang digunakan	Enzim (TMB)	Zat kimia (akridium ester)
Reaksi	Tergantung suhu dan pH	stabil
Deteksi hasil reaksi	fotometer	luminometer
Target molekul yang ditangkap	Lebih sedikit sesuai permukaan well	Lebih banyak, permukaan pembawa antibodi/antigen lebih luas dan berbentuk bulat
Sumber cahaya	Panjang gelombang tertentu	stabil

2.3.3 Tes aglutinasi partikel

Tes aglutinasi partikel mendeteksi keberadaan antibodi spesifik atau antigen di sampel uji melalui aglutinasi partikel dilapisi dengan komplemen antigen tertentu atau antibodi masing-masing. Tes aglutinasi, terutama tes antibodi menggunakan berbagai partikel termasuk sel darah merah (haemagglutination) dan partikel inert seperti gelatin dan lateks. Penggunaan partikel ini memiliki keuntungan mengurangi reaktivitas non-spesifik terhadap reaksi silang antigen sel darah merah. Prinsip-prinsip dasar haemagglutination dan tes partikel aglutinasi adalah sama, terlepas dari jenis partikel bebas. Tes aglutinasi partikel masih digunakan secara luas untuk mendeteksi antibodi sifilis. aglutinasi partikel tidak melibatkan beberapa langkah atau pencucian peralatan.

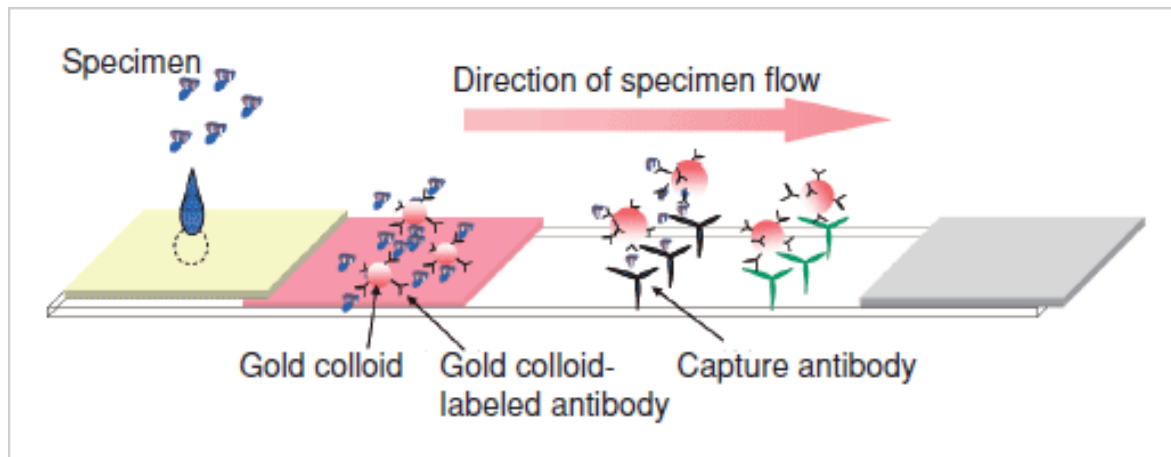


Gambar 5.3. Prinsip Tes Partikel Aglutinasi

Pada gambar 5.3 menunjukkan antibodi spesifik dilapisi dengan partikel lateks, kemudian ditambahkan serum atau plasma yang mengandung antigen maka akan terbentuk aglutinasi yang dapat diamati langsung dengan bantuan partikel lateks tersebut. Hasil reaktif jika terjadi aglutinasi.

2.3.4 Rapid Test

Rapid Test digunakan sekali dan dibuang. Banyak tes cepat didasarkan pada bentuk imunokromatografi dimana sampel ditambahkan mengalir turun strip inert dan bereaksi dengan sebelumnya reagen dengan fase gerak. Sampel bisa serum, plasma atau bahkan darah lengkap dalam beberapa kasus. Reaksi positif divisualisasikan sebagai titik atau garis / band yang muncul di strip. Sebagian besar tes juga mengharuskan timbulnya garis / band pada daerah kontrol yang digunakan untuk memvalidasi hasil masing-masing perangkat.



Gambar 5.4. Prinsip Kerja Rapid Test

Gambar 5.4, menggambarkan antibodi spesifik yang dicoated konjugat emas dilapiskan pada membran selulosa, kemudian ditambahkan serum atau plasma yang mengandung antigen maka akan terjadi ikatan antigen-antibodi+konjugat emas yang akan bergerak ke daerah tes yang telah dilekatkan antibodi spesifik kedua dan akan terbentuk warna di bagian test. Sisa antibodi spesifik yang dicoated konjugat emas akan terus bererak ke bagian kontrol dan akan ditangkap oleh anti IgG sehingga terbentuk pita di bagian Kontrol. Interpretasi hasil di bawah ini.

POSITIVE RESULT: 	Only one colored band appears in the control region (C). No apparent colored band appears in the test region (T).
NEGATIVE RESULT: 	Two colored bands appear on the membrane. One band appears in the control region (C) and another band appears in the test region (T).
INVALID RESULT: 	Control band fails to appear. Results from any test which has not produced a control band at the specified reading time must be <u>disregarded</u> . Please review the procedure and repeat with a new test. If the problem persists, discontinue using the kit immediately and contact your local distributor.

Gambar 5.5. Interpretasi hasil Rapid Tes

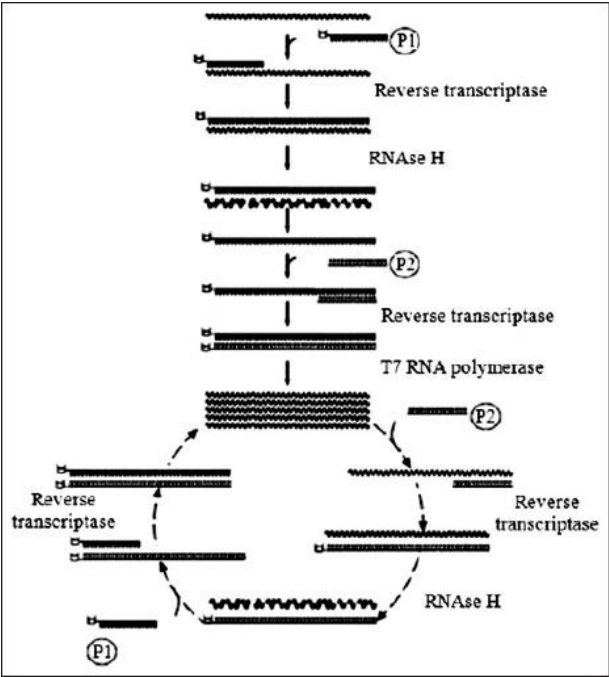
Di bawah ini pada tabel 5.2 menjelaskan perbedaan EIA dan Rapid Tes, yaitu

Tabel 5.2. Perbedaan EIA dan Rapid Test

Perbedaan	EIA	Rapid Tes
Penggunaan	Lebih banyak langkah	Mudah
Waktu	Lama	Cepat
Spesifisitas	Bisa terjadi false positif	Lebih tinggi dari EIA
Sensitivitas	Tinggi	Lebih rendah dari EIA
Cara deteksi	Menggunakan fotometer	Pengamatan langsung

• **Tes Teknologi Amplifikasi Asam Nukleat**

Teknologi amplifikasi asam nukleat (NAT), seperti yang diterapkan untuk skrining darah, mendeteksi keberadaan asam nukleat virus berbentuk DNA atau RNA dalam darah donor. Dalam teknologi ini, segmen RNA / DNA spesifik virus ditargetkan dan diperkuat secara in-vitro. Langkah amplifikasi memungkinkan dapat mendeteksi titer virus yang rendah dalam sampel asli dengan meningkatkan jumlah yang target yang hadir spesifik untuk titer yang mudah dideteksi. Kehadiran asam nukleat spesifik menunjukkan kehadiran virus itu sendiri dan bahwa sumbangan tersebut mungkin menular.



Gambar 5.6. Prinsip Kerja NAT

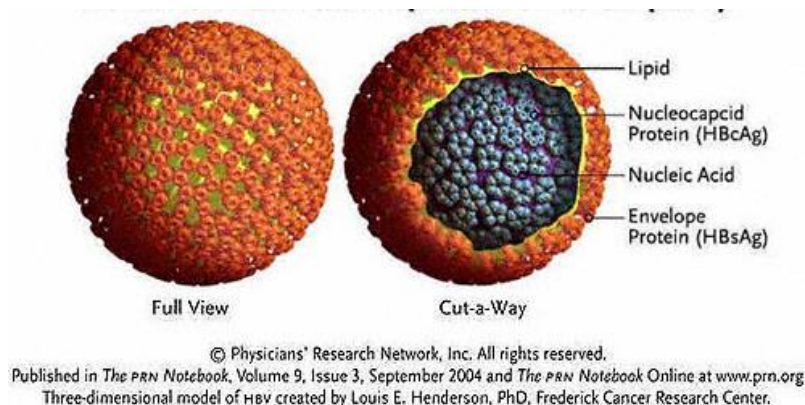
Pada gambar 5.6 menunjukkan pada prinsip kerja NAT RNA atau DNA virus di amplifikasi dengan bantuan enzim reverse transkriptase untuk mendapatkan DNA virus atau agen infeksi murni. Tes NAT baik dapat dilakukan pada donor individu (ID) atau mini-pool (MP) untuk mendeteksi asam nukleat dari agen infeksi. Selain tes NAT yang menargetkan asam nukleat virus, multipleks tes skrining NAT yang dikembangkan dapat mendeteksi DNA atau RNA dari beberapa virus secara bersamaan.

Topik 1

HEPATITIS B

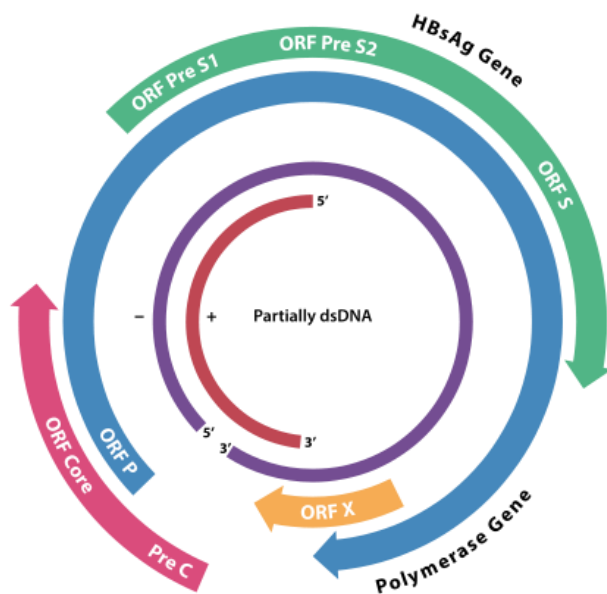
A. STRUKTUR DAN MORFOLOGI

Hepatitis B merupakan suatu penyakit hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B, yaitu salah satu virus termasuk anggota famili hepadnavirus yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati. Hepatitis B akut jika perjalanan penyakit kurang dari 6 bulan sedangkan Hepatitis B kronis bila penyakit menetap, tidak menyembuh secara klinis atau laboratorium atau pada gambaran patologi anatomi selama 6 bulan.



Gambar 5.7 Struktur virus Hepatitis B

Virus Hepatitis B (VHB) adalah virus (Deoxyribo Nucleic Acid) DNA terkecil berasal dari genus Orthohepadnavirus famili Hepadnaviridae berdiameter 40-42 nm. Masa inkubasi berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata inkubasi 60-90 hari. Bagian luar dari virus ini adalah protein envelope lipoprotein, sedangkan bagian dalam berupa nukleokapsid atau core. Genom virus hepatitis B merupakan molekul DNA sirkular untai-ganda parsial dengan 3200 nukleotida. Genom berbentuk sirkuler dan memiliki empat Open Reading Frame (ORF) yang saling tumpang tindih secara parsial protein envelope yang dikenal sebagai selubung HBsAg seperti large HBs (LHBs), medium HBs (MHBs), dan small HBs (SHBs) disebut gen S, yang merupakan target utama respon imun host, dengan lokasi utama pada asam amino 100-160. HBsAg dapat mengandung satu dari sejumlah sub tipe antigen spesifik, disebut d atau y, w atau r. Sub tipe HbsAg ini menyediakan penanda epidemiologik tambahan. Gen C yang mengkode protein inti (HBcAg) dan HBeAg, gen P yang mengkode enzim polimerase yang digunakan untuk replikasi virus, dan terakhir gen X yang mengkode protein X (HBx), yang memodulasi sinyal sel host secara langsung dan tidak langsung mempengaruhi ekspresi gen virus ataupun host, dan belakangan ini diketahui berkaitan dengan terjadinya kanker hati.



Gambar 5.8. Genom virus Hepatitis B

Infeksi VHB merupakan penyebab utama hepatitis akut, hepatitis kronis, sirosis, dan kanker hati di dunia. Infeksi ini endemis di daerah Timur Jauh, sebagian besar kepulauan Pasifik, banyak negara di Afrika, sebagian Timur Tengah, dan di lembah Amazon. Center for Disease Control and Prevention (CDC) memperkirakan bahwa sejumlah 200.000 hingga 300.000 orang (terutama dewasa muda) terinfeksi oleh VHB setiap tahunnya. Hanya 25% dari mereka yang mengalami ikterus, 10.000 kasus memerlukan perawatan di rumah sakit, dan sekitar 1-2% meninggal.

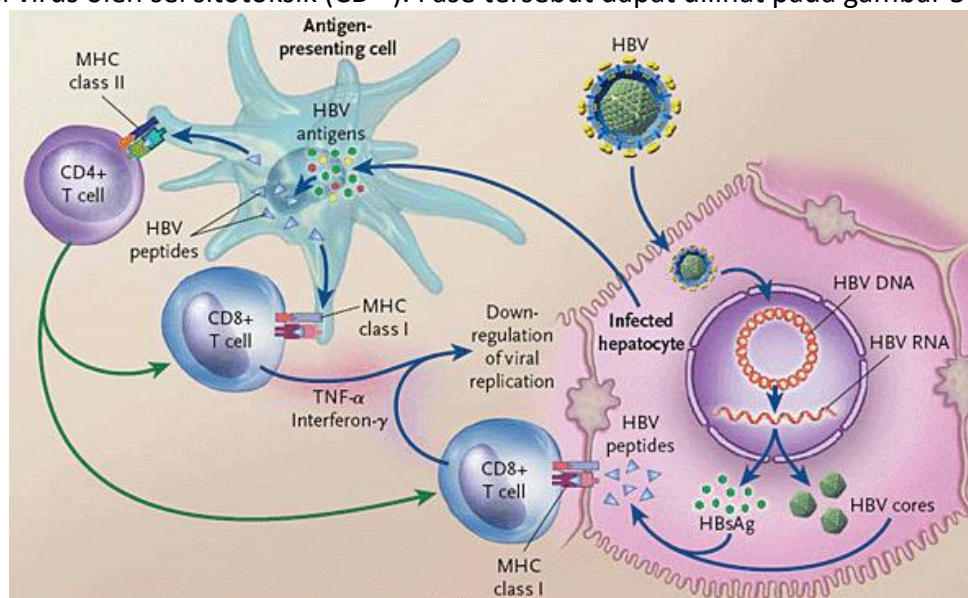
Sepertiga penduduk dunia diperkirakan telah terinfeksi oleh VHB dan sekitar 400 juta orang merupakan pengidap kronik Hepatitis B, sedangkan prevalensi di Indonesia dilaporkan berkisar antara 3-17%. Virus Hepatitis B diperkirakan telah menginfeksi lebih dari 2 milyar orang yang hidup saat ini selama kehidupan mereka. Tujuh puluh lima persen dari semua pembawa kronis hidup di Asia dan pesisir Pasifik Barat. Prevalensi pengidap VHB tertinggi ada di Afrika dan Asia. Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 menunjukkan bahwa Hepatitis klinis terdeteksi di seluruh provinsi di Indonesia dengan prevalensi sebesar 0,6% (rentang: 0,2%-1,9%). Hasil Riskesdas Biomedis tahun 2007 dengan jumlah sampel 10.391 orang menunjukkan bahwa persentase HBsAg positif 9,4%. Persentase Hepatitis B tertinggi pada kelompok umur 45- 49 tahun (11,92%), umur >60 tahun (10,57%) dan umur 10-14 tahun (10,02%), selanjutnya HBsAg positif pada kelompok laki-laki dan perempuan hampir sama (9,7% dan 9,3%). Hal ini menunjukkan bahwa 1 dari 10 penduduk Indonesia telah terinfeksi virus Hepatitis B.

B. CARA PENULARAN

Penularan virus hepatitis B (VHB) adalah melalui parenteral dan menembus membran mukosa, terutama berhubungan seksual. Penanda HBsAg telah diidentifikasi pada hampir setiap cairan tubuh dari orang yang terinfeksi yaitu saliva, air mata, cairan seminal, cairan serebrospinal, asites, dan air susu ibu. Beberapa cairan tubuh ini (terutama semen dan saliva) telah diketahui infeksius dan dapat menularkan virus VHB.

Jalur penularan infeksi VHB yang terbanyak di Indonesia adalah secara parenteral yaitu secara vertikal (transmisi) maternal-neonatal atau horisontal (kontak antar individu yang sangat erat dan lama, seksual, infeksi nosokomial akibat prosedur diagnostik (iatrogenik), penggunaan jarum suntik bersama). Virus Hepatitis B dapat dideteksi pada semua sekret dan cairan tubuh manusia, dengan konsentrasi tertinggi pada serum.

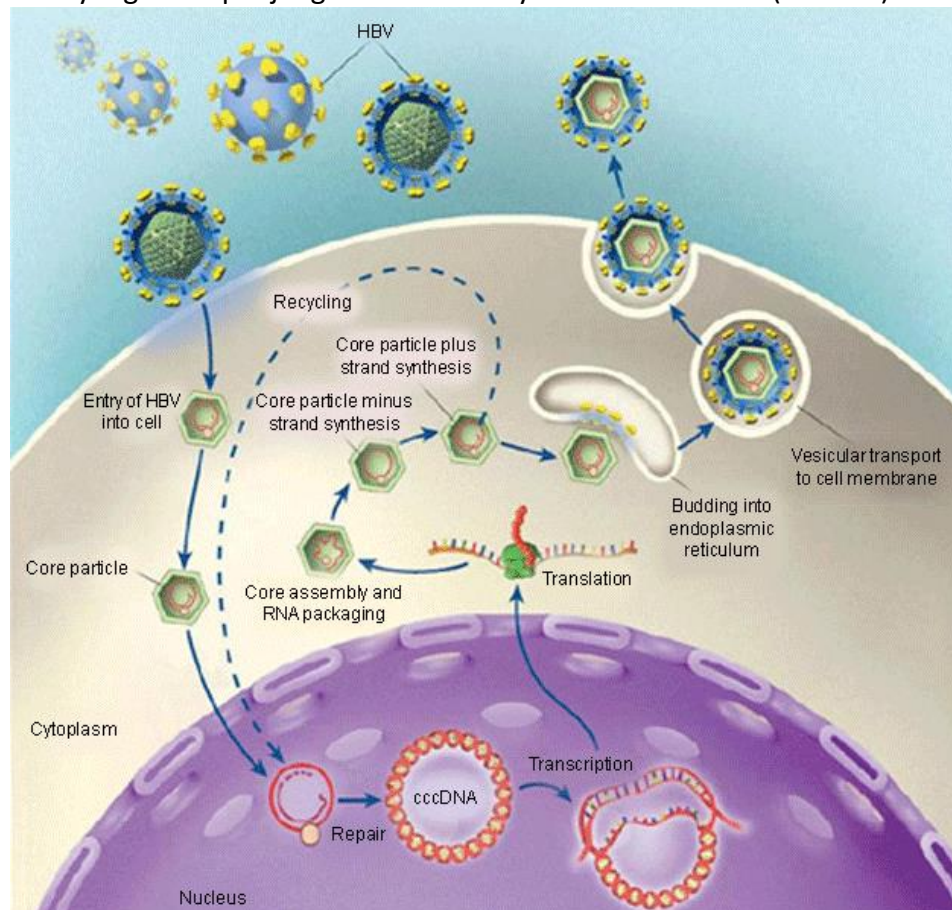
Infeksi VHB berlangsung dalam dua fase. Selama fase proliferasif, DNA VHB terdapat dalam bentuk episomal, dengan pembentukan virion lengkap dan semua antigen terkait. Ekspresi gen HBsAg dan HBeAg di permukaan sel disertai dengan molekul MHC kelas I menyebabkan pengaktifan limfosit T sitotoksik ($CD8^+$). Selama fase integratif, DNA virus meyatu kedalam genom pejamu. Seiring dengan berhentinya replikasi virus dan munculnya antibodi virus, infektivitas berhenti dan kerusakan hati mereda. Namun risiko terjadinya karsinoma hepatoselular menetap. Hal ini sebagian disebabkan oleh disregulasi pertumbuhan yang diperantarai protein X VHB. Kerusakan hepatosit terjadi akibat kerusakan sel yang terinfeksi virus oleh sel sitotoksik ($CD8^+$). Fase tersebut dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.9. Patogenesis imun pada virus hepatitis B (Sumber: Ganem et al, 2004).

Proses replikasi VHB berlangsung cepat, sekitar 10¹⁰-10¹² virion dihasilkan setiap hari. Siklus hidup VHB dimulai dengan menempelnya virion pada reseptor di permukaan sel hati

(Gambar 5.3). Setelah terjadi fusi membran, partikel core kemudian ditransfer ke sitosol dan selanjutnya dilepaskan ke dalam nucleus (genom release), selanjutnya DNA VHB yang masuk ke dalam nukleus mula-mula berupa untai DNA yang tidak sama panjang yang kemudian akan terjadi proses DNA repair berupa memanjangnya rantai DNA yang pendek sehingga menjadi dua untai DNA yang sama panjang atau covalently closed circle DNA (cccDNA).



Gambar 5.10 Siklus replikasi virus hepatitis B (Sumber: Ganem et al, 2004).

Proses selanjutnya adalah transkripsi cccDNA menjadi pre-genom RNA dan beberapa messenger RNA (mRNA) yaitu mRNA, LHbS, MHbS, dan mRNA SHbS. Semua RNA VHB kemudian ditransfer ke sitoplasma dimana proses translasi menghasilkan protein envelope, core, polimerase, polipeptida X dan pre-C, sedangkan translasi mRNA LHbS, MHbS, dan mRNA SHbS akan menghasilkan protein LHbS, MHbS, dan SHbS. Proses selanjutnya adalah pembuatan nukleokapsid di sitosol yang melibatkan proses encapsidation yaitu penggabungan molekul RNA ke dalam HBsAg. Proses reverse transcription dimulai, DNA virus dibentuk kembali dari molekul RNA. Beberapa core yang mengandung genom matang ditransfer kembali ke nukleus yang dapat dikonversi kembali menjadi cccDNA untuk mempertahankan cadangan template transkripsi intranukleus. Akan tetapi, sebagian dari protein core ini bergabung ke kompleks golgi yang membawa protein envelope virus. Protein

core memperoleh envelope lipoprotein yang mengandung antigen surface L, M, dan S, yang selanjutnya ditransfer ke luar sel.

Sel hati manusia merupakan target organ bagi virus Hepatitis B. Virus Hepatitis B mula-mula melekat pada reseptor spesifik di membran sel hepar kemudian mengalami penetrasi ke dalam sitoplasma sel hepar. Virus melepaskan mantelnya di sitoplasma, sehingga melepaskan nukleokapsid. Selanjutnya nukleokapsid akan menembus sel dinding hati. Asam nukleat VHB akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel pada DNA hospes dan berintegrasi pada DNA tersebut. Proses selanjutnya adalah DNA VHB memerintahkan sel hati untuk membentuk protein bagi virus baru. Virus Hepatitis B dilepaskan ke peredaran darah, terjadi mekanisme kerusakan hati yang kronis disebabkan karena respon imunologik penderita terhadap infeksi.

Proses replikasi virus tidak secara langsung bersifat toksik terhadap sel, terbukti banyak carrier VHB asimtomatik dan hanya menyebabkan kerusakan hati ringan. Respon imun host terhadap antigen virus merupakan faktor penting terhadap kerusakan hepatoseluler dan proses klirens virus, makin lengkap respon imun, makin besar klirens virus dan semakin berat kerusakan sel hati. Respon imun host dimediasi oleh respon seluler terhadap epitop protein VHB, terutama HBsAg yang ditransfer ke permukaan sel hati. Human Leukocyte Antigen (HLA) class I-restricted CD⁸⁺ cell yang mengenali fragmen peptida VHB setelah mengalami proses intrasel dan dipresentasikan ke permukaan sel hati oleh molekul Major Histocompatibility Complex (MHC) kelas I. Proses berakhir dengan penghancuran sel secara langsung oleh Limfosit T sitotoksik (CD⁸⁺).

C. GEJALA KLINIS

Manifestasi klinis infeksi VHB pada pasien hepatitis akut cenderung ringan. Hepatitis B sulit dikenali karena gejala-gejalanya tidak langsung terasa dan bahkan ada yang sama sekali tidak muncul. Karena itulah, banyak orang yang tidak menyadari bahwa dirinya telah terinfeksi. Virus ini biasanya berkembang selama 1-5 bulan sejak terjadi pajanan terhadap virus sampai kemunculan gejala pertama. Kondisi asimtomatis ini terbukti dari tingginya angka pengidap tanpa adanya riwayat hepatitis akut. Apabila menimbulkan gejala hepatitis, gejalanya menyerupai hepatitis virus yang lain tetapi dengan intensitas yang lebih berat. Beberapa gejala umum hepatitis B antara lain :

- Kehilangan nafsu makan.
- Mual dan muntah.
- Nyeri di perut bagian bawah.
- Sakit kuning (dilihat dari kulit dan bagian putih mata yang menguning).

- Gejala yang mirip pilek, misalnya lelah, nyeri pada tubuh, dan sakit kepala.

Gejala hepatitis akut terbagi dalam 4 tahap, yaitu:

1) Fase Inkubasi

Merupakan waktu antara masuknya virus dan timbulnya gejala atau ikterus. Fase inkubasi Hepatitis B berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata INKUBASI 60-90 hari.

2) Fase prodromal (pra ikterik)

Fase diantara timbulnya keluhan-keluhan pertama dan timbulnya gejala ikterus. Awitannya singkat atau insidious ditandai dengan malaise umum, mialgia, artalgia, mudah lelah, gejala saluran napas atas dan anoreksia. Diare atau konstipasi dapat terjadi. Nyeri abdomen biasanya ringan dan menetap di kuadran kanan atas atau epigastrium, kadang diperberat dengan aktivitas akan tetapi jarang menimbulkan kolestitis.

3) Fase ikterus

Ikterus muncul setelah 5-10 hari, tetapi dapat juga muncul bersamaan dengan munculnya gejala. Banyak kasus pada fase ikterus tidak terdeteksi. Setelah timbul ikterus jarang terjadi perburukan gejala prodromal, tetapi justru akan terjadi perbaikan klinis yang nyata.

4) Fase konvalesen (penyembuhan)

Diawali dengan menghilangnya ikterus dan keluhan lain, tetapi hepatomegali dan abnormalitas fungsi hati tetap ada. Muncul perasaan sudah lebih sehat dan kembalinya nafsu makan. Sekitar 5-10% kasus perjalanan klinisnya mungkin lebih sulit ditangani, hanya <1% yang menjadi fulminan (Sudoyo et al, 2009).

