



**Kampus  
Merdeka**  
INDONESIA JAYA

# MODUL PRAKTIKUM

## IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH



ASOSIASI INSTITUSI  
PENDIDIKAN TINGGI  
TEKNOLOGI LABORATORIUM  
MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

TIM PJMK  
IMUNOHEMATOLOGI DAN  
BANK DARAH 2025

**IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK  
DARAH**

**BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI  
LABORATORIUM MEDIK**

Rachmad Bayu Kuncara, SST., M.Imun  
Nelma, SSi., M.Kes  
Ragil Saptaningtyas, S. Tr. A. K., M.Biomed  
Fajar Bakti Kurniawan, S.ST, M.Si  
Larantika Hidayati, SST., M.Imun.  
Evi Puspita Sari, S.ST., M.Imun  
Arfa Izzati, S.Tr.Kes., M.S.Farm.



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI  
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA  
(AIPTLMI)**

**Judul Buku:**

MODUL PRAKTIKUM IMUNOHEMATOLOGI DAN BANK DARAH

**Penulis:**

Rachmad Bayu Kuncara, SST., M.Imun

Nelma,SSi., M.Kes

Ragil Saptaningtyas, S. Tr. A. K., M.Biomed

Fajar Bakti Kurniawan, S.ST, M.Si

Larantika Hidayati, SST., M.Imun.

Evi Puspita Sari, S.ST., M.Imun

Arfa Izzati, S.Tr.Kes.,M.S.Farm.



## Kata Pengantar

Puji syukur kita panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah dapat diselesaikan. Imunohematologi dan Bank Darah adalah salah satu cabang ilmu yang mempelajari cabang ilmu kedokteran laboratorium yang mempelajari antigen dan antibodi golongan darah. Modul ini dirancang untuk memberikan pemahaman dasar tentang prinsip pemeriksaan serta memperkenalkan Anda pada teknik-teknik laboratorium yang digunakan dalam analisis imunohematologi dan bank darah.

Modul ini memberikan pemahaman terkait konsep dasar pemeriksaan imunohematologi dan bank darah, kendali mutu pemeriksaan Imunohematologi dan Bank Darah. Hal ini akan membantu memahami cara kerja laboratorium dalam mendiagnosis berbagai kondisi. Kami berharap modul praktikum Imunohematologi dan Bank Darah ini dapat memberikan landasan yang kuat dalam pemahaman tentang Imunohematologi dan Bank Darah dan memberikan wawasan praktis dalam melakukan analisis Imunohematologi dan Bank Darah.

Saya selaku ketua AIPTLMI ijinilah mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada para dosen TLM seluruh Indonesia yang berkontribusi dalam memberikan masukan, tim kelompok kerja, dan pihak-pihak yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah berjuang dengan segala daya dan upaya, berkorban waktu, tenaga dan pikiran hingga tersusunnya modul ini.

Semoga Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah ini bisa berguna untuk membantu dalam proses penyelenggaraan pendidikan Teknologi Laboratorium Medis yang bermutu. Masukan dan saran tentu sangat diperlukan sebagai evaluasi dan perbaikan untuk penyesuaian sesuai kebutuhan di masa yang akan datang.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Jakarta, September 2025  
Ketua Umum AIPTLMI

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med



## DAFTAR ISI

Kata Pengantar .....	i
Daftar Isi .....	ii
Daftar Tabel .....	iii
Daftar Gambar .....	iv
<b>MODUL 1 TEKNIK PEMISAHAN, PENCUCIAN DAN PEMBUATAN SUSPENSI SEL DARAH MERAH .....</b>	<b>1</b>
1. Pemisahan .....	1
2. Pencucian .....	5
3. Pembuatan suspensi sel darah merah .....	8
<b>MODUL 2 TEKNIK PEMBUATAN TES SEL A, B, DAN O .....</b>	<b>15</b>
<b>MODUL 3 PEMBUATAN <i>COOMBS CONTROL CELL (CCC)</i> .....</b>	<b>24</b>
<b>MODUL 4 VALIDASI REAGEN PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI .....</b>	<b>36</b>
1. Sensitivitas .....	36
2. Spesifisitas .....	37
3. Reproduksiabilitas .....	38
4. Stabilitas .....	40
5. Akurasi dan Presisi .....	41
<b>MODUL 5 PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH ABO RH (METODE SLIDE, BIOPATE DAN TABUNG) .....</b>	<b>51</b>
<b>MODUL 6 <i>CROSMATCH</i> METODE TABUNG DAN GEL .....</b>	<b>61</b>
1. <i>Crosmatch</i> metode Tabung .....	61
a. <i>Crosmatch</i> Rutin .....	62
b. <i>Crosmatch</i> Emergency .....	66
c. <i>Crosmatch</i> Persiapan Operasi .....	68
2. <i>Crosmatch</i> metode Gel .....	72
<b>MODUL 7 TES ANTIGLOBULIN (<i>COOMBS</i>) .....</b>	<b>94</b>
1. <i>Direct Antiglobulin Test (DAT)</i> .....	96
2. <i>Indirect Antiglobulin Test (IAT)</i> .....	97
<b>MODUL 8 PEMERIKSAAN INFEKSI MENULAR LEWAT TRANFUSI DARAH .....</b>	<b>113</b>
1. Hepatitis B surface antigen (HbsAg) .....	116
2. Antibodi anti-HIV .....	124
3. Anti HCV .....	132
4. Tes Sifilis .....	137
<b>MODUL 9 SKRINING DAN IDENTIFIKASI ANTIBODI .....</b>	<b>153</b>
1. Uji skrining antibodi .....	155
2. Uji identifikasi antibodi .....	158
<b>BIODATA PENULIS .....</b>	<b>166</b>
<b>BIODATA PENULIS .....</b>	<b>159</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Prosedur Pemisahan Sel Darah Merah dari Plasma .....	3
Tabel 1.2 Prosedur pencucian sel.....	6
Tabel 1.3 Prosedur kerja Pembuatan suspensi sel 5% .....	9
Tabel 1.4 Jenis-jenis Suspensi Sel dan Kegunaannya.....	10
Tabel 5.1 Perbandingan metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh.....	52
Tabel 5.2 Karakteristik Golongan Darah ABO .....	52
Tabel 7.1 Prosedur DAT dan IAT.....	101
Tabel 7.2 Penyebab umum positif palsu (false-positive) pada Tes Antiglobulin.....	102
Tabel 7.3 Penyebab umum negatif palsu (false-negative) pada Tes Antiglobulin .....	102
Tabel 9.1 Sistem Golongan Darah Non-ABO .....	153
Tabel 9.2 Tabel Identifikasi Sel Panel .....	159



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Hasil Pemisahan Sampel Darah .....	2
Gambar 2.1 Alur Pembuatan Tes Sel ABO 5% .....	17
Gambar 5.1 Aglutinasi metode slide .....	54
Gambar 5.2 Aglutinasi metode tabung .....	54
Gambar 5.3 Hasil Aglutinasi metode bioplate .....	55
Gambar 6.1 Alat <i>Centrifuse</i> .....	63
Gambar 6.2 Pemeriksaan <i>Crossmatch</i> Fase II .....	64
Gambar 6.3 Pemeriksaan <i>Crossmatch</i> Fase III .....	65
Gambar 6.4 Prinsip Pemeriksaan <i>Crossmatch</i> gel .....	73
Gambar 6.5 alat Mikropipet .....	74
Gambar 6.6 ID Card <i>Crossmatch</i> gel .....	75
Gambar 7.1 Tes antiglobulin .....	95
Gambar 7.2 <i>Direct Antiglobulin Test (DAT)</i> .....	96
Gambar 7.3 <i>Indirect Antiglobulin Test (IAT)</i> .....	97
Gambar 7.4 Ringkasan reagen AHG .....	98
Gambar 8.1 Interpretasi pemeriksaan HBsAg rapid test (Fortress Diagnostics) .....	118
Gambar 8.2 Rapid Test Anti-HIV Cassete .....	125
Gambar 8.3 Prosedur Rapid Test Anti-HIV Cassete .....	125
Gambar 8.4 Interpretasi hasil anti HIV .....	126
Gambar 8.5 Hasil pemeriksaan VDRL .....	138
Gambar 8.6 Titer TPHA .....	142
Gambar 9.1 Prinsip <i>Indirect Antiglobulin Test (IAT)</i> tabung .....	155
Gambar 9.2 Interpretasi Hasil <i>Indirect Antiglobulin Test (IAT)</i> tabung .....	157

# BAB I

## TEKNIK PEMISAHAN PENCUCIAN DAN PEMBUATAN SUSPENSI SEL



### TUJUAN PEMBELAJARAN

Mahasiswa mampu memahami dan menerapkan teknik-teknik dasar pemisahan plasma dan pencucian sel darah yang berasal dari darah lengkap (*whole blood*) serta membuat suspensi sel darah merah yang homogen dan stabil dengan menggunakan metode sentrifugasi dan pencucian yang tepat.



### PENDAHULUAN

Perlakuan sampel dalam serologi dapat dilakukan melalui 3 tahap, yakni pemisahan, pencucian, serta pembuatan suspensi sel darah merah.

#### 1. Pemisahan

Tahap pertama dalam perlakuan sampel adalah dengan teknik pemisahan. Darah lengkap terdiri atas sel – sel darah dan juga plasma, untuk memisahkan sel darah merah dari plasma diperlukan prosedur pemisahan menggunakan *centrifuge* (Evriarti, 2016). Pada lingkup serologi, pemisahan bertujuan untuk mempersiapkan sel darah merah dan plasma dalam pemeriksaan pre-transfusi yakni konfirmasi golongan darah dan uji silang serasi (Supenah *et al.*, 2024).

Prinsip kerja dari pemisahan didasarkan pada perbedaan berat jenis dimana sel darah merah yang berat akan mengendap di dasar tabung, sedangkan plasma dan *buffycoat* yang lebih ringan akan berada di atasnya (Indrawati & Amoryna, 2023). Pemisahan sampel ini dapat dilakukan dengan proses pemutaran dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit.



Gambar 1.1 Hasil Pemisahan Sampel Darah



## PRAKTIKUM

### A. Pra analitik

#### 1. Tujuan

Pemisahan sampel darah EDTA ditujukan untuk memisahkan sel darah merah dari plasma dan *buffycoat*

#### 2. Prinsip

Prinsip pemisahan sampel yakni dengan adanya perbedaan berat jenis massa, dimana sel darah merah yang lebih berat akan mengendap di dasar tabung sedangkan plasma dan *buffycoat* yang lebih ringan akan berada di atas.

#### 3. Metode

Menggunakan metode *tube test* dengan pemutaran

#### 4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Sampel darah EDTA segar/ yang disimpan pada suhu 2 – 6°C

#### 5. Alat dan bahan

Alat :

- a. *Centrifuge*
- b. Tabung reaksi
- c. Rak tabung
- d. Pipet tetes






Bahan:

- a. Sampel darah EDTA

# Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

## B. Analitik

Tabel 1.1 Prosedur Pemisahan Sel Darah Merah dari Plasma

	<p><b>Langkah 1</b></p> <p>Masukkan tabung EDTA ke <i>centrifuge</i>, kemudian letakkan pada posisi seimbang</p>
	<p><b>Langkah 2</b></p> <p>Atur kecepatan dan waktu pemutaran yakni 3000 rpm selama 2 menit</p> <p>Tekan Start, tunggu hingga pemutaran selesai</p>
	<p><b>Langkah 3</b></p> <p>Pisahkan plasma dan <i>buffycoat</i> dari sel darah merah ke tabung lain</p>
<p><b>Hasil pemisahan</b></p> <div data-bbox="261 1196 644 1480"></div> <p style="text-align: center;">→</p> <div data-bbox="868 1196 1251 1480"></div>	

## C. Post analitik

1. Sumber kesalahan pemeriksaan:

- a. Kecepatan pemutaran dan waktu pada proses sentrifugasi tidak sesuai sehingga pemisahan plasma dari sel darah merah kurang maksimal
- b. Pemipetan tidak hati hati sehingga sel darah merah bercampur dengan plasma

2. Jaminan mutu pemeriksaan:

- a. Sel darah merah mengendap di dasar tabung, sedangkan plasma dan buffycoat berada di atas
- b. Plasma berwarna kuning dan jernih

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

**D. Jurnal Praktikum**

Judul	
Tujuan	
Prinsip	
Spesimen	
Alat dan bahan	
Langkah kerja	
Hasil	
Kesimpulan	

Pembimbing

(.....)

(Kota).....2025

Praktikan

(.....)



# PENDAHULUAN

## 2. Pencucian

Sel darah merah kemudian dilakukan teknik pencucian menggunakan larutan Saline atau NaCl 0,9% sebanyak 3 – 5 kali (Lestari, 2024). Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan sisa – sisa protein, plasma, sel – sel darah merah yang rapuh atau lisis sehingga diharapkan hanya terdapat sel darah merah pekat 100% (Pulliam *et al.*, 2021).



# PRAKTIKUM

## A. Pra analitik

### 1. Tujuan pemeriksaan

Tujuan pencucian sel diantaranya:

- Menghilangkan protein yang ada dalam plasma yang dikhawatirkan dapat mengganggu pembacaan hasil pemeriksaan
- Menghilangkan sel – sel darah yang rapuh dan lisis
- Menghilangkan protein golongan darah spesifik seperti A, B, Lewis yang akan menetralkan antisera

### 2. Prinsip

Adanya penambahan larutan saline dan proses pemutaran akan menghasilkan sel darah merah pekat yang bebas dari protein dan globulin

### 3. Metode

Pencucian sel menggunakan metode *tube test* dengan pemutaran

### 4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel

Sel darah merah tidak lisis/rusak, berasal dari darah EDTA

### 5. Alat dan bahan

Alat :

- Centrifuge*
- Tabung reaksi
- Rak tabung
- Pipet tetes
- Tempat limbah infeksius

Bahan:

- Sel darah merah
- Larutan Saline
- Parafilm
- Aquadest

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### B. Analitik

Tabel 1.2 Prosedur pencucian sel

	<p><b>Langkah 1</b></p> <p>Siapkan 1 tabung bersih, beri label “SDM Pencucian”</p> <p>Masukkan 8 tetes sel darah merah yang telah dipisahkan dari plasma ke tabung</p>
	<p><b>Langkah 2</b></p> <p>Tambahkan larutan Saline hingga <math>\frac{3}{4}</math> tabung</p>
	<p><b>Langkah 3</b></p> <p>Tutup dengan parafim, homogenkan secara perlahan</p>
	<p><b>Langkah 4</b></p> <p>Masukkan tabung ke <i>centrifuge</i> lalu putar dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit</p>
	<p><b>Langkah 5</b></p> <p>Buka parafilm, kemudian buang supernatan hingga batas permukaan sel darah merah</p>
<p><b>Langkah 6</b></p> <p>Ulangi <b>langkah 2</b> sampai dengan <b>langkah 5</b> sebanyak 3 kali</p>	

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah



Sel darah merah pekat (100%) siap untuk dibuat suspensi sel

### C. Post analitik

1. Sumber kesalahan kerja
  - a. Pemipetan supernatan tidak bersih sehingga masih terdapat sisa protein pada sel darah merah
  - b. Pada saat menghomogenkan terlalu kencang sehingga sel darah merah lisis
  - c. Kecepatan pemutaran serta waktu tidak sesuai sehingga proses pelepasan sisa protein dan sel lainnya tidak maksimal
2. Jaminan mutu pemeriksaan

Sel darah merah berwarna merah pekat

### D. Jurnal Praktikum

Judul	
Tujuan	
Prinsip	
Spesimen	
Alat dan bahan	
Langkah kerja	

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hasil	
Kesimpulan	

Pembimbing

(Kota).....2025

Praktikan

(.....)

(.....)



## PENDAHULUAN

### 3. Pembuatan suspensi sel

Sel darah merah pekat 100% kemudian dibuat suspensi sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan (Yuniarty *et al.*, 2024). Suspensi sel darah merah dapat digunakan untuk beberapa pemeriksaan pre transfusi tertentu, seperti pemeriksaan golongan darah dan *crossmatch* (Azizah Ramadhanty *et al.*, 2023).



## PRAKTIKUM

### A. Pra Analitik

#### 1. Tujuan Pemeriksaan

Pembuatan suspensi sel ditujukan agar reaksi aglutinasi yang terbentuk lebih optimal sehingga hasil lebih akurat.

#### 2. Metode

Pembuatan suspensi sel dilakukan dengan menggunakan metode tabung.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 3. Prinsip

Sel darah merah pekat dilarutkan dalam Saline atau NaCl 0,9% dengan perbandingan tertentu sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan.

### 4. Jenis dan Kriteria specimen/syarat sampel

Sel darah merah pekat bebas protein dan globulin.

### 5. Alat dan bahan

Alat :


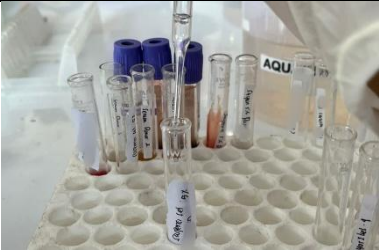


- Tabung reaksi
- Rak tabung
- Pipet tetes

Bahan:

- Sel darah merah pekat (100%)
- Larutan Saline

## B. Analitik

Tabel 1.3 Prosedur kerja Pembuatan suspensi sel 5%

	<b>Langkah 1</b> Siapkan 1 tabung bersih, beri label "Suspensi sel 5%" Masukkan 1 tetes sel darah merah pekat (100%)
	<b>Langkah 2</b> Tambahkan 19 tetes larutan Saline
	<b>Langkah 3</b> Homogenkan secara perlahan menggunakan pipet
	<b>Langkah 4</b> Suspensi Sel darah merah 5% siap digunakan untuk pemeriksaan

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Tabel 1.4 Jenis-jenis Suspensi Se dan Kegunaannya

Jenis Suspensi	SDM Pekat	Larutan Saline	Kegunaan
Suspensi sel 5%	1 tetes	19 tetes	Pemeriksaan golongan darah metode Tube Test Pemeriksaan <i>crossmatch</i> / uji slang serasi
Suspensi sel 10%	1 tetes	9 tetes	Pemeriksaan golongan darah ABO metode Slide/Bioplate
Suspensi sel 40%	2 tetes	3 tetes	Pemeriksaan golongan darah Rhesus metode Slide/Bioplate

Suspensi sel kemudian disimpan pada suhu 2 – 6°C dan dapat digunakan dalam jangka waktu 7 hari.

### C. Post Analitik

1. Sumber kesalahan kerja:

Perbandingan antara sel darah merah dan larutan saline tidak sesuai sehingga persentase enceran yang dibuat kurang tepat

2. Jaminan mutu pemeriksaan

Suspensi yang baik adalah suspensi yang mampu mengoptimalkan proses aglutinasi serta memberikan hasil akurat pada pemeriksaan

### D. Jurnal Praktikum

Judul	
Tujuan	
Prinsip	
Spesimen	
Alat dan bahan	

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Langkah kerja	
Hasil	
Kesimpulan	

Pembimbing

(Kota).....2025

Praktikan

(.....)

(.....)



## EVALUASI

1. Seorang TLM melakukan proses pemisahan darah EDTA dengan metode sentrifugasi. Setelah pemutaran pada kecepatan 3000 rpm selama 2 menit, hasil pemisahan menunjukkan plasma bercampur dengan sel darah merah. TLM tersebut mencurigai adanya kesalahan prosedur. Apa kemungkinan penyebab utama dari hasil pemisahan yang tidak optimal tersebut?
  - A. Suhu penyimpanan darah EDTA terlalu rendah
  - B. Pemipetan dilakukan terlalu cepat
  - C. Penggunaan larutan saline yang tidak sesuai
  - D. Kecepatan dan waktu pemutaran sentrifuge tidak tepat**
  - E. Penggunaan tabung reaksi yang terlalu kecil
  
2. Pada saat melakukan pencucian sel darah merah, TLM lupa menghomogenkan larutan sebelum sentrifugasi dan hanya melakukan pencucian satu kali. Setelah dilakukan pemeriksaan, hasilnya menunjukkan gangguan aglutinasi. Apa kemungkinan penyebab gangguan aglutinasi tersebut?
  - A. Pemanasan larutan saline yang berlebihan
  - B. Konsentrasi sel darah merah terlalu tinggi
  - C. Masih terdapat sisa protein dan substansi golongan darah**
  - D. Larutan saline terlalu encer
  - E. Penggunaan EDTA yang terlalu banyak dalam sampel darah
  
3. Seseorang TLM membuat suspensi sel 10% untuk pemeriksaan golongan darah metode *slide*. TLM tersebut mencampurkan 1 tetes sel darah merah pekat dengan 19 tetes saline. Hasil aglutinasi tampak lemah dan tidak jelas. Apa kemungkinan kesalahan yang dilakukan?
  - A. Jumlah sel darah merah terlalu banyak
  - B. Jumlah saline terlalu sedikit
  - C. Perbandingan suspensi tidak sesuai**
  - D. Suspensi disimpan terlalu lama
  - E. Larutan saline tidak steril

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

4. TLM melakukan pencucian sel darah merah sebanyak 3 kali dengan larutan saline dan memutarnya dengan kecepatan yang disarankan. Namun setelah homogenisasi, terlihat sel darah merah lisis.

Apa penyebab paling mungkin dari kondisi tersebut?

- A. Larutan saline terlalu pekat
- B. Sentrifugasi dilakukan tanpa penyeimbangan tabung
- C. Proses homogenisasi dilakukan terlalu kuat**
- D. Jumlah saline yang digunakan terlalu banyak
- E. Suhu larutan terlalu tinggi saat pencucian

5. Pada saat pembuatan suspensi sel 5%, mahasiswa memasukkan 2 tetes sel darah merah dan 19 tetes saline. Setelah pemeriksaan serologi dilakukan, terbentuk aglutinasi yang terlalu kuat dan sulit dibaca.

Apa yang sebaiknya diperbaiki untuk memperoleh hasil pemeriksaan yang optimal?

- A. Mengurangi volume larutan saline menjadi 10 tetes
- B. Mengganti metode tabung dengan metode slide
- C. Mengurangi jumlah sel darah merah pekat yang digunakan**
- D. Menambahkan larutan saline menjadi 40 tetes
- A. Menyimpan suspensi dalam suhu ruang sebelum digunakan

### **Bentuk Evaluasi :**

1. Tugas
2. Tes
3. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)
  - A. Aspek Penilaian Sikap (20%)
    - 1) Kehadiran dan kedisiplinan
    - 2) Kerja sama (kolaborasi)
    - 3) Tanggung jawab
    - 4) Inisiatif dan kemandirian
    - 5) Sikap positif dan etika
  - B. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
    - 1) Pretest
    - 2) Ujian Tertulis
  - C. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
    - 1) Keterampilan teknis/praktis
    - 2) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
    - 3) Laporan



### RINGKASAN

BAB ini membahas tiga tahapan penting dalam perlakuan sampel darah, yaitu pemisahan, pencucian, dan pembuatan suspensi sel darah merah, yang merupakan dasar dalam pemeriksaan serologis. Tahap pertama adalah pemisahan sel darah merah dari plasma menggunakan metode sentrifugasi berdasarkan perbedaan berat jenis, yang bertujuan mempersiapkan sampel untuk pemeriksaan pre-transfusi. Selanjutnya, dilakukan pencucian sel darah merah sebanyak 3–5 kali menggunakan larutan saline 0,9% untuk menghilangkan protein, sisa plasma, serta sel yang rusak agar diperoleh sel darah merah pekat yang bersih. Tahap terakhir adalah pembuatan suspensi sel, di mana sel darah merah pekat diencerkan dengan saline dalam rasio tertentu (misalnya 5%, 10%, atau 40%) sesuai kebutuhan pemeriksaan seperti golongan darah dan uji silang serasi. Setiap tahap dilengkapi dengan prinsip kerja, metode, prosedur, serta jaminan mutu untuk menjamin hasil pemeriksaan yang akurat dan andal.

## BAB II

### TEKNIK PEMBUATAN TES SEL A, B, DAN O



#### TUJUAN PEMBELAJARAN

Mahasiswa mampu memahami konsep dasar dan pentingnya tes sel A, B, dan O dalam pemeriksaan serologi, serta dapat menerapkan teknik pembuatan tes sel A, B, dan O secara mandiri dengan menggunakan metode yang tepat dan aseptik.



#### PENDAHULUAN

Tes sel A, B, dan O merupakan reagen yang dalam pemeriksaan golongan darah untuk mendeteksi adanya antibodi dalam serum/plasma (Khoonijah & Qomariyah, 2019). Tes sel terbuat dari darah donor yang sudah diketahui secara pasti golongan darahnya yang kemudian dilakukan teknik *pooling* (menggabungkan golongan darah yang sejenis dari orang yang berbeda) (Rassajati *et al.*, 2022). Tes Sel ABO 5% umumnya digunakan sebagai reagen untuk mereaksikan ikatan aglutinasi antara Antigen dengan Antibodi pada pemeriksaan golongan darah yakni *serum grouping* (Ammariah *et al.*, 2022). Tes Sel ABO 5% dapat digunakan dalam jangka waktu 1 – 2 hari serta disimpan pada suhu 2 – 6°C (Zatalini *et al.*, 2024).

Dengan demikian, penggunaan Tes Sel ABO 5% memiliki peran penting dalam memastikan keakuratan pemeriksaan golongan darah, terutama pada uji serum grouping. Reagen ini membantu mendeteksi keberadaan antibodi secara tepat sehingga dapat meminimalisir kesalahan interpretasi hasil pemeriksaan serta mendukung keselamatan pasien dalam prosedur transfusi darah (Zatalini *et al.*, 2024).



## PRAKTIKUM

### A. Pra Analitik

1. Tujuan

Sebagai reagen untuk identifikasi adanya Antibodi A dan/atau Antibodi B yang terdapat dalam serum/ plasma sampel yang diperiksa

2. Prinsip

Sel darah merah pekat dilarutkan dalam Saline atau NaCl 0,9% dengan perbandingan tertentu sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan

3. Metode

Pembuatan Tes sel ABO menggunakan metode Tabung

4. Jenis dan kriteria specimen/ syarat sampel

- a. Darah yang akan digunakan sudah dikonfirmasi golongan darahnya
- b. Tes sel A: pooling sel darah merah golongan darah A dari 3 orang yang berbeda
- c. Tes sel B: berasal dari sel darah merah golongan darah B 3 orang yang sama
- d. Tes sel O: pooling sel darah merah golongan darah O dari 3 orang yang berbeda

5. Alat dan bahan

Alat :

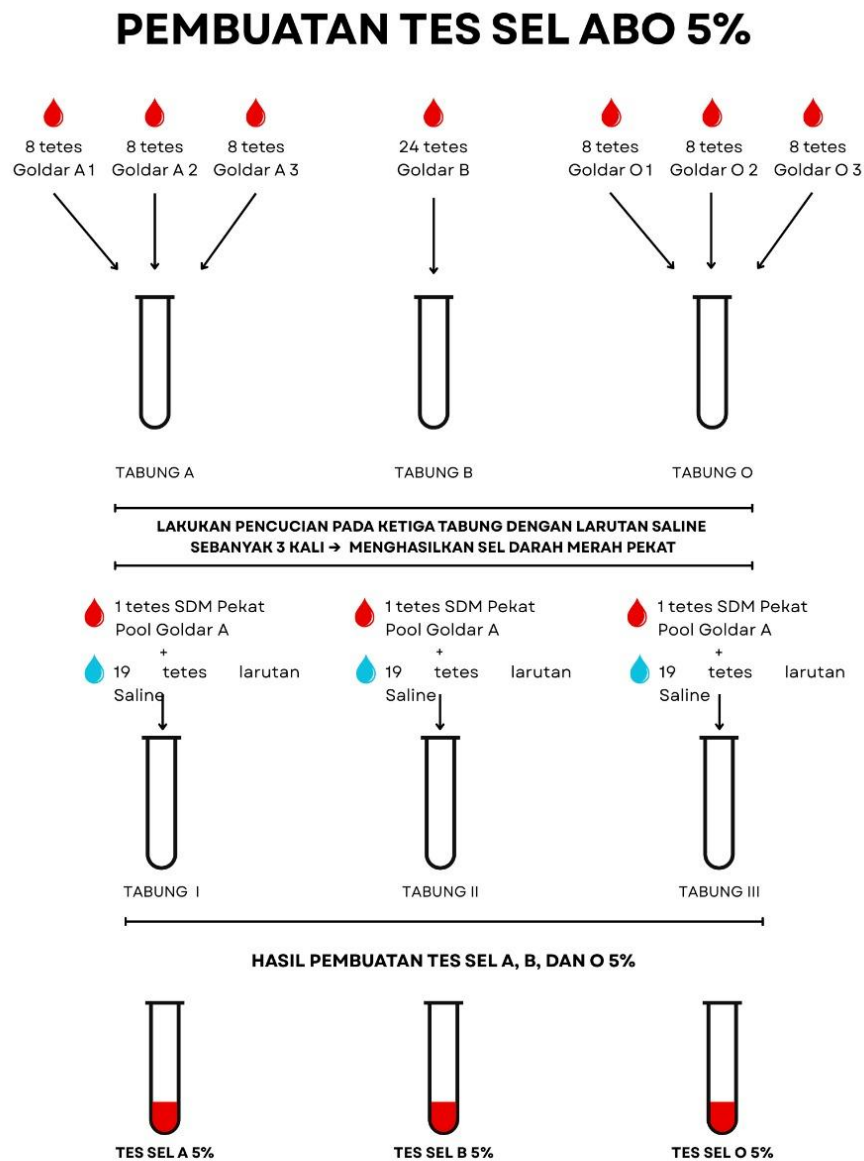
- a. *Centrifuge*
- b. Tabung reaksi
- c. Rak tabung
- d. Pipet tetes
- e. Tempat limbah infeksius

Bahan:

- a. Sel darah merah goldar A, B, dan O
- b. Larutan Saline
- c. Parafilm
- d. Aquadest

**B. Analitik**

Prosedur pembuatan Tes Sel ABO



Gambar 2.1 Alur Pembuatan Tes Sel ABO 5%

- 1) Buatlah pool masing masing golongan darah:  
Pool A: golongan darah A dari 3 orang yang berbeda  
Pool B: golongan darah B dari 3 orang yang berbeda  
Pool O: golongan darah O dari 3 orang yang berbeda
- 2) Masukkan  
Tabung 1: 8 tetes pool golongan darah A dari 3 orang yang berbeda

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Tabung 2: masukkan 8 tetes pool golongan darah B dari 3 orang yang berbeda

Tabung 3: masukkan 8 tetes pool golongan darah O dari 3 orang yang berbeda

- 3) Masing – masing tabung dilakukan pencucian dengan larutan Saline sebanyak 3 kali
- 4) Buat suspensi sel darah merah 5% dari masing – masing golongan darah  
(1 tetes SDM pekat + 19 tetes saline)

### **C. Post analitik**

1. Sumber kesalahan pemeriksaan:
  - a. Proses pencucian yang kurang bersih dapat menyebabkan adanya sisa protein dan globulin sehingga dapat mempengaruhi pembacaan hasil aglutinasi
  - b. Perbandingan pooling antara 3 jenis darah tidak sama banyak
  - c. Perbandingan antara sel darah merah dan larutan Saline tidak tepat sehingga pengenceran yang dibuat tidak sesuai
2. Jaminan mutu pemeriksaan  
Tes sel ABO 5% dapat memberikan hasil yang akurat dalam pemeriksaan golongan darah metode *Reverse Grouping*

### **D. Jurnal Praktikum/ laporan sementara**

Judul	
Tujuan	
Prinsip	
Spesimen	
Alat dan bahan	
Langkah kerja	

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hasil	
Kesimpulan	

Pembimbing

(Kota).....2025  
Praktikan

(.....)

(.....)



### EVALUASI

1. Seorang TLM akan membuat tes sel golongan darah A, B, dan O sebagai reagen untuk pemeriksaan serologi. Ia harus membuat pool dari darah donor dengan golongan darah yang sudah dikonfirmasi. Jika ia ingin membuat pool tes sel A, berapa donor yang harus digabungkan?
  - A. Pool dari 1 donor
  - B. Pool dari 2 donor, agar sampel lebih homogen
  - C. Pool dari 3 donor, untuk mengurangi variabilitas antigen dan menghasilkan reagen yang stabil**
  - D. Pool dari 5 donor, agar mendapatkan volume yang besar
  - E. Tidak perlu pooling, cukup gunakan darah dari satu donor saja
2. Pada proses pembuatan tes sel ABO 5%, mahasiswa kurang teliti saat melakukan pencucian sel darah merah dengan larutan saline. Akibatnya, sisa protein plasma masih menempel pada sel. Apa kemungkinan dampak dari kesalahan ini terhadap hasil pemeriksaan?
  - A. Tidak ada dampak
  - B. Terjadi false negative
  - C. Terjadi false positive**

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- D. Sampel menjadi rusak
  - E. Larutan saline menjadi tercemar
3. Dalam pembuatan suspensi sel darah merah 5% untuk tes sel ABO, berapa volume larutan saline yang harus ditambahkan ke 1 tetes sel darah merah pekat agar diperoleh suspensi yang tepat?
- A. 5 tetes saline
  - B. 9 tetes saline
  - C. 10 tetes saline
  - D. 19 tetes saline**
  - E. 25 tetes saline
4. Seorang TLM menggunakan sel darah merah golongan B dari tiga donor berbeda untuk membuat tes sel B. Setelah pemeriksaan, hasil reagen menunjukkan ketidakakuratan dalam deteksi antibodi. Apa kesalahan prosedur yang paling mungkin terjadi?
- A. Pooling sel darah untuk golongan B dari 3 donor**
  - B. Pencucian sel darah merah dilakukan 3 kali
  - C. Suspensi sel dibuat dengan perbandingan 1:19
  - D. Penyimpanan tes sel pada suhu 2 – 6°C
  - E. Penggunaan metode tabung dalam pembuatan tes sel
5. Setelah selesai membuat tes sel ABO 5%, reagen disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2 – 6°C. Berapa lama reagen ini dapat disimpan sebelum kualitasnya menurun dan harus dibuat ulang?
- A. 6 jam
  - B. 12 jam
  - C. 1 – 2 hari**
  - D. 5 hari
  - E. 7 hari

### **Bentuk Evaluasi :**

1. Tugas
2. Tes
3. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)
  - a. Aspek Penilaian Sikap (20%)
    - 1) Kehadiran dan kedisiplinan
    - 2) Kerja sama (kolaborasi)
    - 3) Tanggung jawab
    - 4) Inisiatif dan kemandirian
    - 5) Sikap positif dan etika

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- b. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
  - 1) Pretest
  - 2) Ujian Tertulis
- c. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
  - 1) Keterampilan teknis/praktis
  - 2) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
  - 3) Laporan



### **RINGKASAN**

Teknik pembuatan tes sel A, B, dan O yang berfungsi sebagai reagen dalam pemeriksaan golongan darah untuk mendeteksi antibodi dalam serum atau plasma. Tes sel dibuat dari darah donor dengan golongan darah yang sudah dikonfirmasi, menggunakan metode pooling sel darah merah dari beberapa individu (misalnya pooling golongan darah A dan O dari 3 donor berbeda, sedangkan golongan darah B dari 3 donor). Sel darah merah pekat dicuci dengan larutan saline dan dibuat suspensi 5% untuk digunakan sebagai reagen dalam pemeriksaan golongan darah metode *reverse* atau serum grouping. Proses ini harus dilakukan dengan teknik aseptik dan pengenceran yang tepat agar hasil aglutinasi akurat. Kesalahan umum meliputi pencucian yang kurang bersih dan ketidaktepatan pengenceran yang dapat mempengaruhi validitas hasil pemeriksaan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ammariah, H., Nurhidayanti, N., Bastian, B., & Kartika, T. (2022). Perbedaan Hasil Derajat Aglutinasi Serum Grouping Tube Test Dengan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Siap Pakai dan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Dari Garam Dapur. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 19(2), 208–214. <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v19i2.9500>
- Azizah Ramadhanty, T., Hayati, E., Nurhayati, B., & Noviar, G. (2023). Pengaruh Lama Simpan Dan Variasi Konsentrasi Suspensi Darah Pasien Talasemia Terhadap Hasil Pemeriksaan *Crossmatch* Metode Tabung. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 190–198. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1483>
- Bhagwat, S. N., Sharma, J. H., Jose, J., & Modi, C. J. (2015). Comparison Between Conventional and Automated Techniques for Blood Grouping and *Crossmatching*: Experience from a Tertiary Care Centre. *Journal of Laboratory Physicians*, 7(02), 096–102. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.163130>
- BPPSDM-Kes. (2010). *Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit*. PPSDM Kemenkes RI.
- Evriarti, P. R. (2016). Perbedaan Serum dan Plasma EDTA yang Langsung Diperiksa dan Ditunda 1 dan 2 Jam terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mahasiswa DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas Tahun 2016. *Jurnal Opac UKMC Palembang*, 3(2), 185–190.
- Hermening, D. M. (2019). *Antigen-Antibody Characteristic Chart \**.
- Indrawati, Y., & Amoryna, D. (2023). Inovasi Centrifuge Alternatif dari Motor Kipas Angin untuk Preparasi Pengujian Berbagai Sampel di Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 106. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.84988>
- Irawaty, I., AM, R., & Arif, M. (2018). Characteristic Of *Crossmatch* Types In Compatibility Testing On Ddiagnosis And Blood Types Using Gel Method (Ciri Inkompatibilitas Uji Cocok Serasi Metode Gel terhadap Diagnosis dan Golongan Darah). *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 23(1), 36–41. <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v23i1.1182>
- Jaime-Pérez, J. C., & Almaguer-Gaona, C. (2016). Rediscovering the *Coombs* test. *Medicina Universitaria*, 18(72), 185–186. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>
- Khooijah, N. M., & Qomariyah, N. (2019). Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Metode Cell Grouping Berdasarkan Tingkat Konsentrasi Suspensi Sel Degree of agglutination of blood group examination Cell Ceiling Method Based on Cell Suspension Concentration Level NURUL QOMARIYAH Jurusan Ana. *Jaringan Laboratorium Medis*, 01(01), 27–33.
- Lestari, N. L. G. D. (2024). Metode *Crossmatch* pada Bank Darah Rumah Sakit. *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Psikologi*, 1(1), 19.
- Mulyantari, Ni Kadek, I Wayan Putu Sutirta Yasa, J. A. (2017). *Laboratorium Pratransfusi Up Date*. Denpasar : Udayana University Press., 2017.
- Oktari, A., Handriani, R., & Musbihah, S. S. (2021). Optimization Concentration Control Cell *Coombs* (CCC) for Validity Tests on *Crossmatching* Examination. *Journal of Physics: Conference Series*, 1764(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012016>
- Oktari, A., & Mulyati, L. (2022). Pengaruh Waktu Dan Suhu Penyimpanan Sampel Darah Terhadap

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Cross Match). *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 3(2), 133–145. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i2.88>

PMI Jayapura. (2022). *Prosedur Pemeriksaan Crossmatch metode gel PMI Jayapura*.

Pulliam, K. E., Joseph, B., Makley, A. T., & Caldwell, C. C. (2021). Washing Packed Red Blood Cells Decreases Red Blood Cell Storage Lesion Formation. *Surgery*, 176(1), 100–106. <https://doi.org/10.1177/0022146515594631.Marriage>

Rassajati, S., Mentari, D., Pebrina, R., & Prasetya, H. R. (2022). Perbedaan Waktu Penambahan Reagen AHG Berpengaruh Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi Metode Tabung. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 9(1), 34. <https://doi.org/10.32807/jambs.v9i1.267>

Sri Tumpuk, Laila Kamilla, & Linda Triana. (2022). Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Jumlah Eritrosit Pada Transfusi Darah di Rumah Sakit Bank Darah RSUD Dr. Soedarso Pontianak. *Poltekita : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 16(3), 362–367. <https://doi.org/10.33860/jik.v16i3.1576>

Supenah, P., Ikhwani, & Setiawan, F. (2024). Skrining Bank Darah untuk Pemeriksaan Golongan Darah di Kelurahan Tukmudal Kecamatan Sumber. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat*, 7, 1–23.