Hepatitis B kronis didefinisikan sebagai peradangan hati yang berlanjut lebih dari enam bulan sejak timbul keluhan dan gejala penyakit. Perjalanan hepatitis B kronik dibagi menjadi tiga fase penting yaitu :

1) Fase Imunotoleransi

Sistem imun tubuh toleren terhadap VHB sehingga konsentrasi virus tinggi dalam darah, tetapi tidak terjadi peradangan hati yang berarti. Virus Hepatitis B berada dalam fase replikatif dengan titer HBsAg yang sangat tinggi.

2) Fase Imunoaktif (*Clearance*)

Sekitar 30% individu persisten dengan VHB akibat terjadinya replikasi virus yang berkepanjangan, terjadi proses nekroinflamasi yang tampak dari kenaikan konsentrasi

ALT. Fase clearance menandakan pasien sudah mulai kehilangan toleransi imun terhadap VHB.

3) Fase Residual

Tubuh berusaha menghancurkan virus dan menimbulkan pecahnya sel-sel hati yang terinfeksi VHB. Sekitar 70% dari individu tersebut akhirnya dapat menghilangkan sebagian besar partikel virus tanpa ada kerusakan sel hati yang berarti. Fase residual ditandai dengan titer HBsAg rendah, HBeAg yang menjadi negatif dan anti-HBe yang menjadi positif, serta konsentrasi ALT normal.

D. METODE PEMERIKSAAN

Virus Hepatitis B terdapat dalam aliran darah dengan titer virus itu sendiri bervariasi. Dalam orang yang baru terinfeksi, DNA virus biasanya terdeteksi meskipun tidak selalu pada titer tinggi. Pada individu kronis, bila ditemukan DNA virus hepatitis B maka darah donor tersebut infeksius atau jika tidak ditemukan DNA virus dan viremia dengan titer sangat rendah atau tidak ada sama sekali, maka darah donor tersebut tidak infeksius.

Skrining untuk antigen permukaan hepatitis B (HBsAg) menunjukkan infeksi dengan VHB, tetapi tidak dengan sendirinya membedakan antara infeksi baru dan kronis. Perbedaan antara infeksi akut dan kronis tidak relevan dengan penyaringan darah, semua sumbangan HBsAg positif harus dianggap berisiko tinggi transmisi VHB dan tidak akan dikeluarkan untuk transfusi. Beberapa penelitian menunjukkan ketika HBsAg negatif pada beberapa individu dengan titer DNA virus rendah yang terdeteksi oleh Nucleic Acid Test (NAT), maka darah tersebut dapat menyebabkan infeksi pada resipien / penerima. Infeksi kemudian memiliki probabilitas yang lebih tinggi untuk maju ke sirosis dan karsinoma hepatoseluler.

Serologi virus hepatitis B adalah kompleks. Sejumlah tanda serologi yang berbeda mengembangkan selama infeksi, termasuk antigen permukaan hepatitis B (HBsAg) dan antibodi hepatitis B inti (anti-HBc). Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan VHB menggunakan target skrining berikut:

- Metode serologis:
 - Antigen permukaan Hepatitis B (HBsAg) : 3 minggu setelah infeksi.
 - Hepatitis B inti (Hbc) antibodi (anti-HBs dengan titer ≥ 100 mIU/mL, maka dianggap aman)

- Asam nukleat virus: HBV DNA.

Untuk meminimalkan risiko infeksi penularan virus hepatitis B melalui transfusi, maka direkomendasikan oleh WHO sebagai berikut :

- 1) Skrining harus dilakukan dengan menggunakan sangat sensitif dan spesifik yaitu HBsAg immunoassay (EIA / CLIA).
- 2) Skrining menggunakan HBsAg rapid test yang sangat sensitif dan spesifik atau pemeriksaan partikel aglutinasi dapat dilakukan di laboratorium yang kecil, di daerah terpencil atau dalam situasi darurat.
- 3) Skrining untuk anti-HBc tidak dianjurkan sebagai rutinitas. Negara harus menentukan kebutuhan untuk skrining anti-HBc berdasarkan prevalensi dan kejadian infeksi HBV.
- 4) Skrining untuk ALT tidak dianjurkan.

➤ **Pemeriksaan HBsAg metode rapid Test**

Prinsip pemeriksaan :

HBsAg dalam sampel akan berikatan dengan anti-HBs *colloidal gold konjugat* membentuk kompleks yang akan bergerak melalui membran area tes yang telah dilapisi oleh anti-HBsAg. Kemudian terjadi reaksi membentuk garis berwarna merah muda keunguan yang menunjukkan hasil positif pada area tes. Apabila dalam sampel tidak terdapat HBsAg maka tidak akan menimbulkan garis merah pada area tes. Kelebihan anti-HBs *colloidal gold konjugat* akan terus bergerak menuju area kontrol (C) yang telah dilapisi anti IgG tikus dari serum kambing (*anti-mouse IgG antibody*), sehingga berikatan dan membentuk garis merah pada area kontrol yang menunjukkan hasil pemeriksaan valid.

Cara kerja :

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Dilakukan pengambilan sampel.
- 3) Dimasukan darah kedalam tabung reaksi, diamkan selama 30 menit, kemudian di sentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
- 4) Serum/plasma terbentuk kemudian dipindahkan ke tabung kosong lainnya
- 5) Celupkan reagen strip kedalam tabung yg telah di isi sampel tadi sampai tanda batas pada strip,biarkan selama 15 menit.
- 6) Pengamatan hasil tidak boleh dibaca lebih dari 20 menit.

Interpretasi Hasil :

- Positif (+)

Selain timbul garis merah pada daerah control (C), akan muncul 1 (satu) garis merah yang nyata di daerah test (T), hasil positif menyatakan adanya HBsAg.

- Negatif (-)

Timbul 1 (satu) garis merah pada bagian kontrol (C), dan tidak ada garis merah di daerah test (T).

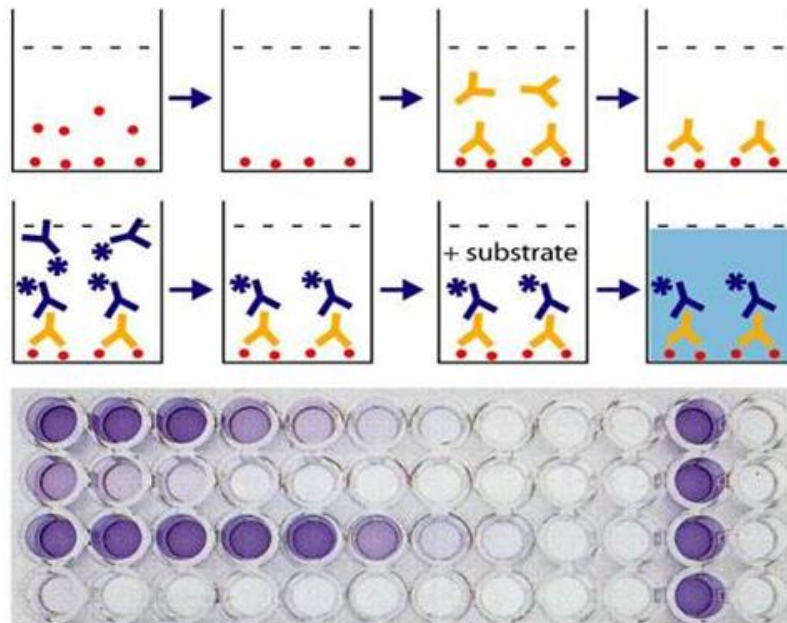
- Invalid

Sama sekali tidak muncul warna merah baik pada daerah test (T), maupun kontrol (C), merupakan adanya indikasi adanya kesalahan prosedur atau reagen test yang rusak.



Gambar 5.11 Interpretasi pemeriksaan Rapid Test HBsAg

➤ **Pemeriksaan HBsAg metode ELISA / CHLIA**



Gambar 5.12 Prinsip Pemeriksaan HBsAg Metode ELISA

Prinsip pemeriksaan : Antibodi ganda “sandwich” imunosai yang menggunakan antibodi anti-HBsAg spesifik: antibodi monoklonal HBsAg yang berada di dasar sumur mikrotiter dan antibodi poliklonal HBsAg ditambahkan dengan Horseradish Peroxidase (HRP) sebagai larutan konjugat. Selama pemeriksaan, adanya HBsAg dalam spesimen akan bereaksi dengan antibodi-antibodi tersebut untuk membentuk kompleks imun “antibodi-HBsAg-antibodi- HRP”. Setelah materi yang tidak terikat tercuci selama pemeriksaan, substrat ditambahkan untuk menunjukkan hasil tes. Munculnya warna biru di sumur mikrotiter mengindikasikan HBsAg reaktif. Tidak adanya warna menunjukkan hasil non reaktif di spesimen

Alat dan Bahan :

- | | |
|----------------------------|--------------------|
| - Alat | - Reagen |
| 1. Mikrotiter well | 1. Enzim Konjugat |
| 2. Mikropipet | 2. Kontrol Positif |
| 3. Tip Kuning dan Tip Biru | 3. Kontrol Negatif |
| 4. Inkubator | 4. Sampel diluent |
| 5. ELISA Reader | 5. Color A dan B |
| 6. ELISA Washer | 6. Stop Solution |
| | 7. Wash Buffer |
| - Sampel serum pasien | |

Cara Kerja :

a. Pembuatan Wash Buffer

1. Wash buffer pekat dicampurkan dengan aquadest perbandingan (1:19)
2. Campuran yang sudah jadi disimpan pada suhu ruang selama seminggu

b. Prosedur Pemeriksaan

- 1) Semua reagen dan specimen dikondisikan pada suhu ruang.
- 2) Siapkan nomor yang dibutuhkan untuk sumur, yang terdiri dari 1 sumur blanko, 2 sumur control positif, 2 sumur untuk control negatif dan 1 sumur untuk setiap specimen. Tulis nomor seri untuk control dan specimen pada kolom.
- 3) Spesimen diluents ditambahkan sebanyak 20µl pada masing-masing sumur.
- 4) Spesimen, control negative, control positif ditambahkan sebanyak 100µl sesuai dengan kolom data. (sediakan 1 sumur untuk blanko)
- 5) Kemudian dihomogenkan
- 6) Plate diinkubasi pada incubator suhu 37°C ± 1 jam
- 7) Enzyme conjugate ditambahkan pada setiap sumur ± 50µl.
- 8) Plate diinkubasi pada incubator suhu 37°C ± 30 menit.
- 9) Setiap sumur dicuci dengan wash buffer dengan prosedur :
 - Pencucian yang dilakukan harus sesuai dengan petunjuk apabila ada pencucian yang tidak sempurna maka akan mempengaruhi hasil.
 - Semua isi sumur dimasukkan pada labu cuci. Kemudian ditambahkan wash buffer 350/lebih.
 - Pastikan tidak ada cairan di dalam tip dan setelah pemipetan terakhir.
- 10) Color A & B dimasukkan pada setiap sumur sebanyak 50µl
- 11) Plate diinkubasi pada waterbath/incubator 37° C ± 30 menit
- 12) Hentikan reaksi dengan penambahan 50µl stopping solution disetiap sumur
- 13) Absorbansi setiap sumur dibaca pada 450nm & 630nm λ λ
- 14) Perhitungan
 - Single wave length (λ=450nm)
$$OD = OD_{450} \pm OD_{BC450}$$
$$= \text{sampel} - \text{control}$$

- Dual wave length ($\lambda=630\text{nm}$)

$$OD = OD_{450/630}$$

Hasil pemeriksaan valid jika :

- 1) Nilai OD blanko kurang dari 0.100 (sumur dari kontrol blanko hanya berisi kromogen dan stop solution)
- 2) Nilai OD kontro negatif harus sama atau kurang dari ($\leq$) 0.100. Dieliminasi kontrol negatif dengan nilai OD lebih besar dari ($>$) 0.100. Jika 2 nilai keluar dari batas, pemeriksaan invalid dan harus di ulangi.
- 3) Nilai OD kontrol positif sama atau lebih besar ($\geq$) 0.500. Jika nilai OD kurang dari 0.500, pemeriksaan invalid dan harus di ulangi

Perhitungan kontrol :

$$\text{Nilai cut-off (CO)} = \text{NCx} \cdot 2,1$$

NCx : nilai absorbansi rata-rata kontrol negative (jika $\text{NCx} \leq 0.05$, NCx harus dihitung 0.05)

Interpretasi hasil :

- 1) Spesimen dengan absorbansi kurang dari ($<$) nilai cut-off dinyatakan negatif.
- 2) Spesimen dengan nilai absorbansi lebih besar atau sama dengan ($\geq$) nilai cut-off dinyatakan positif.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Struktur dan genom virus hepatitis B.
- 2) penularan virus hepatitis B .
- 3) Gejala klinis penyakit hepatitis B.
- 4) Pemeriksaan skrining virus hepatitis B.

Ringkasan

1. Hepatitis B merupakan suatu penyakit hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B, yaitu salah satu virus termasuk anggota famili hepadnavirus yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati.
2. Penularan virus hepatitis B (VHB) adalah melalui parenteral dan menembus membran mukosa, terutama berhubungan seksual
3. Beberapa gejala umum hepatitis B antara lain : kehilangan nafsu makan, mual dan muntah, nyeri di perut bagian bawah, sakit kuning dan gejala mirip pilek.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Penyakit hepatitis B disebabkan oleh virus hepatitis B yang memiliki diameter virion sebesar
 - A. 40-42 nm.
 - B. 120-160 nm
 - C. 10-20 nm
 - D. 40-500 nm
 - E. 200-300 nm
2. Jalur penularan infeksi virus hepatitis B yang terbanyak di Indonesia adalah secara parenteral, kecuali
 - A. Secara vertikal (transmisi) maternal-neonatal

- B. Secara horisontal (kontak antar individu yang sangat erat dan lama)
 - C. Seksual dan penggunaan jarum suntik bersama
 - D. Infeksi nosokomial akibat prosedur diagnostik (iatrogenik),
 - E. Melalui udara
3. Berikut ini adalah gejala umum penyakit hepatitis B, kecuali....
- A. Kehilangan nafsu makan.
 - B. Mual dan muntah.
 - C. Disfungsi alat gerak
 - D. Nyeri di perut bagian bawah.
 - E. Sakit kuning (dilihat dari kulit dan bagian putih mata yang menguning).
4. Untuk meminimalkan risiko infeksi penularan virus hepatitis B melalui transfusi, dibawah ini rekomendasi WHO, kecuali.....
- A. Skrining harus dilakukan dengan menggunakan sangat sensitif dan spesifik yaitu HBsAg immunoassay (EIA / CLIA).
 - B. Skrining menggunakan HBsAg rapid test yang sangat sensitif dan spesifik atau pemeriksaan partikel aglutinasi dapat dilakukan di laboratorium yang kecil, di daerah terpencil atau dalam situasi darurat.
 - C. Skrining untuk anti-HBc tidak dianjurkan sebagai rutinitas. Negara harus menentukan kebutuhan untuk skrining anti-HBc berdasarkan prevalensi dan kejadian infeksi HBV.
 - D. Skrining DNA virus hepatitis B dengan menggunakan metode PCR
 - E. Skrining untuk ALT tidak dianjurkan.
5. Hasil positif sampel mengandung HBsAg pada pemeriksaan rapid test adalah.....
- A. Timbul garis merah pada daerah control (C) dan 1 (satu) garis merah di daerah test (T)
 - B. Timbul hanya garis merah pada daerah control (C) dan tidak ada garis pada daerah Test (T)
 - C. Tidak timbul garis merah pada daerah control (C) dan timbul 1 (satu) garis merah di daerah test (T)
 - D. Tidak timbul garis merah di daerah control (C) dan pada daerah test (T)
 - E. Semua membran berwarna merah

Topik 2

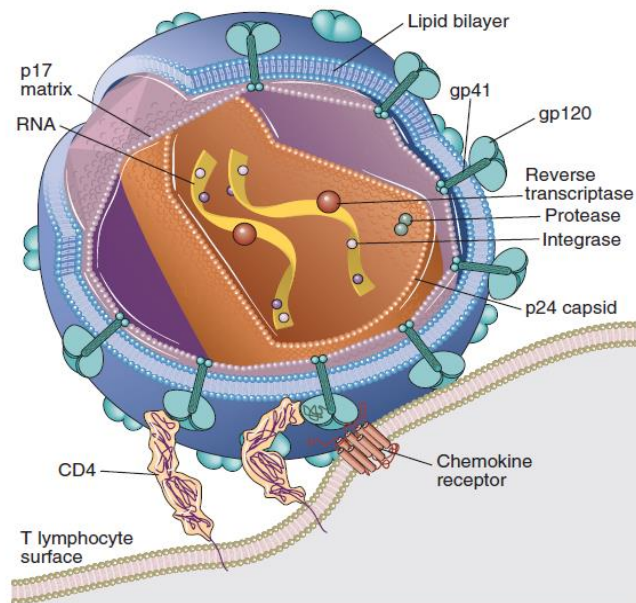
Human Immunodeficiency Virus (HIV)

A. STRUKTUR DAN MORFOLOGI

Sejarah HIV dimulai pada tahun 1981 di Amerika Serikat melaporkan kasus Gay Related Immune Deficiency (GRID), yaitu penurunan kekebalan tubuh yang dihubungkan dengan kaum gay/homoseksual. Pada tahun 1982, CDC—USA (Centers for Disease Control) Amerika Serikat untuk pertama kali membuat definisi AIDS dan juga ditemukan penyebab kelainan ini adalah LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) oleh Luc Montagnier dari Pasteur Institut Paris. Tahun 1983, Jean Claude Chermann dan Françoise Barré-Sinoniusi melakukan isolasi dari penderita sindrom limfadenopati. Tahun 1984, Robert Gallo dari Amerika Serikat, meneliti virus penyebab AIDS yaitu HTLV-III. Tahun 1986, International Committee on Taxonomy of Viruses, memutuskan nama penyebab penyakit AIDS adalah Human Immunodeficiency Virus (HIV) yang mengganti nama LAV dan HTLV III. Pada tanggal 15 April 1987, pertama kali AIDS di Indonesia yaitu pasien bernama Edward Hop berumur 44 tahun dari Belanda, meninggal di Rumah Sakit Sanglah Bali dan pada akhir tahun 1987 terdapat 6 orang yang didiagnosis HIV positif, dua di antara mereka mengidap AIDS.

HIV (Human Immunodeficiency Virus) merupakan suatu retrovirus dengan materi genetik (RNA) yang dapat mentransfer informasi genetik RNA ke DNA dengan menggunakan enzim yang disebut reverse transcriptase. HIV menginfeksi berbagai sel sistem imun antara lain : Sel T helper ($CD4^+$), Makrofag dan sel dendritik. Infeksi HIV menyebabkan penurunan kekebalan tubuh yang berhubungan dengan infeksi oportunistik dan tumor ganas disebut AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome). Virus HIV dibagi dua tipe, yaitu : HIV-1 dan HIV-2. HIV-1 lebih cepat menyebabkan AIDS dan bersifat akut, sedangkan HIV-2 menyebabkan AIDS lebih lambat dan bersifat kronik. Menurut data WHO 2010, angka kejadian HIV dari 119 negara secara global menurut mencapai 35.000.000 orang terinfeksi HIV (sekitar 33.200.000-37.200.000 orang) dan 15.000.000 orang meninggal .

Struktur HIV-1 (gambar 5.6.), diameter virion mencapai 100 nm, tersusun dari dua strand RNA yang identik (viral genom) dengan panjang 9749 nukleotida yang mengkode bermacam-macam enzim diantaranya enzim reverse transcriptase, integrase, protease yang dibungkus dalam cone shaped core (lapisan berbentuk kerucut) yang tersusun dari protein capsid p24 dan bagian dalam protein matrix p17 yang berasal dari membran fosfolipid host yang memiliki protein membran gp 41 dan gp 120 yang akan berikatan dengan CD4 dan Reseptor kemokin.



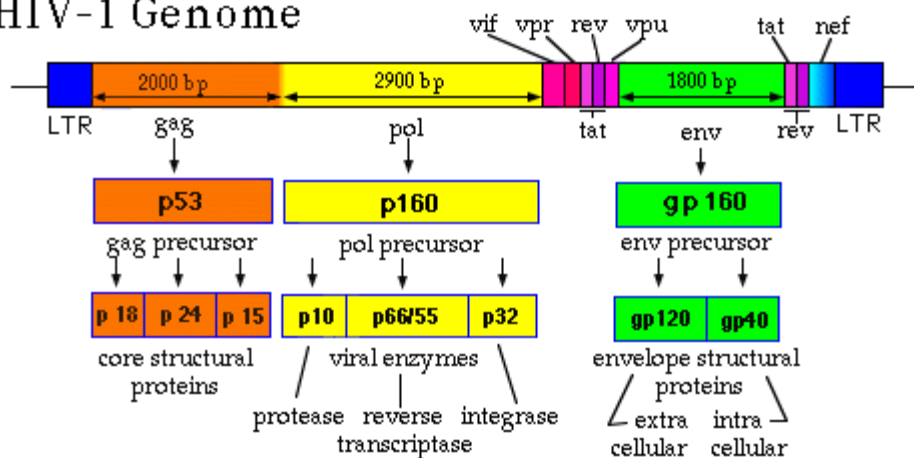
Gambar 5.13 Struktur Human Immunodeficiency Virus (HIV I)

Sumber : Cellular and Molecular Immunology.7th ed. 2012

Ekspresi gen HIV dibagi menjadi 2 tahap ekspresi gen,yaitu:

- 1) Early gen , mengekspresikan gen rev, tat, nef yang akan memproduksi protein yang dikode gen tersebut segera setelah virus menginfeksi sel.
- 2) Late gen, mengekspresikan gen env, gag, dan pol, yang mengkode komponen struktural HIV.

HIV-1 Genome



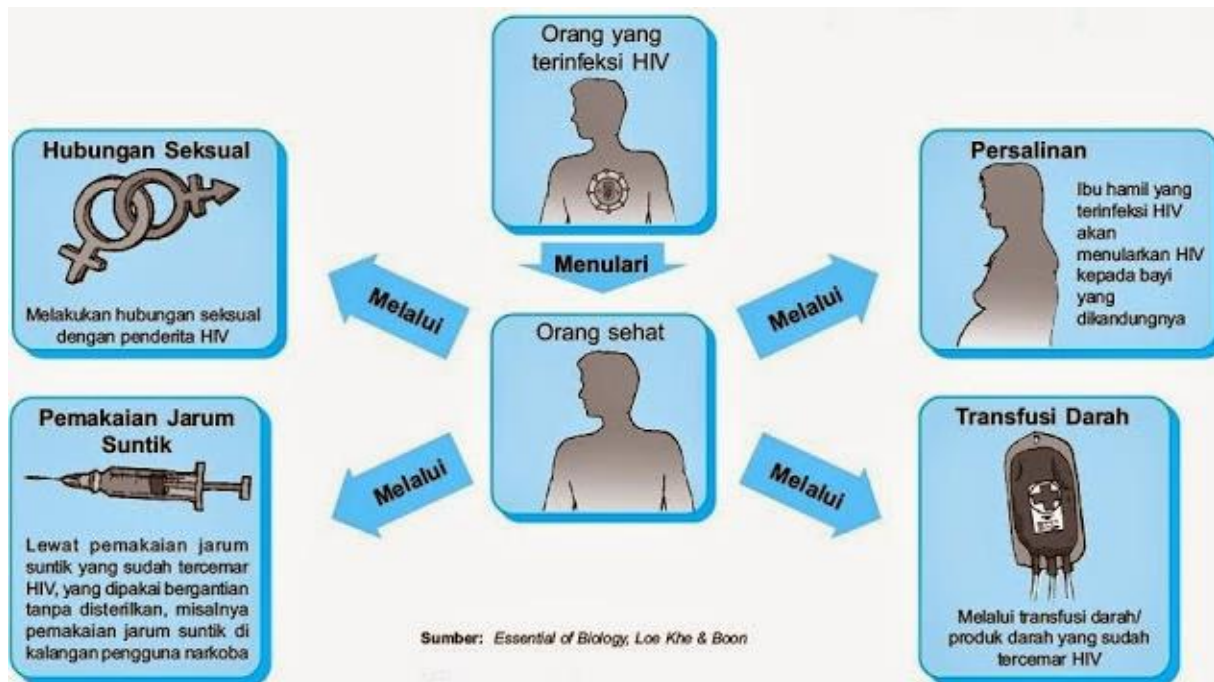
ccz/95

Gambar 5.14 Genom Human Immunodeficiency Virus (HIV I)

Sumber : Cellular and Molecular Immunology.7th ed. 2012

Secara morfologi HIV-2 sama dengan HIV-1, tetapi kurang patogenik. Kedua tipe tersebut dapat dibedakan melalui adanya atau tidak adanya antibodi yang spesifik pada HIV-2. Meskipun reaktivitas (cross reactivity) terjadi antara protein inti kedua virus, tetapi protein pembungkus (envelope) mereka berbeda.

B. CARA PENULARAN



Gambar 5.15 Cara Penularan HIV

Cara penularan HIV saat ini semakin jelas, meskipun virus dapat disiolasi dari banyak hasil sekresi tubuh, infeksi ditularkan dari satu individu ke individu lain melalui tiga jalur utama, yaitu :

- 1) Kontak seksual (hubungan seks), merupakan cara penularan paling besar terutama pada kelompok heteroseksual dan homoseksual (laki-laki).
- 2) Penularan dari ibu ke anak, terjadi selama kehamilan melalui saluran plasenta dan setelah melahirkan dari asi.
- 3) Inokulasi pasien oleh darah penderita HIV atau produk darah transfusi dari donor pemakai obat/ narkoba melalui jarum suntik dan transfusi darah yang terinfeksi HIV

Penularan HIV melalui hubungan seksual merupakan jalur yang sangat penting. Di Afrika dampak penularan secara heteroseksual, menunjukkan peningkatan jumlah wanita yang terinfeksi dan menularkan infeksi ke anak mereka. Dengan demikian peningkatan populasi

yang terinfeksi terjadi dari dua sisi, yaitu : pada orang dewasa (penularan secara horizontal) dan pada bayi (penularan secara vertikal).

HIV ditularkan melalui kontak seksual, paparan darah yang terinfeksi atau sekret dari kulit yang terluka, dan oleh ibu yang terinfeksi ke janinnya atau melalui laktasi. Siklus replikasi HIV dimulai dari ikatan antara HIV's gp120 binding protein yang terletak di permukaan virus dengan reseptor CD⁴⁺. Molekul gp 41 akan menetrasi membrane plasma sel target kemudian membawa virion masuk kedalam sel target.

Sebuah kompleks preintegrasi virus yang terdiri dari RNA dan enzim virus dilepaskan ke dalam sitoplasma sel target. Kompleks tersebut akan mencapai nukleus dan mempromosikan transkripsi dari genom RNA menjadi DNA oleh enzim reverse transcriptase. Kompleks protein coat akan menghasilkan double stranded DNA. Pada proses ini, genom viral rentan terhadap faktor imunitas seluler yang menghambat progresifitas infeksi. DNA virus akan terintegrasi ke dalam kromosom host oleh enzim integrase.

Telah diketahui bahwa sejumlah mekanisme untuk menurunkan CD⁴⁺ dapat diinduksi oleh infeksi langsung dan destruksi oleh HIV. Kombinasi dari patogenitas virus dan respon kekebalan tubuh yang terjadi selama infeksi mempengaruhi perkembangan stadium lanjut penyakit yang merupakan suatu kompleks dan bervariasi.

Transfusi darah juga dapat menjadi jalur penularan HIV yang penting dan efisiensi penularan HIV diperkirakan lebih dari 90%. Satu transfusi positif HIV rata-rata dapat menyebabkan kematian setelah jangka waktu dua tahun pada anak-anak dan lima tahun pada orang dewasa. meskipun demikian, sejauh mana transfusi darah menjadi jalur penularan utama tergantung pada prevalensi dari individu yang terinfeksi dalam suatu populasi dan efektivitas dari program uji saring yang digunakan. Jika dalam suatu populasi dimana prevalensi individu yang terinfeksi rendah dan program uji saring baik, maka penularan melalui transfusi darah menjadi jarang dan dapat disimpulkan transfusi darah bukan merupakan penularan HIV yang utama. Sebaliknya jika dalam suatu populasi terdapat prevalensi individu yang terinfeksi tinggi dan program uji saring jelek atau bahkan tidak ada, maka penularan HIV lewat transfusi darah sangat mungkin terjadi dan merupakan jalur penularan utama dalam populasi tersebut.

Langkah pertama untuk mencegah penularan melalui transfusi darah adalah dengan menyeleksi donor, sehingga mendapat donor yang memiliki resiko rendah terhadap infeksi yang ditularkan. Darah dari seorang donor yang aman akan memberikan darah donasi yang aman untuk resipien. Meskipun demikian, tetap harus dilakukan atau melaksanakan program uji saring antibodi HIV agar darah yang terinfeksi dapat diidentifikasi dan dibuang.

C. GEJALA KLINIS

Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) merupakan kumpulan gejala atau penyakit yang disebabkan oleh menurunnya kekebalan tubuh akibat infeksi oleh virus HIV. AIDS merupakan stadium ketika sistem imun penderita jelek dan penderita menjadi rentan terhadap infeksi yang dinamakan infeksi oportunistik. Pada individu yang terinfeksi HIV dengan jumlah CD4 < 200 μ L juga merupakan definisi AIDS meskipun tanpa adanya gejala yang terlihat atau infeksi oportunistik. Infeksi oportunistik merupakan infeksi yang tidak terkontrol dari penyebab infeksi yang ada dan tidak dapat dikendalikan. Infeksi-infeksi umum ini mencakup :

- 1) Pneumonia yang disebabkan oleh *Pneumocystis carinii*.
- 2) Tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacterium avium / intracellularis*.
- 3) Kriptosporidiosis kronis
- 4) Toxoplasmosis
- 5) Infeksi-infeksi virus lain, seperti *Cytomegalovirus*.

Kanker sekunder diantaranya sarkoma kaposi dan limfoma non-Hodgkins merupakan kondisi lain yang kadangkala ditemukan pada pasien-pasien AIDS. Kanker ini biasanya ganas dan tidak merespon secara baik pemberian kemoterapi standar. Beberapa negara di dunia, terdapat pasien yang mengidap ARC (AIDS Related Complex) atau AIDS dengan diare berat. Adanya infeksi oportunistik atau kanker-kanker sekunder hanya dapat ditentukan setelah penelitian klinis dan hasil laboratorium.

Ada 2 klasifikasi yang sampai sekarang sering digunakan untuk remaja dan dewasa yaitu klasifikasi menurut WHO dan Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Amerika Serikat. Di negara-negara berkembang menggunakan sistem klasifikasi WHO dengan memakai data klinis dan laboratorium, sementara di negara-negara maju digunakan sistem klasifikasi CDC. Klasifikasi menurut WHO digunakan pada beberapa Negara yang pemeriksaan limfosit CD4+ tidak tersedia. Klasifikasi stadium klinis HIV/AIDS WHO dibedakan menjadi 4 stadium, yaitu :

Tabel 18. Stadium HIV menurut WHO

STADIUM	GEJALA KLINIS
I	• Tidak ada penurunan berat badan • Tanpa gejala atau hanya Limfadenopati Generalisata Persisten
II	• Penurunan berat badan <10% • ISPA berulang: sinusitis, otitis media, tonsilitis, dan faringitis

STADIUM	GEJALA KLINIS
	• Herpes zooster dalam 5 tahun terakhir • Luka di sekitar bibir (Kelitis Angularis) • Ulkus mulut berulang • Ruam kulit yang gatal (seboroik atau prurigo) • Dermatitis Seboroik • Infeksi jamur pada kuku
III	• Penurunan berat badan >10% • Diare, demam yang tidak diketahui penyebabnya >1 bulan • Kandidiasis oral atau Oral Hairy Leukoplakia • TB Paru dalam 1 tahun terakhir • Limfadenitis TB • Infeksi bakterial yang berat: Pneumonia, Piomiosis • Anemia (<8 gr/dl), Trombositopeni Kronik (<50109 per liter)
IV	• Sindroma Wasting (HIV) • Pneumoni Pneumocystis • Pneumonia Bakterial yang berat berulang dalam 6 bulan • Kandidiasis esofagus • Herpes Simpleks Ulseratif >1 bulan • Limfoma • Sarkoma Kaposi • Kanker Serviks yang invasif • Retinitis CMV • TB Ekstra paru • Toksoplasmosis • Ensefalopati HIV • Meningitis Kriptokokus • Infeksi mikobakteria non-TB meluas • Lekoensefalopati multifokal progresif • Kriptosporidiosis kronis, mikosis meluas

Di Indonesia, pada tahun 2007 oleh KPA (Komisi Penanggulangan AIDS) diagnosis AIDS dengan kriteria WHO digunakan untuk keperluan surveilans epidemiologi. Dalam hal ini seseorang dapat didiagnosis berdasarkan gejala klinis, yang terdiri dari gejala mayor dan minor. Pasien yang dikatakan AIDS jika menunjukkan hasil tes HIV positif disertai minimal terdapat 2 gejala mayor atau terdapat 2 (dua) gejala minor dan 1 (satu) gejala mayor. Tabel 5.2 menunjukkan Gejala mayor dan gejala minor infeksi HIV / AIDS

Tabel 19. Gejala mayor dan minor infeksi HIV/AIDS

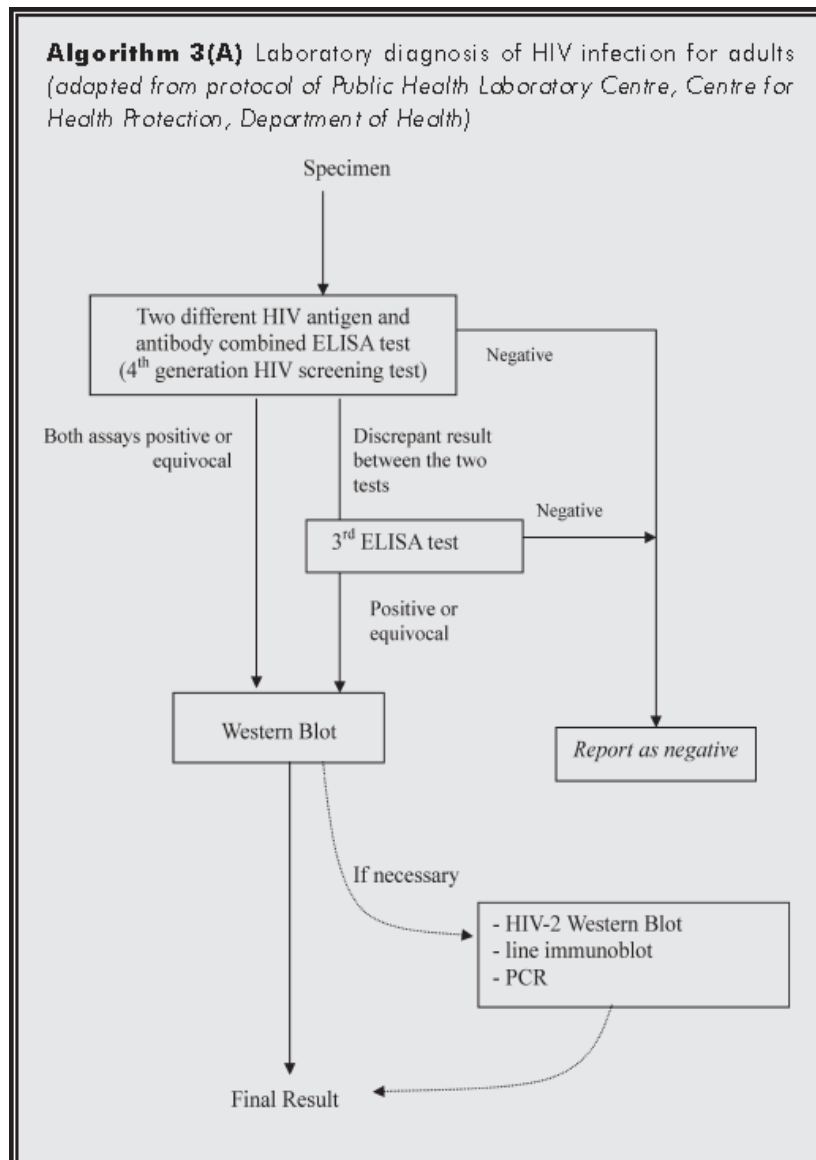
GEJALA MAYOR	GEJALA MINOR
• Berat badan turun >10% dalam 1 bulan • Diare kronik, berlangsung > 1 bulan • Demam berkepanjangan > 1 bulan • Penurunan Kesadaran • Demensia/HIV ensefalopati	• Batuk menetap > 1 bulan • Dermatitis generalisata • Herpes Zooster multisegmental dan berulang • Kandidiasis orofaringeal • Herpes simpleks kronis progresif • Limfadenopati generalisata • Infeksi jamur berulang pada alat kelamin wanita • Retinitis Cytomegalovirus

D. METODE PEMERIKSAAN

Secara umum diagnosis HIV dibagi menjadi dua prinsip pendeteksian, yaitu deteksi antibodi dan deteksi virus. RNA virus HIV dapat dideteksi menggunakan Nucleic Acid Test (NAT) sekitar 11 hari setelah terinfeksi. Pemeriksaan skrining antibodi HIV digunakan untuk diagnosis primer yang diikuti dengan tes konfirmasi jika hasil positif/reaktif pada hasil pemeriksaan skrining. Selain metode ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) dan juga digunakan pemeriksaan partikel aglutinasi. Tes ELISA yang disetujui mengandung antigen HIV-1 kelompok M, khususnya HIV-1 M: B, kelompok O dan HIV-2. Tergantung pada pabrikan, antigen yang diturunkan dari *reverse transcriptase* dan protein p24 ditambahkan dalam sistem pemeriksaan. Selain itu, pemeriksaan bergantung pada respon imun dan titer antibodi. Infeksi dapat dideteksi secara serologis setelah 3 minggu tapi biasanya setelah 4-5 minggu. Dalam kasus yang jarang terjadi, orang yang terinfeksi HIV dengan imunosupresi lengkap kemungkinan antibodi HIV-negatif, tetapi mereka memiliki gejala klinis khas HIV dan titer virus yang terukur dalam darah.

Langkah pertama untuk mendiagnosis HIV/AIDS adalah anamnesis secara keseluruhan kemudian ditemukan adanya faktor risiko dan menemukan temuan klinis pada pemeriksaan fisik. Tes diagnostik untuk HIV yang sampai sekarang masih digunakan adalah ELISA (enzyme-linked immunoabsorbent assay), rapid test, Western Blot, dan PCR (Polymerase chain reaction) dengan sampel whole blood, dried bloodspots, saliva dan urin.

Rapid test disarankan untuk kasus kecelakaan kerja bagi petugas yang terpapar darah penderita HIV/AIDS atau pada penderita yang kemungkinan tidak mau datang kembali untuk menyampaikan hasil tes HIV. Tes ELISA merupakan pemeriksaan yang umum dilakukan karena praktis dan sensitifitasnya tinggi. Rekomendasi WHO jika tes ELISA dengan 3 reagen yang berbeda hasilnya positif semua atau rapid test dengan 3 reagen hasilnya positif semua maka tidak dianjurkan tes Western Blot (WB). Berikut ini adalah algoritma untuk pemeriksaan HIV pada donor (gambar 5.10)



Gambar 5.16. Algoritma Pemeriksaan Laboratorium HIV

➤ **Pemeriksaan HIV 1/2 Metode Rapid Tet**

Prinsip :

Pemeriksaan rapid tes ini merupakan uji kualitatif untuk mendeteksi antibodi spesifik untuk HIV 1 (IgG, IgM, IgA) termasuk subtype O dan antibodi HIV-2 dalam serum, plasma atau darah lengkap. Pada bagian tes (T) membran strip dilekatkan antigen recombinan HIV-1 capture antigen (gp41, p24) pada daerah garis tes 1 dan antigen recombinan HIV-2 capture antigen (gp36) pada daerah garis tes 2. Antigen recombinan HIV-1/2 (gp41, p24 and gp36) dan colloid gold conjugate di bagian well sampel akan berikatan dengan antibodi HIV1/2 pada sampel dan bergerak pada membran kromatografi menuju daerah tes (T), sehingga apabila terdapat antibodi HIV 1/2 akan membentuk garis nyata berwarna ungu pada daerah tes (T) yang merupakan ikatan kompleks antigen – antibodi – antigen gold partikel dengan spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi. Kelebihan Antigen recombinan HIV-1/2 (gp41, p24 and gp36) dan colloid gold conjugate akan terus bergerak menuju area kontrol (C) yang telah dilapisi antibodi HIV1/2 rekombinan, sehingga berikatan dan membentuk garis merah pada area kontrol yang menunjukkan hasil pemeriksaan valid. Hasil reaktif harus dikonfirmasi menggunakan pemeriksaan HIV metode ELISA atau Western Blot.

Alat dan Bahan :

- 4) HIV 1/2 Rapid test (test strip , diluent dan pipet kapiler)
- 5) Mikropipet (10 µL, 20 µL)
- 6) Tip kuning
- 7) Timer
- 8) Sampel pasien (serum atau plasma atau darah lengkap)

Cara kerja :

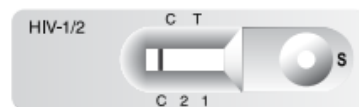
- 1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan, kemudian simpan pada suhu kamar.
- 2) Buka kemasan kit pemeriksaan pada permukaan yang datar dan kering.
- 3) Untuk sampel menggunakan pipet kapiler, dipipet 20µL sampel darah dan masukkan ke dalam sampel well (S). Untuk sampel yang menggunakan mikropipet, dipipet 10 µL untuk serum atau plasma dan jika menggunakan sampel darah dipipet 20 µL , kemudian masukkan kedalam sampel well (S)
- 4) Tambahkan 4 tetes larutan diluent secara vertikal ke dalam sampel well (S).

Perhatian: jika meneteskan tidak vertikal maka akan mempengaruhi keakuratan hasil, dianjurkan hanya 4 tetes, apabila berlebih (5-6 tetes) akan mempengaruhi terbentuknya garis menjadi tidak jelas. .

- 5) Baca hasil pengamatan 10-20 menit. Peringatan : jangan membaca hasil lebih dari 20 menit

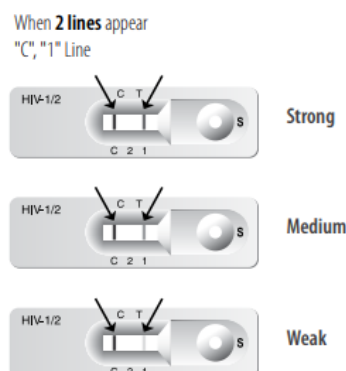
Interpretasi Hasil

- Negatif : hanya terbentuk satu garis pada daerah kontrol (C).

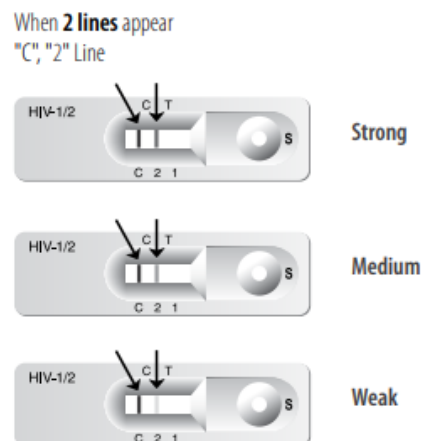


- Positif :

- b) Positif HIV-1 : Terbentuk dua garis ungu, satu garis di daerah tes 1 (T1) dan satu garis di daerah kontrol (C).



- c) Positif HIV-2 : Terbentuk dua garis ungu, satu garis di daerah tes 2 (T2) dan satu garis di daerah kontrol (C).



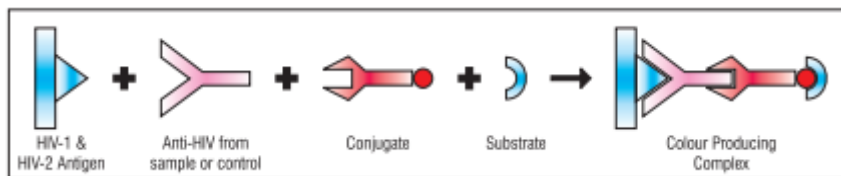
- Invalid : Tidak terbentuk garis pada daerah kontrol (C).



Catatan : apabila terbentuk 3 garis yaitu di daerah Tes 1 (T1), Tes 2 (T2) dan kontrol (C), maka harus dikonfirmasi dengan western Blot untuk penentuan jenis virus.

➤ Pemeriksaan HIV 1/2 Metode ELISA

Prinsip :



Gambar 5.17 Prinsip pemeriksaan HIV 1/2 metode ELISA

Test Microlisa HIV merupakan test berbasis Indirect ELISA. Protein HIV envelope gp41, gp 120 untuk HIV-1, dan gp 36 untuk HIV-2 yang merupakan epitop imunodominan dilekatkan pada sumur mikrotiter. Sampel dan kontrol ditambahkan ke dalam sumur dan di inkubasi. Apabila pada sampel terdapat antibodi HIV-1 dan HIV 2 maka akan berikatan dengan antigen spesifik yang telah dilekatkan pada permukaan sumur. Plate kemudian dicuci untuk menghilangkan komponen yang tidak berikatan. Horseradish peroxidase (HRP) konjugat dan antihuman IgG ditambahkan ke dalam setiap well. Konjugat akan berikatan dengan kompleks HIV antigen-antibody yang terbentuk. Selanjutnya larutan substrat yang mengandung kromogen dan hidrogen peroksida ditambahkan pada setiap sumur dan diinkubasi. Warna biru yang terbentuk sebanding dengan jumlah antibodi HIV-1 dan atau antibodi HIV-2 yang terdapat pada sampel. Kemudian perubahan warna yang terbentuk dihentikan oleh stop solution. Warna yang terbentuk dibaca pada ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm. Apabila sampel tidak mengandung antibodi HIV-1 dan atau antibodi HIV-2, maka tidak akan terbentuk warna biru pada sumur.

Alat dan bahan :

- 1) ELISA Kit untuk deteksi antibodi HIV-1/2
- 2) Mikropipet
- 3) Timer Elisa
- 4) reader Elisa
- 5) Washer ELISA
- 6) Inkubator 37°C
- 7) Vortex
- 8) Sarung tangan
- 9) Tisu atau kertas saring
- 10) Sampel (serum atau plasma)

Cara kerja

- 1) Dipipet 100 µl sample diluent dan masukkan ke sumur A-1 well sebagai blank.
- 2) Dipipet 100 µl kontrol negatif dan masukkan ke setiap sumur dengan nomor B-1 dan C-1. Perhatian : negatif kontrol siap digunakan tidak perlu diencerkan.
- 3) Dipipet 100 µl Positif kontrol dan masukkan pada sumur D-1, E-1 & F-1. Perhatian : negatif kontrol siap digunakan tidak perlu diencerkan.
- 4) Dipipet 100 µl sample diluent dan masukkan ke setiap sumur dimulai dari G-1 diikuti dengan penambahan sampel sebanyak 10 µl.
- 5) Tutup plate.
- 6) Inkubasi pada 37°C ± 2°C selama 30 menit ± 2 menit.
- 7) Selama inkubasi siapkan larutan pencuci (wash buffer) dan larutan kerja konjugat spesifik.
- 8) Keluarkan plate dari inkubator dan cuci 5 kali dengan larutan pencuci (wash buffer)
- 9) Tambahkan 100 µl larutan HRP konjugat pada setiap sumur dari mulai A-1.
- 10) Tutup plate
- 11) Inkubasi pada 37°C ± 2°C selama 30 menit ± 2 menit

- 12) Buang dan cuci seperti prosedur no 8
- 13) Tambahkan 100 µl TMB substrat pada setiap sumur dari mulai A-1
- 14) Inkubasi pada suhu ruang (20 - 30°C) selama 30 menit pada keadaan gelap
- 15) Tambahkan 100 µl of larutan stop pada setiap sumur.
- 16) Baca absorban pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu 30 menit pada ELISA READER setelah blanking sumur A-1.

Tes validitas :

- 1) Nilai absorban Blanko harus lebih kecil dari 0,100
- 2) Nilai absorban Negatif kontrol harus < 0,150
- 3) Nilai absorban Positif kontrol ha> 0,50

Interpretasi Hasil

- 1) Spesimen dengan absorbansi kurang dari (<) nilai cut-off dinyatakan negatif.
- 2) Spesimen dengan nilai absorbansi lebih besar atau sama dengan (≥) nilai cut-off dinyatakan positif.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Struktur dan morfologi HIV
2. Cara penularan HIV
3. Gejala Klinis HIV/AIDS
4. Metode pemeriksaan HIV

Ringkasan

1. HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) merupakan suatu retrovirus dengan materi genetik (RNA) yang dapat mentransfer informasi genetik RNA ke DNA dengan menggunakan enzim yang disebut reverse transcriptase. HIV menginfeksi berbagai sel sistem imun antara lain : Sel T helper (CD⁴⁺), Makrofag dan sel dendritik. .

2. Cara penularan HIV saat ini semakin jelas, meskipun virus dapat disolasi dari banyak hasil sekresi tubuh, infeksi ditularkan dari satu individu ke individu lain melalui tiga jalur utama, yaitu kontak seksual (hubungan seks), penularan dari ibu ke anak, inokulasi pasien oleh darah penderita hiv atau produk darah transfusi.
3. AIDS merupakan kumpulan gejala atau penyakit yang disebabkan oleh menurunnya kekebalan tubuh akibat infeksi oleh virus HIV. AIDS merupakan stadium ketika sistem imun penderita jelek dan penderita menjadi rentan terhadap infeksi yang dinamakan infeksi oportunistik.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Sel yang dijadikan target infeksi HIV adalah sebagai berikut, kecuali..
 - A. Sel T Helper
 - B. Monosit
 - C. Makrofag
 - D. Sel dendritik
 - E. Eritrosit
2. Salah satu jalur penularan utama yang paling cepat menyebarkan infeksi HIV adalah ...
 - A. Hubungan seksual (heteroseksual / homoseksual)
 - B. Transfusi darah
 - C. Persalinan
 - D. Penggunaan jarum suntik bersama / narkoba
 - E. Air ludah dan keringat
3. Berikut ini yang bukan merupakan infeksi oportunistik pada penderita HIV adalah
 - A. Pneumonia yang disebabkan oleh *Pneumocystis carinii*.
 - B. Tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacterium avium / intracellularis*.
 - C. Malaria
 - D. Toxoplasmosis
 - E. Infeksi-infeksi virus lain, seperti *Cytomegalovirus*.

4. Metode pemeriksaan yang bukan digunakan untuk deteksi antibodi HIV Adalah
- A. Rapid test
 - B. ELISA
 - C. Partikel aglutinasi
 - D. Nucleic acid tes
 - E. CHLIA
5. Pemeriksaan yang digunakan sebagai uji konfirmasi untuk diagnosis HIV adalah metode.....
- A. Rapid test
 - B. ELISA
 - C. Western Blot
 - D. Nucleic acid tes
 - E. CHLIA

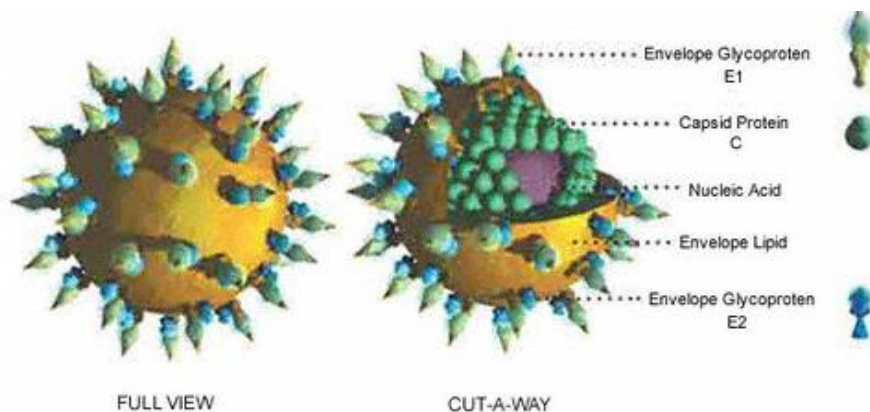
Topik 3

Hepatitis C

A. STRUKTUR DAN MORFOLOGI

Hepatitis C adalah jenis yang paling berbahaya dari semua jenis virus hepatitis, karena infeksi ini biasanya tidak menimbulkan gejala sampai di tahapan akhir infeksi kronis. Kebanyakan orang tidak menyadari bahwa mereka terinfeksi hepatitis sampai akhirnya menderita kerusakan hati permanen beberapa tahun kemudian, saat dilakukan tes medis rutin.

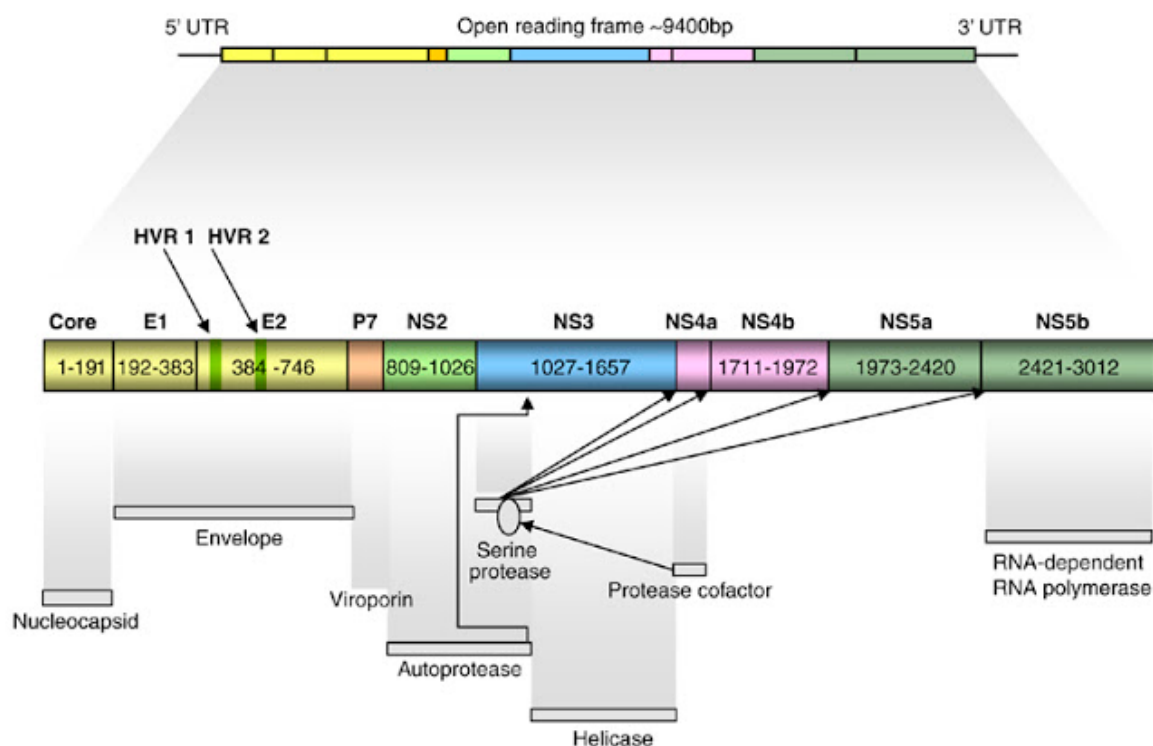
Pada tahun 1980-an timbul sejumlah kasus hepatitis yang menyebar melalui transmisi parenteral. Virus ini tidak dapat dikategorikan dalam kelompok atau tipe virus hepatitis yang ada saat itu, yaitu virus hepatitis A, B dan Delta. Seiring dengan perkembangan teknologi, ditemukanlah metode isolasi dan karakterisasi RNA virus. Virus ini kemudian dikenal dengan virus hepatitis C dan merupakan penyebab dominan kasus infeksi akibat virus hepatitis non A dan non B (NANBH). Hepatitis C adalah peradangan hati yang disebabkan oleh virus hepatitis C (hepatitis C virus/HCV), yaitu virus yang bergenom RNA untai tunggal dan dikategorikan ke dalam kelompok Flaviviridae. Dalam perjalanan penyakitnya hepatitis C dapat menjadi infeksi akut dan infeksi kronis, dimana dari infeksi kronis tersebut dapat berkembang menjadi fibrosis dan kanker hati. Hepatitis C juga berpotensi menjadi kejadian luar biasa (KLB). Oleh sebab itu penyakit hepatitis C masih termasuk dalam masalah kesehatan utama di Indonesia.