Yuniarty, T., Astuti, T. D., Zafrida, S., & Garini, A. (2024). Modul Praktikum Hematologi. In *Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia*.

Zatalini, K. S., Kuncara, R. B., & Sugihantono, A. (2024). Derajat Aglutinasi pada Pemeriksaan Golongan Darah Metode Tabung Berdasarkan Masa Simpan Test Sel A dan Test Sel B Hari Ke-0, Ke-2, Ke-4, Ke- 6 dan Ke-8. *Jurnal Laboratorium Medis*, 06(02), 112–121.

## BAB III

## PEMBUATAN COOMBS CONTROL CELL (CCC)



### TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell*.
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell*.
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell*.



### PENDAHULUAN

#### **Pembuatan *Coombs control cell* (CCC).**

*Coombs control cell* (CCC) adalah reagen test cells, yang sengaja dibuat dari sel darah merah normal yang dibuat mengikat (coated) dengan suatu *antibody incomplet* (IgG).

*Coombs control cells* (CCC) ini perlu dibuat adalah untuk memberi penilaian pada hasil kerja cross match yang kita lakukan merupakan salah satu reagensia yang digunakan untuk pemeriksaan darah lanjutan dalam transfusi darah (Ajmani, 2020 & Kiswari, 2014).

- Bila pada semua fase 1 s/d fase III tidak ada reaksi dan dengan sel uji *Coombs* (CCC) terjadi agglutinasinya maka dapat disimpulkan bahwa langkah-langkah kerja kita pada cross match sudah benar.
- Bila dengan sel uji *Coombs* (CCC) tadi tidak ada reaksi berarti ada kesalahan dalam langkah-langkah kerja kita pada cross match yang mungkin disebabkan:
  - \* Serum *Coombs* netral oleh karena pencucian cell yang kurang bersih.
  - \* Serum *Coombs*nya rusak.
  - \* Mungkin lupa meneteskan serum *Coombs* dalam test tersebut (Nurhayati *et al.*, 2017)

### **Cara Pembuatan *Coombs control cell* (CCC)**

Sel uji *Coombs*/CCC harus selalu disimpan dalam lemari dingin yang bersuhu 2 – 6 °C. Bila tidak menunjukkan adanya hemolisis sel ini dapat dipakai selama 1 minggu.

#### **A. Pra analitik**

##### 1. Tujuan Pemeriksaan :

- a. Mahasiswa dapat mengetahui prosedur kerja pembuatan *Coombs control cell* (CCC)
- b. Mahasiswa dapat mengontrol hasil tes *Coombs control cell* negatif , serta menguji *Coombs* serum (Penggunaan sel *Coombs* kontrol ini dianjurkan untuk validasi pemeriksaan)

##### 2. Metode :

Pembuatan *Coombs control cell* adalah untuk mengontrol hasil tes *Coombs* negatif dan menguji *Coombs* serum dengan reaksi akhir adalah aglutinasi

##### 3. Prinsip :

Antibodi yang terdapat dalam serum / plasma bila direaksikan dengan antigen pada sel darah merah melalui inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C dalam waktu tertentu dan dengan penambahan anti monoglobulin akan terjadi aglutinasi .

##### 4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

###### a. Jenis Specimen :

- 1) Suspensi Eritrosit
- 2) Serum/Plasma

###### b. Kriteria Specimen/ Syarat sampel :

Untuk pembuatan *Coombs control cell* (CCC), sampel yang dibutuhkan adalah sel darah merah (SDM) dengan golongan darah O Rhesus positif (O Rh+) yang segar dan belum diolah. Sampel SDM ini kemudian akan dilapisi dengan anti-D IgG untuk menjadi CCC.

###### 1) Pemilihan golongan darah O Rh+:

Golongan darah O Rh+ dipilih karena memiliki jumlah antigen yang paling sedikit, sehingga tidak akan mengganggu uji *crossmatch* dengan antibodi lain yang mungkin ada di dalam reagen AHG.

###### 2) Kesegaran SDM :

SDM yang segar dan belum diolah memastikan tidak adanya antibodi yang terikat secara alami pada sel, yang dapat memicu reaksi palsu dalam uji *Coombs*.

### 3) Pelapisan dengan anti-D IgG:

Anti-D IgG digunakan untuk melapisi Sel Darah Merah (SDM) O Rh<sup>+</sup> dan menciptakan sebuah sel yang dapat bereaksi secara positif dengan reagen AHG. Reaksi positif ini merupakan indikasi bahwa reagen anti human globulin (AHG) masih berfungsi dengan baik.

## 5. Alat dan bahan

### a. Alat :

- 1) Rak Tabung
- 2) Tabung reaksi 12X75 mm
- 3) Centrifuger
- 4) Pipet Pasteur
- 5) Timer
- 6) Mikroskop
- 7) Botol Semprot
- 8) Gelas kimia
- 9) Wadah limbah

### b. Bahan :

- 1) Darah golongan darah O
- 2) Anti D IgG
- 3) NaCl 0,9 %
- 4) *Coombs* Serum (AHG)

## B. Analitik

### 1. Prosedur kerja :

#### A. Pembuatan *Coomb's Control Cells* :

1. Nyalakan dan atur suhu inkubator pada 37°C
2. Siapkan reagensia pada suhu kamar sebelum digunakan dan disimpan kembali pada suhu 2°C - 8°C setelah digunakan.
3. Siapkan contoh darah yang memakai antikoagulan golongan O Rhesus positif.
4. Lakukan persiapan contoh darah yang akan dipergunakan mulai dari pemisahan plasma dari sdm, pencucian hingga pembuatan suspensi sel.
5. Siapkan ceklist pembuatan *Coomb's Control Cells*.
6. Identitas reagensia, catat tanggal pembuatan, lot no, tanggal kadaluarsa, suhu penyimpanan.
7. Pencatatan dokumentasi harus dilakukan.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- Cek list lembar kerja
  - Lembar hasil validasi reagensia
8. Pembuatan suspensi sel 5%, 40% dari darah golongan O Rhesus positif
  9. Pemeriksaan titer anti-D IgG ( inkomplit )
    - a) Siapkan 10 tabung reaksi masing-masing tabung beri indentitas :  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{16}$ ,  $\frac{1}{32}$ ,  $\frac{1}{64}$ ,  $\frac{1}{128}$ ,  $\frac{1}{256}$ ,  $\frac{1}{512}$ ,  $\frac{1}{1024}$
    - b) 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 pengenceran berkala sampai tabung no.10, pada tabung no. 10 buang 2 tetes enceran anti-D tersebut.
    - f) Tambahkan ke setiap tabung masing-masing 1 tetes sel O Rh pos(+) 5%.
    - g) Kocok semua tabung hingga cairan tercampur.
    - h) Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit semua tabung
    - i) Angkat semua tabung, putar 3000rpm selama 15", baca hasil reaksi.
    - j) Tabung yang hasilnya negatif, dicuci sebanyak 3x dengan saline
    - k) Pada pencucian terakhir buang supernatan sebanyak banyaknya.
    - l) Tambahkan 2 tetes *coomb's serum* (AHG) pada semua tabung.
    - m) Kocok perlahan hingga cairan tercampur.
    - n) Putar 3000 rpm Selama 15", baca hasil reaksi.

Contoh Lembar hasil titer anti – D IgG ( inkomplit ).

Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{512}$	$\frac{1}{1024}$
37°C 15'	neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	4+	4+	3+	3+	2+	+	+	Neg	Neg	Neg

10. Membuat enceran anti –D IgG yang dipakai adalah dengan hasil kekuatan titer : +2 (aglutinasi positif 2), yaitu pada titer 1/32.
11. Suspensi yang digunakan adalah suspensi 40% agar tidak telalu banyak dalam penetesan.

Suspensi sdm ( modifikasi )	Enceran anti-D IgG dengan saline
5% (16 tetes)	32 → 1 tetes anti-D IgG + 31 saline

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

10 % (8 tetes)	16 → 1 tetes anti-D IgG + 15 saline
40% (4 tetes)	8 → 1 tetes anti-D IgG + 7 saline

12. Buatlah suspensi sel O Rh positif (yang sudah dicuci 1 kali) menjadi 40% dalam saline
13. Buat pengenceran anti -D (IgG) dengan 1/8 -> 1 tetes anti-D IgG + 7 tetes saline
14. Kedalam enceran anti -D, tambahkan suspensi sel O Rh positif 40% sebanyak 4 tetes.
15. Kocok perlahan hingga tercampur, inkubasi 37°C selama 15 menit (coated/sensitasi).
16. Putar 1 menit 1000 rpm, hasil harus negatif aglutinasi.
17. Cuci selnya dengan saline sebanyak 3x , dengan sentrifugasi 2 menit 3000 rpm kemudian supernatan dibuang
18. Endapan sdm dibuat suspensi 5% kembali → *Coomb's Control Cells* (CCC) akan diperoleh 32 tetes CCC dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 P_1 \cdot V_1 &= P_2 \cdot V_2 \\
 40\% \cdot 4 \text{ tetes} &= 5\% \cdot V_2 \\
 V_2 &= 32 \text{ tetes}
 \end{aligned}$$

19. Didapat CCC suspensi 5%, lakukan validasi 1 tetes CCC dengan penambahan 2 tetes AHG
20. Kemudian setelah CCC ini selesai dibuat, lakukan tes uji sebagai berikut :

21.


Masukkan 2 tts *Coombs* serum  
+ 1 tts ccc tadi/suspensi sel 5 %

22. Campur, centrifuger dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit
23. kemudian baca hasilnya
24. Hasil yang didapat harus 2+ , maka CCC yang dibuat dianggap benar.

### 2. Nilai Normal

Nilai normal untuk pemeriksaan *Coombs control cell* adalah negatif, yang berarti tidak ada antibodi yang menempel pada sel darah merah. Hasil positif menunjukkan adanya antibodi pada sel darah merah dan perlu penanganan lebih lanjut.

### 3. Nilai Kritis

Nilai kritis dalam pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell* (CCC) berkaitan dengan validasi hasil uji silang serasi (*crossmatch*) yang menunjukkan hasil negatif. Jika CCC menunjukkan aglutinasi, maka hasil *crossmatch* yang sebelumnya negatif dianggap salah. Hal ini penting untuk memastikan bahwa uji antiglobulin (AHG) tidak gagal atau reagenya dinonaktifkan.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### **4. Perhitungan**

Reaksi positif (yaitu aglutinasi) setelah penambahan *Coombs* serum / AHG menunjukkan bahwa prosedur pencucian telah dilakukan dengan benar dan bahwa reagen antiglobulin bekerja. Reaksi negatif (yakni tidak terlihat aglutinasi) menunjukkan bahwa reagen antiglobulin tidak berhasil. Sebuah hasil negatif tidak dapat diandalkan dan tes harus diulang. Penyebab masalah harus diselidiki dan diperbaiki.

### **C. Post analitik**

#### 1. Pelaporan hasil

Reaksi positif (yaitu aglutinasi) setelah penambahan serum *Coombs* serum/ AHG menunjukkan bahwa prosedur pencucian telah dilakukan dengan benar dan bahwa reagen antiglobulin bekerja.

Reaksi negatif (yakni tidak terlihat aglutinasi) menunjukkan bahwa reagen antiglobulin tidak berhasil. Sebuah hasil negatif tidak dapat diandalkan dan tes harus diulang. Penyebab masalah harus diselidiki dan diperbaiki.

#### 2. Sumber kesalahan pemeriksaan

Sumber kesalahan pada pembuatan *Coombs control cell*, yang merupakan sel darah merah yang dilapisi dengan antibodi, meliputi:

##### a. Kontaminasi:

Kontaminasi oleh bakteri, logam berat, atau zat lain dapat memengaruhi hasil uji *Coombs* dan menyebabkan hasil palsu positif.

##### b. Kesalahan dalam prosedur:

Misalnya, aglutinasi sel darah merah sebelum pencucian, yang dapat menyebabkan hasil palsu positif.

##### c. Penggunaan reagen yang tidak sesuai:

Reagen yang kadaluarsa, tidak terstandar, atau rusak dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat.

##### d. Kesalahan dalam interpretasi hasil

Salah membaca hasil uji *Coombs*, misalnya salah mengidentifikasi hasil aglutinasi, dapat menyebabkan kesalahan interpretasi.

##### e. Pemilihan sel darah merah yang tidak tepat:

Pemilihan sel darah merah yang tidak sesuai, misalnya tidak sesuai dengan jenis antibodi yang ditargetkan, dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

f. Kesalahan dalam pencucian sel darah merah:

Pencucian yang tidak memadai dapat menyebabkan sisa antibodi melekat pada sel darah merah, yang menyebabkan hasil palsu positif.

g. Kesalahan dalam penyimpanan reagen:

Penyimpanan reagen yang tidak tepat, misalnya suhu yang tidak sesuai, dapat menyebabkan reagen terdegradasi dan memberikan hasil yang tidak akurat.

Penting untuk melakukan uji kualitas reagen dan prosedur secara rutin untuk memastikan akurasi dan keandalan hasil uji *Coombs*.

### 3. Jaminan mutu pemeriksaan

Jaminan mutu untuk pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell* meliputi beberapa tahapan dan prosedur yang memastikan keakuratan dan keandalan hasil. Ini termasuk pemilihan sampel darah merah yang sesuai, pembersihan yang cermat, penyimpanan yang benar, dan validasi hasil pemeriksaan. Selain itu, pemantauan dan evaluasi berkala diperlukan untuk memastikan bahwa proses dan hasil tetap berkualitas tinggi.

#### Pemilihan Sampel Darah Merah (SDM):

a. Pilih sampel SDM segar dan positif O Rh(D):

Sampel yang segar dan positif untuk antigen Rh(D) penting untuk memastikan bahwa control cell berfungsi dengan benar dan dapat memberikan hasil positif yang diharapkan.

b. SDM dikumpulkan dengan antikoagulan seperti sitrat:

Penggunaan sitrat membantu mencegah penggumpalan darah selama proses pengolahan.

c. Pemrosesan dan Pembersihan SDM:

Cuci SDM 3 kali dengan garam isotonik: Pencucian yang cermat membantu menghilangkan sisa-sisa serum dan zat lain yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan.

Suspensi SDM 5% dibuat:

Konsentrasi SDM yang tepat diperlukan untuk memastikan sensitivitas dan keakuratan pemeriksaan.

Sistem Kualitas dan Pemantauan:

d. Validasi hasil pemeriksaan:

Hasil positif kontrol cell harus diuji dengan hasil positif yang dikenal atau standar untuk memastikan keakuratan.

e. Evaluasi berkala:

Pemantauan kinerja kontrol cell secara berkala, termasuk frekuensi pemeriksaan dan rentang hasil, membantu memastikan kualitas yang berkelanjutan.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

f. Sistem penyimpanan yang baik:

Penyimpanan kontrol cell pada suhu yang tepat (biasanya pada suhu dingin) penting untuk mencegah degradasi.

g. Dokumentasi prosedur:

Catatan lengkap tentang proses pembuatan dan penyimpanan kontrol cell sangat penting untuk pelacakan dan kualitas.

Jaminan mutu untuk pemeriksaan pembuatan *Coombs control cell* adalah proses yang kompleks yang melibatkan berbagai tahapan dan prosedur. Dengan mengikuti panduan ini, Anda dapat memastikan bahwa kontrol cell yang dibuat berkualitas tinggi dan dapat memberikan hasil yang akurat untuk mendukung pemeriksaan uji serologi.

### D. Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hasil	: Data pasien

Pembimbing

( )

Medan,  
Praktikan

( )

2025



## EVALUASI

1. Reaksi positif pada uji dengan CCC menunjukkan ...
  - A. Serum *Coombs* (AHG) masih aktif
  - B. Donor tidak kompatibel
  - C. Golongan darah tidak sesuai
  - D. Sel darah putih terdeteksi
2. Jika CCC tidak terjadi aglutinasi, maka kemungkinan penyebabnya adalah ...
  - A. Pencucian sel terlalu bersih
  - B. Serum *Coombs* (AHG) rusak atau inaktif
  - C. Terlalu banyak NaCl digunakan
  - D. Antibodi IgM terlalu dominan

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

3. Pada *crossmatch*, CCC diuji setelah ...
  - A. Fase I (saline)
  - B. Fase II (inkubasi)
  - C. Fase III (AHG)**
  - D. Sebelum semua fase dilakukan
4. Salah satu alasan penggunaan sel darah O dalam pembuatan CCC adalah ...
  - A. Lebih cepat menggumpal
  - B. Tidak memiliki antigen A dan B**
  - C. Mengandung antibodi alami
  - D. Mudah diperoleh dalam jumlah besar
5. Pencucian sel darah merah sebelum digunakan pada CCC bertujuan untuk ...
  - A. Menghilangkan plasma dan antibodi bebas**
  - B. Mengurangi jumlah sel darah putih
  - C. Meningkatkan kadar hemoglobin
  - D. Memperkuat ikatan antigen
6. Bila hasil *crossmatch* fase I – III negatif dan CCC positif, maka kesimpulannya adalah ...
  - A. Prosedur *crossmatch* benar**
  - B. *Crossmatch* gagal
  - C. Reagen AHG tidak berfungsi
  - D. Pasien mengalami inkompatibilitas
7. Reagen utama yang digunakan dalam pengujian CCC adalah ...
  - A. NaCl fisiologis
  - B. Serum *Coombs* (AHG)**
  - C. Plasma donor
  - D. Anti-A dan Anti-B
8. *Coombs control cell* (CCC) dibuat dari sel darah merah dengan karakteristik ...
  - A. Golongan O Rh–
  - B. Golongan O Rh+**
  - C. Golongan AB Rh–
  - D. Golongan A Rh+
9. Fungsi utama dari *Coombs control cell* adalah ...

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- A. Menentukan kadar hemoglobin
  - B. Mengevaluasi efektivitas serum *Coombs* (AHG)**
  - C. Mengidentifikasi golongan darah ABO
  
  - D. Menghitung hematokrit
10. Antibodi yang digunakan untuk melapisi sel darah merah dalam pembuatan CCC adalah ...
- A. Anti-A
  - B. Anti-B
  - C. Anti-D IgG**
  - D. Anti-H

### **Bentuk Evaluasi :**

1. Tugas
2. Tes
3. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)
  - a. Aspek Penilaian Sikap (20%)
    - 1) Kehadiran dan kedisiplinan
    - 2) Kerja sama (kolaborasi)
    - 3) Tanggung jawab
    - 4) Inisiatif dan kemandirian
    - 5) Sikap positif dan etika
  - b. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
    - 1) Pretest
    - 2) Ujian Tertulis
  - c. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
    - 1) Keterampilan teknis/praktis
    - 2) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
    - 3) Laporan

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ajmani, P S. 2020. Immunohematology and Blood Banking. CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd.
- BPPSDM-Kes. 2010. Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit. Jakarta: PPSDM Kemenkes RI
- Dalimoenthe, N., Z., et al. 2011. Dasar-Dasar Transfusi Darah Edisi 1. Divisi Hematologi Klinik UNPAD : Bandung.
- Kiswari, Rukman. 2014. Hematologi & Transfusi. Erlangga. Jakarta.
- Nurhayati B, Noviar G, Kartabrata E dkk. 2017. Penuntun Praktikum Imunohematologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Bandung. Bandung : Analis Kesehatan.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah.

## **BAB IV**

### **VALIDASI REAGEN PEMERIKSAAN IMUNOHEMATOLOGI**



#### **TUJUAN PEMBELAJARAN**

- 1. Mahasiswa mampu menjelaskan tahap validasi reagen pemeriksaan imunohematologi.**
- 2. Mahasiswa mampu menjelaskan metode dan teknik validasi reagen pemeriksaan imunohematologi.**
- 3. Mahasiswa mampu mengimplementasikan validasi reagen pemeriksaan imunohematologi.**



#### **PENDAHULUAN**

Validasi merupakan proses pengujian dan dokumentasi untuk memastikan kualitas reagen. Validasi reagen imunohematologi bertujuan untuk memastikan reagen yang digunakan untuk pemeriksaan sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Tujuan dilakukannya validasi reagen antara lain: untuk memastikan bahwa reagen yang digunakan sesuai dengan spesifikasi manufaktur, menjamin sensitivitas dan spesifisitas reagen, mencegah kesalahan dalam deteksi antigen dan antibodi, dan memastikan kompatibilitas reagen dengan metode yang digunakan di laboratorium. Parameter yang digunakan untuk melakukan validasi reagen imunohematologi yaitu sensitivitas, spesifisitas, reproduksibilitas, stabilitas, akurasi, dan presisi (Harmening, 2020).