© Physicians' Research Network, Inc. All rights reserved.
Published in The PRN Notebook, Volume 6, number 1, March 2001 and
The PRN Notebook Online at WWW.prn.org
Three-dimensional model of HCV Created by Louis E. Henderson, PhD,
Frederick Cancer Research Center.

Gambar 5.17 Struktur Virus Hepatitis C

Patogenesis infeksi HCV hingga menyebabkan hepatitis C tidak lepas dari peran struktur genom yang dimilikinya. Sekitar 9600 nukleotida menyusun sebuah *Untranslated Region* dan *Open Reading Frame (ORF)*. *Open Reading Frame* akan mengkode sejumlah protein fungsional yang berperan dalam membentuk struktur virus serta berperan dalam patogenesis infeksi, terutama dalam hal mekanisme replikasi virus dalam sel inang. Struktur genom virus hepatitis C, partikel HCV (virion) terdiri berukuran 40-70 nm. Virion terdiri dari bagian inti (*core*) yang mengandung materi genetik berupa satu untai RNA yang dikelilingi oleh lapisan protein pelindung dengan struktur ikosahedral yang disebut nukleokapsid. Pada bagian luar nukleokapsid terdapat lapisan lipid dan glikoprotein yang membentuk struktur envelop. *Open Reading Frame* mengkodekan sekitar 3000 asam amino, poliprotein ini kemudian menjadi 10 protein fungsional pascatranslasi melalui proses yang melibatkan sejumlah proteinase milik sel inang dan virus.



Gambar 5.18 Genom Virus Hepatitis C

Pada bagian ujung terminal 5' dan 3' terdapat daerah yang disebut *Untranslated Region* (UTR). Daerah ini tidak mengkodekan protein apapun, namun berperan penting dalam inisiasi transkripsi dan translasi. Bagian yang terletak di ujung 5' disebut daerah 5'UTR, sedangkan yang terletak di ujung 3' disebut 3'UTR. poliprotein post translasi terdiri dari protein struktural (terletak di dekat ujung amino) dan protein non struktural (terletak di dekat ujung karboksil). protein struktural adalah protein yang berperan dalam pembentukan struktur virus, yaitu protein core, E1, E2 dan P7. protein non struktural terdiri dari NS2, NS3, NS4 dan NS5.

Beberapa dari protein ini akan dipotong menjadi protein berukuran kecil yang berperan dalam replikasi virus. rantai poliprotein yang terbentuk akan dipotong melalui mekanisme yang disebut *chopping*. pemotongan ini dilakukan oleh sejumlah protease.

B. CARA PENULARAN

Pada umumnya cara penularan HCV adalah parental. Semula penularan HCV dihubungkan dengan transfusi darah atau produk darah, melalui jarum suntik. Tetapi setelah ditemukan bentuk virus dari hepatitis, makin banyak laporan mengenai cara penularan lainnya, yang umumnya mirip dengan cara penularan HBV, yaitu:

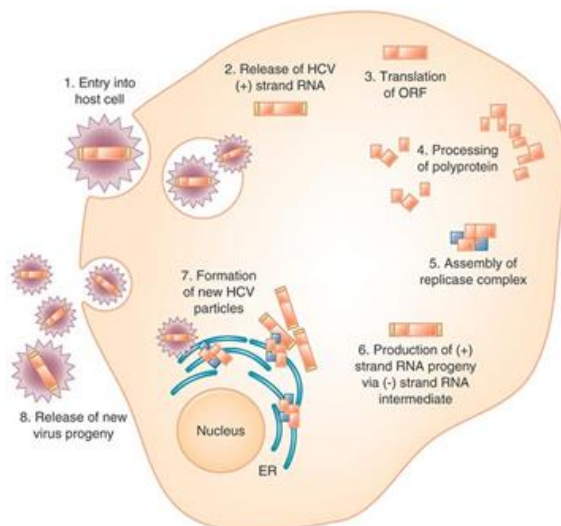
1) Penularan horizontal

Penularan HCV terjadi terutama melalui cara parental, yaitu tranfusi darah atau komponen produk darah, hemodialisa, dan penyuntikan obat secara intravena.

2) Penularan vertikal

Penularan vertikal adalah penularan dari seseorang ibu pengidap atau penderita Hepatitis C kepada bayinya sebelum persalinan, pada saat persalinan atau beberapa saat persalinan.

Jika masuk ke dalam darah maka HCV akan segera menuju hepatosit (sel hati) dan juga sel limfosit B. Hanya dalam sel hati HCV bisa berkembang biak. Karena sulitnya membiakkan HCV pada kultur, juga tidak adanya model binatang non-primata telah memperlambat lajunya riset HCV. Berikut ini adalah daur hidup HCV (Gambar 5.11).



Gambar 5.19. Siklus hidup virus hepatitis C

Melalui gambar skematis di atas, proses siklus kehidupan HCV digambarkan secara alur skematis.

- 1) HCV masuk ke dalam hepatosit dengan mengikat suatu reseptor permukaan sel yang spesifik. Reseptor ini belum teridentifikasi secara jelas, namun protein permukaan CD⁸⁺ adalah suatu HCV binding protein yang memainkan peranan dalam masuknya virus. Salah satu protein khusus virus yang dikenal sebagai protein E2 menempel pada reseptor site di bagian luar hepatosit.
- 2) Kemudian protein inti dari virus menembus dinding sel dengan suatu proses kimiawi dimana selaput lemak bergabung dengan dinding sel dan selanjutnya dinding sel akan melingkupi dan menelan virus serta membawanya ke dalam hepatosit. Di dalam hepatosit, selaput virus (nukleokapsid) melarut dalam sitoplasma dan keluarlah RNA virus (virus uncoating) yang selanjutnya mengambil alih peran bagian dari ribosom hepatosit dalam membuat bahan-bahan untuk proses reproduksi.
- 3) Virus dapat membuat sel hati memperlakukan RNA virus seperti miliknya sendiri. Selama proses ini virus menutup fungsi normal hepatosit atau membuat lebih banyak lagi hepatosit yang terinfeksi kemudian membajak mekanisme sintesis protein hepatosit dalam memproduksi protein yang dibutuhkannya untuk berfungsi dan berkembang biak.
- 4) RNA virus dipergunakan sebagai cetakan (template) untuk memproduksi masal poliprotein (proses translasi).
- 5) Poliprotein dipecah dalam unit-unit protein yang lebih kecil. Protein ini ada 2 jenis yaitu protein struktural dan regulatori. Protein regulatori memulai sintesis kopi virus RNA asli.
- 6) Sekarang RNA virus mengopi dirinya sendiri dalam jumlah besar (miliaran kali) untuk menghasilkan bahan dalam membentuk virus baru. Hasil kopi ini adalah bayangan cermin RNA orisinil dan dinamai RNA negatif. RNA negatif lalu bertindak sebagai cetakan (template) untuk memproduksi serta RNA positif yang sangat banyak yang merupakan kopi identik materi genetik virus.
- 7) Proses ini berlangsung terus dan memberikan kesempatan untuk terjadinya mutasi genetik yang menghasilkan RNA untuk strain baru virus dan sub tipe virus hepatitis C. Setiap kopi virus baru akan berinteraksi dengan protein struktural, yang kemudian akan membentuk nukleokapsid dan kemudian inti virus baru. Amplop protein kemudian akan melapisi inti virus baru.
- 8) Virus dewasa kemudian dikeluarkan dari dalam hepatosit menuju ke pembuluh darah menembus membran sel.

Keluaran dan derajat keparahan dari infeksi virus hepatitis bergantung pada jenis virus, jumlah virus dan faktor dari host.

C. GEJALA KLINIS

Manifestasi klinis hepatitis virus C dikenal mulai dari hepatitis akut, fulminan, kronis, yang dapat berkembang menjadi sirosis atau kanker hati.

1) Infeksi Akut

Umumnya infeksi akut HCV tidak memberi gejala atau hanya bergejala minimal. Hanya 20-30% kasus yang menunjukkan tanda-tanda hepatitis akut 7 – 8 minggu (berkisar 2 – 26 minggu) setelah terjadinya paparan.

Infeksi virus hepatitis terbagi 3 fase, yaitu fase prodormal, fase ikterik, dan fase convalescent. Pada fase prodormal, onset terjadi pada hari 1-14, namun rata-rata timbul pada hari 5-7 setelah paparan. Keluhan yang sering yaitu malaise, fatigue, mual dan muntah, kehilangan selera makan, demam, gejala flu, dan kebanyakan pasien mengeluh adanya nyeri pada perut kanan atas.

Pada fase ikterik, gejala yang sering ditimbulkan yaitu warna kuning pada mukosa sklera pada awalnya dan berlanjut pada perubahan warna pada kulit. Durasi ikterik bervariasi, biasanya antara 4 hari sampai beberapa bulan, namun rata-rata 2-3 minggu. Urin menjadi gelap, feses berwarna seperti dempol (pucat). Selama fase ini, setengah penderita menunjukkan gejala gatal-gatal.

Pada fase convalescent, kebanyakan gejala di atas menghilang (resolve). Ikterik tidak ditemukan, warna pada kulit, urin dan feses kembali ke warna yang semula. Kembalinya nafsu makan dan adanya peningkatan berat badan menunjukkan sudah adanya tahap penyembuhan.

Umumnya secara klinik gejala HCV akut lebih ringan daripada hepatitis virus akut lainnya. Masa inkubasi HCV terletak antara HAV dengan HBV, yaitu sekitar 2 – 26 minggu, dengan rata-rata 8 minggu. Pada penderita hepatitis akut ditemukan Anti HCV positif pada 75,5% HNANB pasca-tranfusi, 35% pada HNANB sporadik dan hanya 2,4% pada HBV. Sebagian besar penderita yang terserang HCV akut akan menjurus menjadi kronis.

RNA virus hepatitis C dapat terdeteksi sebelum gejala muncul, namun level dari viremia pada 6 bulan pertama dapat dorman dan tidak terdeteksi walaupun orang tersebut sedang dalam infeksi yang persisten. Gejala awal yang ditunjukkan tergantung dari usia saat terjadinya paparan, sistem imun penderita, adanya penyakit hati sebelumnya dan tingkat inokulasi virus.

Level serum dari enzim hati seperti alanin aminotransferase (ALT) meningkat 10 kali lebih tinggi dari pada normal, kemudian menurun, dan untuk orang dengan infeksi yang persisten didapatkan kadar ALT naik turun (fluktuatif). Serum bilirubin juga dapat meningkat setelah beberapa minggu gejala pertama muncul, namun akhirnya kembali ke level yang normal. Secara garis besar, angka mortalitas pada infeksi akut tergolong rendah.

2) Infeksi Kronis

Infeksi akan menjadi kronik pada 70 – 90% kasus dan sering kali tidak menimbulkan gejala apapun walaupun proses kerusakan hati berjalan terus. Adapun kriteria dari hepatitis kronis adalah naiknya kadar transaminase serum lebih dari 2 kali nilai normal, yang berlangsung lebih dari 6 bulan. Hilangnya HCV setelah terjadinya hepatitis kronis sangat jarang terjadi. Jangka waktu dimana berbagai tahap penyakit hati berkembang sangat bervariasi. Diperlukan waktu 20 – 30 tahun untuk terjadinya sirosis hati yang sering terjadi pada 15 – 20% pasien hepatitis C kronis. Progresivitas hepatitis kronis menjadi sirosis hati tergantung beberapa faktor resiko yaitu: asupan alkohol, ko-infeksi dengan virus hepatitis B atau Human Immunodeficiency Virus (HIV), jenis kelamin laki-laki, usia tua saat terjadinya infeksi dan kadar CD⁴⁺ yang sangat rendah. Bila telah terjadinya sirosis, maka risiko terjadinya karsinoma hepatoselular adalah sekitar 1-4% pertahun. Karsinoma hepatoseluler dapat terjadi tanpa diawali dengan sirosis, namun hal ini jarang terjadi.

3) Hepatitis C Fulminan

Hepatitis fulminan jarang terjadi. ALT (alanine amino-transferase) meninggi sampai beberapa kali diatas batas atas normal tetapi umumnya tidak sampai lebih dari 1000 U/L. Selain memiliki manifestasi hepatic, ada beberapa manifestasi ekstrahepatik HCV yang penting

a) Mixed Cryoglobulinaemic vasculitis

Pada 50% pasien HCV umumnya terdeteksi cryoglobulin pada serum darah, dan Kriopresipitat biasanya mengandung sejumlah besar antigen dan antibodi HCV, namun hanya sebagian kecil pasien (10-15%) yang memiliki gejala. Gejala-gejala biasanya terkait dengan vaskulitis, yaitu lemah, atralgia dan purpura.

b) Membranoproliferative glomerulonephritis

Pada kasus ini, telah terjadi peranan dari persarafan dan otak sehingga gejala yang timbul lebih berat.

c) Poliarteritis Nodosa

d) Papular Acrodermatitis (Gianotti syndrome)

D. METODE PEMERIKSAAN

Penegakan diagnosis pada hepatitis virus C berdasarkan uji serologi untuk memeriksa antibodi dan Uji HCV RNA.

1) Uji serologi

Uji serologi yang berdasarkan pada deteksi antibodi telah membantu mengurangi risiko infeksi terkait transfusi. Sekali pasien pernah mengalami serokonversi, biasanya hasil pemeriksaan serologi akan tetap positif, namun kadar antibodi anti-HCV akan menurun secara gradual sejalan dengan waktu pada sebagian pasien yang infeksiya mengalami reaksi spontan.

Antibodi terhadap HCV biasanya dideteksi dengan metode enzyme immunoassay yang sangat sensitif dan spesifik. Enzyme immunoassay generasi k-3 yang banyak dipergunakan saat ini mengandung protein core dan protein struktural-struktural yang dapat mendeteksi keberadaan antibodi dalam waktu 4-10 minggu infeksi. Antibodi anti-HCV masih tetap dapat terdeteksi selama terapi maupun setelahnya tanpa memandang respon terapi yang telah dialami, sehingga pemeriksaan anti-HCV tidak perlu dilakukan kembali apabila sudah pernah dilakukan sebelumnya. Uji immunoblot rekombinan (recombinant immunoblot assay, RIBA) dapat digunakan untuk mengkonfirmasi hasil uji enzyme immunoassay yang positif. Penggunaan RIBA untuk mengkonfirmasi hasil hanya direkomendasikan untuk setting populasi resiko rendah seperti pada bank darah. Namun dengan tersedianya metode enzyme immunoassay yang sudah diperbaiki dan uji deteksi RNA yang lebih baik saat ini, maka konfirmasi dengan RIBA telah menjadi kurang diperlukan.

2) Uji HCV RNA

HCV RNA dapat terdeteksi dan diukur dengan teknik amplifikasi termasuk reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Genotip HCV dapat dinilai dengan analisis phylogenetic dari rantai nukleotida atau deteksi mutasi point spesifik subtype pada RT-PCR amplifikasi RNA. HCV RNA dideteksi dalam waktu 2 minggu infeksi dan juga digunakan untuk konfirmasi terjadinya infeksi akut. Bagaimanapun uji HCV RNA yang rutin tidak dianjurkan secara langsung karena standarisasi uji tersebut yang masih rendah.

3) Biopsi Hati

Biopsi hati secara umum direkomendasikan untuk penilaian awal seorang pasien dengan infeksi HCV kronis. Biopsi berguna untuk menentukan derajat beratnya penyakit (tingkat fibrosis) dan menentukan derajat nekrosis dan inflamasi.¹ Pemeriksaan ini juga bermanfaat untuk menyingkirkan kemungkinan adanya penyebab hati yang lain, seperti fitur alkoholik, non-alkoholic steatohepatitis (NASH), hepatitis autoimun, penyakit hati drug-induced atau overload besi.

➤ Pemeriksaan HIV 1/2 Metode Rapid Tet

Prinsip : Pemeriksaan rapid tes ini merupakan uji kualitatif untuk mendeteksi antibodi spesifik untuk HCV dalam serum atau plasma. Pada bagian sampel (S) membran strip dilekatkan antigen recombinan HCV dan colloid gold conjugate yang berikatan dengan antibodi HCV pada sampel, kemudian bergerak pada membran kromatografi menuju daerah tes (T) yang telah dilekatkan antigen rekombinan HCV (antigen HCV Core, NS3, NS4, NS5), sehingga apabila terdapat antibodi HCV pada sampel akan membentuk garis nyata berwarna ungu pada daerah tes (T) yang merupakan ikatan kompleks antigen – antibodi – antigen gold partikel dengan spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi. Kelebihan Antigen recombinan HCV dan colloid gold conjugate akan terus bergerak menuju area kontrol (C) yang telah dilapisi antibodi HCV rekombinan, sehingga berikatan dan membentuk garis merah pada area kontrol yang menunjukkan hasil pemeriksaan valid.

Alat dan Bahan :

- HCV Rapid test (test strip , diluent dan pipet kapiler)
- Mikropipet (10 µL)
- Tip kuning
- Timer
- Sampel pasien (serum atau plasma)

Cara kerja :

- 1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan, kemudian simpan pada suhu kamar.
- 2) Buka kemasan kit pemeriksaan pada permukaan yang datar dan kering.
- 3) Untuk sampel menggunakan pipet kapiler atau mikropipet, dipipet 10µL sampel darah dan masukkan ke dalam sampel well (S).
- 4) Tambahkan 3 tetes larutan diluent secara vertikal ke dalam sampel well (S).
- 5) Baca hasil pengamatan 5-20 menit. Peringatan : jangan membaca hasil lebih dari 20 menit

Interpretasi Hasil

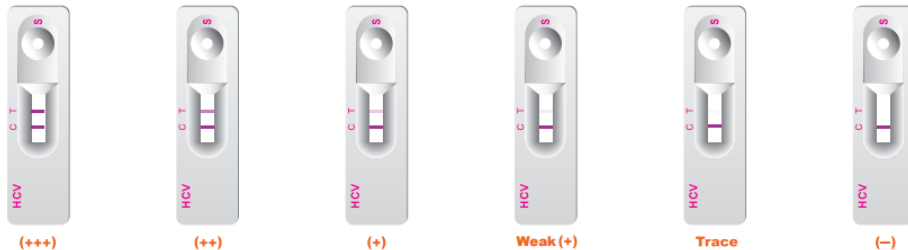
- Negatif : hanya terbentuk satu garis pada daerah kontrol (C).



- Positif : Terbentuk dua garis ungu, satu garis di daerah tes (T) dan satu garis di daerah kontrol (C).



Derajat warna yang terbentuk pada hasil positif



- Invalid : Tidak terbentuk garis pada daerah kontrol (C).



➤ Pemeriksaan HCV Metode ELISA

Prinsip :

Test Microlisa HIV merupakan test berbasis Indirect ELISA. Protein recombinant HCV Core, protein NS3 dan sintesis peptida yang memiliki segmen antigenik, NS4 and NS5 regions dari virus hepatitis C dilekatkan pada sumur mikrotiter. Sampel dan kontrol ditambahkan ke dalam sumur dan di inkubasi. Apabila pada sampel terdapat antibodi HCV maka akan berikatan dengan antigen spesifik yang telah dilekatkan pada permukaan sumur. Plate kemudian dicuci untuk menghilangkan komponen yang tidak berikatan. Horseradish peroxidase (HRP) konjugat dan antihuman IgG ditambahkan ke dalam setiap well. Konjugat akan berikatan dengan kompleks HCV antigen-antibodi yang terbentuk. Selanjutnya larutan substrat yang mengandung kromogen dan hidrogen peroksida ditambahkan pada setiap sumur dan diinkubasi. Warna biru yang terbentuk sebanding dengan jumlah antibodi HCV yang terdapat pada sampel. Kemudian perubahan warna yang terbentuk dihentikan oleh stop solution. Warna yang terbentuk dibaca pada ELISA reader dengan panjang gelombang 450nm / 630 nm. Apabila sampel tidak mengandung antibodi HCV, maka tidak akan terbentuk warna biru pada sumur.

Alat dan bahan :

- Reagen ELISA untuk deteksi antibodi HCV

- b. Mikropipet
- c. Timer Elisa
- d. reader Elisa
- e. Washer ELISA
- f. Inkubator 37°C
- g. Vortex
- h. Sarung tangan
- i. Tisu atau kertas saring
- j. Sampel (serum atau plasma)

Cara Kerja :

- 1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Simpan pada suhu kamar sebelum digunakan.
- 2) Beri label setiap well. Label diberikan pada satu sumur (A1) sebagai blanko dan dua sumur (B1 & C1) sebagai negatif kontrol dan tiga sumur (D1, E1 & F1) sebagai positif kontrol
- 3) Tambahkan 100µl positif dan negatif kontrol (langsung digunakan) sesuai label pada sumur.
- 4) Tambahkan 100 µl larutan pengencer pada setiap sumur untuk sampel
- 5) Tambahkan 10µl sampel pada sumur yang ada larutan pengencer tadi dan homogenkan
- 6) Tutup mikroplate dan inkubasi pada suhu kamar (25-30°C) selama 30 menit
- 7) Cuci mikroplate sebanyak 5 kali dengan penambahan 300µl setiap sumur dengan larutan buffer pencuci. Hati-hati jangan sampai kontaminasi
- 8) Tambahkan 100µl larutan HRP konjugat pada setiap sumur.
- 9) Tutup mikroplate dan inkubasi pada suhu kamar (25-30°C) selama 30 menit
- 10) Cuci mikroplate sebanyak 5 kali dengan penambahan 300µl setiap sumur dengan larutan buffer pencuci. Hati-hati jangan sampai kontaminasi.
- 11) Tambahkan 100µl larutan TMB substrat pada setiap sumur.
- 12) Tutup mikroplate dan inkubasi pada suhu kamar (25-30°C) selama 30 menit (keadaan gelap)

- 13) Hentikan reaksi dengan penambahan 100ul of the stop solution pada setiap sumur.
- 14) Baca absorban pada panjang gelombang 450nm/630nm dalam waktu 30 menit pada ELISA READER Dipipet 100 µl sample diluent dan masukkan ke sumur A-1 well sebagai blank.

Tes validitas :

- 4) Nilai absorban Blanko harus lebih kecil dari 0,150
- 5) Nilai absorban Negatif kontrol harus < 0,250
- 6) Nilai absorban Positif kontrol harus > 0,60

Interpretasi Hasil

- 1) Spesimen dengan absorbansi kurang dari (<) nilai cut-off dinyatakan negatif.
- 2) Spesimen dengan nilai absorbansi lebih besar atau sama dengan (≥) nilai cut-off dinyatakan positif.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Struktur dan morfologi virus hepatitis C
2. Cara penularan virus hepatitis C
3. Gejala Klinis hepatitis C
4. Metode pemeriksaan hepatitis C

Ringkasan

1. Hepatitis C adalah jenis yang paling berbahaya dari semua jenis virus hepatitis, karena infeksi ini biasanya tidak menimbulkan gejala sampai di tahapan akhir infeksi kronis. Virus hepatitis c merupakan penyebab dominan kasus infeksi akibat virus hepatitis NON A dan NON B (NANBH) yang bergenom RNA untai tunggal dan dikategorikan ke dalam kelompok flaviviridae.
2. Pada umumnya cara penularan HCV secara parental yang dihubungkan dengan transfusi darah atau produk darah, melalui jarum suntik.

3. Manifestasi klinis hepatitis virus C dikenal mulai dari hepatitis akut, fulminan, kronis, yang dapat berkembang menjadi sirosis atau kanker hati.
4. Penegakan diagnosis pada hepatitis virus C berdasarkan uji serologi untuk memeriksa antibodi dan Uji HCV RNA

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Struktur genom virus hepatitis C memiliki sekitar 9600 nukleotida menyusun sebuah region yang akan mengkode sejumlah protein fungsional yang berperan dalam membentuk struktur virus serta berperan dalam patogenesis infeksi disebut.....
 - A. Open reading Frame (ORF)
 - B. Unique Terminal Repeat (UTR)
 - C. Gen
 - D. Nukleotida
 - E. Kromosom
- 2) Target sel yang akan dijadikan sel inang virus hepatitis C jika masuk kedalam darah adalah.....
 - A. Eritrosit dan trombosit
 - B. Sel hati (hepatosit) dan sel limfosit B
 - C. Sel netrofil segmen
 - D. Sel Basofil
 - E. Sel eosinofil
- 3) Pada kasus hepatitis C fulminan, terdapat manifestasi klinik HCV ekstrahepatik, kecuali.....
 - A. Mixed Cryoglobulinaemic vasculitis
 - B. Melena dan ptechiaie
 - C. Membranoproliferative glomerulonephritis
 - D. Poliarteritis Nodosa
 - E. Papular Acrodermatitis (Gianotti syndrome)
- 4) Uji serologi yang paling sensitif dan spesifik untuk deteksi antibodi HCV adalah metode...
 - A. ELISA
 - B. Partikel aglutinasi
 - C. NAT

- D. PCR
- E. Rapid test

5) Berikut ini adalah uji yang digunakan untuk mengkonfirmasi hasil *uji enzyme immunoassay* yang positif dan direkomendasikan pada populasi low-risk seperti pada bank darah adalah

- A. Uji CHLIA
- B. Rapid Test
- C. NAT
- D. *Uji immunoblot rekombinan (recombinant immunoblot assay, RIBA)*
- E. RT-PCR

Topik 4

Sifilis

A. STRUKTUR DAN MORFOLOGI

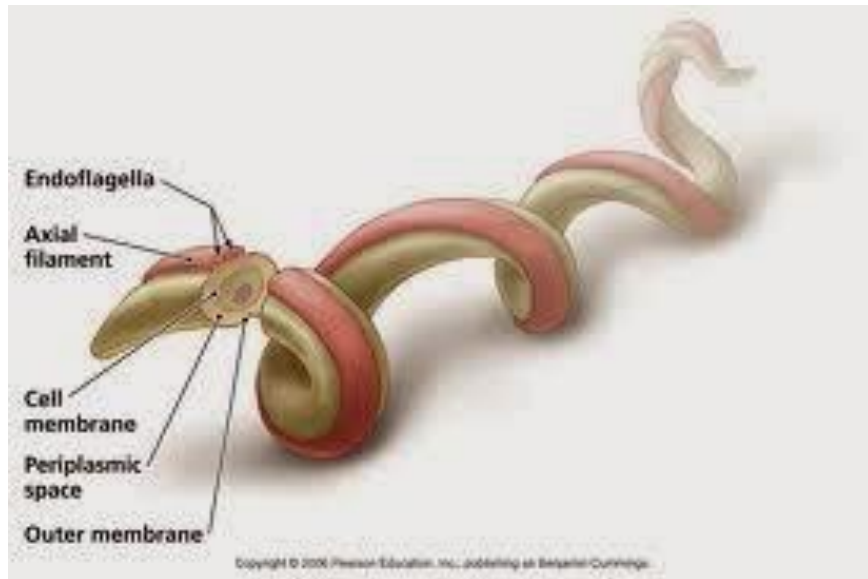
Sifilis merupakan penyakit kronis dan bersifat sistemik yang disebabkan oleh *treponema pallidum*. Angka kejadian sifilis mencapai 90% dinegara-negara berkembang. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sebesar 12 juta kasus baru terjadi di afrika, Asia Selatan, Asia Tenggara, Amerika Latin dan Caribbean. Angka kejadian Sifilis di Indonesia berdasarkan laporan Survey Terpadu dan Biologis Perilaku (STBP) tahun 2011 Kementrian Kesehatan RI terjadi peningkatan angka kejadian Sifilis di tahun 2011 dibandingkan tahun 2007.