##### **Parameter Uji Validasi**

Validasi reagen imunohematologi melibatkan beberapa parameter penting:

##### **1. Sensitivitas**

Sensitivitas merupakan kemampuan reagen mendeteksi antigen/antibodi dalam konsentrasi rendah. Sensitivitas reagen imunohematologi mengacu pada kemampuannya untuk mendeteksi

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

antigen atau antibodi dalam kadar rendah tanpa menghasilkan hasil negatif palsu. Pengukuran sensitivitas dilakukan dengan beberapa metode berikut:

### **a. Penggunaan Sampel dengan Konsentrasi Berbeda**

1. Siapkan seri pengenceran sampel dengan antigen atau antibodi yang diketahui.
- 2) Uji setiap pengenceran menggunakan reagen yang divalidasi.
- 3) Tentukan batas deteksi minimal di mana reagen masih memberikan hasil positif.

Contoh:

Jika reagen digunakan untuk mendeteksi antigen darah tertentu, maka dibuat pengenceran sel darah merah dengan antigen tersebut hingga ditemukan konsentrasi terendah yang masih bereaksi positif.

### **b. Uji Banding dengan Reagen Standar**

- 1) Gunakan reagen referensi yang sudah divalidasi sebelumnya.
- 2) Lakukan uji perbandingan antara reagen baru dan reagen standar pada sampel yang sama.
- 3) Analisis apakah hasil dari reagen yang diuji konsisten dengan reagen standar.

### **c. Pengujian pada Berbagai Jenis Sampel**

- 1) Gunakan sampel darah dari beberapa individu dengan kadar antigen/antibodi yang berbeda.
- 2) Pastikan reagen tetap memberikan hasil yang konsisten dan sensitif terhadap variasi individu.

### **d. Pengujian dengan Kontrol Positif**

- 1) Gunakan kontrol positif yang mengandung antigen atau antibodi dalam kadar rendah.
- 2) Reagen harus tetap mampu mendeteksi keberadaan target dengan reaksi yang jelas.

### **e. Evaluasi Konsistensi Hasil**

- 1) Ulangi pengujian pada hari yang berbeda dan dengan teknisi berbeda.
- 2) Jika hasil tetap stabil, maka sensitivitas reagen dianggap valid.

## **2. Spesifisitas**

Spesifisitas adalah kemampuan reagen bereaksi hanya dengan target yang diinginkan tanpa reaksi silang. Spesifisitas reagen mengacu pada kemampuannya untuk bereaksi hanya dengan target yang diinginkan (antigen atau antibodi tertentu) tanpa menghasilkan reaksi silang dengan substansi lain. Semakin tinggi spesifisitas, semakin kecil kemungkinan hasil positif palsu yang disebabkan oleh reaksi non-spesifik (Ajmani, 2020).

Pengukuran spesifisitas dilakukan dengan beberapa metode berikut:

### **a. Pengujian dengan Sampel Negatif**

- 1) Gunakan sampel yang tidak mengandung antigen atau antibodi target.
- 2) Reagen harus menunjukkan hasil negatif untuk membuktikan bahwa tidak ada reaksi terhadap komponen yang tidak relevan.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

3) Jika terjadi hasil positif, berarti ada reaksi non-spesifik.

Contoh:

Jika reagen dirancang untuk mendeteksi antigen A pada sel darah merah, maka harus diuji pada sel dengan antigen B atau O untuk memastikan tidak ada reaksi silang.

### **b. Uji Reaksi Silang (Cross-Reactivity Test)**

- 1) Gunakan sampel dengan antigen atau antibodi yang mirip dengan target, tetapi bukan target utama.
- 2) Amati apakah reagen tetap memberikan hasil negatif.
- 3) Jika terjadi reaksi positif, reagen memiliki reaktivitas silang yang perlu diperbaiki.

Contoh:

- Uji reagen anti-D terhadap sampel dengan antigen C atau E (yang masih dalam kelompok Rh).
- Jika reagen bereaksi dengan C atau E, berarti spesifisitasnya kurang baik.

### **c. Bandingkan dengan Reagen Standar**

- 1) Lakukan uji reagen terhadap sampel yang sama menggunakan reagen standar yang sudah terbukti spesifik.
- 2) Jika hasilnya identik, maka spesifisitas reagen yang diuji dapat diterima.

### **d. Pengujian pada Berbagai Kondisi Klinis**

- 1) Gunakan sampel dari pasien dengan berbagai kondisi yang dapat mempengaruhi reaksi reagen, seperti:
  - Autoimun (memiliki antibodi yang dapat menyebabkan reaksi non-spesifik).
  - Infeksi atau penyakit lain yang dapat mempengaruhi hasil tes.
  - Jika reagen tetap memberikan hasil yang spesifik, maka keandalannya tinggi.

### **e. Uji Konsistensi Hasil**

- 1) Ulangi pengujian pada berbagai batch produksi reagen.
- 2) Lakukan pengujian dengan teknisi berbeda dan pada waktu berbeda.
- 3) Jika hasilnya tetap spesifik, berarti reagen memiliki spesifisitas yang baik.

## **3. Reprodusibilitas**

Reprodusibilitas adalah konsistensi hasil saat diuji berulang kali. Reprodusibilitas reagen mengacu pada kemampuannya untuk memberikan hasil yang konsisten ketika diuji berulang kali dalam kondisi yang berbeda. Pengukuran reprodusibilitas bertujuan untuk memastikan bahwa reagen tetap andal meskipun digunakan oleh teknisi berbeda, pada waktu berbeda, dan dalam berbagai kondisi laboratorium. Reprodusibilitas reagen dapat diukur dengan berbagai metode, termasuk pengujian berulang dalam satu sesi (intra-assay), antar sesi (inter-assay), antar operator, dan antar batch. Hasil yang konsisten menunjukkan bahwa reagen dapat diandalkan untuk

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

penggunaan rutin di laboratorium.

### **a. Pengujian Intra-Assay (*Precision Within-Run*)**

Pengujian intra assay bertujuan untuk mengetahui apakah reagen memberikan hasil yang sama saat diuji berulang kali dalam satu sesi oleh teknisi yang sama.

Metode:

- 1) Gunakan sampel yang sama dan uji dengan reagen yang sama dalam satu kali sesi.
- 2) Lakukan minimal 10 uji ulang.
- 3) Hitung koefisien variasi (CV%)
- 4) CV% yang rendah menunjukkan bahwa hasilnya konsisten dalam satu sesi pengujian.

### **b. Pengujian Inter-Assay (*Precision Between-Run*)**

Tujuan dari pengujian inter assay adalah untuk mengukur konsistensi hasil ketika pengujian dilakukan pada hari berbeda, oleh teknisi berbeda, atau menggunakan batch reagen berbeda.

Metode:

- 1) Gunakan sampel yang sama, tetapi uji dalam sesi yang berbeda (misalnya, selama 3-5 hari).
- 2) Bandingkan hasilnya dan hitung CV%.
- 3) Jika CV% tetap rendah, maka reagen memiliki reproduksibilitas yang baik antar sesi uji.

### **c. Uji Perbandingan Antar Teknisi (*Inter-Operator Precision*)**

Pengujian antar teknisi bertujuan untuk menilai apakah hasil tetap konsisten meskipun diuji oleh teknisi yang berbeda.

Metode:

- 1) Berikan sampel yang sama kepada beberapa teknisi.
- 2) Minta mereka melakukan uji dengan reagen yang sama.
- 3) Bandingkan hasilnya untuk melihat apakah ada perbedaan signifikan.
- 4) Jika hasil tetap stabil, berarti reagen memiliki reproduksibilitas tinggi antar operator.

### **d. Pengujian Antar Batch Reagen (*Lot-to-Lot Reproducibility Test*)**

Tujuan dari pengujian antar batch reagen adalah untuk memastikan bahwa setiap batch produksi reagen tetap memberikan hasil yang konsisten.

Metode:

- 1) Gunakan batch reagen yang berbeda untuk menguji sampel yang sama.
- 2) Bandingkan hasil antar batch.
- 3) Jika ada variasi besar, kemungkinan ada masalah dalam produksi atau penyimpanan reagen.

### **e. Pengujian dalam Berbagai Kondisi Penyimpanan**

Tujuan pengujian dalam berbagai kondisi adalah untuk mengukur apakah reagen tetap stabil meskipun disimpan dalam kondisi yang sedikit bervariasi.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Metode:

- 1) Simpan reagen pada kondisi suhu yang berbeda (misalnya 2-8°C dengan suhu ruangan).
- 2) Gunakan reagen setelah penyimpanan tertentu dan bandingkan hasilnya.
- 3) Jika hasil tetap stabil, reagen memiliki reproduksibilitas yang baik terhadap penyimpanan.

### **4. Stabilitas**

Stabilitas merupakan kemampuan reagen bertahan selama penyimpanan dan penggunaan. Stabilitas reagen mengacu pada kemampuannya untuk mempertahankan kinerja optimal selama penyimpanan dan penggunaan dalam berbagai kondisi. Stabilitas dapat diukur dengan beberapa pendekatan berdasarkan waktu, suhu, dan kondisi penyimpanan. Pengujian stabilitas sangat penting untuk memastikan bahwa reagen tetap dapat digunakan dengan hasil yang akurat. Stabilitas diuji berdasarkan waktu penyimpanan, suhu, dan ketahanan terhadap pembekuan dan pencairan. Dengan pengujian ini, laboratorium dapat menentukan masa simpan yang optimal dan kondisi penyimpanan terbaik untuk reagen.

Jenis pengukuran stabilitas dapat dilakukan:

#### **a. Stabilitas Waktu Simpan (*Shelf-Life Stability*)**

Tujuan mengukur waktu simpan adalah untuk mengukur apakah reagen tetap aktif hingga tanggal kedaluwarsa yang ditetapkan oleh produsen.

Metode:

- 1) Simpan reagen dalam kondisi normal (misalnya 2-8°C untuk reagen darah).
- 2) Uji kinerjanya secara berkala (misalnya setiap bulan) dengan sampel yang sudah diketahui hasilnya.
- 3) Bandingkan hasilnya dengan reagen baru.
- 4) Jika hasil tetap konsisten hingga tanggal kedaluwarsa, maka stabilitas waktu simpan terjaga.

#### **b. Stabilitas Setelah Dibuka (*Open-Vial Stability*)**

Tujuan pengukuran stabilitas setelah dibuka adalah untuk menentukan berapa lama reagen tetap stabil setelah botolnya dibuka.

Metode:

- 1) Buka reagen dan gunakan dalam interval waktu tertentu (misalnya 1 minggu, 2 minggu, 1 bulan).
- 2) Simpan reagen sesuai petunjuk produsen.
- 3) Uji kinerjanya dengan kontrol positif dan negatif.
- 4) Jika hasil mulai berubah signifikan, maka masa stabilitas setelah dibuka sudah tercapai.

### **c. Stabilitas terhadap Suhu (*Thermal Stability*)**

Tujuan pengukuran stabilitas terhadap suhu adalah untuk mengukur dampak suhu penyimpanan terhadap efektivitas reagen.

Metode:

- 1) Simpan reagen dalam kondisi suhu ekstrem (misalnya beku di  $-20^{\circ}\text{C}$  atau lebih hangat dari  $25^{\circ}\text{C}$ ) untuk waktu tertentu.
- 2) Bandingkan kinerjanya dengan reagen yang disimpan sesuai suhu standar.
- 3) Jika hasilnya berbeda signifikan, berarti reagen tidak stabil terhadap suhu ekstrem.

### **d. Pembekuan-Pencairan (*Stabilitas Freeze-Thaw*)**

Tujuan pengukuran freeze thaw adalah untuk menguji apakah reagen tetap stabil jika mengalami siklus pembekuan dan pencairan berulang.

Metode:

- 1) Bekukan reagen pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  lalu cairkan di suhu ruang.
- 2) Lakukan ini beberapa kali (misalnya 5 siklus).
- 3) Uji kinerja reagen dan bandingkan dengan reagen yang tidak pernah dibekukan.
- 4) Jika terjadi penurunan performa, berarti reagen tidak tahan terhadap pembekuan.

## **5. Akurasi dan Presisi: Tingkat ketepatan dan konsistensi hasil pengujian.**

Presisi dan akurasi adalah dua parameter penting dalam validasi reagen. Presisi menunjukkan konsistensi hasil saat reagen diuji berulang kali pada kondisi yang sama. Akurasi menunjukkan kedekatan hasil terhadap nilai sebenarnya.

### **a. Presisi**

Presisi dapat diuji dengan dua metode utama:

- 1) Presisi Intra-Assay (*Within-Run Precision*): Konsistensi hasil dalam satu sesi uji coba.
- 2) Presisi Inter-Assay (*Between-Run Precision*): Konsistensi hasil dalam sesi yang berbeda (hari berbeda, operator berbeda, alat berbeda).

Metode Pengujian:

- 1) Gunakan sampel yang sama dan uji reagen minimal 10 kali dalam satu sesi (untuk intra-assay).
- 2) Gunakan sampel yang sama dan uji di hari yang berbeda (untuk inter-assay).
- 3) Hitung rata-rata (mean), standar deviasi (SD), dan koefisien variasi (CV %)

### 4) Interpretasi:

- $CV (\%) \leq 5\% \rightarrow$  Presisi sangat baik.
- $CV (\%) 5-10\% \rightarrow$  Presisi masih dapat diterima.
- $CV (\%) > 10\% \rightarrow$  Presisi buruk, perlu evaluasi ulang.

### b. Akurasi

Akurasi mengukur seberapa dekat hasil uji reagen dengan nilai sebenarnya.

Metode Pengujian:

- 1) Gunakan sampel standar (gold standard) yang hasilnya sudah diketahui.
- 2) Uji reagen terhadap standar tersebut.
- 3) Bandingkan hasilnya dengan metode referensi atau reagen standar.
- 4) Hitung persentase perbedaan (bias).

Interpretasi Bias (%):

- $Bias \leq 5\% \rightarrow$  Akurasi sangat baik.
- $Bias 5-10\% \rightarrow$  Akurasi masih dapat diterima.
- $Bias > 10\% \rightarrow$  Akurasi buruk, perlu kalibrasi ulang atau penggantian reagen.

### Contoh Pengukuran Presisi dan Akurasi dalam Imunohematologi

Misalnya, reagen digunakan untuk mendeteksi golongan darah A.

#### 1) Presisi:

- Sampel darah dengan antigen A diuji 10 kali.
- Hasilnya semua menunjukkan positif, dengan  $CV\% = 3\% \rightarrow$  Presisi baik.

#### 2) Akurasi:

- Hasil reagen dibandingkan dengan metode referensi (misalnya tes aglutinasi manual).
- Jika 98 dari 100 sampel benar, berarti akurasi 98%  $\rightarrow$  Akurasi tinggi.



## PRAKTIKUM

### A. Pra analitik

#### 1. Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan dilakukan untuk memvalidasi reagen imunohematologi (Anti A, Anti B, Anti D, Bovine Albumin 22% dan Anti Human Globulin).

#### 2. Metode

Metode yang digunakan adalah aglutinasi

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 3. Prinsip

Antigen + antibodi → aglutinasi

### 4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Jenis specimen yang digunakan adalah darah EDTA, sampel tidak boleh lisis, dengan volume yang cukup untuk uji.

### 5. Alat dan bahan

Alat:

- a. Centrifuge
- b. Rak tabung
- c. Tabung serologis
- d. Slide golongan darah (kertas, plate, atau object glass)
- e. Pengaduk.

Bahan:

- a. Anti-A, Anti-B, Anti-D
- b. Test Sel A 5%, Test Sel B 5%, Test Sel O 5%
- c. Test Sel A 10%, Test Sel B 10%, Test Sel O 10%
- d. Coomb's serum
- e. Bovine albumin 22%
- f. *Coomb's Control Cells* (CCC)
- g. *Anti human globulin* (AHG)
- h. Saline.

## B. Analitik

Prosedur kerja

Pastikan reagen dalam keadaan baik, tidak ada perubahan warna, tidak keruh, dan belum melewati tanggal kadaluwarsa.

### a. Uji Validasi Reagen Anti-A, Anti-B, Anti-D (metode Bioplate)

#### 1) Reagen anti-A

Uji validasi anti-A	2 tetes anti-A + 1 tetes tes sel A 10%	2 tetes anti-A + 1 tetes tes sel B 10%	2 tetes anti-A + 1 tetes tes sel O 10%
	Homogenkan dengan pengaduk, goyangkan slide ke depan dan belakang hingga tercampur rata, amati hasil.		
Hasil uji	Aglutinasi (+)	Tidak aglutinasi (-)	Tidak aglutinasi (-)

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 2) Reagen anti-B

Uji validasi anti-B	2 tetes anti-B + 1 tetes tes sel A 10%	2 tetes anti-B + 1 tetes tes sel B 10%	2 tetes anti-B + 1 tetes tes sel O 10%
Homogenkan dengan pengaduk, goyangkan slide ke depan dan belakang hingga tercampur rata, amati hasil.			
Hasil uji	Tidak aglutinasi (-)	Aglutinasi (+)	Tidak aglutinasi (-)

### 3) Reagen anti-D

Uji validasi anti-D	2 tetes anti-D + 1 tetes tes sel 10% Rh positif	2 tetes anti-D + 1 tetes tes sel 10% Rh negatif
Homogenkan dengan pengaduk, goyangkan slide ke depan dan belakang hingga tercampur rata, amati hasil.		
Hasil uji	Aglutinasi (+)	Tidak aglutinasi (-)

### **b. Test Validasi Reagen Bovine Albumin 22% dan *Anti Human Globulin* (AHG), dan *Coomb's Control Cell* (CCC) (metode tabung)**

1. Uji validasi Bovine albumin 22%	1 tetes sel A 5% + 2 tetes bovine albumin 22%	1 tetes sel B 5% + 2 tetes bovine albumin 22%	1 tetes sel O 5% + 2 tetes bovine albumin 22%
Homogenkan, inkubasi pada suhu 37°C, sentrifuge 3000 rpm selama 15 detik, amati hasil.			
Hasil uji	Tidak aglutinasi (-)	Tidak aglutinasi (-)	Tidak aglutinasi (-)
2. Uji validasi AHG	Cuci dengan saline sebanyak 3x		
	+ 2 tetes AHG	+ 2 tetes AHG	+ 2 tetes AHG
Homogenkan, sentrifuge 3000 rpm selama 15 detik, amati hasil.			

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hasil uji	Tidak aglutinasi (-)	Tidak aglutinasi (-)	Tidak aglutinasi (-)
3. Uji validasi CCC	+ 1 tetes CCC	+ 1 tetes CCC	+ 1 tetes CCC
Homogenkan, sentrifuge 3000 rpm selama 15 detik, amati hasil.			
Hasil uji	Aglutinasi (+)	Aglutinasi (+)	Aglutinasi (+)

### C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Hasil uji validasi reagen dicatat pada form yang telah disediakan.

2. Sumber kesalahan pemeriksaan

Sentrifugasi yang terlalu lama dan atau terlalu cepat dapat mengakibatkan sel eritrosit lisis.

3. Jaminan mutu pemeriksaan

a. Pastikan koding tes sel benar agar tidak tertukar

b. Amati makroskopis reagen sebelum melakukan uji validasi (reagen harus jernih dan tidak mengalami perubahan warna)

### D. Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Langkah Kerja :

Hasil :

Kesimpulan :



### EVALUASI

1. Seorang ATLM bertugas melakukan validasi reagen imunohematologi. Proses validasi dilakukan sesuai SOP dan dicatat pada formulir hasil validasi. Validasi yang dilakukan meliputi reagen Anti A, Anti B, dan Anti D. Apakah langkah pertama sebagai ATLM dalam melakukan proses tersebut?
  - A. Pengamatan makroskopis reagen**
  - B. Membuat tes sel
  - C. Melakukan sentrifugasi
  - D. Menuliskan hasil validasi
  - E. Mencampur tes sel dengan reagen
2. Seorang ATLM melakukan validasi reagen Anti A sebelum melakukan pemeriksaan golongan darah. ATLM tersebut mempersiapkan tes sel untuk uji validasi. Hasil validasi ditulis secara lengkap dalam formulir uji validasi. Berapa konsentrasi tes sel yang digunakan dalam uji metode bioplate?
  - A. 2%
  - B. 5%
  - C. 10%**
  - D. 20%
  - E. 25%
3. Hasil validasi reagen Anti D yang telah dilakukan oleh seorang ATLM menunjukkan bahwa reagen Anti D menjadi keruh. Hasil uji terhadap tes sel positif menunjukkan hasil tidak terjadi aglutinasi. ATLM yang bertugas mengulangi pengujian dan menghasilkan hasil yang sama dengan pemeriksaan sebelumnya. Bagaimana interpretasi hasil uji berdasarkan kasus tersebut?
  - A. Reagen sudah kadaluwarsa
  - B. Reagen tidak dapat digunakan**
  - C. Reagen masih layak digunakan
  - D. Reagen perlu diuji lebih lanjut
  - E. Reagen memiliki batas sensitifitas
4. Bovine albumin 22% dan AHG merupakan salah satu reagen yang digunakan dalam uji *crossmatch*. Hasil uji validasi reagen menunjukkan tidak terdapat aglutinasi. ATLM yang bertugas mengerjakan dengan teliti dan sesuai SOP. Bagaimana hasil uji yang sesuai dengan kasus tersebut?

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- A. Bovine albumin 22% mengalami kerusakan
  - B. AHG mengalami kerusakan
  - C. Bovine albumin 22% dan AHG dapat digunakan**
  - D. AHG bereaksi positif
  - E. Bovine albumin 22% harus diganti
5. Seorang ATLM melakukan uji validasi reagen Anti A dan Anti B untuk pemeriksaan golongan darah, Hasil uji menunjukkan bahwa pada Anti A yang ditambah dengan tes sel A mengalami aglutinasi dan Anti B yang diberi tes sel B mengalami aglutinasi. Bagaimana interpretasi hasil sesuai kasus tersebut?
- A. Anti A mengalami kerusakan
  - B. Anti B mengalami kerusakan
  - C. Anti A tidak dapat digunakan
  - D. Anti B tidak dapat digunakan
  - E. Anti A dan B dapat digunakan**

Bentuk Evaluasi :

- A. Tugas
- B. Tes
- C. Penilaian (Kognitif, Psikomotor, Afektif)

### **Penilaian**

1. Aspek Penilaian Sikap (20%)
  - a) Kehadiran dan kedisiplinan
  - b) Kerja sama (kolaborasi)
  - c) Tanggung jawab
  - d) Inisiatif dan kemandirian
  - e) Sikap positif dan etika
2. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
  - a) Pretest
  - b) Ujian Tertulis
3. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
  - a) Keterampilan teknis/praktis
  - b) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
  - c) Laporan

### **Ringkasan**

Validasi reagen imunohematologi sebagai proses pengujian dan dokumentasi untuk memastikan kualitas reagen sesuai standar yang ditetapkan. Validasi bertujuan untuk memastikan reagen sesuai spesifikasi pabrik, mencegah kesalahan dalam deteksi antigen dan antibodi, serta memastikan kompatibilitas reagen dengan metode laboratorium.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### Parameter Uji Validasi:

1. Sensitivitas: Kemampuan reagen mendeteksi antigen/antibodi dalam konsentrasi rendah. Pengujian dilakukan dengan sampel konsentrasi berbeda dan penentuan batas deteksi minimal.
2. Spesifisitas: Kemampuan reagen bereaksi hanya dengan target yang diinginkan tanpa reaksi silang. Pengujian dilakukan dengan sampel negatif dan uji reaksi silang (cross-reactivity test).
3. Reprodusibilitas: Konsistensi hasil saat diuji berulang kali dalam kondisi yang berbeda. Pengujian meliputi intra-assay (dalam satu sesi), inter-assay (antar sesi), antar-teknisi, dan antar-batch reagen.
4. Stabilitas: Kemampuan reagen bertahan selama penyimpanan dan penggunaan. Pengujian meliputi stabilitas waktu simpan (shelf-life stability), stabilitas setelah dibuka (open-vial stability), stabilitas suhu, dan stabilitas freeze-thaw.
5. Akurasi dan Presisi: Tingkat kedekatan dan konsistensi hasil pengujian. Presisi diuji dengan metode intra-assay dan inter-assay, sedangkan akurasi diukur dengan membandingkan hasil dengan reagen standar.

### Jenis Pengujian:

1. Penggunaan Sampel dengan Konsentrasi Berbeda: Menyiapkan seri pengenceran sampel untuk menentukan batas deteksi minimal.
2. Uji Banding dengan Reagen Standar: Membandingkan hasil reagen yang divalidasi dengan reagen standar yang sudah terbukti spesifik.
3. Pengujian pada Berbagai Jenis Sampel: Menggunakan sampel darah dari individu dengan kadar antigen/antibodi yang berbeda.
4. Pengujian dengan Kontrol Positif: Menggunakan kontrol positif yang mengandung antigen atau antibodi dalam kadar rendah.
5. Uji Reaksi Silang (Cross-Reactivity Test): Menggunakan sampel dengan antigen atau antibodi yang mirip dengan target, tetapi bukan target utama.
6. Evaluasi Konsistensi Hasil: Mengulangi pengujian pada hari yang berbeda dan dengan teknisi yang berbeda.
7. Pengujian Stabilitas: Mengukur stabilitas reagen dalam berbagai kondisi penyimpanan (suhu, waktu, freeze-thaw).

### Pentingnya Validasi:

Validasi reagen sangat penting untuk memastikan reagen memberikan hasil yang akurat, dapat diandalkan, dan sesuai dengan standar yang ditetapkan. Validasi juga membantu menentukan masa simpan optimal dan kondisi penyimpanan yang tepat untuk reagen.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ajmani, P. S. (2020). *Immunoematology and Blood Banking*. Singapore: Springer Nature.
- Blaney, K. D., & Howard, P. R. (2013). *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*.
- Harmening, D. M. (2020). *Modern Blood Banking and Transfusion Practices*.
- Maharani, Eva Ayu dan Noviar, Ganjar. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Imunohematologi dan Bank Darah*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mitra R, Mishra N, Rath GP. (2014). Blood groups systems. *Indian J Anaesth*. Vol 58:524-8.
- Naim, N. (2015) Pengaruh Variasi Pengenceran Antisera Terhadap Hasil Pemeriksaan Golongan Darah ABO Landstainer. *Media Analis Kesehatan*.
- Priya, N. K., dan Kumar, P. M. Ravi. (2022). A Review: ABO Blood Grouping. *International Journal of Research Publication and Reviews*. Vol. 3 No. 11: 716-724.
- World Health Organization. (2013) *Standard Operating Procedures for Blood Transfusion*. Bangladesh: WHO.

**BAB  
V**

**PEMERIKSAAN GOLONGAN DARAH ABO RH  
(METODE SLIDE, BIOPLATE DAN TABUNG)**



**TUJUAN PEMBELAJARAN**

1. Mahasiswa mampu menyebutkan metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus (Rh).
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus (Rh) dengan menggunakan metode tabung, slide, dan bioplate.
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus (Rh) dengan menggunakan metode tabung, slide, dan bioplate.



**PENDAHULUAN**

Istilah "golongan darah" mengacu pada keseluruhan sistem golongan darah yang terdiri dari antigen sel darah merah (SDM) yang spesifisitasnya dikendalikan oleh serangkaian gen yang dapat bersifat alel atau terkait sangat erat pada kromosom yang sama. "Golongan darah" mengacu pada pola reaksi spesifik terhadap pengujian antiserum dalam sistem tertentu. Selama kurun waktu tertentu, ilmu tentang golongan darah telah berkembang untuk mencakup tidak hanya masalah yang berhubungan dengan transfusi. Saat ini, 33 sistem golongan darah yang mewakili lebih dari 300 antigen didaftarkan oleh *International Society of Blood Transfusion*. Pemeriksaan golongan darah adalah tes untuk menentukan jenis golongan darah seseorang dan yang paling sering dideteksi adalah golongan darah berdasarkan sistem ABO dan Rhesus (Rh) (Hermening, 2019). Sistem penggolongan darah berdasarkan ABO dan Rhesus sering digunakan karena jika terjadi ketidakcocokan dapat menimbulkan dampak klinis yang signifikan. Pemeriksaan golongan darah juga dapat dilakukan dengan teknik cell grouping dan serum grouping/forward grouping dan serum *grouping/back*

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

*typing/reverse typing*. Teknik cell grouping merupakan penggolongan antigen sel eritrosit (ABO) dengan penambahan anti A dan Anti B untuk menentukan golongan darah. Serum grouping merupakan teknik penggolongan serum pasien terhadap sel eritrosit (sel A, B, dan O) yang diketahui untuk mendeteksi keberadaan antibodi anti-A dan anti-B. Sistem golongan darah Rh telah dipelajari secara terus menerus dan tetap relevan secara klinis. Metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh dapat dilakukan dengan metode slide, tabung, maupun bioplate. Berikut adalah perbandingan metode tabung, slide, dan bioplate:

Tabel 5.1 Perbandingan metode pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh

<b>Metode</b>	<b>Prinsip</b>	<b>Kelebihan</b>	<b>Kekurangan</b>
<b>Slide</b>	Aglutinasia di kaca objek	Cepat, mudah	Kurang sensitif
<b>Tabung</b>	Aglutinasia dalam tabung reaksi	Lebih akurat dan sensitif	Butuh waktu dan alat tambahan
<b>Bioplate</b>	Aglutinasia di microplate	Efisien untuk screening massal	Perlu alat khusus

Sumber: dimodifikasi dari Harmening (2020); WHO (2013).

Karakteristik golongan darah ABO berdasarkan antigen dan antibody dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.2 Karakteristik Golongan Darah ABO

<b>Golongan darah</b>	<b>Antigen pada SDM</b>	<b>Antibodi pada Serum / Plasma</b>
A	A	Anti B
B	B	Anti A
AB	A dan B	-
O	-	Anti A dan Anti B

Sumber: dimodifikasi dari Harmening (2020); WHO (2013).



## **PRAKTIKUM**

### **A. Pra Analitik**

#### 1. Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan dilakukan untuk menentukan golongan darah berdasarkan sistem ABO dan Rh.

#### 2. Metode

Metode yang digunakan adalah aglutinasi menggunakan slide, tabung, dan bioplate.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 3. Prinsip

Antigen + antibodi → aglutinasi

### 4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Jenis specimen yang digunakan adalah darah EDTA, sampel tidak boleh lisis, dengan volume yang cukup untuk uji.

### 5. Alat dan bahan

Alat:

1. Slide Golongan Darah
2. Tabung reaksi
3. Bioplate
4. Pipet tetes
5. Pengaduk
6. Sentrifuge

Bahan:

1. Darah EDTA
2. Serum/plasma uji
3. Reagen Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D (Rh)
4. Suspensi sel eritrosit uji 5%, 10%, 40%
5. Tes sel A 10%, B 10%, O 10%
6. Bovine Albumin 6%

## **B. Analitik**

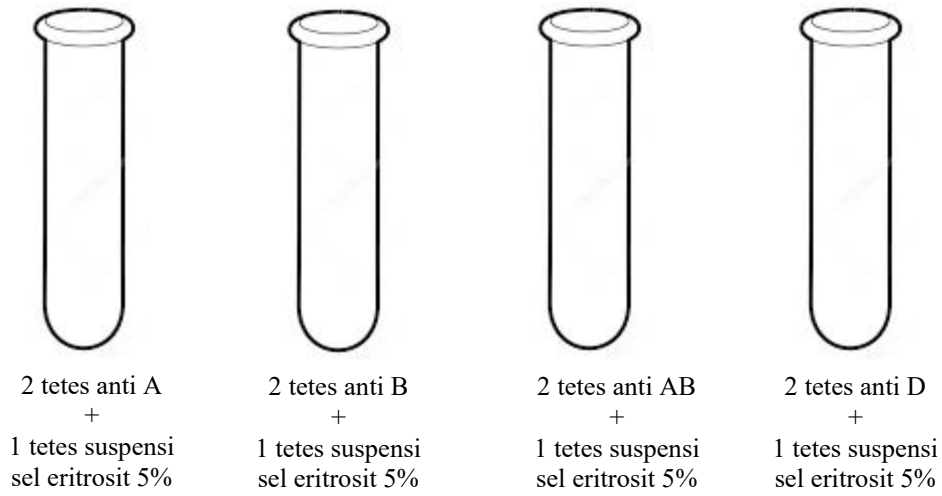
Prosedur kerja

### 1. Metode slide

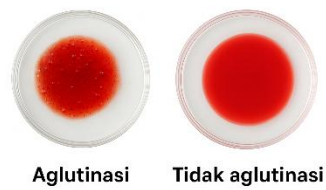
2 tetes Anti A + 1 tetes darah EDTA	2 tetes Anti B + 1 tetes darah EDTA	2 tetes Anti AB + 1 tetes darah EDTA	2 tetes Anti D + 1 tetes darah EDTA
Homogenkan dengan pengaduk secara vertikal, goyangkan slide, amati hasil.			

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

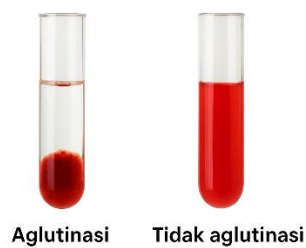
### 2. Metode tabung



Homogenkan, sentrifuge 1000 rpm selama 1 menit, amati hasil



Gambar 5.1 Aglutinasi metode slide



Gambar 5.2 Aglutinasi metode tabung

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah



Gambar 5.3 Hasil Aglutinasi metode bioplate

### Interpretasi hasil metode slide dan tabung

Anti A	Anti B	Anti AB	Golongan darah ABO	Anti-D	Golongan Darah Rh
+	-	+	A	+	Rh +
				-	Rh -
-	+	+	B	+	Rh +
				-	Rh -
+	+	+	AB	+	Rh +
				-	Rh -
-	-	-	O	+	Rh +
				-	Rh -

### 3. Metode bioplate

well 1 (Anti A)	well 2 (Anti B)	well 3 (tes sel A)	well 4 (tes sel B)	well 5 (tes sel O)	well 6 (auto control)	well 7 (Anti D)	well 8 (BA 6%)
2 tetes anti A +	2 tetes anti-B +	2 tetes sel A 10% +	2 tetes sel B 10% +	2 tetes sel O 10% +	2 tetes suspensi sel eritrosit uji 10% +	2 tetes suspensi sel eritrosit uji 40% +	2 tetes suspensi sel eritrosit uji 40% +
1 tetes suspensi sel eritrosit uji 10%	1 tetes suspensi sel eritrosit uji 10%	2 tetes serum/plasma uji	2 tetes serum/plasma uji	2 tetes serum/plasma uji	2 tetes serum/plasma uji	2 tetes anti-D	2 tetes BA 6%
Homogenkan isi tiap Well dengan cara menggoyangkan bioplate ke arah depan dan belakang sambil memperhatikan reaksi yang terjadi, baca hasil reaksi.							

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### Interpretasi hasil metode bioplate

well 1 (Anti A)	well 2 (Anti B)	well 3 (tes sel A)	well 4 (tes sel B)	well 5 (tes sel O)	well 6 (auto control)	Golongan darah	well 7 (Anti D)	well 8 (BA 6%)	Golongan darah
Negatif	Negatif	Positif	Positif	Negatif	Negatif	<b>O</b>	Positif	Negatif	<b>Rh positif</b>
Positif	Negatif	Negatif	Positif	Negatif	Negatif	<b>A</b>			
Negatif	Positif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	<b>B</b>	Negatif	Negatif	<b>Rh negatif</b>
Positif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<b>AB</b>			
positif = terjadi aglutinasi negatif= tidak terjadi aglutinasi/homogen									

### C. Post analitik

#### 1. Pelaporan hasil

Hasil pemeriksaan golongan darah dicatat pada form yang telah disediakan.

#### 2. Sumber kesalahan pemeriksaan

Sentrifugasi yang terlalu lama dan atau terlalu cepat dapat mengakibatkan sel eritrosit lisis.

Kesalahan penetesan jenis reagen dapat menimbulkan salah interpretasi.

#### 3. Jaminan mutu pemeriksaan

1. Pastikan koding tes sel benar agar tidak tertukar.

2. Kualitas reagen perlu diperhatikan.

### D. Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Langkah Kerja :
Hasil :
Kesimpulan :



## EVALUASI

1. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan golongan darah ABO dan rhesus dengan metode slide. Pasien bernama Tn. Gia, TTL Jakarta 12 November 1998. Hasil pemeriksaan menunjukkan terdapat aglutinasi pada reagen Anti A dan Anti AB.

Apakah golongan darah pasien berdasarkan kasus tersebut?

- A. A
  - B. B
  - C. AB
  - D. O
  - E. Tidak dapat disimpulkan
2. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan golongan darah ABO dan rhesus dengan metode tabung. Pasien bernama Ny. Rahma, TTL Pekanbaru 30 September 2000. Hasil pemeriksaan tidak menunjukkan jendalan pada reagen Anti A dan Anti B setelah dikocok.

Apakah golongan darah pasien berdasarkan kasus tersebut?

- A. A
  - B. B
  - C. AB
  - D. O**
  - E. Tidak dapat disimpulkan
3. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan golongan darah ABO dan Rhesus dengan metode tabung. Pasien bernama Ny. Baity, TTL Jogjakarta, 18 Maret 1982. Hasil pemeriksaan menunjukkan terdapat aglutinasi pada reagen Anti A. TLM tersebut mengerjakan pemeriksaan sesuai dengan SOP.

Berapakah konsentrasi suspensi sel eritrosit pada pemeriksaan sesuai kasus tersebut?

- A. 1%
- B. 5%**
- C. 10%
- D. 25%
- E. 50%

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

4. Salah satu metode yang digunakan dalam pemeriksaan golongan darah ABO adalah metode bioplate. Well 6 diisi dengan 1 tetes suspensi sel eritrosit uji dan plasma uji. Hasil uji dilaporkan sebagai reaksi aglutinasi ataupun tidak aglutinasi.

Apakah fungsi dari uji pada well tersebut?

- A. Uji Anti A
- B. Uji Anti B
- C. Uji Anti AB
- D. Uji Anti D
- E. Uji auto kontrol**

5. Suatu pemeriksaan golongan darah metode bioplate dilakukan oleh ATLM yang sedang bertugas. Pada well 7 diisi 1 tetes suspensi sel eritrosit uji 40% dan 2 tetes anti D. Hasil uji dilaporkan sebagai reaksi aglutinasi ataupun tidak aglutinasi.

Apakah fungsi dari uji pada well tersebut?

- A. Uji Anti A
- B. Uji Anti B
- C. Uji Anti AB
- D. Uji Anti D**
- E. Uji auto kontrol

### **Penilaian**

Kognitif : mahasiswa mampu menjelaskan prinsip dan interpretasi hasil.

Psikomotor : mahasiswa mampu melaksanakan pemeriksaan sesuai SOP.

Afektif : mahasiswa menunjukkan sikap teliti, disiplin, tanggung jawab, dan kerja sama

### **Ringkasan**

Pemeriksaan golongan darah ABO dan Rh dapat dilakukan dengan metode slide, tabung, dan bioplate. Prinsip dasarnya adalah reaksi aglutinasi antara antigen pada eritrosit dengan antibodi spesifik. Metode slide cepat dan sederhana namun kurang sensitif, metode tabung lebih akurat tetapi membutuhkan waktu dan peralatan tambahan, sedangkan metode bioplate lebih efisien untuk pemeriksaan banyak sampel sekaligus. Interpretasi hasil yang tepat sangat penting untuk menjamin keamanan transfusi darah.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ajmani, P. S. (2020). *Immunohematology and Blood Banking*. Singapore: Springer Nature.
- Blaney, K. D., & Howard, P. R. (2013). *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*.
- Dean L. (2005). *Blood Groups and Red Cell Antigens*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US): Chapter 5, The ABO blood group.
- Hermening, D. M. (2019). *Antigen-Antibody Characteristic Chart*
- Maharani, Eva Ayu dan Noviar, Ganjar. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Imunohematologi dan Bank Darah*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mitra R, Mishra N, Rath GP. (2014). Blood groups systems. *Indian J Anaesth*. Vol 58:524-8.
- Naim, N. (2015). Pengaruh Variasi Pengenceran Antisera Terhadap Hasil Pemeriksaan Golongan Darah ABO Landstainer. *Media Analisis Kesehatan*.
- Priya, N. K., dan Kumar, P. M. Ravi. (2022). A Review: ABO Blood Grouping. *International Journal of Research Publication and Reviews*. Vol. 3 No. 11: 716-724.
- Rosenkrans D, Zubair M, Doyal A. Rh Blood Group System. [Updated 2023 Aug 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK594252/>
- World Health Organization. (2013). *Standard Operating Procedures for Blood Transfusion*. Bangladesh: WHO.