Treponema pallidum merupakan spesies *treponema* dari famili *Spirochaeta*, ordo *Spirochaetales*, taksonomi dapat dilihat pada tabel 21.

Tabel 20. Taksonomi *Treponema pallidum*

TINGKATAN	NAMA
Kingdom	Bacteria
Phylum	Spirochaetes
Ordo	Spirochaetales
Family	Spirochaetaceae
Genus	Treponema
Species	T. Pallidum
Subspecies	Pallidum

Treponema pallidum berbentuk spiral, gram negatif dengan panjang kisaran 11 μm dengan diameter antara 0,09 – 0,18 μm . terdapat dua lapisan, sitoplasma merupakan lapisan dalam mengandung mesosom, vakuol ribosom dan bahan nukleoid, lapisan luar yaitu bahan mukoid.



Gambar 5.20 Struktur *Treponema pallidum*

B. CARA PENULARAN

Treponema pallidum masuk melalui selaput lendir yang utuh, atau kulit yang mengalami abrasi, menuju kelenjar limfe, kemudian masuk ke dalam pembuluh darah, dan diedarkan ke seluruh tubuh. Biasanya dapat ditularkan melalui hubungan seksual (membran mukosa atau uretra), kontak langsung dengan lesi atau luka yang terinfeksi, transfusi darah dan juga dari ibu yang menderita sifilis ke janin yang dikandung melalui plasenta pada stadium akhir kehamilan.

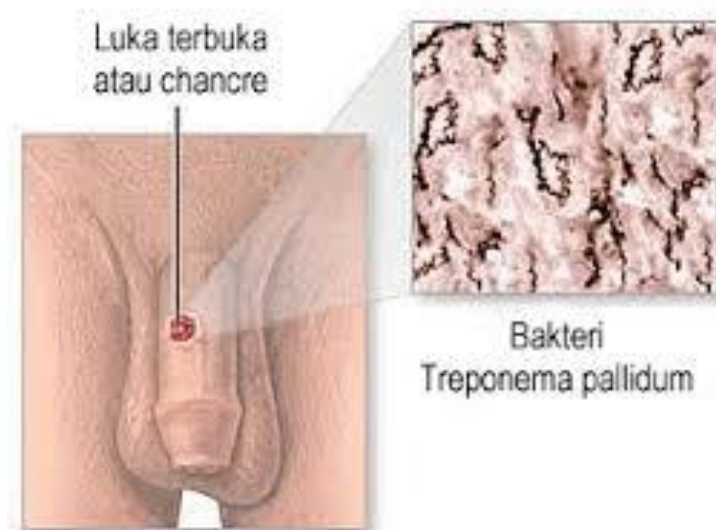
Setelah beredar beberapa jam, infeksi menjadi sistemik walaupun tanda-tanda klinis dan serologis belum jelas. Sekitar satu minggu setelah terinfeksi *Treponema pallidum*, ditempat masuknya akan timbul lesi primer berupa ulkus. Ulkus akan muncul selama satu hingga lima minggu dan kemudian menghilang. Uji serologis masih akan negatif ketika ulkus pertama kali muncul dan baru akan reaktif setelah satu sampai empat minggu berikutnya. Enam minggu kemudian, timbul erupsi seluruh tubuh pada sebagian kasus sifilis sekunder dan ruam ini akan hilang kisaran dua sampai enam minggu, karena terjadi penyembuhan spontan. Perjalanan penyakit menuju ke tingkat laten, dimana tidak ditemukan tanda-tanda klinis, kecuali hasil pemeriksaan serologis yang reaktif. Masa laten dapat berlangsung bertahun-tahun atau seumur hidup.

C. GEJALA KLINIS

Stadium sifilis dalam perjalanannya dibagi menjadi tiga stadium yaitu sifilis stadium primer, sekunder dan tersier yang terpisah oleh fase laten dimana waktu bervariasi, tanpa tanda klinis infeksi. Interval antara stadium primer dan sekunder berkisar dari beberapa minggu sampai beberapa bulan. Interval antara stadium sekunder dan tersier biasanya lebih dari satu tahun.

➤ Sifilis Primer

Lesi awal sifilis berupa papul yang muncul di daerah genitalia kisaran tiga minggu setelah kontak seksual. Papul membesar dengan ukuran 0,5 – 1,5 cm kemudian mengalami ulserasi, membentuk ulkus. Ulkus sifilis yang khas berupa bulat, diameter 1-2 cm, tidak nyeri, dasar ulkus bersih tidak ada eksudat, teraba indurasi, soliter tetapi dapat juga multipel. Hampir sebagian besar disertai pembesaran kelenjar getah bening inguinal medial unilateral atau bilateral. Gambaran *chancre* sifilis primer dapat dilihat pada gambar 5.13.



Gambar 5.21 *chancre* sifilis primer pada penis

Chancre sifilis primer sering terjadi pada genitalia, perineal, atau anus dikarenakan penularan paling sering melalui hubungan seksual, tetapi bagian tubuh yang lain dapat juga terkena. Ulkus jarang terlihat pada genitalia eksterna wanita, karena lesi sering pada vagina atau serviks. Dengan menggunakan spekulum, akan terlihat lesi di serviks berupa erosi atau ulserasi yang dalam. Tanpa pengobatan lesi primer akan sembuh spontan dalam waktu 3 sampai 6 pekan. Diagnosis banding sifilis primer yaitu ulkus mole yang disebabkan *Haemophilus ducreyi*, limfogranuloma venereum, trauma pada penis, fixed drug eruption, herpes genitalis.

➤ Sifilis Sekunder

Manifestasi akan timbul pada beberapa minggu atau bulan, muncul gejala sistemik berupa demam yang tidak terlalu tinggi, malaise, sakit kepala, adenopati, dan lesi kulit atau mukosa. Lesi sekunder yang terjadi merupakan manifestasi penyebaran *Treponema pallidum* secara hematogen dan limfogen. Manifestasi klinis sifilis sekunder dapat berupa berbagai ruam pada kulit, selaput lendir, dan organ tubuh. Lesi kulit biasanya simetris, dapat berupa makula, papula, folikulitis, papuloskuamosa, dan pustul, jarang disertai keluhan gatal. Lesi dapat ditemukan di trunkus dan ekstermitas, termasuk telapak tangan dan kaki. Papul biasanya merah atau coklat kemerahan, diskret, diameter 0,5 – 2 cm, umumnya berskuama tetapi kadang licin. Lesi vesikobulosa dapat ditemukan pada sifilis kongenital.

Kondiloma lata merupakan istilah untuk lesi meninggi (papul), luas, putih atau abu-abu di daerah yang hangat dan lembab. Lesi sifilis sekunder dapat muncul pada waktu lesi sifilis primer masih ada. Diagnosis sifilis sekunder ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan serologis yang reaktif dan pemeriksaan lapangan gelap positif. *Treponema pallidum* banyak ditemukan pada lesi selaput lendir atau basah seperti kondiloma lata.

Ruam kulit pada sifilis sekunder sukar dibedakan dengan pitiriasis rosea, psoriasis, terutama jika berskuama, eritema multiforme dan erupsi obat. Diagnosis sifilis sekunder cukup sulit. Pada umumnya diagnosis ditegakkan berdasarkan kelainan khas lesi kulit sifilis sekunder ditunjang dengan pemeriksaan serologis.

➤ Sifilis Laten

Sifilis laten yaitu apabila pasien dengan riwayat sifilis dan pemeriksaan serologis reaktif yang belum mendapat terapi sifilis dan tanpa gejala atau tanda klinis. Sifilis laten terbagi menjadi dini dan lanjut, dengan batasan waktu kisaran satu tahun. Dalam perjalanan penyakit sifilis akan melalui tingkat laten, selama bertahun-tahun atau seumur hidup. Tetapi

bukan berarti penyakit akan berhenti pada tingkat ini, sebab dapat berjalan menjadi sifilis tersier.

➤ Sifilis Tersier

Sifilis tersier terdiri dari tiga grup sindrom yang utama yaitu neurosifilis, sifilis kardiovaskular, dan sifilis benigna lanjut. Pada perjalanan penyakit neurosifilis dapat asimtomatik dan sangat jarang terjadi dalam bentuk murni. Pada semua jenis neurosifilis, terjadi perubahan berupa endarteritis obliterans pada ujung pembuluh darah disertai degenerasi parenkimatosus yang mungkin sudah atau belum menunjukkan gejala saat pemeriksaan.

Sifilis kardiovaskular disebabkan terutama karena nekrosis aorta yang berlanjut ke katup. Tanda-tanda sifilis kardiovaskuler adalah insufisiensi aorta atau aneurisma, berbentuk kantong pada aorta torakal. Bila komplikasi ini telah lanjut, akan sangat mudah dikenal.

Sifilis benigna lanjut atau gumma merupakan proses inflamasi proliferasi granulomatosa yang dapat menyebabkan destruksi pada jaringan yang terkena. Disebut benigna sebab jarang menyebabkan kematian kecuali bila menyerang jaringan otak. Gumma mungkin terjadi akibat reaksi hipersensitivitas infeksi *Treponema pallidum*. Lesi sebagian besar terjadi di kulit dan tulang. Lesi pada kulit biasanya soliter atau multipel, membentuk lingkaran atau setengah lingkaran, destruktif dan bersifat kronis, penyembuhan di bagian sentral dan meluas ke perifer. Lesi pada tulang biasanya berupa periostitis disertai pembentukan tulang atau osteitis gummatosa disertai kerusakan tulang. Gejala khas ialah pembengkakan dan sakit. Lokasi terutama pada tulang kepala, tibia, dan klavikula. Pemeriksaan serologis biasanya reaktif dengan titer yang tinggi.

➤ **Sifilis Kongenital**

Penyakit yang ditularkan kepada janin dalam uterus dari ibu yang positif menderita sifilis. Infeksi sifilis terhadap janin dapat terjadi pada setiap stadium sifilis dan setiap masa kehamilan. Dahulu beberapa pendapat menyatakan infeksi tidak dapat terjadi sebelum janin berusia 18 minggu, karena lapisan Langhans yang merupakan pertahanan janin terhadap infeksi sebelum atrofi. Tetapi kenyataannya dengan pengamatan menggunakan mikroskop elektron dapat ditemukan *Treponema pallidum* pada janin berusia 9-10 minggu.

D. METODE PEMERIKSAAN

Terdapat dua jenis uji serologi untuk diagnosis *Treponema pallidum*, yaitu :

6) Uji non-treponemal, merupakan uji yang paling sering dilakukan adalah sebagai berikut

- Uji *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL)
- Uji *Rapid Plasma Reagin*.

Kedua pemeriksaan ini digunakan untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen yang terdiri dari kardioplin, kolesterol dan lesitin yang sudah terstandarisasi.

7) Uji treponemal, terdiri dari :

- *Treponema pallidum Haem Agglutination* (TPHA)
- *Treponema pallidum Particle Agglutination* (TP-PA)

- *Flouresencent Treponemal Antibody Absorption* (FTA-ABS)
- *Micro Hemagglutination Assay for antibodies to Treponema pallidum* (MHA-TP)
- *Treponemal Enzyme Immuno Assay* (EIA) untuk deteksi imunoglobulin G (IgG), imunoglobulin G dan M (IgG dan IgM) atau imunoglobulin M (IgM)

Pemeriksaan ini mendeteksi antibodi terhadap antigen treponemal dan memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji nontreponemal terutama sifilis lanjut.

➤ **Pemeriksaan VDRL / RPR**

Pemeriksaan Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) / Serum atau Cerebrospinal Fluid (RPR) merupakan satu-satunya pemeriksaan laboratorium untuk neunurosipilis yang disetujui oleh Centers for Disease Control. Pemeriksaan VDRL serum bisa memberikan hasil negatif palsu pada tahap late sipilis dan kurang sensitif dari RPR. Pemeriksaan VDRL merupakan pemeriksaan penyaring atau Skrining Test, dimana apabila VDRL positif maka akan dilanjutkan dengan pemeriksaan TPHA (Troponema Phalidum Heamaglutinasi). Hasil uji serologi tergantung pada stadium penyakit misalnya pada infeksi primer hasil pemeriksaan serologi biasanya menunjukkan hasil non reaktif. Troponema palidum dapan ditemukan pada chancre. Hasil serologi akan menunjukan positif 1-4 minggu setelah timbulnya chancre. Dan pada infeksi sekunder hasil serologi akan selalu pisitif dengan titer yang terus meningkat. Pasien yang terinfeksi bakteri treponema akan membentuk antibody yang terjadi sebagai reaksi bahan-bahan yang dilepaskan karena kerusakan sel-sel. Andibody tersebut disebut reagin.

- Tujuan : Untuk mendeteksi adanya antibody nontreponema atau Reagin.
- Metode Pemeriksaan : Slide
- Prinsip Pemeriksaan : Adanya antibody pada serum pasien akan bereaksi dengan antigen yang terdiri dari kardioplin, kolesterol dan lesitin yang sudah terstandarisasi membentuk flokulasi (gumpalan) atau aglutinasi.
- Spesimen Pemeriksaan : Serum atau cairanotak
- Alat dan Bahan Pemeriksaan
 - Slide pemeriksaan berlatar belakan putih
 - Mikroskop
 - Mikropipet
 - Tip kuning
 - Rotator
 - Timer
 - Batang pengaduk

f. Cara Kerja

a) **Kualitatif**

- Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- Ke dalam lingkaran slide dipipet 50 ul serum.
- Tambahkan 50 ul atau 1 tetes antigen (reagen VDRL).
- Homogenkan dengan batang pengaduk.
- Putar pada rotator kecepatan 100 rpm selama 4-8 menit.
- Amati ada tidaknya flokulasi.

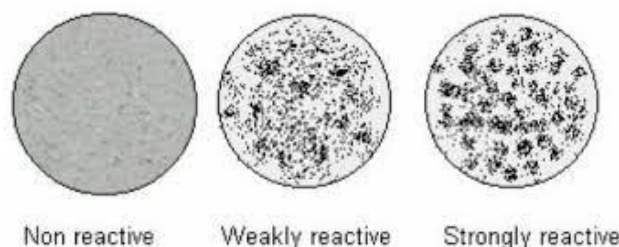
b) **Kuantitatif**

- Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- Lakukan pengenceran berseri pada slide dengan cara 50 ul serum + 50 ul saline dihomogenkan kemudian dari campuran tersebut dipipet 50 ul dan diletakkan pada lingkaran ke dua pada slide yang sama kemudian tambahkan 50 ul saline dan homogenkan kembali lalu lakukan hal yang sama seperti pada lingkaran pertama sampai lingkaran terakhir dimana pada pengenceran terakhir hasil pengenceran dibuang sebanyak 50 ul. Maka hasil pengenceran adalah 1/2 , 1/4 , 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128.
- Kepada masing-masing pengenceran tambahkan 1 tetes (50 ul) antigen VDRL (reagen).
- Kemudian dihomogenkan dan diputar dengan rotator kecepatan 100 rpm selama 5-8 menit.
- Amati ada tidaknya flokulasi setiap pengenceran dan tentukan titer pemeriksaannya (yaitu pengenceran terakhir yang masih menunjukkan flokulasi)

g. Interpretasi Hasil

c) **Kualitatif**

Hasil pengamatan cukup menyebutkan non-reaktif, reaktif lemah atau reaktif



Gambar 5.22. Interpretasi hasil Pemeriksaan VDRL

Keterangan :

REAKTIF : Bila tampak gumpalan sedang atau besar

REAKTIF LEMAH: Bila tampak gumpalan kecil-kecil

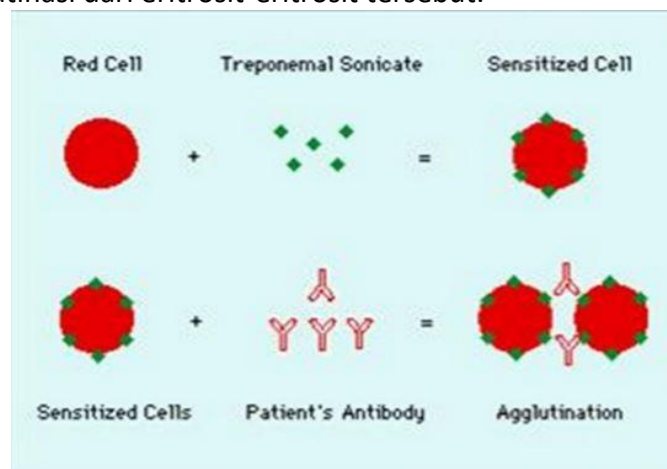
NON REAKTIF : Bila tidak tampak flokulasi/gumpalan

d) **Kuantitatif**

Tentukan titernya (amati pengenceran terakhir yang masih menunjukkan flokulasi), misalnya 1/64.

➤ **Pemeriksaan TPHA**

- 1) Tujuan : Untuk mendeteksi adanya antibody terhadap *Treponema palidum* dalam serum dan plasma pasien secara kualitatif dan semi-kuantitatif
- 2) Metode Pemeriksaan : Hemaaglutinasi tidak langsung (indirek hemaaglutinasi)
- 3) Prinsip Pemeriksaan : adanya antibodi *Treponema palidum* akan bereaksi dengan antigen treponemal yang menempel pada eritrosit ayam kalkun/ domba sehingga terbentuk aglutinasi dari eritrosit-eritrosit tersebut.



Gambar 5.23.Prinsip Uji TPHA

- 4) Spesimen Pemeriksaan : Serum
- 5) Alat dan Bahan Pemeriksaan
 - 1) Mikroplate tipe U
 - 2) Mikropipet (25µL , 75µl dan 100µL)
 - 3) Automati vibrator

- 4) Reagen kit TPHA (R1 : Test sel - R2 : Control sel - R3 : Diluent - R4 : Control positif - R5 : Control negatif)

6) Cara Kerja

e) **Kualitatif**

- a) Alat dan bahan disiapkan
 - b) Setiap komponen kit dan sampel dikondisikan pada suhu kamar.
 - c) Semua reagen dihomogenkan perlahan.
 - d) Diluents ditambahkan sebanyak 190 µl dan sampel ditambahkan sebanyak 10µl pada sumur 1 lalu dihomogenkan
 - e) Campuran pada sumur 1 dipipet sebanyak 25 µl dan ditambahkan pada sumur 2 dan 3
 - f) Control sel sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur 2 lalu dihomogenkan.
 - g) Test sel sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur 3 lalu dihomogenkan
 - h) Sumur diinkubasi pada suhu ruang selama 45 – 60 menit.
 - i) Aglutinasi yang terjadi diamati.
 - j) Sampel yang menunjukkan hasil aglutinasi positif dilanjutkan ke uji semi kuantitatif.
- Catatan : control positif dan negatif selalu disertakan dalam setiap uji tanpa perlu diencerkan.

f) **Kuantitatif**

- o Alat dan bahan disiapkan.
- o Setiap komponen kit dan sampel dikondisikan pada suhu kamar.
- o Semua reagen dihomogenkan perlahan.
- o Sumur mikrotitrasi disiapkan dan diberi label no. 1 sampai 8.
- o Pengenceran sampel dibuat pada sumur yang berbeda dengan sumur mikrotitrasi dengan mencampur 190 µl diluents dan 10 µl sampel
- o Sumur mikrotitrasi no. 1 dikosongkan
- o Sumur mikrotitrasi no. 2 – 8 ditambahkan 25µl diluent
- o Pada sumur mikrotitrasi no. 1 dan 2 ditambahkan 25 µl sampel yang telah diencerkan.

- Campuran pada sumur 2 dipipet 25 µl dan ditambahkan pada sumur 3, lalu dihomogenkan. Begitu seterusnya sampai sumur 8.
- Campuran pada sumur 8 dipipet 25 µl dan dibuang
- Control sel sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur mikrotitrasi no. 1 lalu dihomogenkan.
- Tes sel sebanyak 75 µl ditambahkan pada sumur mikrotitrasi no. 2-8 lalu dihomogenkan.
- Sumur diinkubasi pada suhu ruang selama 45 – 60 menit.
- Aglutinasi yang terjadi dibaca, dan ditentukan titernya

7) Interpretasi Hasil

g) Kualitatif

Hemaglutinasi positif ditandai dengan adanya bulatan berwarna merah dipermukaan sumur, hasil negatif terlihat seperti titik berwarna merah di tengah dasar sumur.

Derajat hemaglutinasi :

- +4 : bulatan merah merata pada seluruh permukaan sumur
- +3 : bulatan merah terdapat di sebagian besar permukaan sumur
- +2 : bulatan merah yang terbentuk tidak besar dan tampak seperti cincin
- +1 : bulatan merah kecil dan tampak cincin terang
- +/- : tampak cincin dengan warna bulatan merah yang samar
- : Tampak titik berwarna merah didasar sumur



Gambar 5.24 Derajat Hemaglutinasi pemeriksaan TPHA

h) **Kuantitatif**

Titer : pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan aglutinasi

Sumur	1	2	3	4	5	6	7	8
Titer	Control cell	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Struktur dan morfologi *Treponema pallidum*
2. Cara penularan Sifilis
3. Gejala klinis Sifilis
4. Metode pemeriksaan diagnosis Sifilis.

Ringkasan

1. Sifilis merupakan penyakit kronis dan bersifat sistemik yang disebabkan oleh *treponema palidum*.
2. *Treponema palidum* masuk melalui selaput lendir yang utuh, atau kulit yang mengalami abrasi, menuju kelenjar limfe, kemudian masuk ke dalam pembuluh darah, dan diedarkan ke seluruh tubuh. Biasanya dapat ditularkan melalui hubungan seksual (membran mukosa atau uretra), kontak langsung dengan lesi atau luka yang terinfeksi, transfusi darah dan juga dari ibu yang menderita sifilis ke janin yang dikandung melalui plasenta pada stadium akhir kehamilan.
3. Stadium sifilis dalam perjalanannya dibagi menjadi tiga stadium yaitu sifilis stadium primer, sekunder dan tersier serta sifilis kongenital.
4. Dua jenis uji serologi untuk diagnosis *treponema pallidum*, yaitu :uji non-treponemal dan uji treponemal.

Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Bakter gram negatif penyebab sifilis adalah.....
 - A. *Basillus sp*
 - B. *Staphylococcus sp.*
 - C. *Salmonella sp*
 - D. *Treponema pallidum*
 - E. *Sigella sp*
2. Penularan Sifilis dapat melalui beberapa jalur, kecuali.....
 - A. Hubungan seksual
 - B. Kontak langsung dengan lesi /luka
 - C. Transfusi darah
 - D. Kongenital dari ibu ke janin
 - E. Melalui udara
3. Berikut ini gejala klinis berupa tiga grup sindrom yang utama yaitu neurosifilis, sifilis kardiovaskular, dan sifilis benigna lanjut adalah termasuk stadium
 - A. Sifilis stadium primer
 - B. Sifilis stadium sekunder
 - C. Sifilis stadium tersier
 - D. Sifilis stadium laten
 - E. Sifilis kongenital
4. Yang bukan termasuk uji treponemal untuk diagnosis antibodi treponemal adalah
 - A. Uji *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL)
 - B. Uji *Treponema pallidum Haem Agglutination* (TPHA)
 - C. Uji *Treponema pallidum Particle Agglutination* (TP-PA)
 - D. Uji *Flourescent Treponemal Antibody Absorption* (FTA-ABS)
 - E. Uji *Micro Hemagglutination Assay for antibodies to Treponema pallidum* (MHA-TP)
5. Pemeriksaan untuk mendeteksi antobodi terhadap antigen yang terdiri dari kardioplin, kolesterol dan lesitin yang sudah terstandarisasi untuk skrining sifilis dalah.....
 - A. Uji *Treponema pallidum Haem Agglutination* (TPHA)

- B. Uji *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) / Uji RPR
- C. Uji *Treponema pallidum Particle Agglutination* (TP-PA)
- D. Uji *Flouresencent Treponemal Antibody Absorption* (FTA-ABS)
- E. Uji *Micro Hemagglutination Assay for antibodies to Treponema pallidum* (MHA-TP)

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. A
2. E
3. C
4. D
5. A

Test Formatif 2

1. E
2. A
3. C
4. D
5. C

Test Formatif 3

1. A
2. B
3. B
4. A
5. D

Test Formatif 4

1. D
2. E
3. C
4. A
5. B

Glosarium

Open Reading Frame (ORF) : bagian dari susunan DNA yang siap ditranslasikan tanpa kodon stop, sehingga protein yang dihasilkan dalam jumlah besar (overexpression).

Nucleid Acid Test (NAT) : teknik molekuler yang digunakan untuk menyaring darah donor dengan tujuan mengurangi infeksi yang ditularkan lewat transfusi darah pada pasien.

Colodial gold conjugate : merupakan molekul yang tersusun dari beberapa partikel koloid emas yang bermuatan negatif dan memiliki afinitas kuat untuk beberapa protein yang cenderung bermuatan positif, pH netral atau fisiologis.

Daftar Pustaka

- AABB. 2008. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB
- BPPSDM-Kes. 2010. Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit. Jakarta: PPSDM Kemenkes RI
- Clarke, B.1997. Molecular virology of Hepatitis C Virus. Jurnal of Molecular Virology. 48: 2396-2410.
- Cortez Diagnostics, Inc. 2013. OneStep HBsAg RapiCard [™] InstaTest (Serum, Plasma, Whole Blood).
- Dienstag JL, Isselbacher KJ.2004. Acute Viral Hepatitis. In Harrison's Principles of Internal Medicine 16thEdition. Editors: Kasper DL, Braunwald E, Anthpny F, Hauser S, Longo D, Jameson JL. McGraw-Hill Professional. London
- Don Ganem and Alfred M. 2004. Hepatitis B virus infection-Natural History and Clinical Consequences. N England J Med; 350:1118-1129.
- Faizal. 2011. Perbandingan Prevalensi Hbsag Positif Pada Penderita Yang Memeriksa Diri Di Rumah Sakit Islam Gondang Legi Malang Dengan Metode Elisa. Malang; Akademi Analis Kesehatan Malang
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, ed 12, St Louis,Mosby
- Ghany MG, Liang TJ. Acute Viral Hepatitis. In: Yamada's Textbook of Gastroenterology 4thEdition. Editors: Yamada T, Alpers DH, Laine L, Kaplowitz N, Owyang C, Powell DW.Lippincott Williams & Wilkins Publisher. United State; 2003.
- HCV ELISA TEST For Professional Use An ELISA Test for the detection of antibodies to HCV in IVD Human serum or plasma HCV Antigens for CORE, NS3, NS4 and NS5.[tanggal akses 23 Februari 2018 melalui <http://bhatbiotech.com/wp-content/uploads/2015/01/HCV-ELISA.pdf>]

- J. Mitra & Co. Pvt. Ltd. 2006. Microwell ELISA Test for the Detection of Antibodies to HIV-1 (Including Group O & Subtype C) and HIV-2 in Human Serum/ Plasma. [tanggal akses 23 Februari 2018 melalui www.jmitra.co.in]
- Moradpour, D., Penin, F., Rice, C.M. Replication of Hepatitis C Virus. *Nature Reviews Microbiology*, 2007.5: 453-463
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah.
- Simadibrata, S. Setiati. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Penerbit Interna Publishing: 653-57
- Soemohardjo S, Gunawan S (2009). Hepatitis B Kronik. Dalam: A.W. Sudoyo, B. Setiyohadi, I. Alwi, M.
- Soni H . 2014. Chemiluminescent assay Basic principles , Instrumentation and clinical utility.
- Suryani DPA, Sibero HT. 2014. SYPHILIS (review artikel). *J MAJORITY* 3: 7
- Sulaiman A. 2007. Hepatitis C. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Edisi I. Editor: Sulaiman A, Akbar N, Lesmana LA, Noer S. Pusat Penerbitan Divisi Hepatologi Departemen ilmu penyakit dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta: 211-235
- WHO. 2010. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations.

Bab 6

PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI (PEMERIKSAAN PRE TRANSFUSI)

Ganjar Noviar, S.ST., M.Biomed

Pendahuluan

Saudara mahasiswa apakah Anda atau keluarga Anda pernah mengalami kecelakaan dan memerlukan transfusi darah? Bagaimana proses transfusi darah tersebut? Materi Pemeriksaan Imunohematologi dalam Bab 6 secara khusus akan membahas transfusi darah. Transfusi darah merupakan ilmu tentang golongan darah manusia dalam hubungannya dengan proses pemindahan darah / komponen-komponen darah dari donor kepada resipien. Dalam bab ini akan dibahas tentang pemeriksaan Imunohematologi atau yang lebih dikenal sebagai pemeriksaan pre-transfusi, diantaranya pemeriksaan golongan darah ABO & Rhesus, Crossmatch, Coomb's Test, skrining dan identifikasi antibodi. Tujuan pemeriksaan pre-transfusi adalah memilih darah atau komponen darah yang kompatibel, sehingga dapat menyelamatkan jiwa seseorang dengan tidak merusak darah pasien atau merugikan pasien.¹

Selama pemeriksaan ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemeriksaan pretransfusi, antara lain :

A. Sampel darah pasien.

Apabila pasien memerlukan transfusi darah, maka pasien harus diambil darah sekitar 5-10 mL yang dimasukkan ke dalam tabung kering untuk mendapatkan serum / plasma yang cukup banyak sebagai bahan pemeriksaan pre-transfusi. Selain itu sampel harus diberi pengenal yang jelas, meliputi nama pasien, tanggal lahir pasien dan nomor registrasi/barcode pasien. Kemudian dikirim secepatnya ke laboratorium bersamaan dengan formulir permintaan darah.

Pengambilan sampel darah pasien dengan pemberian label yang benar merupakan hal kritis yang perlu diperhatikan. Apabila terdapat contoh darah pasien yang tidak memiliki identitas yang jelas, maka harus mengambil contoh darah pasien baru untuk mengabsahkan identitas pasien. Selain itu sampel darah pasien tidak boleh hemolisis, karena dapat mengganggu pemeriksaan pre transfusi.

B. Formulir permintaan darah

Formulir permintaan darah harus ditandatangani oleh dokter yang merawat pasien. Formulir permintaan darah berisikan informasi sebagai berikut :

- 1) Tanggal permintaan
- 2) Nama lengkap pasien
- 3) Tanggal lahir atau usia
- 4) Jenis kelamin
- 5) Nomor registrasi rumah sakit
- 6) Ruang rawat / bangsal
- 7) Alamat pasien
- 8) Diagnosis pasien
- 9) Golongan darah apabila sudah diketahui.
- 10) Keberadaan setiap antibodi, apabila telah diketahui
- 11) Riwayat transfusi sebelumnya
- 12) Riwayat reaksi transfusi.
- 13) Jumlah dan jenis darah atau produk darah yang dibutuhkan.
- 14) Tanggal dan waktu dibutuhkan.
- 15) Tanda tangan dokter yang meminta darah.

Catatan : Lakukan konfirmasi identitas sampel darah pasien di bank darah.

C. Penyimpanan sampel darah

Sampel darah pasien dan donor harus ditutp dan disimpan dengan baik pada suhu 2-6°C minimal 7 hari setelah transfusi, tujuannya untuk pemeriksaan ulang apabila ada laporan terjadinya reaksi transfusi.

D. Pendataan

Setiap permintaan darah dan pemeriksaan darah harus ada pendataan yang lengkap, agar dapat dilakukan penelusuran kembali bila dibutuhkan sewaktu-waktu.

E. Pemeriksaan pre transfusi

pemeriksaan pre-transfusi pada sampel darah donor dan pasien yang meliputi pemeriksaan golongan darah ABO & Rhesus, Crossmatch, Coomb's Test, skrining dan identifikasi antibodi

Pada Bab ini mahasiswa akan melakukan praktikum Imunohematologi, untuk itu mahasiswa diwajibkan mematuhi tata tertib Praktikum di laboratorium, sebagai berikut

:Larangan :

- a) Dilarang makan, minum, dan merokok selama praktikum di laboratorium.
- b) Dilarang membuang sampah ke dalam wastafel / meja kerja dan di dalam ruangan laboratorium.
- c) Dilarang membawa telepon genggam / handphone selama praktikum, kecuali memakai cover / plastik disposable.

Kewajiban :

- a) Praktikan harus menggunakan alat pelindung diri (APD) selama praktikum di laboratorium.
- b) Praktikan harus mengisi daftar hadir dan melaporkan hasil pengamatan kepada dosen / asisten pengawas praktikum.
- c) Praktikan harus melaporkan setiap kerusakan alat yang digunakan dan menggantinya dengan spesifikasi yang sesuai.
- d) Bersihkan sisa praktikum pada setiap meja / wastafel tempat Anda bekerja.
- e) Peralatan yang telah selesai dipakai dikembalikan pada dosen pengawas dalam keadaan bersih dan kering.
- f) Setiap kelompok praktikum diwajibkan membawa kain lap bersih / tisu, kertas label, dan spidol permanen.
- g) Untuk persiapan sebelum praktikum dan pengawasan alat setelah praktikum, dosen pengawas akan dibantu oleh kelompok piket yang bertugas secara bergantian setiap minggunya.

Topik 1

Persiapan Alat, Reagensia dan Sampel

A. PERSIAPAN ALAT

Peralatan yang diperlukan untuk pemeriksaan imunohematologi / pretransfusi, diantaranya :

1. Sentrifuse untuk pemisahan darah menggunakan tabung reaksi (*table top centrifuge*).
2. Sentrifuse untuk pemeriksaan golongan darah metode tabung (*serological centrifuge*).
3. Sentrifuse untuk pemeriksaan metode gel tes (*gel test centrifuge*).
4. Inkubator 37°C (*waterbath* atau *dry incubator*)
5. Inkubator 37° untuk pemeriksaan gel tes
6. Lemari es (*refrigerator*)
7. Tabung reaksi ukuran 12 x 7,5 mm
8. Rak tabung reaksi
9. Pipet pasteur plastik
10. *Blood Grouping Plate* (BGP)
11. Coomb gel tes
12. Pipet adjustable ukuran 200 – 1000 µL
13. Pipet adjustable ukuran 5 – 50 µL
14. Tissue
15. Objek glass
16. Mikroskop
17. Tips kuning
18. Tip Biru
19. Label
20. Spidol permanen
21. Kontainer / wadah penampung
22. Sarung tangan
23. Masker
24. Jas laboratorium
25. Gunting

26. Kantung plastik limbah.

B. PERSIAPAN REAGENSIA

Bahan dan Reagen yang diperlukan untuk pemeriksaan imunohematologi / pretransfusi, diantaranya :

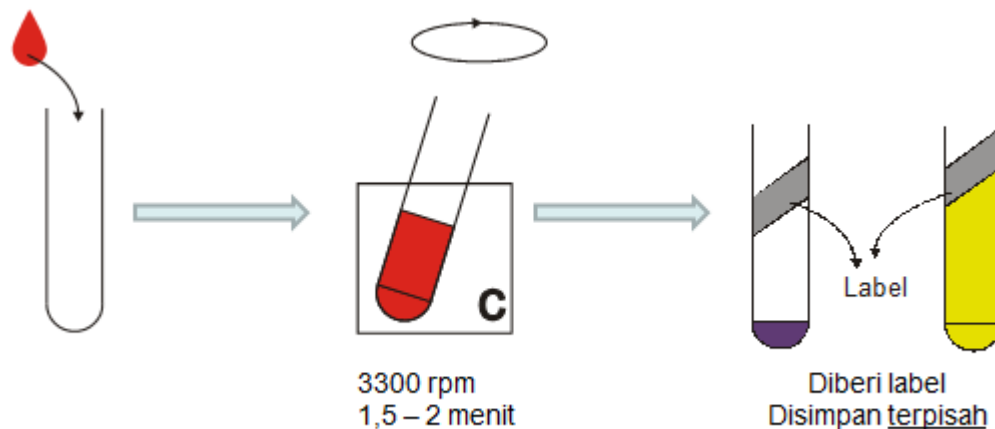
- a. Sampel darah pasien
- b. Sampel darah donor
- c. Anti-A
- d. Anti-B
- e. Anti-D IgM
- f. Anti-D IgG
- g. Bovine albumin 22% dan 6%
- h. Anti Human Globulin / Serum Coombs
- i. Larutan saline (0,9%)
- j. Aquadest
- k. Larutan alseiver
- l. Low Ionic Strenght Saline (LISS) : Larutan garam faali 0,2% dan larutan sukrosa 7%
- m. Desinfektan (hipochlorit 0,5%)
- n. Detergen

C. PERSIAPAN SAMPEL

Preparasi contoh darah harus dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang optimal. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam hal ini, diantaranya :

- 1) Pemisahan serum / plasma dari sel darah
 - 1) Prinsip : Darah sitrat / darah EDTA dengan pemutaran akan terjadi pemisahan antara plasma dan sel-sel darah.
 - 2) Tujuan : Memisahkan plasma dari sel-sel darah
 - 3) Kegunaan :
 - 1) Persiapan pembuatan suspensi darah
 - 2) Persiapan penentuan antigen golongan darah
 - 4) Cara Kerja :

- Siapkan contoh darah dengan antikoagulan EDTA dalam tabung.
- Sentrifugasi darah dalam tabung dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit.
- Siapkan 1 tabung yang bersih untuk menampung plasma.
- Pisahkan plasma sebanyak-banyaknya dari sel darah merah pekat dan masukan ke dalam tabung yang sudah disiapkan.
- Beri identitas pada masing-masing tabung sel darah merah pekat dan plasma



Gambar 6.1 Skema pemisahan serum/plasma dari sel darah merah

2) Pencucian sel darah merah

5) Prinsip : Dengan penambahan larutan saline (NaCl 0,9%) dan pemutaran maka antibodi di sekitar sel darah merah akan hilang..

6) Tujuan :

1. Menghilangkan sisa protein pada sel darah merah
2. Menghilangkan sel-sel darah yang rapuh
3. Menghilangkan auto cold antibody
4. Menghilangkan formasi Rouleaux

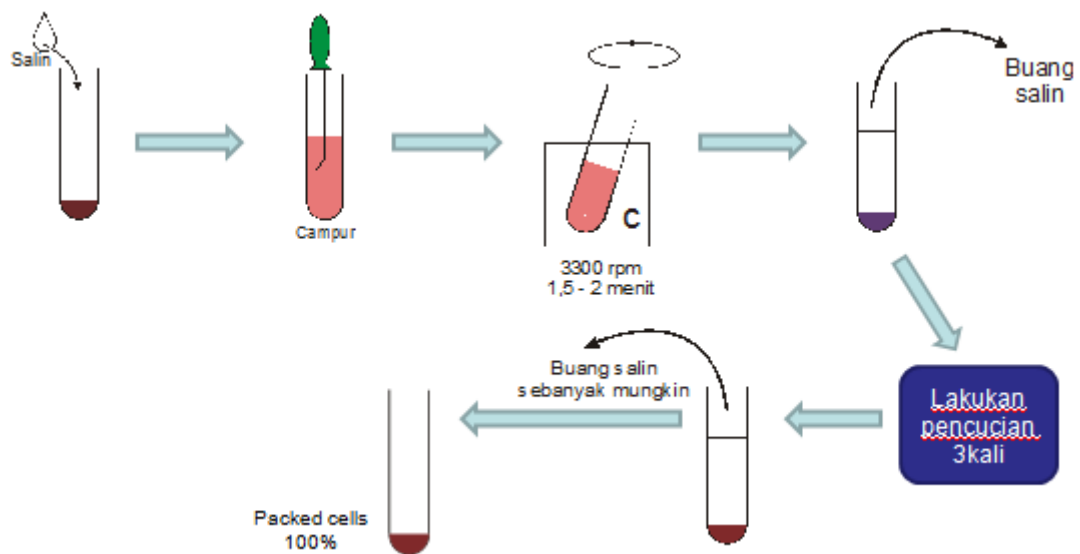
7) Kegunaan :

1. Persiapan pembuatan suspensi darah
2. Persiapan penentuan antigen golongan darah

8) Cara Kerja :

- a) Lakukan pencucian sel darah merah pekat dengan mengambil ± 8 tetes dan masukan kedalam tabung reaksi 12 x 75 mm.
- b) Tambahkan NaCl 0,9% (saline) sebanyak $\pm 4,5$ ml atau sampai $\frac{3}{4}$ tabung kedalam sel darah merah pekat tadi.

- c) Tutup tabung dengan parafilm, kocok dengan perlahan agar larutan menjadi homogen.
- d) Sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit.
- e) Buka penutup parafilm dan buang supernatan dengan menggunakan pipet (pencucian ke 1).
- f) Lakukan pencucian sebanyak 3 kali dengan mengulangi langkah ke **b** hingga ke **e** sesuai kebutuhan.
- g) Sel darah merah yang sudah dicuci merupakan suspensi 100 %.



Gambar 6.2 Skema pencucian sel darah merah

3) Pembuatan suspensi sel darah merah

Sel darah merah yang sudah dicuci kemudian dibuat suspensi yang sesuai kebutuhan, yaitu :

Tabel 21. Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah

% Suspensi	Suspensi SEL DARAH MERAH 100%	Medium (Larutan Saline)	Penggunaan
5% (1/20)	1 bagian	a) bagian	a) Pemeriksaan golongan darah (<i>tube test</i>) b) Pemeriksaan silang serasi (<i>crossmatching</i>)

10% (1/10)	1 bagian	9 bagian	Pemeriksaan golongan darah ABO (slide test/bioplate)
40% (2/5)	1 bagian	3 bagian	Pemeriksaan golongan darah rhesus (slide test/ bioplate)

- 4) Untuk pembuatan Test Sel Golongan darah A,B,O untuk pemeriksaan antibodi pada serum, dilakukan pooling dari darah donor suspensi 100% yang telah diketahui golongan darahnya :
- 1 Test Sel A => Dibuat dari 3 golongan darah A yang di pooling sama banyak (A1, A2, A3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10% .
 - 2 Test Sel B => Dibuat dari 3 golongan darah B yang di pooling sama banyak (B1, B2, B3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10%.
 - 3 Test Sel O => Dibuat dari 3 golongan darah O yang di pooling sama banyak (O1, O2, O3), kemudian dibuat suspensi 5% dan 10%.

Tabel 22. Cek List Perawatan Contoh Darah

Memisahkan serum/plasma dengan sel darah merah

Contoh darah dalam tabung	
↓	
Putar 3000 rpm selama 2 menit	
↓	
Hasil → supernatan dan sedimen sel	
↓	
Siapkan 2 tabung beri label	
↓	
Pisahkan supernatan (plasma/serum) kedalam tabung	
↓	
Serum jernih dan sek darah merah pekat	
↓	
Sel darah merah pekat	

Pencucian sel darah merah pekat dengan saline

Sel darah merah pekat dengan ambil $\pm$ 8 tetes	
↓	
Tambahkan NaCl 0,9% (saline) sebanyak $\pm$ 4,5mL atau sampai $\frac{3}{4}$ tabung	
↓	
Tutup tabung dengan parafilm	
↓	
kocok perlahan agar larutan homogeny (bolak balik tabung)	
↓	
Putar 3000 rpm selama 2 menit	
↓	
Buka penutup → buang supernatan saline (pencucian I)	
↓	
Lakukan pencucian sebanyak 3 kali dengan mengulangi point 2-6	
↓	
Hasil → sel darah merah pekat 100% yang bebas protein/globulin (WPRC)	

5) Pembuatan COOMB'S CONTROL CELLS (CCC)

COOMB'S CONTROL CELLS (CCC) adalah suspensi sel darah merah golongan O Rhesus positif yang sudah disensitasi (dicoated) oleh anti -D IgG (inkomplit).

1. Tujuan :

- Dapat menguji reagen Coomb's Serum, masih valid/ invalid
- Dapat menguji hasil negative dari pemeriksaan uji silang, Direct Coomb's Test dan indirect Comb's Test, hasil negative tersebut valid/invalid.

2. Prinsip : Antigen + antibodi D IgG (inkomplit) → Antigen sensitasi (coated) antibodi D inkomplit

3. Metoda: Tube test

4. Pembuatan Coomb's Control Cells :

- Nyalakan dan atur suhu inkubator pada 37°C.
- Siapkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan disimpan kembali pada suhu 2°C - 8°C setelah digunakan.
- Siapkan contoh darah yang memakai antikoagulan golongan O Rhesus positif.
- Pembuatan suspensi sel 5%, 40% dari darah golongan O Rhesus positif
- Pemeriksaan titer anti-D IgG (inkomplit)
 - Siapkan 10 tabung reaksi masing-masing tabung beri indentitas : $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$, $\frac{1}{64}$, $\frac{1}{128}$, $\frac{1}{256}$, $\frac{1}{512}$, $\frac{1}{1024}$
 - Tabung 1 s/d 10 teteskan saline sebanyak 2 tetes.

- c) Isi tabung no.1 teteskan anti-D IgG sebanyak 2 tetes.
- d) Kocok perlahan dengan menggunakan pipet, ambil 2 tetes campuran masukan kedalam tabung no.2
- e) Lakukan pemindahan enceran berkala sampai tabung no.10, pada tabung no. 10 buang 2 tetes enceran anti-D tsb.
- f) Kocok semua tabung hingga cairan tercampur
- g) Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit semua tabung
- h) Angkat semua tabung, putar 3000rpm selama 15", baca hasil reaksi.
- i) Tabung yang hasilnya negative dicuci sebanyak 3x dengan saline
- j) Pada pencucian terakhir buang supernatant sebanyak banyaknya.
- k) Tambahkan 2 tetes comb's serum (AHG).
- l) Kocok perlahan hingga cairan tercampur
- m) Putar 3000rpm Selama 15", baca hasil reaksi

Tabel 23. Lembar hasil titer anti – D IgG (inkomplit).

Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	½	¼	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
37°C selama 15 menit	neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Hasil (contoh)	4+	4+	3+	3+	2+	+	+	Neg	Neg	Neg

- a) Membuat enceran anti –D IgG yang dipakai adalah dengan hasil kekuatan titer : 2. Yaitu pada titer 32.
- b) Suspensi yang digunakan adalah suspensi 40% agar tidak telalu banyak dalam penetesan.

Tabel 24. Modifikasi Suspensi Sel Darah Merah Untuk Pembuatan CCC

Suspensi sel darah merah (modifikasi)	Enceran anti-D IgG dengan saline
5%	32 → 1 tetes anti-D IgG + 31 saline
10 %	16 → 1 tetes anti-D IgG + 15 saline

40%	f) → 1 tetes anti-D IgG + 7 saline
-----	------------------------------------

- Buatlah suspensi sel O Rh positif (yang sudah dicuci 1 kali) menjadi 40% dalam saline
 - Buat pengenceran anti –D (IgG) dengan titer 1:7 dalam saline.
 - Kedalam enceran anti –D, tambahkan suspensi sel O Rh positif 40% sebanyak 4 tetes.
 - Kocok perlahan hingga tercampur, inkubasi 37°C selama 15 menit (coated/sensitasi).
 - Putar 2 menit 3000rpm kemudian supernatant dibuang.
 - Cuci selnya dengan saline sebanyak 3x .
 - Endapan sel darah merah dibuat suspensi 5% → *Coomb's Control Cells (CCC)* akan diperoleh 32 tetes CCC dengan perhitungan sebagai berikut :
- $$\begin{aligned}
 P_1 \cdot V_1 &= P_2 \cdot V_2 \\
 40\% \cdot 4 \text{ tetes} &= 5\% \cdot V_2 \\
 V_2 &= 32 \text{ tetes}
 \end{aligned}$$
- Jika saline yang tersisa di tabung sekitar 3 tetes, maka saline yang ditambahkan sebanyak 29 tetes.

- VALIDASI REAGEN

Pereaksi atau sering disebut juga reagensia (inggris : reagent) adalah suatu zat yang berperan dalam suatu reaksi kimia atau diterapkan untuk tujuan analisis. Istilah reagen jugadigunakan untuk menunjuk pada zat kimia dengan kemurnian yang cukup untuk sebuah analisis atau percobaan. Sebelum digunakan untuk analisis, suatu reagen harus melalui proses validasi dahulu untuk mengetahui kualitas dari reagen tersebut. Validasi reagen adalah suatu tindakanyang dilakukan untuk menunjukkan tingkat kevalidan atau kesahihan suatu reagen. Validasi reagen merupakan salah satu pemantapan mutu internal. Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh setiap laboratorium secara terus-menerus agar diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat.

Uji validitas reagen adalah suatu langkah pengujian yang dilakukan terhadap isi (content)dari suatu reagen, dengan tujuan untuk mengukur ketepatan reagen yang digunakan dalam suatu pemeriksaan. Untuk mengetahui apakah tes itu valid atau tidak harus dilakukan melalui pengujian dari reagen itu sendiri agar hasil dari pemeriksaan dapat berlangsung dengan baik dan benar. Dengan melakukan uji validitas reagen juga bermanfaat untuk mengetahui kondisi reagen.

Jadi, tujuan validasi reagen adalah untuk menguji validitas suatu reagen sehingga dapat diketahui kualitas dari reagen sebelum digunakan untuk pemeriksaan dan juga untuk menetapkan reagen yang digunakan valid atau invalid sehingga diperoleh hasil pemeriksaan

yang akurat. Oleh karena itu, validitas reagen penting dilakukan sebelum melakukan pemeriksaan menggunakan reagen tersebut.

Dalam praktikum ini, dilakukan uji validitas reagen, khususnya reagen yang digunakan pada pemeriksaan golongan darah untuk tujuan transfusi darah. Uji kualitas reagen harus dilakukan pada:

- a) Setiap kali batch larutan kerja (working solution) dibuat.
- b) Setiap minggu
- c) Bila sudah mendekati masa kadaluarsa
- d) Bila ditemukan/terlihat tanda tanda kerusakan (timbul kekeruhan, perubahan warna, timbul endapan)
- e) Bila terdapat kecurigaan hasil pemeriksaan

Reagen yang akan divalidasi dalam praktikum ini adalah

- 1. antisera A,B dan D
- 2. test sel ABO
- 3. Bovine Albumin 22%
- 4. Comb's Serum
- 5. CCC (Comb's Control Cell)

Sebelum memulai proses validasi, masing-masing reagen harus diperhatikan terlebih dahulu nomor batch dan tanggal kadaluarsanya. Nomor Batch atau bets (lot) adalah penandaan yang terdiri dari angka atau huruf atau gabungan keduanya, yang merupakan tanda pengenal suatu bets, yang memungkinkan penelusuran kembali riwayat lengkap pembuatan bets tersebut, termasuk seluruh tahap produksi, pengawasan dan distribusi. Sedangkan tanggal kadaluarsa merupakan gambaran dari stabilitas reagen dalam penyimpanan. Stabilitas reagen merupakan kemampuan suatu produk reagen untuk bertahan dalam batas yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan. Sifat karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat produk dibuat. Kestabilan reagen dapat dilihat dari beberapa hal dengan suatu perubahan dalam penampilan fisik seperti warnanya. Sedangkan dalam hal lain perubahan kimia dapat terjadi yang tidak bisa dibuktikan sendiri dan hanya bisa dibuktikan melalui analisis kimia. Nomor batch dan tanggal kadaluarsa masing-masing reagen dicatat pada form validasireagen. Bila tanggal kadaluarsa reagen telah lewat, maka validasi tidak dilakukan lagi, karena dapat dipastikan reagen tersebut

stabilitasnya berkurang dan tidak baik untuk pemeriksaan. Pada praktikum ini, semua reagen belum melewati tanggal kadaluarsa sehingga uji validasi reagen dilakukan.

Tabel 25. Cek List Lembar Kerja Pemeriksaan test Validasi Reagensia

A. Anti A

Identitas Antisera	1 tetes sel A 5% ☐	1 tetes sel B 5% ☐	1 tetes sel O 5% ☐
	+	+	+
	2 tetes anti -A ☐	2 tetes anti -A ☐	2 tetes anti -A ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata		
	Putar 3000 rpm 15 detik		
	Baca reaksi		

B. Anti B

Identitas Antisera	1 tetes sel A 5% ☐	1 tetes sel B 5% ☐	1 tetes sel O 5% ☐
	+	+	+
	2 tetes anti -B ☐	2 tetes anti -B ☐	2 tetes anti -B ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐		
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐		
	Baca reaksi ☐		

C. Anti D

Identitas Antisera	1 tetes sel A 5% ☐	1 tetes sel B 5% ☐
	+	+
	2 tetes anti -D ☐	2 tetes anti -D ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca reaksi ☐	

D. Test Sel A Standar

Identitas Antisera	2 tetes anti -A ☐	2 tetes anti- B ☐
	+	+
	1 tetes sel A standart ☐	1 tetes sel A standar 5% ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca reaksi ☐	

E. Test Sel B Standar

Identitas Antisera	2 tetes anti- A ☐	2 tetes anti- B ☐
	+	+
	1 tetes sel B standar 5% ☐	1 tetes sel B standar 5% ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca reaksi ☐	

F. Test Sel O Standar

Identitas Antisera	2 tetes anti- A ☐	2 tetes anti- B ☐
	+	+
	1 tetes sel O standar 5% ☐	1 tetes sel O standar 5% ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca Reaksi ☐	

G. Coomb's Serum (AHG)

Indetitas Antisera	1 tetes CCC ☐	1 tetes sel O ☐
	+ 2 tetes AHG ☐	+ 2 tetes saline ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca reaksi ☐	

H. Bovine Albumin

Indititas antisera	1 tetes Sel A ☐ 5%	1 tetes Sel B ☐ 5%	1 tetes Sel O ☐ 5%
	+ 2 tetes b.Alb ☐ 22%	+ 2 tetes b.Alb ☐ 22%	+ 2 tetes b.Alb ☐ 22%
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐		
	Putar 3000rpm 15 detik ☐		
	Baca reaksi → bila negatif ☐		
	Inkubasi 37 C ☐		
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐		
	Baca reaksi ☐		

Indetitas Antisera	1 tetes CCC ☐	1 tetes CCC ☐
	+ 2 tetes AHG ☐	+ 2 tetes saline ☐
	Kocok-kocok hingga tecampur rata ☐	
	Putar 3000 rpm 15 detik ☐	
	Baca reaksi ☐	

--	--	--

I. Coomb's Control Cells

Tabel 26. Lembar Hasil Test Validasi Reagensia

a) Anti –A

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tabung III	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

b) Anti –B

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tabung III	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

c) Anti –D

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

d) Test Sel A standar

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

e) Test sel B standar

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

f) Test sel O standar

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

--	--	--	--	--	--

g) Coomb's Serum (AHG)

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

h) Bovine Albumin

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

i) Coomb's Control Cells

Indentitas Antisera	Tabung I	Tabung II	Tgl Pemeriksaan	Diperiksa oleh	Dicek Oleh

HASIL VALIDASI

Anti-A : Valid / Tidak Valid
 Anti-B : Valid / Tidak Valid
 Sel – A : Valid / Tidak Valid
 Sel – B : Valid / Tidak Valid
 Sel – O : Valid / Tidak Valid
 Anti-D : Valid / Tidak Valid
 Bovin Albumin: Valid / Tidak Valid

No Lot/ Exp Anti – A :
 No Lot/ Exp Anti – B :
 No Lot/ Exp Anti – D :
 No Lot/ Exp Bovin Albumin :
 Tanggal Pembuatan Test Sel A :
 Tanggal Pembuatan Test Sel B :
 Tanggal Pembuatan Test Sel O :
 Tanggal Pembuatan CCC :

Tanggal Pemeriksaan :

Pemeriksa:

Di Cek Oleh :

Disahkan Oleh:

()

()

()

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemeriksaan pre-transfusi.
- 2) Tahapan persiapan sampel pemeriksaan.
- 3) Reagen dan bahan yang diperlukan dalam pemeriksaan pretransfusi.
- 3) Tujuan validasi reagensia.