## BAB VI

### CROSMATCH METODE TABUNG



#### TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa memahami Tujuan uji *Crossmatch*
2. Mahasiswa memahami Pengertian Mayor dan Minor *Crossmatch* metode tabung
3. Mahasiswa mampu memahami prinsip uji *Crossmatch* tabung
4. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan *Crossmatch* metode tabung.
5. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan *Crossmatch* metode Tabung



#### PENDAHULUAN

*Crossmatch* adalah pemeriksaan yang bertujuan menguji kecocokan antara darah pendonor dan darah pasien (Resepien) sebelum dilakukan Transfusi. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui apakah darah dari pendonor dapat diberikan atau kompatibel kepada pasien (Resepien) (Lestari, 2024)

Uji *crossmatch* terbagi menjadi tiga jenis antara lain:

1. *Crossmatch* Rutin
2. *Crossmatch* Emergency
3. *Crossmatch* Persiapan operasi

Fase pemeriksaan *Crossmatch* tabung antara lain:

1. **Fase medium saline pada suhu kamar adalah** Fase untuk mengetahui cocok tidaknya antara Aantibodi alami (Antibodi lengkap) dengan golongan darah donor.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

2. **Fase inkubasi 37°C:** Fase untuk mengetahui cocok tidaknya antara Antibodi tidak lengkap (incomplete) dengan golongan darah donor dengan.
3. **Fase III adalah fase Coombs:** Fase untuk mengetahui cocok tidaknya antara Ab yang bersifat immune (antibodi tidak lengkap) yang telah di sensitisasi dengan Ag dengan golongan darah donor

Keunggulan pemeriksaan *crossmatch* metode tabung antara lain:

1. Biaya pemeriksaan cenderung lebih murah
2. Tidak memerlukan alat-alat khusus
3. Masih dipertimbangkan sebagai gold standart
4. Untuk jumlah sampel yang sedikit sangat menguntungkan mengingat biaya lebih murah

Kelemahan pemeriksaan *crossmatch* metode tabung antara lain:

1. Memerlukan waktu lebih lama
2. Diperlukan tahap pencucian
3. Kemungkinan false positif dan false negatif lebih besar dibandingkan metode gel
4. Dibutuhkan banyak tabung (Bhagwat et al., 2015)



## PRAKTIKUM

### CROSSMATCH RUTIN

#### A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan  
Untuk melihat cocok tidaknya antara darah donor dan darah pasien (resipien)
2. Metode  
*Crossmatch* rutin metode tabung
3. Prinsip:  
Mayor : Reaksi silang antara eritrosit donor dengan serum pasien.  
Minor : Reaksi silang antara eritrosit pasien dengan serum donor (Sri Tumpuk, 2022)
4. Kriteria specimen/syarat sampel
  - a) Suspensi sel Donor 5%
  - b) Serum Donor
  - c) Suspensi sel Pasien (Resepien) 5%
  - d) Serum Pasien (Resipien)

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 5. Alat dan bahan

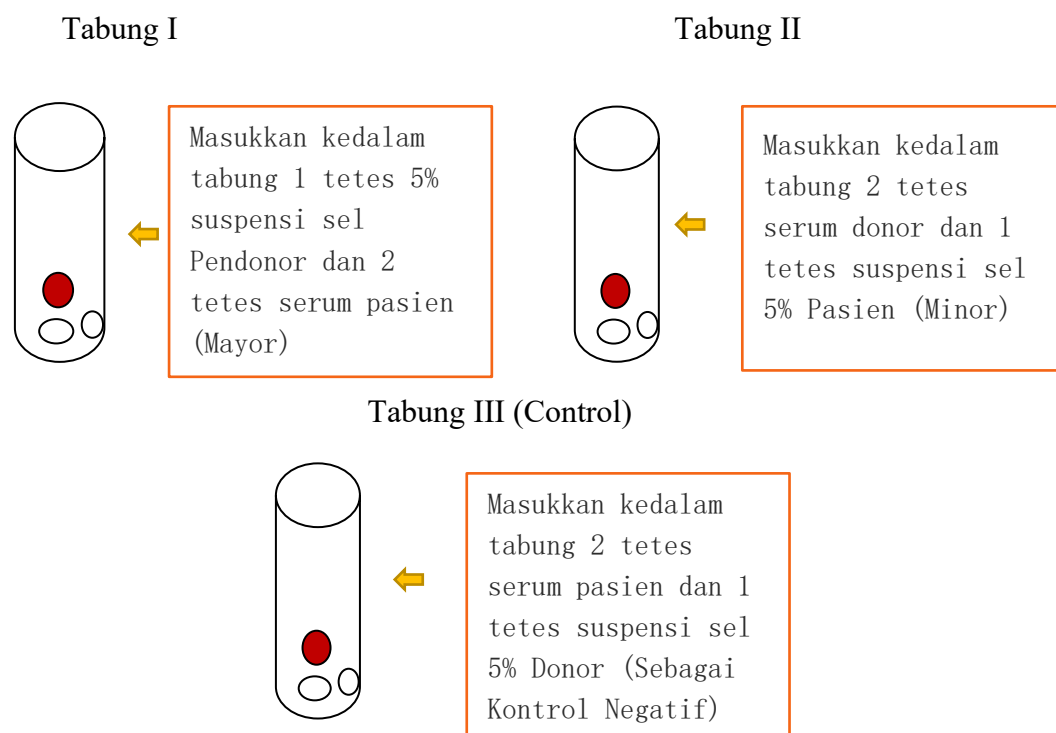
- a) Tabung
- b) Pipet Pasteur (Pipet Tetes)
- c) *Centrifuse*
- d) *Waterbath*
- e) Timer

### B. Analitik

#### 1. Prosedur

- a. Fase satu (medium saline pada suhu kamar)

Tujuan : untuk mengetahui cocok tidaknya antara antibodi alami (Antibodi lengkap) dengan golongan darah donor.



Centrigasi selama 15 detik dengan kecepatan 3400 rpm kemudian lihat ada tidaknya aglutinasi.



Gambar 6.1 Alat *Centrifuse*

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

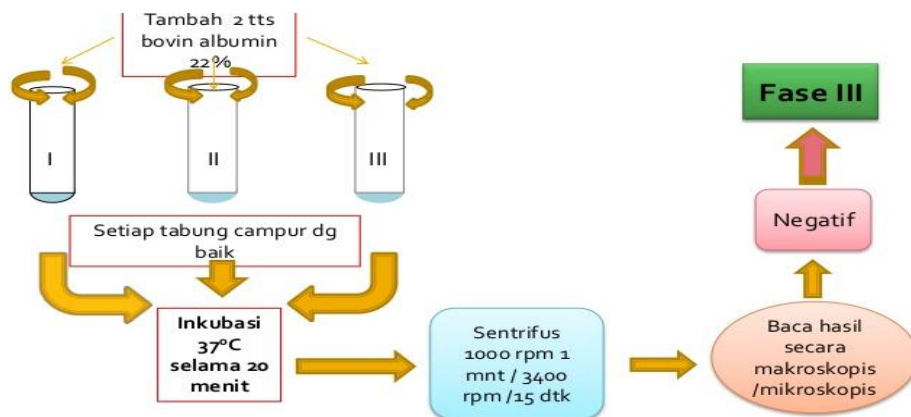
Bila tidak ada aglutinasi uji dilanjutkan ke fase dua

### b. Fase dua (medium Bovin Albumin pada suhu 37°C)

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya Antibodi tidak lengkap (incomplete) antara darah donor dengan darah pasien.

Prosedur :

- 1) Masukkan dua tetes Bovin Albumin kedalam tabung 1, 2 dan 3
- 2) Diamkan pada suhu 37°C selama 30 menit
- 3) Sentrifuse selama 15 detik dengan kecepatan 3400 rpm
- 4) Amati ada tidaknya aglutinasi
- 5) Jika tidak ada aglutinasi lanjutkan uji ke fase tiga



Gambar 6.2 Pemeriksaan *Crossmatch* Fase II (Lestari, 2024)

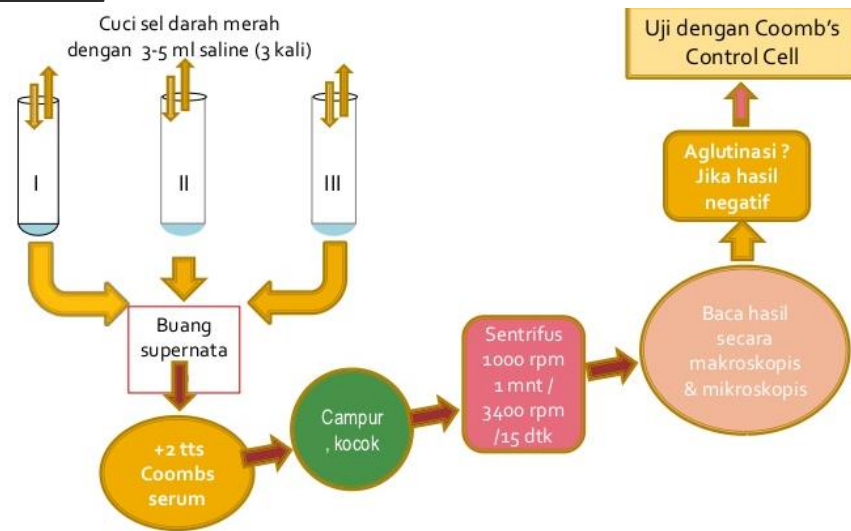
### c. Fase Tiga (anti Human Globulin)

Tujuan : untuk mengetahui cocok tidaknya antara antibodi yang bersifat immune (antibodi tidak lengkap) yang telah di sensitisasi dengan Ag antara golongan darah donor dan pasien.

Prosedur :

- 1) Hasil pada ketiga tabung di fase 2 dilakukan pencucian dengan NaCl 0,9% dan di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 RPM selama 2 menit. Lakukan pencucian sebanyak 3 kali
- 2) Buang Supernatant dan tambahkan dua tetes serum *Coombs* pada Sediment
- 3) Centrifugasi selama 15 detik 3300 rpm
- 4) Amati ada tidaknya aglutinasi

# Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah



Gambar 6.3 Pemeriksaan *Crossmatch* Fase III (Lestari, 2024)

## 2. Nilai Normal

Compatible" : (kompatibel) berarti adanya kecocokan antara darah donor dengan darah penerima, sehingga darah donor aman untuk ditransfusikan

Incompatible" : (Tidak kompatibel) berarti adanya Tidak ada kecocokan antara darah donor dengan darah penerima, sehingga darah donor tidak aman untuk ditransfusikan

## C. Post analitik



(+) Terbentuk Aglutinasi/Gumpalan (-) Tidak terbentuk Aglutinasi

Pelaporan

Mayor	Minor	Control Negatif	Kesimpulan
Positif	Positif	Negatif	Tidak Kompatible
Negatif	Negatif	Negatif	Kompatible
Positif	Negatif	Negatif	Tidak Kompatible
Negatif	Positif	Negatif	Tidak Kompatible

**CROSSMATCH EMERGENCY**

**A. Pra analitik**

1. Tujuan Pemeriksaan

Untuk melihat cocok tidaknya antara darah pasien (resepien) dan darah donor dalam keadaan *emergency*

2. Metode

*Crossmatch Emergency* metode tabung

3. Prinsip

Mayor : Reaksi silang antara eritrosit donor dengan serum pasien.

Minor : Reaksi silang antara eritrosit pasien dengan serum donor. (Sri Tumpuk, 2022)

4. Specimen dan syarat sampel

- a) Suspensi sel Donor 5%
- b) Serum Donor
- c) Suspensi sel Pasien (Resipien) 5%
- d) Serum Pasien (Resipien)

5. Alat dan bahan

- a) Tabung
- b) Pipet Pasteur (Pipet Tetes)
- c) *Centrifuse*
- d) *Waterbath*
- e) Timer

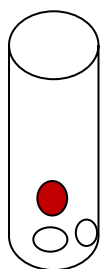
**B. Analitik**

**1. Prosedur**

*Emergency Crossmatch* pada keadaan darurat dan membutuhkan transfuse darah dengan segera.

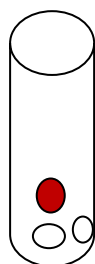
a. Siapkan empat tabung yang masing masing berisi :

Tabung I



Masukkan kedalam tabung 1 tetes 5% suspensi sel donor, 2 tetes serum pasien dan 2 tetes bovin albumin (Mayor Fase II)

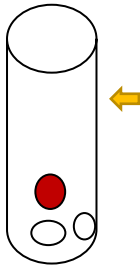
Tabung II



Masukkan kedalam tabung 1 tetes 5% suspensi sel donor dan 2 tetes serum pasien (Mayor Fase I)

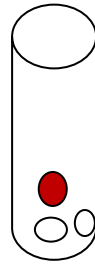
## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Tabung III



Masukkan kedalam tabung dua tetes serum donor, 1 tetes suspensi sel 5% Pasien dan 2 tetes bovin albumin (Minor Fase II)

Tabung IV



Masukkan kedalam tabung dua tetes serum donor dan 1 tetes suspensi sel 5% Pasien (Minor Fase I)

- b. Homogenkan ke empat tabung
- c. *Centrifuse* selama 15 Detik pada kecepatan 3400 rpm pada tabung dua dan empat lalu baca ada tidaknya aglutinasi
- d. Jika tidak terdapat aglutinasi transfusi darah dapat dilakukan.
- e. Inkubasi 37°C selama 15 menit pada tabung satu dan tiga lalu di *centrifuge* selama 1 menit dengan kecepatan 3400 rpm amati ada tidaknya aglutinasi.
  - Jika tidak ada aglutinasi lanjutkan uji pada fase tiga
  - Tambahkan serum *Coombs* lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 3400 rpm dan amati ada tidaknya aglutinasi.
  - Jika tidak terdapat aglutinasi transfusi di lanjutkan
  - Jika terdapat aglutinasi transfusi harus segera di hentikan.

## 2. Nilai Normal

Compatible" : (kompatibel) berarti adanya kecocokan antara darah pasien dengan darah donor, sehingga darah donor aman untuk ditransfusikan

Incompatible" : (Tidak kompatibel) berarti adanya Tidak ada kecocokan antara darah pasien dengan darah donor, sehingga darah donor tidak aman untuk ditransfusikan

### C. Post analitik

#### 1. Pelaporan hasil

Mayor	Minor	Kesimpulan
Positif	Positif	Tidak Kompatible
Negatif	Negatif	Kompatible
Positif	Negatif	Tidak Kompatible
Negatif	Positif	Kompatible <i>Emergency</i>

### ***CROSSMATCH* PERSIAPAN OPERASI**

#### A. Pra analitik

##### 1. Tujuan Pemeriksaan

Untuk melihat cocok tidaknya antara darah pasien (resipien) dan darah donor dalam keadaan permintaan darah di ajukan 2-3 hari sebelum operasi di jalankan.

##### 2. Metode

*Crossmatch* Persiapan Operasi metode tabung

##### 3. Prinsip

Mayor : Reaksi silang antara eritrosit donor dengan serum pasien.

Minor : Reaksi silang antara eritrosit pasien dengan serum donor. (Sri Tumpuk, 2022)

##### 4. Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

- Suspensi sel Donor
- Serum Donor
- Suspensi sel Pasien (Resepien)
- Serum Pasien (Resipien)

##### 5. Alat dan bahan

- Tabung
- Pipet Pasteur (Pipet Tetes)
- Centrifuse*
- Waterbath*
- Timer

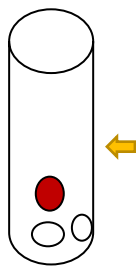
### B. Analitik

#### a. Prosedur

*Crossmatch* persiapan operasi dilaksanakan saat pengajuan darah 2-3 hari sebelum dilaksanakan operasi.

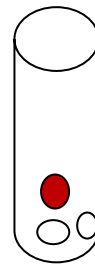
1. Siapkan serum dan suspensi sel 5% dari pasien dan donor
2. Siapkan Tiga tabung dengan masing-masing berisi:

Tabung I



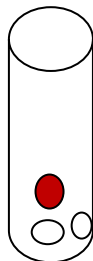
Masukkan kedalam tabung 1 tetes suspensi sel 5% Pendoror dan 2 tetes serum pasien (Mayor)

Tabung II



Masukkan kedalam tabung 2 tetes serum Pendoror dan 1 tetes suspensi sel 5% Pasien (Minor)

Tabung III (Control)



Masukkan kedalam tabung dua tetes serum pasien dan 1 tetes suspensi sel 5% pasien (Sebagai Kontrol Negatif)

3. Homogenkan ketiga tabung dan inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar kemudian lalu baca ada tidaknya aglutinasi.
4. Bila tidak ada aglutinasi Ke 2 tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit baca adanya ada tidaknya aglutinasi.
5. Bila tidak ada aglutinasi lanjutkan pemeriksaan.
6. Lakukan Centrifugasi dengan selama 15 detik dengan kecepatan 3400 RPM dan buang supernatannya.
7. Lakukan pencucian dengan menambahkan NaCl 0.9% lalu *Centrifuse* dengan kecepatan 3300 RPM selama 15 Menit dan buang Kembali supernatannya. Lakukan pencucian sebanyak 2-3 kali.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

8. Tambahkan 2 tetes serum *Coombs* kemudian *Centrifuse* kembali selama 1 menit dengan kecepatan 1000 rpm atau selama 15 detik dengan kecepatan 3400 rpm dan baca ada tidaknya aglutinasi.

### b. Nilai Normal

*Compatible*" : (kompatibel) berarti adanya kecocokan antara darah donor dengan darah pasien, sehingga darah donor aman untuk ditransfusikan

*Incompatible* : (Tidak kompatibel) berarti adanya Tidak ada kecocokan antara darah donor dengan darah pasien, sehingga darah donor tidak aman untuk ditransfusikan

### C. Post analitik

1. Pelaporan hasil

Mayor	Minor	Control Negatif	Kesimpulan
Positif	Positif	Negatif	Tidak Kompatible
Negatif	Negatif	Negatif	Kompatible
Positif	Negatif	Negatif	Tidak Kompatible
Negatif	Positif	Negatif	Tidak Kompatible

2. Sumber kesalahan pemeriksaan *Crossmatch* metode tabung

- a. Kesalahan dalam penetapan golongan darah
- b. Kesalahan dalam pencampuran antara donor dan pasien
- c. Kesalahan pelabelan
- d. Pencucian sel eritrosit yang kurang bersih
- e. Kesalahan dalam pembacaan hasil

3. Jaminan mutu pemeriksaan (Oktari et al., 2021)

No	Kesalahan	Penanganan
1	Kesalahan dalam penetapan golongan darah	Lakukan pemeriksaan golongan darah

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

2	Kesalahan dalam pencampuran antara donor dan pasien	Pemberian label yang benar 1. Suspensi sel Donor 2. Serum donor 3. Suspensi sel Pasien 4. Serum Pasien
3	Pencucian sel eritrosit yang kurang bersih	Lakukan pembilasan sel eritrosit menggunakan Nacl 0.9% 3 hingga 4 kali agar didapatkan suspensi sel yang benar-benar bersih.
4	Kesalahan dalam pembacaan hasil	Membuat kontrol untuk pembandingan pembacaan hasil
5	Uji Validitas pada Pemeriksaan <i>Crossmatching</i>	Uji validasi dengan menggunakan <i>Control Coombs Cell (CCC)</i> yang merupakan suspensi sel kontrol yang dibuat dari darah golongan O Rh positif yang sengaja dilapisi dengan antibodi yang tidak lengkap. Tujuannya adalah untuk mengetahui konsentrasi dan waktu inkubasi CCC yang optimal sehingga dapat digunakan untuk uji validitas pada pemeriksaan <i>crossmatching</i> .