Ringkasan

1. Persiapan alat dan bahan untuk pemeriksaan pre transfusi sangat penting, dimulai dari persiapan sampel(pemisahan serum/plasma, pencucian sel darah merah, pembuatan suspensi sel), pembuatan test sel A, test sel B, test sel O serta pembuatan Coombs Control Cell.
2. Validasi reagen bertujuan untuk menguji validitas suatu reagen sehingga dapat diketahui kualitas dari reagen sebelum digunakan untuk pemeriksaan dan juga untuk menetapkan reagen yang digunakan valid atau invalid sehingga diperoleh hasil pemeriksaan yang akurat.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Berikut ini adalah tujuan dari pencucian sel darah merah, **kecuali**
 - A. Menghilangkan sisa protein pada sel darah merah
 - B. Menghilangkan sel-sel darah yang rapuh
 - C. Menghilangkan auto cold antibody
 - D. Memisahkan serum / plasma dari sel darah merah
 - E. Menghilangkan formasi Rouleaux

2. Tujuan penggunaan suspensi sel darah merah 40% adalah....
 - A. Pemeriksaan golongan darah (tube test)
 - B. Pemeriksaan silang serasi (crossmatching)
 - C. Pemeriksaan golongan darah rhesus (slide test/ bioplate)
 - D. Pemeriksaan golongan darah ABO (slide test/bioplate)
 - E. Pemeriksaan antiglobulin test

3. Sel darah merah golongan O Rhesus positif yang sudah disensitasi (dicoated) oleh anti –D IgG (inkomplit) disebut.....
 - A. Coombs control cell
 - B. Anti Human Globulin / Serum Coombs
 - C. Antisera-A
 - D. Antisera-B
 - E. Test sel O.

Topik 2

Pemeriksaan Golongan Darah ABO dan Rhesus

A. PRINSIP PEMERIKSAAN

ANTIGEN + ANTIBODI → AGLUTINASI/HOMOGEN/SENSITASI.

B. TEKNIK REVERSE & FORWARD GROUPING

- 1 **Cell grouping/typing** => memeriksa antigen sel darah merah dengan cara menambahkan anti-A, anti-B dan anti-D
- 2 **Serum grouping/typing** => memeriksa antibodi dalam serum/plasma dengan cara mereaksikannya dengan sel golongan A, B, dan O.
- 3 **Auto Kontrol** => memeriksa antibodi dalam serum dengan cara mereaksikannya dengan sel darahnya sendiri.

C. METODE PEMERIKSAAN

Metode pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus, antara lain :

- A. Metode slide card
- B. Metode bioplate
- C. Metode tabung
- D. Pemeriksaan WEAK D (jika hasil pemeriksaan rhesus tabung negatif)

D. PROSEDUR

1. Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode slide test

1. Tujuan :

Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (cell grouping).

2. Alat dan Bahan :

- Sampel Darah
- Larutan NaCl 0,85 %
- Batang pengaduk /toothpick
- Antisera-A, Antisera-B, Antisera D, Bovine Albumin 6%
- Test Sel suspensi 10% untuk golongan darah ABO dan Test Sel suspensi 40% untuk golongan darah rhesus
- Slide test

3. Cara kerja

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2^o-8^oC setelah digunakan.
2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sel darah merah (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 10% dan 40%
4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus.
5. Siapkan slide test yang bersih dan kering, beri indentitas pada bagian atas tiap-tiap kotak berturut-turut :

Anti-A, anti-B, anti-D

6. Isi masing-masing Kotak dengan :
 1. Kotak 1 : 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 10%
 2. Kotak 2 : 2 tetes anti-B + 1 tetes sel 10%
 3. Kotak 3 : 2 tetes anti-D + 1 tetes sel 40%
 4. Kotak 4 : 2 tetes Bovine albumin 6% + 1 tetes sel 40%
7. Aduk rata dan melebar dengan batang pengaduk
8. Digoyang membentuk angka 8, baca reaksi

4. Pembacaan hasil

- Bila pada pemeriksaan sel darah merah sampel terjadi :
 - Aglutinasi → ada antigen pada sel darah merah

- Negatif aglutinasi / Homogen → tidak ada antigen pada sel darah merah



Agglutinati Positif Agglutinati Negatif

- Interpretasi Hasil :

Anti-A	Anti-B	Golongan Darah	Anti-D	BA 6%	Golongan Darah
Agglutinati Positif	Agglutinati Negatif	A	Agglutinati Positif	Agglutinati Negatif	Rh Positif (D⁺)
Agglutinati Negatif	Agglutinati Positif	B	Agglutinati Negatif	Agglutinati Negatif	Rh Negatif (D⁻)
Agglutinati Positif	Agglutinati Positif	AB			
Agglutinati Negatif	Agglutinati Negatif	O			

2. Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode bioplate

1. Tujuan :

Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (cell grouping) dan untuk menetapkan ada/tidaknya antibodi dalam serum/plasma (serum grouping).

2. Alat dan Bahan :

1. Sampel suspensi 10% dan 40%
2. Larutan NaCl 0,85 %
3. Tabung Reaksi
4. Antisera-A, Antisera-B, Antisera D, Bovine Albumin 6%
5. Test Sel 10% A,B dan O
6. Bioplate

7. Sentrifuge

8. Pipet Tetes

3. Cara kerja

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2^o-8^oC setelah digunakan.
2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sel darah merah (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 10% dan 40%.
4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus
5. Siapkan bioplate yang bersih dan kering, beri indentitas pada bagian atas tiap-tiap well berturut-turut :

Anti-A, anti-B, sel A, sel B, sel O, AK (auto kontrol), Anti-D dan BA 6%

1. Isi masing-masing well dengan :
 - i. Well 1: 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 10%
 - ii. Well 2 : 1 tetes anti-B + 1 tetes sel 10%
 - iii. Well 3: 1 tetes sel A 10% + 2 tetes serum/plasma
 - iv. Well 4: 1 tetes sel B 10% + 2 tetes serum/plasma
 - v. Well 5: 1 tetes sel O 10% + 2 tetes serum/plasma
 - vi. Well 6: 1 tetes sel 10% + 2 tetes serum/plasma
 - vii. Well7 : 1 tetes sel 40% + 2 tetes anti-D
 - viii. Well 8: 1 tetes sel 40% + 2 tetes BA 6%
2. Campurkan isi tiap Well dengan cara menggoyangkan bioplate ke arah depan dan belakang sambil memperhatikan reaksi yang terjadi
3. Baca hasil reaksi.

4. Pembacaan hasil

- Bila pada pemeriksaan sel darah merah specimen terjadi :
 - Aglutinasi : ada antigen pada sel darah merah
 - Homogen : tidak ada antigen pada sel darah merah
- Bila pada pemeriksaan plasma specimen terjadi :
 - Aglutinasi : ada antibodi didalam plasma/serum

- Homogen : tidak ada antibodi didalam plasma/serum
- Tentukan derajat aglutinasi sesuai dengan hasil reaksi yang terjadi.

4+ : Semua sedimen bersatu, cairan jernih.

3+ : Sedimen terpecah → 3-4 segmen, cairan jernih.

2+ : Gumpalan lebih banyak dan kasar, cairan agak keruh.

1+ : Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan keruh tampak berwarna kemerah-merahan.

± : Sepintas masih terlihat seperti gumpalan halus dengan cairan keruh. Aglutinasi jelas → mikroskopis

neg : tidak ada aglutinasi / homogen

- Interpretasi Hasil

Anti – A Well 1	Anti –B Well 2	Test Sel A Well 3	Test Sel B Well 4	Test Sel O Well 5	AK Well 6	Golongan Darah	Anti- D	BA 6%	Golongan Darah
Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	O	+	Neg	Rh Positif (D ⁺)
+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	A			
Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	B	Neg	Neg	Rh Negatif (D ⁻)
+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	AB			

Keterangan : (+) = Positif/terjadi penggumpalan/aglutinasi

(Neg) = Negatif/tidak terjadi penggumpalan/homogen

3. Pemeriksaan golongan darah abo dan rhesus metode tabung (*tube test*)

1. Tujuan :

Untuk menetapkan ada/tidaknya antigen pada sel darah merah (cell grouping) dan untuk menetapkan ada/tidaknya antibodi dalam serum/plasma (serum grouping).

2. Alat dan Bahan :

1. Sampel suspensi 5%
2. Test sel 5% A,B,O
3. Antisera A , Antisera B
4. Larutan NaCl 0,85 %
5. Tabung Serologi
6. Mikroskop

7. Tabung Sentrifuge
 8. Pipet Tetes
 9. Rak Tabung
 10. Sentrifuge
3. Cara Kerja :
1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2°-8°C setelah digunakan.
 2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
 3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sdm (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 5%.
 4. Siapkan lembar kerja pemeriksaan golongan darah ABO.
 5. Siapkan 6 (enam) buah tabung serologi untuk masing-masing mahasiswa/ kelompok yang sudah ditandai.
 6. Isi masing-masing tabung dengan :
 - a. Tabung 1 : 2 tetes anti-A + 1 tetes sel 5%
 - b. Tabung 2 : 2 tetes anti-B + 1 tetes sel 5%
 - c. Tabung 3 : 1 tetes sel A 5% + 2 tetes serum/plasma
 - d. Tabung 4 : 1 tetes sel B 5% + 2 tetes serum/plasma
 - e. Tabung 5 : 1 tetes sel O 5% + 2 tetes serum/plasma
 - f. Tabung 6 : 1 tetes sel 5% + 2 tetes serum/plasma
 - g. Tabung 7 : 1 tetes sel 5% + 2 tetes anti-D
 - h. Tabung 8 : 1 tetes sel 5% + 2 tetes BA 6%
 7. Kocok perlahan agar homogen.
 8. Sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.
 9. Goyangkan tabung dengan perlahan dan perhatikan adanya aglutinasi secara makroskopis bila diperlukan dengan menggunakan mikroskop (perbesaran objektif 10 x).
4. Pembacaan hasil
- Perhatikan supernatan semua tabung, apakah ada hemolise atau tidak.
 - Bacalah satu persatu hasil reaksinya dengan mengoyang perlahan tabung dan memutarnya kita perhatikan sedimennya :
 - Ciri-ciri positif : Sedimen bersatu dan tepinya tidak merata
 - Ciri-ciri negatif : Sedimen selnya padat dan tepinya bulat + rata
 - Dinyatakan negatif bila sedimen tersuspensi kembali dengan mudah (homogen).

➤ Dinyatakan positif bila sedimen tidak mudah tersuspensi kembali (bergumpal-gumpal).

○ Tentukan derajat aglutinasi sesuai dengan hasil reaksi yang terjadi.

4+ : Semua sedimen bersatu, cairan jernih.

3+ : Sedimen terpecah → 3-4 segmen, cairan jernih.

2+ : Gumpalan lebih banyak dan kasar, cairan agak keruh.

1+ : Gumpalan sangat banyak dan halus, cairan keruh tampak berwarna kemerah-merahan.

± : Sepintas masih terlihat seperti gumpalan halus dengan cairan keruh. Aglutinasi jelas → mikroskopis

neg : tidak ada aglutinasi / homogen

○ Interpretasi Hasil

Anti – A Well 1	Anti –B Well 2	Test Sel A Well 3	Test Sel B Well 4	Test Sel O Well 5	AK Well 6	Golongan Darah	Anti- D	BA 6%	Golongan Darah
Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	O	+	Neg	Rh Positif (D ⁺)
+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	A			
Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	B	Neg	Neg	Rh Negatif (D ⁻)
+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	AB			

Keterangan : (+) = Positif/terjadi penggumpalan/aglutinasi

(Neg) = Negatif/tidak terjadi penggumpalan/homogen

***Catatan : Apabila pada metode tabung hasil pengamatan menunjukkan Rh negatif, maka harus dilanjutkan ke pemeriksaan Weak D (D^u)**

Keuntungan Metode Tabung (Tube)→Rekomendasi pemeriksaan golongan darah di Laboratorium karena Aglutinasi lemah dapat dibaca (karena lebih sensitif).

4. Pemeriksaan golongan darah rhesus **WEAK D (D^u)**

a. Dasar Teori :

Rhesus adalah suatu faktor yang terdapat pada sel darah merah, ditemukan pertama kali oleh Landsteiner dan Wiener pada tahun 1940 melalui injeksi darah merah kera *Macacus rhesus* ke tubuh kelinci.

Landsteiner dan Wiener menerangkan bahwa bila sel darah merah (eritrosit) seseorang mempunyai Rhesus antigen (antigen D atau Rh), maka orang tersebut dinyatakan sebagai Rhesus – positive. Bila ia tidak mempunyai Rhesus antigen (antigen D atau Rh0) dinyatakan Rhesus – negative.

b. Prinsip :

Antigen + Antibodi → Aglutinasi /sensitasi/hemolisis.

c. Tujuan :

Untuk menemukan adanya antigen (antigen D atau Rh) di dalam sel darah merah (eritrosit).

d. Alat dan Bahan :

- Sampel suspensi 5%
- Larutan NaCl 0,85 %
- Bovine Albumin 6 %
- Anti-Rh serum (Anti D Monoclonal/Duoclonal, IgM/IgG)
- Sentrifuge
- Pipet Tetes
- Tabung Reaksi
- Rak Tabung
- Mikroskop
- Sentrifuge
- Waterbath

a. Cara Kerja :

1. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan simpan kembali pada suhu 2^o-8^oC setelah digunakan.

2. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
3. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sdm (sel darah merah), pencucian hingga pembuatan suspensi sel 5%.
4. Siapkan 2 tabung beri label : Tab I, Tab II
5. Masing-masing tabung teteskan 1 tetes suspensi 5% ery X
6. Tab I tambahkan 2 tetes anti D IgG.
7. Tab II tambahkan 2 tetes Bovine Albumin 6%
8. Kocok perlahan kedua tabung hingga tercampur rata
9. Putar 3000 rpm selama 15 detik
10. Baca reaksi → makroskopis, bila hasil negative
11. Cuci kedua tabung 3 kali dengan saline
12. Buang supernatant terakhir sampai bersih
13. Tambahkan masing-masing 2 tetes coomb's serum
14. Kocok perlahan kedua tabung hingga tercampur rata
15. Putar 3000 rpm selama 15 detik.
16. Baca reaksi makroskopis dan mikroskopis → catat hasil

e. Pembacaan hasil

1. tidak ada aglutinasi : tidak ada antigen D pada sel darah merah
2. Ada aglutinasi : ada antigen D pada sel darah merah
3. Kesimpulan apabila D^unegatif maka golongan darah Rhesus negatif, apabila D^upositif pada pasien disimpulkan golongan darah Rh negatif dan D^upositif pada darah donor disimpulkan golongan darah Rh positif.
4. Hasil tes D^unegatif, harus di validasi dengan di teteskan 1 tetes sel uji coombs (Coombs Control Cells = CCC) ke tabung 1 dan tabung 2. Kemudian putar 3000 rpm 15 detik atau 1000 rpm 1 menit. Hasil pengamatan menunjukkan :
 - Hasil positif menunjukan bahwa pemeriksaan benar dan berlaku.
 - Hasil negatif menunjukan bahwa pemeriksaan tidak benar, tidak berlaku dan harus di ulang.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Metode-metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus.
- 2) Cell grouping dan serum grouping pada pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus.
- 3) Interpretasi hasil pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus.

Ringkasan

Darah adalah suatu suspensi yang terdiri atas plasma dan sel-sel darah . antigen golongan darah terdapat pada permukaan sel darah merah, sedangkan antibodi terdapat pada serum/plasma

Penentuan golongan darah ABO dan Rhesus sangat penting dalam transfusi darah.

Metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus, antara lain : metode slide card, metode bioplate, metode tabung dan pemeriksaan weak d (jika hasil pemeriksaan rhesus tabung negatif)

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Tujuan pemeriksaan cell grouping adalah untuk menentukan adanya.....

Antigen pada permukaan sel darah merah

Antibodi pada plasma / serum

Antihuman globulin

Infeksi Virus

Bakteri pada darah

- 2) Rekomendasi pemeriksaan golongan darah di laboratorium karena aglutinasi lemah dapat dibaca (karena lebih sensitif) adalah metode.....

Slide card

Bioplate

Tabung

Tile

Weak D

Apabila pemeriksaan golongan darah Rhesus metode tabung menunjukkan Rh negatif, maka harus dilanjutkan dengan metode pemeriksaan.....

Weak D
Bioplate
Tile
Slide
DNA

**LEMBAR KERJA PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH ABO DAN RHESUS
METODE SLIDE TEST**

Hari / Tanggal :

Prinsip :

Tujuan :

Sampel :

Hasil Pengamatan :

IDENTITAS SAMPEL	ANTIGEN ABO		ANTIGEN RHESUS	RHRSUS CONTROL	GOL DARAH
	1	2	3	4	
	ANTI A	ANTI B	ANTI D	BOV.ALB 6%	
	+	+	+	+	
	SUSP ERY 10%	SUSP ERY 10%	SUSP ERY 40%	SUSP ERY 40%	
Gambar hasil Pengamatan					
Gradasi Aglutinasi					

KESIMPULAN :

Diperiksa Oleh :

Disahkan Oleh :

LEMBAR KERJA PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH ABO DAN RHESUS

METODE BIOPLATE

Hari / Tanggal :

Prinsip :

Tujuan :

Sampel :

Hasil Pengamatan :

IDENTITAS SAMPel	ANTIGEN ABO		SERUM TYPING			AUTO CONTROL	ANTIGEN RHESUS	RHESUS CONTROL	GOL DARAH
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	2tetes ANTI A	2tetes ANTI B	1tetes SUSP ERY A 10%	1 tetes SUSP ERY B 10%	1tetes SUSP ERY O 10%	1tetes SUSP ERY SAMPel	2 tetes ANTI D	2tetes BOV.ALB 6%	
	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1tetes SUSP ERY 10%	1tetes SUSP ERY 10%	2tetes SERUM/PL ASMA	2tetes SERUM/P LASMA	2tetes SERUM/P LASMA	2tetes SERUM/ PLASMA	1tetes SUSP ERY 40%	1tetes SUSP ERY 40%	
Gambar hasil Pengamatan									
Gradasi Aglutinasi									

KESIMPULAN :

Diperiksa Oleh :

Disahkan Oleh :

LEMBAR KERJA PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH ABO

DAN RHESUS METODE TABUNG

Hari / Tanggal :
 Prinsip :
 Tujuan :
 Sampel :
 Hasil Pengamatan :

IDENTITAS SAMPel	ANTIGEN ABO		SERUM TYPING			AUTO CONTROL	ANTIGEN RHESUS	RHRSUS CONTROL	GOLON GAN DARAH
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	ANTI A	ANTI B	SUSP ERY A 5%	SUSP ERY B 5%	SUSP ERY O 5%	SUSP ERY SAMPel	ANTI - D	BOV.ALB 6%	
	+	+	+	+	+	+	+		
	SUSP ERY 5%	SUSP ERY 5%	SERUM/PL ASMA	SERUM/PL ASMA	SERUM/PL ASMA	SERUM/ PLASMA	SUSP ERY 5%	SUSP ERY 5%	
Gambar hasil Pengamatan									
Gradasi Aglutinasi									

KESIMPULAN:.....

Diperiksa Oleh :

Dicek Oleh :

LEMBAR KERJA PEMERIKSAAN D WEAK (D^u)

Hari / Tanggal :
 Prinsip :

Tujuan :

Sampel :

Hasil Pengamatan :

	Tab 1	Tab 2	Kesimpulan	Dicek oleh
Putar 3000 rpm 15''				
ICT				
Gambar hasil pengamatan				
CCC (validasi)				

Diperiksa Oleh :

Dicek Oleh :

Topik 3

Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Crossmatch)

A. PENDAHULUAN

Pemeriksaan reaksi silang (Cross Match) diperlukan sebelum melakukan transfusi darah untuk melihat apakah darah pasien / resipien sesuai dengan darah donor. Pemeriksaan Cross Match ini sangat perlu untuk mencegah reaksi transfuse dengan memastikan penderita tidak mengandung antibody yang reaktif terhadap antigen pada sel darah merah donor dan bermanfaat bagi pasien.

Pada reaksi silang mayor (Mayor Cross Match) adalah memeriksa ketidakcocokan oleh karena adanya antibody dalam serum pasien terhadap antigen sel darah merah donor.

Pada uji silang serasi minor (Minor Cross Match) adalah untuk memastikan ketidakcocokan oleh karena adanya antibody dalam serum donor terhadap antigen sel darah merah pasien.

Pada pemeriksaan auto adalah mereaksikan antara sel darah merah pasien dengan serumnya untuk mengetahui apakah terdapat autoantibodi atau tidak untuk melihat reaksi autoimun.

Uji silang serasi dilakukan dalam fase dan medium yang berbeda karena jenis antibody golongan darah mempunyai karakter yang berbeda.

- a. Fase I : fase suhu kamar (20°C – 25°C) dalam medium saline, mendeteksi antibody komplet yang bersifat IgM (cold antibody)
- b. Fase II : fase inkubasi pada suhu 37°C dalam medium bovine albumin, pada fase ini antibody inkomplet dapat mengikat sel darah merah
- c. Fase III : fase antiglobulin test, semua antibody inkomplet yang telah diikat pada sel darah merah (pada fase II) akan beraglutinasi (positif) dengan baik setelah penambahan Coombs serum.

Untuk validasi hasil pemeriksaan maka sample tersebut setelah fase 3 direaksikan dengan Coombs Control Cell (CCC) bila hasilnya di fase III negatif maka ditambah dengan CCC hasilnya positif.

B. PRINSIP

Antigen + Antibodi → Aglutinasi / hemolisis/ sensitasi.

C. TUJUAN

Untuk mengetahui apakah sel darah merah donor bisa hidup didalam tubuh pasien dan untuk mengetahui ada tidaknya antibody komplet (tipe IgM) maupun antibody inkomplet (tipe IgG) dalam serum pasien (mayor) maupun dalam serum donor yang melawan sel pasien (minor).

D. ALAT DAN BAHAN

1. Tabung Serologi
2. Pipet Tetes
3. Waterbath (suhu 37°C)
4. Sentrifuge
5. Kaca Objek
6. Mikroskop
7. Salin (NaCl 0,9 %)
8. Bovine Albumin 22 %
9. Serum Coombs (Anti Human Globulin)
10. Sel Uji Coombs (Control Cell Coombs)
11. Contoh Darah Pasien dan Contoh Darah Donor

E. PERSIAPAN KERJA

1. Nyalakan dan atur suhu incubator/waterbath pada 37°C
2. Biarkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan disimpenn kembali pada suhu 2-8°C setelah digunakan.
3. Siapkan contoh darah dengan antikoagulan yang akan diperiksa.
4. Lakukan perawatan contoh darah yang akan diperiksa mulai dari pemisahan plasma dari sdm, pencucian hingga pembuatan suspensi sel.
5. Siapkan ceklist dan lembar kerja pemeriksaan uji silang serasi.
6. Catat tanggal penerimaan sampel, indentitas sampel, tanggal pemeriksaan.

F. PROSEDUR KERJA

- 1) Ambil 3 buah tabung reaksi 12x75mm beri indentitas tabung tersebut : mayor, minor dan AK (auto control).
- 2) Masukkan kedalam masing-masing tabung
 1. Mayor : 2 tetes plasma pasien + 1 tetes sdm donor susp 5%
 2. Minor : 2 tetes plasma donor + 1 tetes sdm pasien susp 5%
 3. Auto control : 2 tetes plasma pasien + 1 tetes sdm pasien susp 5%
- 3) Kocok perlahan semua tabung hingga homogen, sentrifugasi 3000rpm selama 15 detik.
- 4) Baca reaksinya terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis.
- 5) Hasil fase I :
 - Hemolysis : Negatif → lanjutkan fase II
 - aglutinasi : Negatif → lanjutkan fase II

 - Hemolysis : positif → tidak cocok (Inkompatibel)
 - aglutinasi : positif → tidak cocok (Inkompatibel)
- 6) Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 2 tetes bovine albumin 22%
- 7) Kocok perlahan hingga homogen
- 8) Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
- 9) Sentrifugasi tabung dengan kecepatan 3000rpm selama 15 detik.
- 10) Baca reaksi terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis.
- 11) Hasil fase II :
 - Hemolysis : Negatif → lanjutkan fase II
 - aglutinasi : Negatif → lanjutkan fase II

 - Hemolysis : positif → tidak cocok (Inkompatibel)
 - aglutinasi : positif → tidak cocok (Inkompatibel)

- 12) Masing – masing tabung Mayor, Minor dan Auto control dicuci dengan saline sebanyak 3x.
- 13) Pada pencucian terakhir, buang supernatant sebersih bersihnya.
- 14) Tambahkan masing-masing tabung dengan anti human globulin (Coombs serum) sebanyak 2 tetes.
- 15) Kocok perlahan isi tabung hingga homogen, sentrifugasi 3000rpm selama 15 detik.
- 16) Baca reaksi terhadap hemolysis dan atau aglutinasi secara makroskopis dan mikroskopis.
- 17) Hasil fase III :
 1. Hemolisis : Negatif → cocok (kompatibel)
 2. Aglutinasi : Negatif → cocok (kompatibel)
 3. Hemolisis : positif → tidak cocok (Inkompatibel)
 4. Aglutinasi : positif → tidak cocok (Inkompatibel)
- 18) Hasil uji silang serasi yang negative harus divalidasi terlebih dahulu dengan CCC. Kepada masing-masing tabung tambahkan 2 tetes CCC, sentrifugasi 3000 rpm selama 15 detik.

Catatan : hasil validasi dengan CCC harus memberikan reaksi 2+, jika hasil negatif maka pemeriksaan uji silang serasi harus diulang (tidak valid).
- 19) Kesimpulan apabila hasil uji silang serasi kompatibel berarti darah donor bisa ditransfusikan ke pasien dan apabila hasil uji silang serasi inkompatibel darah donor tidak bisa di transfusikan ke pasien.