## BAB VI

## CROSSMATCH METODE GEL



### TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa memahami Tujuan Pemeriksaan *Crossmatch* Metode Gel
2. Mahasiswa memahami Pengertian Mayor dan Minor *Crossmatch* Gel
3. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan *Crossmatch* Gel
4. Mahasiswa mampu melakukan uji *Crossmatch* Gel
5. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil pemeriksaan *Crossmatch* Metode Gel



### PENDAHULUAN

*Crossmatch* adalah pemeriksaan yang bertujuan menguji kecocokan antara darah pendonor dan darah pasien (Resepien) sebelum dilakukan Transfusi. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui apakah darah dari pendonor dapat diberikan atau kompatibel kepada pasien (Resipien) (Lestari, 2024)

Dua Metode uji *crossmatch* yang dapat dilakukan, yaitu antara metode tabung dan gel (Oktari & Mulyati, 2022). Lapiere adalah penemu pertama uji *crossmatch* metode gel pada tahun 1990 di Pusat Transfusi Darah Regional Lyon. (Jaime-Pérez & Almaguer-Gaona, 2016)

Prinsip Pemeriksaan *Crossmatch* metode gel yaitu mereaksikan antigen (Permukaan eritrosit) dan antibodi (Serum) dalam mikro-tabung untuk membentuk aglutinasi melalui sentrifugasi. Jika terbentuk aglutinasi, maka aglutinasi akan terperangkap dalam gel. Sedangkan pada hasil negatif, eritrosit akan bebas melewati gel menuju dasar mikro-tabung (Irawaty et al., 2018)

Keunggulan pemeriksaan *Crossmatch* metode gel antara lain:

1. Terstandarisasi
2. Hasil Objektif
3. Hasil Reaksi Stabil
4. Sampel Sedikit

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

5. Tidak Ada Tahap Pencucian
6. Lebih Sensitif
7. Pembacaan dengan Makroskopik
8. Masa Kadaluarsa Panjang
9. Dapat diaplikasikan untuk pemeriksaan pada bank darah secara luas

Kelemahan pemeriksaan *crossmatch* metode gel antara lain:

1. Memerlukan peralatan khusus (Semi automatic) seperti digital *Centrifuse* dan digital incubator
2. Biaya pemeriksaan lebih mahal



## PRAKTIKUM

### CROSSMATCH METODE GEL

#### A. Pra analitik

1. Tujuan Pemeriksaan

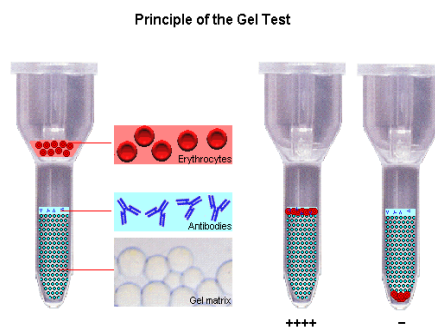
Mengetahui ada tidaknya Ab reaktif yang terdapat dalam serum resipien/donor yang dapat menimbulkan reaksi transfusi

2. Metode

*Crossmatch* metode gel

3. Prinsip

- a. Volume sel yang aglutinasi menjadi lebih besar sehingga tidak bisa melewati sela/celah molekul gel dan tidak sampai di dasar microtube
- b. Sel darah merah yang tidak aglutinasi (volume normal) dapat turun sampai dasar microtube sehingga membentuk endapan sempurna.



Gambar 6.4 Prinsip Pemeriksaan *Crossmatch* gel

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

4. Jenis dan kriteria spesimen/syarat sampel
  - a. Suspensi sel Donor
  - b. Serum Donor
  - c. Suspensi sel Pasien (Resipien)
  - d. Serum Pasien (Resipien)
5. Alat dan bahan
  - a. ID Card
  - b. Mikropipet
  - c. *Centrifuse*
  - d. Inkubator



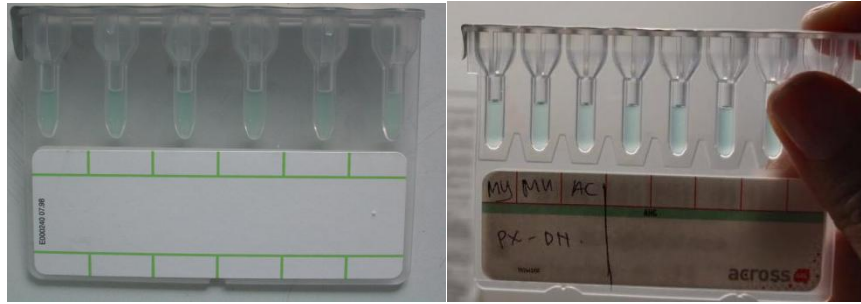
Gambar 6.5 alat Mikropipet

### **B. Analitik**

#### **Prosedur**

1. Beri label pada ID card
  - a. Nomor pemeriksaan Nama pasien Golongan darah pasien
  - b. Jenis darah donor yang diperiksa ( WB, PRC, FFP, TC dll. )
  - c. Rumah Sakit
  - d. Nama singkat petugas pemeriksa
  - e. Tanggal pemeriksaan Pada kolom atas (dibawah microtube) diberi kode sesuai dengan jenis reaksi sebagai berikut :  
My : untuk tabung mayor  
Mn : untuk tabung minor  
Ak : untuk auto kontrol Pasien

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

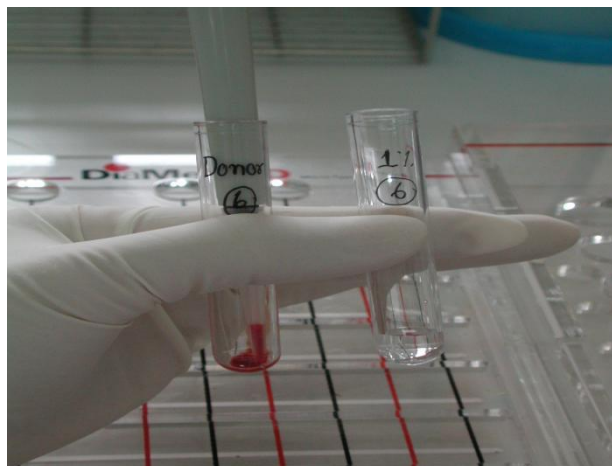


Gambar 6.6 ID Card *Crossmatch* gel

2. Masukkan 500  $\mu$ l ID diluent kedalam tabung

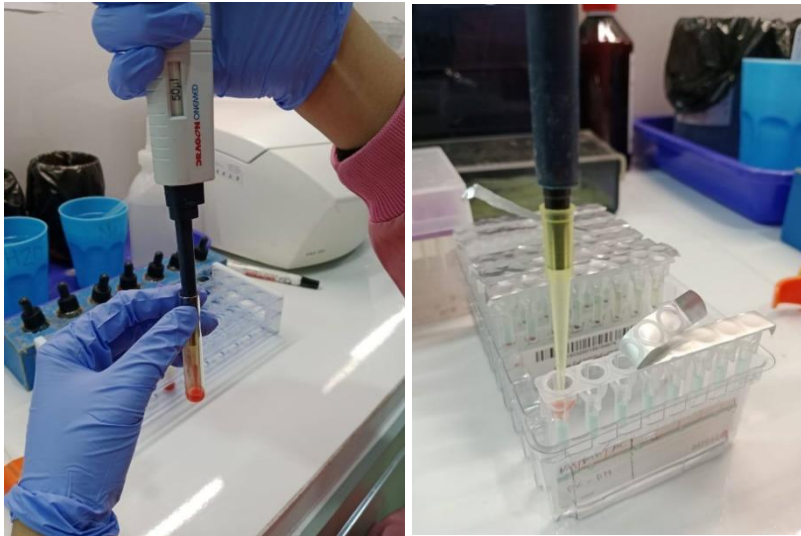


3. Memasukkan 5  $\mu$ l Packet Red Cell kedalam tabung yg berisi ID diuent

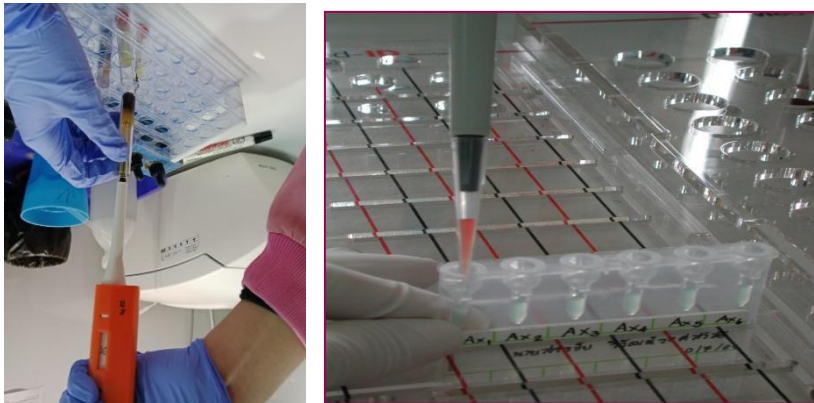


## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

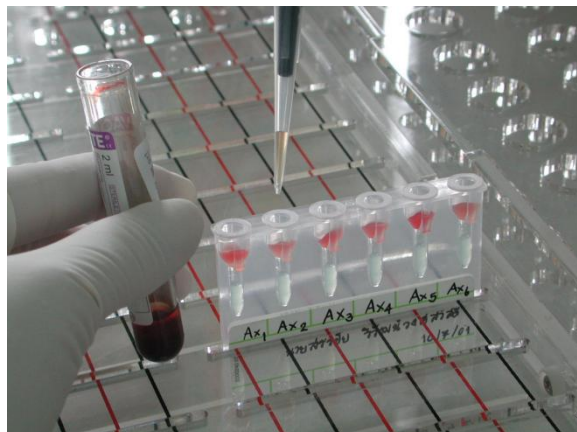
4. Masukkan pada Mayor: serum/plasma pasien 25  $\mu$ l dan suspensi sel donor 50  $\mu$ l.



5. Minor: suspensi sel pasien 50  $\mu$ l ditambahkan serum donor 25  $\mu$ l

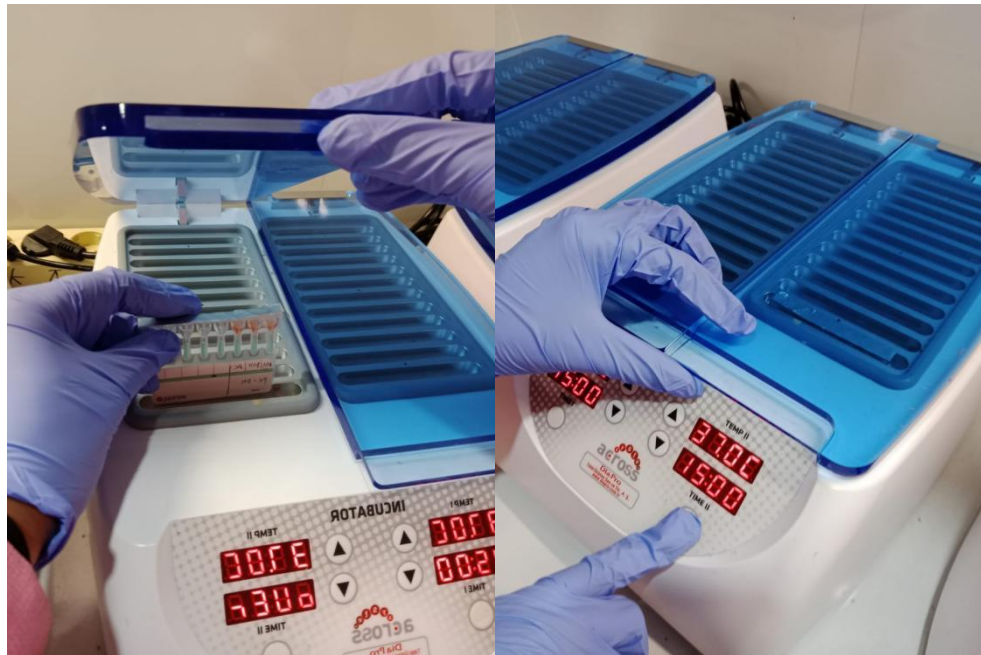


6. Untuk Kontrol: suspensi sel pasien 50  $\mu$ l ditambahkan serum/plasma pasien 25  $\mu$ l.



## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

7. Inkubasi pd suhu 37°C selama 15 mnt menggunakan inkubator

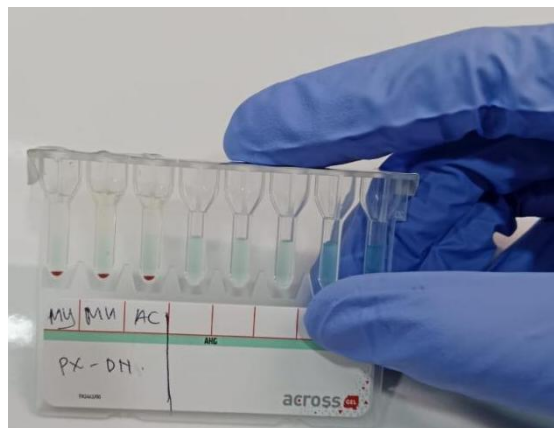


(PMI Jayapura, 2022)

8. Sentrifugasi selama 10 mnt



9. Baca & Catat hasil pemeriksaan



**e. Nilai Normal**

Compatible : (kompatibel) berarti adanya kecocokan antara darah donor dengan darah pasien, sehingga darah donor aman untuk ditransfusikan

Incompatible : (Tidak kompatibel) berarti adanya Tidak ada kecocokan antara darah donor dengan darah pasien, sehingga darah donor tidak aman untuk ditransfusikan

**D. Post analitik**

**1. Pelaporan hasil**

Positif: aglutinasi pd permukaan gel atau menyebar

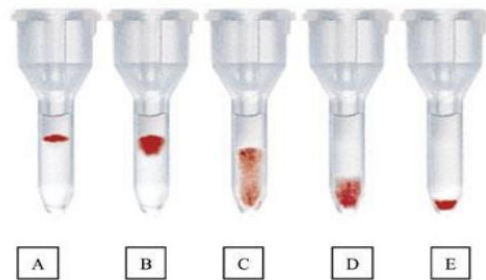
Negatif : terbentuknya endapan yang jelas didasar Microtube. Bagian atas Gel jernih dan bebas aglutinat

Positif 1 : Agltinat eritrosit mendominasi dibagian tengah bawah kolom gel dengan terdapat juga didasar mikrotbe. Reaksi dapat lemah sedikit aglutinat tepat diatas endapan eritrosit didasar microtube.

Positif 2: Agltinat eritrosit terpecah disepanjang kolom gel dengan sedikit aglutinasi didasar tubemicro. Aglutinat terdistribusi ditengah bagian atas dan bawah kolom gel.

Positif 3: Aglutinasi mendominasi dibagian atas kolom gel dengan sedikit aglutinasi dibawah. Aglutinat sebagian besar terletak disetengah atas gel.

Positif 4: Aglutinasi eritrosit berbentuk pita solid dibagian atas kolom gel.



A : Positif 4

B : Positif 3

C : Positif 2

D : Positif 1

E : Negatif (BPPSDM-Kes, 2010)

### **2. Sumber kesalahan pemeriksaan (Mulyantari, 2017)**

Tiga penyebab tidak kompatible hasil *crossmatching* yaitu masalah teknis, masalah golongan darah dan masalah pada kondisi pasien atau donor. Beberapa penyebab hasil tidak kompatibel pada *crossmatch* yaitu:

- a) Kesalahan dalam gol darah ABO pada donor atau pasien.
- b) Serum pasien mengandung alloantibodi yang bereaksi dapat bereaksi dengan antigen donor.
- c) Antibodi multipel dimana eritrosit donor yang direaksikan dengan serum resepien tidak kompatible dan antibodi skrining juga positif.
- d) Adanya antibodi (serum pasien) mengaglutinasi antigen (Eritrosit) donor dengan insiden yang rendah. Jika skrining hanya satu unit donor yang tidak kompatibel dan antibodi negatif.
- e) Terdapat autoantibodi didalam serum pasien yang bereaksi dengan antigen donor.
- f) Sel eritrosit donor di coated oleh protein yang dapat memberikan hasil *crossmatch* yang tidak kompatible.
- g) Terdapat makroglobulinemia dan multiple myeloma dapat menghasilkan rouleaux formation pada serum pasien (eritrosit bertumpuk).
- h) Terdapat kontaminasi baik berasal dari tabung yang kotor, kontaminasi bakteri pada sampel, kontaminasi bahan kimia dan sampel terdapat bekuan fibrin.

### **3. Jaminan mutu pemeriksaan**

Beberapa hasil *crossmatch*, penyebab dan penganannya dapat dilihat pada tabel berikut:

(Mulyantari, Ni Kadek , I Wayan Putu Sutirta Yasa, 2017)

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

No	Hasil <i>Crossmatching</i>	Kemungkinan penyebab	Penanganan
1	Mayor positif, minor negatif, autokontrol negative	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Terjadi kekeliruan dalam penentuan golongan darah ABO pada pasien maupun pendonor.</li> <li>2. Kemungkinan terdapat antibodi terhadap sistem ABO di dalam serum pasien.</li> <li>3. Serum pasien mengandung alloantibodi yang menimbulkan reaksi terhadap sel darah merah dari donor.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Verifikasi kembali tipe golongan darah ABO serta pastikan identitas pasien telah dicocokkan secara akurat.</li> <li>2. Tinjau catatan medis untuk mengetahui adanya riwayat transfusi darah atau prosedur transplantasi sebelumnya.</li> <li>3. Lakukan pemeriksaan antibodi pada serum pasien, identifikasi jenisnya, dan ulangi uji kecocokan silang (<i>crossmatch</i>) menggunakan kantong darah yang tidak memiliki antigen yang sesuai dengan antibodi yang terdeteksi. Jika proses identifikasi antibodi tidak memungkinkan, lakukan <i>crossmatch</i> ulang dengan beberapa unit darah donor berbeda hingga diperoleh hasil uji silang mayor yang negatif.</li> </ol>

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

2	<p>Mayor positif, minor positif, autokontrol</p> <p>Negative</p>	<p>1. Kemungkinan darah dari pendonor menunjukkan hasil positif pada uji <i>Coombs</i> langsung (DCT).</p> <p>2. Serum pasien mengandung alloantibodi yang berinteraksi secara imunologis dengan sel darah merah milik donor.</p>	<p>1. Lakukan uji <i>Coombs</i> langsung pada sampel darah pendonor; apabila hasilnya menunjukkan reaktivitas positif, segera ganti dengan darah dari pendonor lain.</p> <p>2. Laksanakan analisis untuk mendeteksi serta mengenali antibodi dalam serum pasien, kemudian ulangi uji kecocokan silang dengan kantong darah yang tidak mengandung antigen yang berkaitan dengan antibodi yang teridentifikasi. Jika proses skrining dan identifikasi antibodi tidak dapat dilakukan di tempat, rujuk ke laboratorium yang lebih lengkap atau ulangi <i>crossmatch</i> menggunakan beberapa sampel darah donor berbeda hingga ditemukan kecocokan yang aman.</p>
3	<p>Minor positif</p> <p>Mayor negatif</p> <p>Autokontrol positif</p>	<p>Kemungkinan pada eritrosit pasien terdapat</p>	<p>1. Lakukan pemeriksaan <i>Coombs</i> langsung (DCT) pada pasien; jika hasilnya positif, maka reaksi</p>

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

		autoantibodi	<p>positif pada <i>crossmatch</i> minor serta autokontrol kemungkinan disebabkan oleh keberadaan autoantibodi.</p> <p>2. Jika intensitas reaksi positif pada <i>crossmatch</i> minor setara atau lebih rendah dibandingkan dengan hasil positif pada autokontrol atau uji DCT, maka unit darah dapat diberikan.</p> <p>3. Namun, apabila reaksi positif pada <i>crossmatch</i> minor lebih kuat daripada hasil autokontrol atau DCT, maka darah tidak layak untuk digunakan. Dalam hal ini, cari unit darah donor lain dan ulangi proses pencocokan hingga didapatkan hasil <i>crossmatch</i> minor yang reaksinya sama atau lebih lemah dibandingkan autokontrol atau DCT.</p>
4	Mayor negatif, minor positif, autokontrol negatif	Kemungkinan pada serum atau plasma pendonor terdapat antibodi ireguler	Lakukan pemeriksaan untuk mendeteksi serta mengenali antibodi dalam serum atau plasma dari pendonor. Jika ditemukan antibodi yang bermasalah, gantilah dengan

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

			unit darah dari pendonor lain, lalu ulangi uji kecocokan silang hingga diperoleh hasil <i>crossmatch</i> minor yang tidak menunjukkan reaksi positif.
5	Mayor dan Minor positif  Autokontrol positif	Kemungkinan pada serum pasien terdapat alloantibody dan autoantibodi	<p>a) Lakukan proses autoadsorpsi terhadap serum pasien untuk menghilangkan autoantibodi, kemudian ulangi uji kecocokan silang menggunakan serum yang telah melalui proses tersebut.</p> <p>b) Laksanakan uji <i>Coombs</i> langsung (DCT) pada pasien; bila hasilnya reaktif, bandingkan tingkat reaktivitasnya dengan hasil <i>crossmatch</i> minor. Jika intensitas reaksi pada minor setara atau lebih rendah dari DCT, maka reaksi tersebut dapat dianggap sebagai akibat dari autoantibodi dan tidak perlu dikhawatirkan.</p> <p>c) Sementara itu, jika terdapat reaksi positif pada <i>crossmatch</i> mayor, hal tersebut menunjukkan</p>

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

			keberadaan antibodi tidak teratur dalam serum pasien. Dalam kasus ini, perlu dilakukan skrining antibodi lanjutan atau mengganti unit darah dengan donor lain hingga ditemukan hasil <i>crossmatch</i> mayor yang non-reaktif.
--	--	--	--

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### E. Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil	: Data pasien
Kesimpulan	:

Pembimbing

.....,

20...