LEMBAR KERJA CROSSMATCH

Hari / Tanggal :

Prinsip :

Tujuan :

Sampel :

Hasil Pengamatan :

No. kantong Darah	Medium Saline (Fase 1)			kesimpulan	
	Mayor test	Minor test	Auto kontrol	Compatible / incompatible	
	2 tetes serum OS +	2 tetes plasma dn +	2 tetes serum OS +		
	1 tetes sel donor susp 5%	1 tetes susp sel 5% OS	1 tetes susp sel 5% OS		
	Kocok perlahan-lahan, putar 3000 rpm selama 15 detik → Baca reaksi				
hasil pengamatan	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen		
gambar					
hasil pengamatan					
gradasi hasil					
	Medium Bovine Albumin 22% (Fase 2)				Compatible / incompatible
	Tambahkan masing-masing tabung 2 tetes Bovine Albumin 22%				
	Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit				
	Kocok perlahan-lahan, putar 3000 rpm selama 15 detik → Baca reaksi				
hasil pengamatan	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen		
gambar					

hasil pengamatan					
gradasi hasil					
	Medium Anti Globulin Test (Fase 3)			Compatible / incompatible	
	Cuci 3 kali dengan Saline kemudian reaksi dilanjutkan dengan				
	tambahkan kedalam masing-masing tabung 2 tetes AHG				
	Kocok perlahan-lahan, putar 3000 rpm selama 15 detik → Baca reaksi				
hasil pengamatan	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen		
gambar					
hasil pengamatan					
gradasi hasil					
	Coombs Control Cells (CCC)			Valid/invalid	
	Kontrol semua tabung bila hasil uji silang serasi negatif dengan CCC				
	Tambahkan kedalam masing-masing tabung dengan 1 tetes CCC				
hasil pengamatan	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen	aglutinasi/homogen		
gambar					
hasil pengamatan					
gradasi hasil					

Pemeriksa :

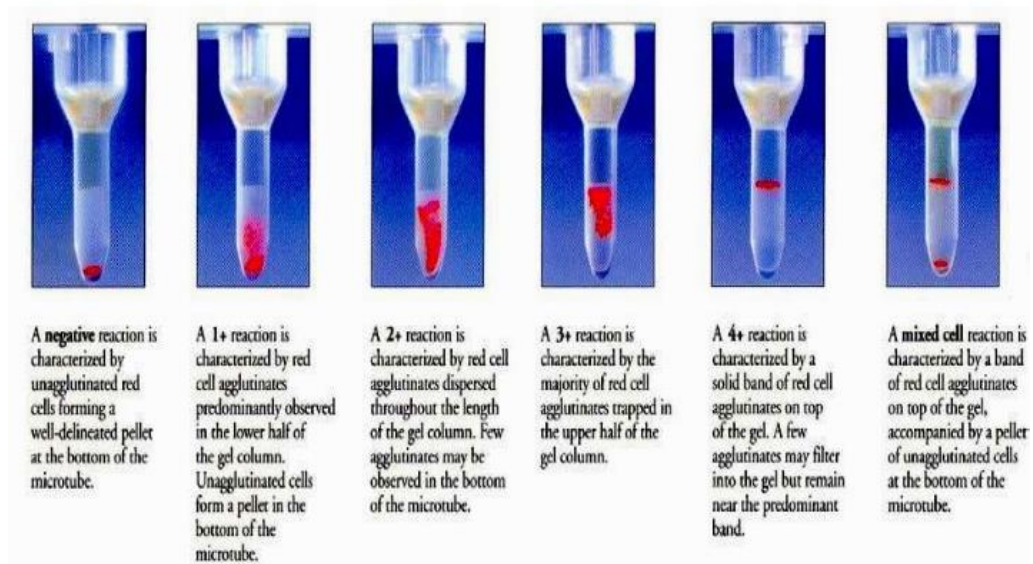
Dicek oleh :

G. Pemeriksaan Crossmatch Metode Gel Tes

- a. Bahan :
 - a. Darah donor
 - b. Darah pasien
- b. Reagen :
 - a. LISS (*Low Ionic Strength Solution*)
 - b. Gel Tes untuk crossmatch
- c. Alat :
 - Mikropipet 5µL
 - Dispenser LISS 500µL
 - Gunting
 - Sarung tangan
 - Tip kuning
 - Tabung reaksi ukuran 12 x 75 mm
 - Rak tabung reaksi
 - Sentrifus Gel Tes
 - Inkubator 37°C Gel Tes
 - Tisu
- d. Prosedur :
 1. Siapkan 2 buah tabung reaksi ukuran 12 x 75 mm :
 - a) Tabung 1, diisi dengan 5µL sel darah merah donor ditambahkan 500µL larutan pengencer (LISS).
 1. Tabung 2, diisi dengan 5µL sel darah merah pasien ditambahkan 500µL larutan pengencer (LISS)
 2. Suspensi sel dari tabung 1 diambil 50 µL, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 1 (Mayor) yang ditambahkan 25 µL plasma pasien.
 3. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50 µL, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 2 (minor) yang ditambahkan 25 µL plasma donor.
 4. Suspensi sel dari tabung 2 diambil 50 µL, kemudian dimasukkan ke dalam kolom gel 3 (Auto Kontrol) yang ditambahkan 25 µL plasma pasien.
 5. Ketuk-ketuk gel tes agar suspensi sel darah tercampur dengan plasma dan turun ke atas gel.
 6. Inkubasi gel tes pada suhu 37°C selama 15 menit.

7. Putar gel tes menggunakan sentrifus gel tes dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit dan baca hasil pengamatan.

e. Interpretasi Hasil :



Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

Prinsip pemeriksaan uji silang serasi (crossmatch).

Tujuan uji silang serasi dilakukan dalam fase dan medium yang berbeda .

Tujuan validasi oleh CCC pada uji silang serasi (crossmatch).

Ringkasan

Tujuan pemeriksaan uji silang serasi (crossmatch) yaitu untuk mengetahui apakah sel darah merah donor bisa hidup didalam tubuh pasien dan untuk mengetahui ada tidaknya antibody komplet (tipe IgM) maupun antibody inkomplet (tipe IgG) dalam serum pasien (mayor) maupun dalam serum donor yang melawan sel pasien (minor).

Uji silang serasi dilakukan dalam fase dan medium yang berbeda karena jenis antibody golongan darah mempunyai karakter yang berbeda.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Pemeriksaan sel darah merah donor direaksikan dengan plasma pasien disebut.....

Mayor

Minor

Auto Kontrol

Cell grouping

Serum grouping

2) Pemeriksaan sel darah merah pasien direaksikan dengan plasma donor disebut.....

Serum grouping

Mayor

Minor

Auto Kontrol

Cell grouping

Fase 1 uji silang serasi (crossmatch) dengan suhu kamar ($20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$), mendeteksi antibody komplet yang bersifat IgM (cold antibody), menggunakan medium.....

Saline

AHG

CCC

BA 22%

Na.sitrat

Topik 4

Pemeriksaan Coomb's Test

A. PENDAHULUAN

Percobaan Coombs mencari adanya antiglobulin. Jika semacam antibodi melekat pada eritrosit yang mengandung antigen, maka antibodi yang spesifik terhadap antigen itu mungkin menyebabkan eritrosit-eritrosit bergumpal (aglutinasi). Globulin merupakan antibodi penghalang (blocking antibodies) atau antibodi tak lengkap (incomplete antibodies). Pada konsentrasi tinggi antibodi ini melapisi eritrosit tetapi tidak dapat mengaglutinasikannya dalam larutan salin.

Anti human globulin akan bereaksi dengan setiap globulin manusia. Karena itu penting bahwa semua globulin bebas harus dibuang dari sel darah merah dengan pencucian yang bersih sebelum penambahan anti human globulin. Sisa globulin serum dalam larutan akan bergabung dengan anti human globulin mengakibatkan anti human globulin tidak mampu lagi mengaglutinasi sel yang telah disensitisasi, dan menyebabkan suatu tes Coombs negatif yang salah (false negative).

Tes Coombs langsung (Direct Coombs Test / DCT) digunakan untuk mendeteksi antibodi atau komplemen pada permukaan sel darah merah dimana sensitisasi telah terjadi secara *invivo*. Reagen anti human globulin ditambahkan pada sel darah merah yang telah dicuci dan aglutinasi menunjukkan tes positif.

Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT) digunakan untuk mencari adanya antibodi irregular (inkomplit) dalam serum. Terlebih dahulu dilakukan pelapisan eritrosit-eritrosit normal bergolongan O (atau eritrosit-eritrosit yang golongannya sesuai dengan serum yang diperiksa) dengan serum yang diketahui atau tersangka mengandung antibodi penghalang. Langkah berikutnya ialah membuktikan adanya antibodi tersebut dengan menggunakan Serum Coombs.

A) TES COOMBS LANGSUNG (*DIRECT COOMBS TEST*)

- **Prinsip :**

Antigen + Antibodi Inkomplit (pada eritrosit pasien) + Serum Coombs serum → Aglutinasi (+).

- **Tujuan :**

Untuk mendeteksi antibodi yang coated (melekat / menyelimuti) pada eritrosit pasien dan terjadi secara *invivo* (di dalam tubuh).

- **Alat dan Bahan :**

a. Tabung Serologi

- b. Pipet Tetes
- c. Sentrifuge
- d. Kaca Objek
- e. Mikroskop
- f. Medium Salin (NaCl 0,9 %)
- g. Serum Coombs (Anti Human Globulin)
- h. Contoh Darah Pasien
- **Cara Kerja :**
 - a. Siapkan suspensi eritrosit 5 % dalam salin dari contoh darah pasien.
 - b. Sediakan 2 buah tabung, isi masing-masing tabung dengan 1 tetes suspensi eritrosit 5 % (pasien).
 - c. Lakukan pencucian dengan salin sebanyak 3 kali.
 - d. Pada tabung I (tes) tambahkan 2 tetes Serum Coombs, pada tabung II (kontrol) tambahkan 2 tetes salin. Kemudian sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 detik.
 - e. Baca secara makroskopis dan mikroskopis.
- **Interpretasi :**
 - Direct Coombs Test (DCT) positif (+), artinya terdapat sel coated secara invivo pada eritrosit pasien. Biasanya terjadi pada penderita AIHA (Auto-Immune Haemolytic Anemia), HDN (Haemolytic Disease of Newborn), dan orang yang mendapat transfusi darah dengan Rhesus yang berbeda.
 - Direct Coombs Test (DCT) negatif (-), artinya tidak terdapat sel coated secara invivo.

*Catatan :

Bila Direct Coombs Test (DCT) pasien positif, maka darah boleh diberikan tetapi dalam bentuk Packed Red Cell (PRC) atau Washed Red Cell (WRC).

LEMBAR KERJA DIRECT COMB'S TEST

Hari / Tanggal :

Prinsip :

Tujuan :

Sampel :

Hasil Pengamatan :

Identitas sampel	Tabung I	Tabung II
	1 tetes sel OS 5%	1 tetes sel OS 5%
	Cuci dg saline sebanyak 3X, @3000rpm -2 menit	
	2 tetes AHG	2 tetes saline
	Kocok perlahan, putar 3000rpm, 15 detik→baca reaksi	
Hasil reaksi	Homogen/aglutinasi	Homogen/aglutinasi
Gambar hasil pengamatan		
Gradasi hasil		

Kesimpulan :

Pemeriksa :

Di cek oleh :

B) TES COOMBS TIDAK LANGSUNG (*INDIRECT COOMBS TEST*)

- **Prinsip :**

Antigen + Antibodi Inkomplit (pada serum donor / pasien) + Serum Coombs → Aglutinasi (+).

- **Tujuan :**

Untuk mendeteksi antibodi yang coated (melekat / menyelimuti) pada eritrosit dan terjadi secara invitro (di luar tubuh).

- **Alat dan Bahan :**

- Tabung Serologi
- Pipet Tetes
- Sentrifuge
- Kaca Objek
- Mikroskop
- Larutan Salin (NaCl 0,85 % - 0,9 %)
- Serum Coombs (Anti Human Globulin)
- Contoh Darah

- **Cara Kerja :**

- Siapkan serum dari contoh darah yang akan di periksa.
- Siapkan pula suspensi eritrosit 5 % dalam salin dari contoh darah dan suspensi sel darah O.
- Siapkan 2 tabung, isi masing masing tabung 2 tetes plasma/serum.
- Tabung I teteskan 1 tetes susp sel O, tabung II suspensi sampel.
- Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi.
- Apabila negatif lanjutkan, tambahkan bovine albumin 22% sebanyak 2 tetes ke masing-masing tabung.
- Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
- Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi.
- Bila negative lakukan pencucian dengan saline 3x.
- Tambahkan ke masing-masing tabung 2 tetes AHG.

- Putar 3000 rpm selama 15 detik baca reaksi secara makroskopis dan mikroskopis.
- Bila negatif, validasi dengan CCC.
- **Interprestasi hasil :**
 1. Apabila hasil ICT positif : adanya antibody yang coated pada sel darah merah secara invitro.
 2. Apabila hasil ICT negatif : tidak adanya antibody yang coated pada sel darah merah secara invitro.

LEMBAR KERJA INDIRECT COOMBS TEST

Hari / Tanggal :
Prinsip :
Tujuan :
Sampel :
Hasil Pengamatan :

Identitas sampel	Tabung I	Tabung II
	2 tetes plasma OS +	2 tetes plasma OS +
	1 tetes sel O 5%	1 tetes sel O 5%
	Putar 3000rpm, 15" → baca reaksi	
	bila negative tambahkan @ 2tetes bov.alb 22%	
	Inkubasi 37°C selama 15 menit	
	Putar 3000rpm, 15" → baca reaksi	
	Bila negative lakukan pencucian dg saline 3X	
	2 tetes AHG	2 tetes AHG
	Putar 3000rpm, 15" → baca reaksi : makros dan mikroskopis	
Hasil reaksi	Homogen/aglutinasi	Homogen/aglutinasi
Gambar hasil pengamatan		
Gradasi hasil		
Validasi	Bila negative, tambahkan 1 tetes dengan CCC	
	Valid/invalid	Valid/invalid
Gambar hasil pengamatan		

Kesimpulan :
Pemeriksa :
Di cek oleh :

[illegible]

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

Prinsip Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT).

Tujuan pemeriksaan Coombs Test.

Tes Coombs langsung (Direct Coombs Test / DCT) digunakan untuk mendeteksi antibodi atau komplemen pada permukaan sel darah merah dimana sensitisasi telah terjadi secara *invivo*. Reagen anti human globulin ditambahkan pada sel darah merah yang telah dicuci dan aglutinasi menunjukkan tes positif.

Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT) digunakan untuk mencari adanya antibodi irregular (inkomplit) dalam serum. Terlebih dahulu dilakukan pelapisan eritrosit-eritrosit normal bergolongan O (atau eritrosit-eritrosit yang golongannya sesuai dengan serum yang diperiksa) dengan serum yang diketahui atau tersangka mengandung antibodi penghalang. Langkah berikutnya ialah membuktikan adanya antibodi tersebut dengan menggunakan Serum Coombs.

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT)

Tes Coombs langsung (Direct Coombs Test / DCT)

Crossmatch

Serum grouping

Cell grouping

2) Tes yang digunakan untuk mencari adanya antibodi irregular (inkomplit) dalam serum. Terlebih dahulu dilakukan pelapisan eritrosit-eritrosit normal bergolongan O (atau

eritrosit-eritrosit yang golongannya sesuai dengan serum yang diperiksa) dengan serum yang diketahui atau tersangka mengandung antibodi penghalang adalah.....

Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT)

Tes Coombs langsung (Direct Coombs Test / DCT)

Crossmatch

Serum grouping

Cell grouping

Terdapat sel coated secara invivo pada eritrosit pasien dan biasanya terjadi pada penderita AIHA (Auto-Immune Haemolytic Anemia), HDN (Haemolytic Disease of Newborn), dan orang yang mendapat transfusi darah dengan Rhesus yang berbeda, merupakan interpretasi hasil

.....

DCT (+) positif

DCT (-) negatif

ICT (+) positif

ICT (-) negatif

RH pos(+)

Topik 5

Pemeriksaan Skrining dan Identifikasi Antibodi

1. PENDAHULUAN

Pada beberapa penyakit, seperti thalasemia, anemia sickle cell, aplastik anemia, haemoglobinopathies, transfusi sel darah merah merupakan pengobatan utama, oleh karena itu transfusi darah untuk pasien ini sering dilakukan pada pasien yang mendapatkan darah transfusi berulang, kemungkinan timbulnya alloantibodi sangat besar. Hal ini disebabkan karena antigen sel darah merah donor memicu timbulnya antibodi pada darah pasien.

Sampai saat ini diketahui ada 270 antigen permukaan sel darah merah, tetapi hanya 26 sistem penggolongan darah yang dapat menimbulkan reaksi transfusi. Berikut ini adalah sistem penggolongan darah yang dapat menimbulkan alloantibodi pada pasien multiple transfusi.

Tabel 6.7 Sistem Penggolongan Darah Dan Antibodi Yang Ditimbulkan

Name of Blood Group System	Clinically Significant Antibodies
ABO	A, B & AB
Rh	D, C, E, c, e
Kell	K
Kidd	Jk ^a , Jk ^b
Duffy	Fy ^a , Fy ^b
MNS	S, s (rarely M, N)
Lewis	Le ^a (rarely)

Adanya alloantibodi pada pasien menyebabkan susahny mendapatkan darah yang kompatibel atau cocok pada pemeriksaan pre-transfusi antara darah pasien dan darah donor, sehingga menyebabkan inkompatibilitas. Selain itu juga dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik yang lambat, yang seringkali dikaitkan dengan keterlambatan dan kesulitan untuk memperoleh unit sel darah merah yang kompatibel.

Pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi bertujuan untuk mengetahui ada-tidaknya antibodi di dalam plasma yang diperiksa (pasien/donor), baik yang alamiah maupun imun. Plasma pasien ataupun donor yang akan diperiksa direaksikan dengan sel darah merah golongan O yang telah diketahui antigen permukaannya atau susunan antigen golongan darahnya yang disebut sel panel.

Tabel 6.8 Sifat Antibodi

Jenis antibodi	Sist gol drh	Reaksi opt °C	Medium NaCl	Medium BA	ICT	Jenis Ab
Anti-D	Rhesus	37	Kurang baik	Baik	Baik	Antibodi imun, HDN
Anti-C	Rhesus	37	Kadang2 baik	Baik	Baik	Antibodi imun, bersama anti-D
Anti-c	Rhesus	37	Kurang baik	Baik	Baik	Antibodi imun, genotype Cde/Cde
Anti-E	Rhesus	37	Kadang2 baik	Baik	Cukup baik	Antibodi imun, antibodi alamiah
Anti-e	Rhesus	37	Kadang2 baik	Baik	Baik	Antibodi imun, auto antibodi (AIHA)
Anti-M	MNSs	4	Baik	Kurang baik	Kurang baik	Antibodi alamiah
Anti-N	MNSs	4	Baik	Kurang baik	Kurang baik	Antibodi alamiah
Anti-S	MNSs	4 / 37	Baik	Variasi	Tidak baik	Antibodi alamiah / imun
Anti-s	MNSs	4 / 37	Variasi	Variasi	Variasi	Antibodi alamiah / imun
Anti-Pl	P	4	Baik	Kurang baik	Kurang baik	Antibodi alamiah
Anti-Lu ^a	Lutheran	18	Baik	Kurang baik	Kurang baik	Antibodi imun
Anti-Lu ^b	Lutheran	18 / 37	Baik	Cukup baik	Baik	Antibodi imun / alamiah
Anti-K	Kell	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun, HDN
Anti-k	Kell	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun, jarang ditemukan
Anti-Le ^a	Lewis	4 – 18	Baik	Kurang baik	Kadang2 baik	Antibodi alamiah / imun
Anti-Le ^b	Lewis	4 – 18	Cukup baik	Cukup baik	Kadang2 baik	Antibodi alamiah
Anti-Fy ^a	Duffy	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun
Anti-Fy ^b	Duffy	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun
Anti-Jk ^a	Kidd	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun
Anti-Jk ^b	Kidd	37	Kurang baik	Kurang baik	Baik	Antibodi imun

Tujuan pemeriksaan skrining antibodi adalah untuk mengetahui ada tidaknya antibodi irreguler, bila hasil positif dilanjutkan ke identifikasi antibodi untuk mengetahui spesifikasi antibodi. Pemeriksaan tersebut direaksikan menggunakan sel panel, yang terbagi menjadi dua, yaitu : sel panel kecil untuk skrining antibodi dan sel panel besar untuk identifikasi antibodi.

2. SKRINING ANTIBODI

Untuk skrining antibodi pada darah donor / pasien digunakan reagensia yaitu sel panel kecil. Sel panel kecil adalah sekelompok sel darah merah yang terdiri dari 2-3 individu golongan darah O yang sudah diketahui antigen permukaannya (memiliki/tidak antigen golongan darah). Jenis antigen dapat dilihat dalam tabel antigram dengan tanda sebagai berikut : (+) artinya memiliki antigen dan (- / 0) berarti tidak memiliki antigen.

Sel panel kecil harus memiliki susunan antigen homozygot seperti : C, M, Jk^a, sehingga antibodi dipengaruhi oleh dosis antigen (*dosage effect*) agar dapat teridentifikasi.



Gambar 6.3 Sel Panel Kecil

Tabel 6.9.Antigen Permukaan Pada Sel Panel Kecil

	Rh							MNSs				P ₁	Lewis		Lutheran		Kell		Duffy		Kidd					
Cell	D	C	E	c	e	f	C ^w	M	N	S	s	P ₁	Le ^a	Le ^b	Lu ^a	Lu ^b	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b				
I R1R1 (56)	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+				
II R2R2 (89)	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0				

Mosby items and derived items © 2009 by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.: Some material was previously published.

A. PRINSIP

Serum / plasma pasien direaksikan dengan sel panel kecil yang terdiri dari 2 sampai 3 reagen sel golongan darah yang telah diketahui antigen permukaannya.

B. CARA KERJA

1. Mereaksikan serum/plasma (donor dan pasien) yang diperiksa dengan sel panel kecil dalam medium saline pada suhu 20°C, 37°C dan AHG.
2. Hasil pemeriksaan diinterpretasikan dengan melihat pola (gambar reaksi) dari sel panel dalam antigram.

C. INTERPRETASI HASIL

- 1) Positif (+) => terdapat antibodi dalam serum / plasma
- 2) Negatif (-/ 0) => tidak terdapat antibodi dalam serum / plasma



Gambar 6.5 Sel Panel Besar

SEL PANEL		Nama Pasien		Tanggal Lahir		Kendali Mutu & Pembinaan								
Reagensia Sel Darah Merah		Nomor Register		Tanggal Pengambilan Darah		Unit Transfusi Darah Pusat PMI								
Panel Identifikasi Antibodi		Rh Phenotip		Direk Coomb's Tes										
				Tanggal Pemeriksaan										
Sel Panel 3%				No. Lot :		Tanggal Kadaluarsa :								
No.	Nomor Donor	Rh	Kell	Duffy	Kidd	MN	Se	Lewis	Lutheran	P	Kell	Keterangan	No.	Hasil
1	Mesdiono	R ₁ R ₁	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Samarinda	1	
2	Erwin Nabhan	R ₁ R ₁	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Palu	2	
3	Melani Eka Susanti	R ₁ R ₁	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Lampung	3	
4	Gatot Djunaedi	R ₁ R ₁	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Tangerang	4	
5	Eddy Santoso	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Banyuwangi	5	
6	Harie	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Bali	6	
7	M Yusuf Amrulloh	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Lampung	7	
8	Suriansah	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Samarinda	8	
9	Kurniawan S	rr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	UTDC Surakarta	9	
Auto														
Ab ₁														
Ab ₂														
Ab ₃														
Catatan :														

Gambar 6.6 Tabel Identifikasi Sel Panel Besar

PRINSIP

Serum / plasma pasien direaksikan dengan sel panel besar yang terdiri dari 8 sampai 11 reagen sel golongan darah O yang telah diketahui antigen permukaannya.

CARA KERJA

1. Mereaksikan serum/plasma (donor dan pasien) yang diperiksa dengan sel panel besar dalam medium saline pada suhu 20°C, 37°C dan AHG.
2. Hasil pemeriksaan diinterpretasikan dengan melihat pola (gambar reaksi) dari sel panel dalam antigram.

INTERPRETASI HASIL

- 1) Positif (+) => terdapat antibodi dalam serum / plasma

- 2) Negatif (-/ 0) => tidak terdapat antibodi dalam serum / plasma

Tabel 27. Antigam Sel Panel Besar

No.	Donor	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	SK	BA 220	AHG
1	240365	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+			
2	292724	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+			
3	232778	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+			
4	339392	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+			
5	846207	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+			
6	236309	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+			
7	163956	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+			
8	267550	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+			
9	256193	0	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+			
10	501436	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+	+			
11	283591	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0	+	+			
AK																								

Contoh antigen panel 3 :

D, c, E, k, Fy^a, Jk^b, Le^b, P₁, M, N, s, Lu^b

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Tujuan skrining dan identifikasi antibodi pada serum/plasma pasien maupun donor.
2. Tujuan penggunaan sel panel kecil dan sel panel besar.
3. Interpretasi hasil skrining dan identifikasi antibodi pada serum/plasma pasien maupun donor.

Ringkasan

1. Tujuan pemeriksaan skrining dan identifikasi pada donor maupun pasien adalah untuk mengetahui ada-tidaknya antibodi di dalam plasma pada donor maupun pasien, baik yang alamiah maupun imun (alloantibodi)
2. Melakukan pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi membuat pemeriksaan lebih efisien mengurangi kesalahan dan meningkatkan kualitas hasil pemeriksaan untuk donor maupun pasien

Tes 5

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Tes yang digunakan untuk mengetahui ada-tidaknya antibodi di dalam plasma pada donor maupun pasien, baik yang alamiah maupun imun (alloantibodi) adalah.....
 - A. Tes Coombs tidak langsung (Indirect Coombs Test / ICT)
 - B. Tes Coombs langsung (Direct Coombs Test / DCT)
 - C. Crossmatch
 - D. Skrining dan Identifikasi Antibodi
 - E. Cell grouping
- 2) Reagen yang digunakan untuk skrining antibodi yang terdiri dari sekelompok sel darah merah yang terdiri dari 2-3 individu golongan darah O yang sudah diketahui antigen permukaannya (memiliki/tidak antigen golongan darah) adalah
 - A. AHG
 - B. Antisera A,B dan D
 - C. Bovine Albumin
 - D. Sel panel kecil
 - E. Sel panel besar
- 3) Reagen yang digunakan untuk skrining antibodi yang terdiri dari sekelompok sel darah merah yang terdiri dari yang terdiri atas 8-11 individu golongan darah o yang diketahui susunan antigen permukaannya adalah
 - A. AHG
 - B. Antisera A,B dan D
 - C. Bovine Albumin
 - D. Sel panel kecil
 - E. Sel panel besar

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

- 1) D
- 2) C.
- 3) A

Test Formatif 2

- 1) A
- 2) C
- 3) A

Test Formatif 3

- 1) A
- 2) C
- 3) A

Test Formatif 4

- 1) B
- 2) A
- 3) A

Test Formatif 5

- 1) D
- 2) E
- 3) E

Glosarium

AIHA (Auto-Immune Haemolytic Anemia) : anemia yang disebabkan oleh penghancuran eritrosit oleh autoantibodi (antibodi yang diproduksi oleh tubuh untuk menghancurkan eritrositnya sendiri)

HDN (Haemolytic Disease of Newborn) : penyakit hemolitik pada bayi baru lahir yang disebabkan lisisnya sel darah merah pada janin atau bayi baru lahir akibat antibodi dari ibu yang melewati plasenta.

In vitro : metode percobaan yang menggunakan jaringan atau medium diluar organisme hidup, seperti menggunakan tabung reaksi atau cawan petri.

In vivo : metode percobaan yang menggunakan jaringan organisme hidup atau organisme itu sendiri.

Daftar Pustaka

AABB. 2008. Technical manual. In: Brecher ME, editor. 15th ed. United states: AABB.

B Armstrong, J Hardwick, L Raman, E Smart et al. ISBT Science Series. Wiley-Blackwell.

BPPSDM-Kes. 2010. Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit. Jakarta: PPSDM Kemenkes RI

Harmening DM. 1994. Modern blood banking and transfusion practices. 4th ed. Bangkok: F.A Davis Company;

Klein HG, Anstee DJ. 2005. Mollison's Blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. United Kingdom: Blackwell Publishing

Nurhayati B, Noviar G, Kartabrata E dkk. 2017. *Penuntun Praktikum Imunohematologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Bandung*. Bandung : Analis Kesehatan.



IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN

Badan Pengembangan dan Pemberdayaan
Sumber Daya Manusia Kesehatan

Jl. Hang Jebat III Blok F3,
Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120

Telp. (021) 725 5429

Fax. (021) 739 8950