Praktikan

(

)

(

)



## EVALUASI

1. Seorang ATLM akan melakukan pemersaan *Crossmatch* metode gel didapatkan hasil terbentuknya endapan yang jelas didasar Microtube. Bagian atas Gel jernih dan bebas aglutinat pada mayor dan minor.

Bagaimana hasil pemeriksaan pada kasus diatas?

- A. Negatif
- B. Positif 1
- C. Positif 2
- D. Positif 3
- E. Positif 4**



2. Seorang ATLM akan melakukan pemersaan *Crossmatch* metode gel didapatkan hasil Agltinat eritrosit mendominasi dibagian tengah bawah kolom gel dengan terdapat jga didasar mikrotube. Reaksi dapat lemah sedikit aglutinat tepat datas endapan eritrosit didasar microtube pada mayor dan minor.

Bagaimana hasil pemeriksaan pada kasus diatas?

- A. Negatif
- B. Positif 1
- C. Positif 2
- D. Positif 3**
- E. Positif 4



3. Seorang ATLM akan melakukan pemersaan *Crossmatch* metode gel didapatkan hasil Agltinat eritrosit terpencar disepanjang kolom gel dengan sedikit aglutinasi didasar tubemicro. Aglutinat terdistribusi ditengah bagian atas dan bawah kolom gel pada mayor dan minor.

Bagaimana hasil pemeriksaan pada kasus diatas?

- A. Negatif
- B. Positif 1
- C. Positif 2**
- D. Positif 3
- E. Positif 4



## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

4. Seorang TTLM akan melakukan pemersaan *Crossmatch* metode gel didapatkan hasil Aglutinasi mendominasi dibagian atas kolomgel dengan sedikit aglutinasi dibawah. Aglutinat sebagian besar terletak disetengah atas gel.pada mayor dan minor.

Bagaimana hasil pemeriksaan pada kasus diatas?

- A. Negatif
- B. Positif 1**
- C. Positif 2
- D. Positif 3
- E. Positif 4



5. Seorang TTLM akan melakukan pemersaan *Crossmatch* metode gel didapatkan hasil Aglutinasi eritrosit berbentuk pita solid dibagian atas kolom gel pada mayor dan minor.

Bagaimana hasil pemeriksaan pada kasus diatas?

- A. Negatif**
- B. Positif 1
- C. Positif 2
- D. Positif 3
- E. Positif 4



6. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan *crossmatch* rutin metode tabung. Dua Tabung dibuat identitas Mayor dan Minor. Pemeriksaan Fase 1 Mayor berisi eritrosit donor dan serum pasien. Minor berisi Eritrosit pasien dan serum donor. Lalu di *sentrifuse* dengan kecepatan 3400 rpm selama 15 detik dan baca ada tidaknya aglutinasi. Didapat hasil negatif pada mayor. Pemeriksaan di lanjutkan pada Fase 2.

Reagens apa yang ditetaskan pada uji di atas?

- A. NaCL 0.9%
- B. Bovin Albumin**
- C. Serum *Coombs*
- D. Anti ABO
- E. Suspensi Sel 5%

7. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan *crossmatch* rutin metode tabung. Dua Tabung dibuat identitas Mayor dan Minor. Hasil Negatif didapatkan pada Fase 1 dan 2. Uji dilanjutkan pada Fase 3 dengan menambahkan 2 tetes reagens pada Mayor dan Minor.

Reagens apa yang ditetaskan pada uji di atas?

- A. NaCL 0.9%
- B. Bovin Albumin**

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### **C. Serum Coombs**

D. Anti ABO

E. Suspensi Sel 5%

8. Seorang ATLM akan melakukan pemeriksaan *crossmatch*. Darah Donor dan pasien di buat suspensi sel 5% dan serum, selanjutnya di buat uji silang mayor dan minor. ATLM membuat tabung mayor terlebih dahulu.

Apa yang dimasukkan pada uji dari kasus diatas?

**A. Suspensi sel 5% donor di tambahkan serum pasien**

B. Suspensi sel 5% pasien di tambahkan serum donor

C. Serum Donor ditambah Serum Pasien

D. Suspensi sel 5% donor ditambah Suspensi sel 5% Pasien

E. Serum Pasien di tambah suspensi sel 5% pasien.

9. Seorang TTLM akan melakukan pemeriksaan *crossmatch*. Darah Donor dan pasien di buat suspensi sel 5% dan serum, selanjutnya di buat uji silang mayor dan minor. TTLM membuat tabung minor terlebih dahulu.

Apa yang dimasukkan pada uji dari kasus diatas?

A. Suspensi sel 5% donor di tambahkan serum pasien

**B. Suspensi sel 5% pasien di tambahkan serum donor**

C. Serum Donor ditambah Serum Pasien

D. Suspensi sel 5% donor ditambah Suspensi sel 5% Pasien

E. Serum Pasien di tambah suspensi sel 5% pasien.

10. Tenaga ATLM akan melakukan pemeriksaan *crossmatch* metode tabung. Darah Donor dan pasien di buat suspensi sel dan serum.

Berapa konsentrasi Suspensi sel yang di gunakan pada pemeriksaan diatas?

**B. 5%**

C. 10%

D. 15%

E. 20%

F. 25%

### Penilaian

1. Aspek Penilaian Sikap (20%)
  - f) Kehadiran dan kedisiplinan
  - g) Kerja sama (kolaborasi)
  - h) Tanggung jawab
  - i) Inisiatif dan kemandirian
  - j) Sikap positif dan etika
2. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
  - c) Pretest
  - d) Ujian Tertulis
3. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
  - d) Keterampilan teknis/praktis
  - e) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
  - f) Laporan

### Ringkasan

*Crossmatch* (uji silang serasi) adalah tes penting yang dilakukan sebelum transfusi darah untuk memastikan darah donor dan pasien kompatibel. Terdapat dua metode utama yang umum digunakan: **metode tabung konvensional** dan **metode gel**. Berikut adalah ringkasan keduanya beserta kelebihan dan kekurangannya.

#### 1. *Crossmatch* Metode Tabung Konvensional

Metode tabung adalah teknik tradisional yang sudah lama digunakan di bank darah. Prinsip dasarnya adalah **mereaksikan sel darah merah donor dengan serum atau plasma pasien** dalam tabung reaksi. Reaksi ini dilakukan dalam beberapa fase, yaitu fase salin, fase inkubasi, dan fase antiglobulin.

- a. Prinsip: Jika Terjadi aglutinasi (penggumpalan) atau hemolisis (pecahnya sel darah merah), berarti ada ketidakcocokan antara antigen pada sel donor dan antibodi pada serum pasien. Adanya aglutinasi menunjukkan reaksi positif yang tidak kompatibel.
- b. Kelebihan:
  - o Murah dan sederhana: Tidak memerlukan peralatan khusus yang mahal.
  - o Gold standard: Telah lama dianggap sebagai standar emas, terutama jika dilakukan dengan prosedur yang benar (termasuk fase AHG).
- c. Kekurangan:
  - o Padat karya (labor-intensive): Membutuhkan banyak langkah manual seperti pencucian sel, yang meningkatkan risiko kesalahan manusia.
  - o Subjektif: Interpretasi hasil (derajat aglutinasi) bisa subjektif antar petugas laboratorium.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- Waktu lebih lama: Seluruh proses bisa memakan waktu hingga 1 jam atau lebih.
- Tidak dapat didokumentasikan: Hasil tidak dapat disimpan dalam jangka panjang, sehingga sulit untuk keperluan rekam medis atau audit.

### 2. *Crossmatch* Metode Gel

Metode gel, atau gel card method, adalah teknik yang lebih modern dan semi-otomatis. Prosedur ini menggunakan **kartu gel berisi mikrotube** yang mengandung matriks gel (seringkali gel Sephadex) dan reagen.

- a. Prinsip: Sel darah merah donor dan serum pasien dimasukkan ke dalam mikrotube. Setelah inkubasi, kartu disentrifugasi.
  - Jika terjadi reaksi kompatibel (negatif), sel darah merah akan melewati gel dan mengendap di dasar mikrotube.
  - Jika terjadi reaksi inkompatibel (positif), aglutinat (gumpalan) sel darah merah akan terjebak di dalam matriks gel. Gumpalan besar akan terperangkap di bagian atas gel, sedangkan gumpalan kecil akan menyebar di tengah atau bawah gel.
- b. Kelebihan:
  - Cepat dan efisien: Waktu pengerjaan jauh lebih singkat, sekitar 20-30 menit.
  - Objektif dan mudah diinterpretasi: Hasilnya terlihat jelas secara visual dan dapat dibaca dengan mudah. Tidak memerlukan pencucian sel.
  - Akurasi tinggi: Memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang sebanding dengan metode tabung dengan fase AHG.
  - Hasil stabil: Hasil aglutinasi stabil dan dapat disimpan (didokumentasikan) selama beberapa hari untuk keperluan audit.
- c. Kekurangan:
  - Biaya lebih mahal: Peralatan dan kartu gel harganya lebih tinggi.
  - Membutuhkan peralatan khusus: Dibutuhkan sentrifus dan inkubator khusus untuk kartu gel.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Ammariah, H., Nurhidayanti, N., Bastian, B., & Kartika, T. (2022). Perbedaan Hasil Derajat Aglutinasi Serum Grouping Tube Test Dengan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Siap Pakai dan Suspensi Reagen NaCl 0,9% Dari Garam Dapur. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 19(2), 208–214. <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v19i2.9500>
- Azizah Ramadhanty, T., Hayati, E., Nurhayati, B., & Noviar, G. (2023). Pengaruh Lama Simpan Dan Variasi Konsentrasi Suspensi Darah Pasien Talasemia Terhadap Hasil Pemeriksaan *Crossmatch* Metode Tabung. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 190–198. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1483>
- Bhagwat, S. N., Sharma, J. H., Jose, J., & Modi, C. J. (2015). Comparison Between Conventional and Automated Techniques for Blood Grouping and *Crossmatching*: Experience from a Tertiary Care Centre. *Journal of Laboratory Physicians*, 7(02), 096–102. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.163130>
- BPPSDM-Kes. (2010). *Modul Pelatihan Petugas Unit Transfusi Darah Di Rumah Sakit*. PPSDM Kemenkes RI.
- Evriarti, P. R. (2016). Perbedaan Serum dan Plasma EDTA yang Langsung Diperiksa dan Ditunda 1 dan 2 Jam terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mahasiswa DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas Tahun 2016. *Jurnal Opac UKMC Palembang*, 3(2), 185–190.
- Hermening, D. M. (2019). *Antigen-Antibody Characteristic Chart \**.
- Indrawati, Y., & Amoryna, D. (2023). Inovasi Centrifuge Alternatif dari Motor Kipas Angin untuk Preparasi Pengujian Berbagai Sampel di Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 106. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.84988>
- Irawaty, I., AM, R., & Arif, M. (2018). Characteristic Of *Crossmatch* Types In Compatibility Testing On Ddiagnosis And Blood Types Using Gel Method (Ciri Inkompatibilitas Uji Cocok Serasi Metode Gel terhadap Diagnosis dan Golongan Darah). *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 23(1), 36–41. <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v23i1.1182>
- Jaime-Pérez, J. C., & Almaguer-Gaona, C. (2016). Rediscovering the *Coombs* test. *Medicina Universitaria*, 18(72), 185–186. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>
- Khooijah, N. M., & Qomariyah, N. (2019). Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Metode Cell Grouping Berdasarkan Tingkat Konsentrasi Suspensi Sel Degree of agglutination of blood group examination Cell Ceiling Method Based on Cell Suspension Concentration Level NURUL QOMARIYAH Jurusan Ana. *Jaringan Laboratorium Medis*, 01(01), 27–33.
- Lestari, N. L. G. D. (2024). Metode *Crossmatch* pada Bank Darah Rumah Sakit. *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Psikologi*, 1(1), 19.
- Mulyantari, Ni Kadek, I Wayan Putu Sutirta Yasa, J. A. (2017). *Laboratorium Pratransfusi Up Date*. Denpasar : Udayana University Press., 2017.

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- Oktari, A., Handriani, R., & Musbihah, S. S. (2021). Optimization Concentration Control Cell Coombs (CCC) for Validity Tests on Crossmatching Examination. *Journal of Physics: Conference Series*, 1764(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012016>
- Oktari, A., & Mulyati, L. (2022). Pengaruh Waktu Dan Suhu Penyimpanan Sampel Darah Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi (Cross Match). *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 3(2), 133–145. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i2.88>
- PMI Jayapura. (2022). *Prosedur Pemeriksaan Crossmatch metode gel PMI Jayapura*.
- Pulliam, K. E., Joseph, B., Makley, A. T., & Caldwell, C. C. (2021). Washing Packed Red Blood Cells Decreases Red Blood Cell Storage Lesion Formation. *Surgery*, 176(1), 100–106. <https://doi.org/10.1177/0022146515594631.Marriage>
- Rassajati, S., Mentari, D., Pebrina, R., & Prasetya, H. R. (2022). Perbedaan Waktu Penambahan Reagen AHG Berpengaruh Terhadap Hasil Pemeriksaan Uji Silang Serasi Metode Tabung. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 9(1), 34. <https://doi.org/10.32807/jambs.v9i1.267>
- Sri Tumpuk, Laila Kamilla, & Linda Triana. (2022). Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Jumlah Eritrosit Pada Transfusi Darah di Rumah Sakit Bank Darah RSUD Dr. Soedarso Pontianak. *Poltekita : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 16(3), 362–367. <https://doi.org/10.33860/jik.v16i3.1576>
- Supenah, P., Ikhwani, & Setiawan, F. (2024). Skrining Bank Darah untuk Pemeriksaan Golongan Darah di Kelurahan Tukmudal Kecamatan Sumber. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat*, 7, 1–23.
- Yuniarty, T., Astuti, T. D., Zafrida, S., & Garini, A. (2024). Modul Praktikum Hematologi. In *Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia*.
- Zatalini, K. S., Kuncara, R. B., & Sugihantono, A. (2024). Derajat Aglutinasi pada Pemeriksaan Golongan Darah Metode Tabung Berdasarkan Masa Simpan Test Sel A dan Test Sel B Hari Ke-0, Ke-2, Ke-4, Ke-6 dan Ke-8. *Jurnal Laboratorium Medis*, 06(02), 112–121.

## BAB VII

# TES ANTIGLOBULIN (COOMBS TEST)



### CAPAIAN PEMBELAJARAN

Mahasiswa mampu melakukan Pemeriksaan Antiglobulin tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik dengan benar sesuai dengan standar pemeriksaan laboratorium guna menghasilkan diagnostik yang tepat.



### TUJUAN PEMBELAJARAN

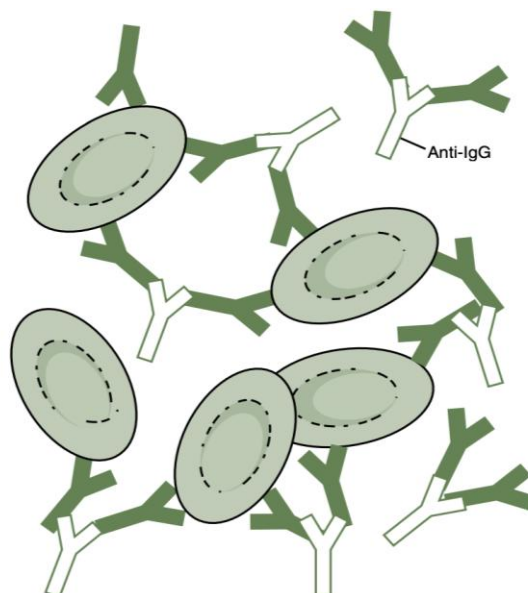
#### A. Tujuan Pembelajaran

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan Antiglobulin Tes
2. Mahasiswa mampu melakukan pra analitik, analitik dan pasca analitik pemeriksaan *Direct Antiglobulin Test (DAT)*
3. Mahasiswa mampu melakukan pra analitik, analitik dan pasca analitik pemeriksaan *Indirect Antiglobulin Test (IAT)*



### PENDAHULUAN

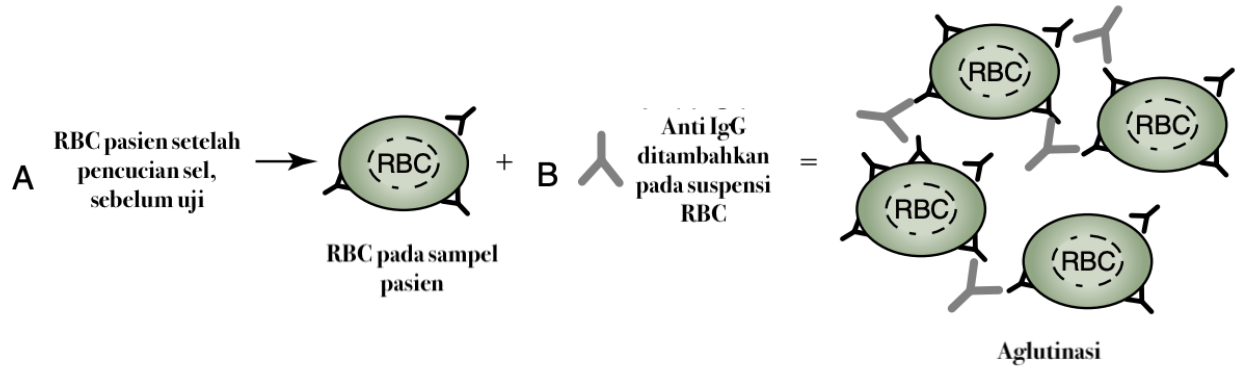
Uji antiglobulin yang lebih dikenal sebagai *Coombs Test*, merupakan suatu metode serologis yang digunakan untuk mendeteksi antibodi imunoglobulin G (IgG) atau komponen komplemen (misalnya C3d) yang terikat pada permukaan eritrosit (*Direct Antiglobulin Test/DAT*), atau antibodi bebas dalam serum (*Indirect Antiglobulin Test/IAT*). Pemeriksaan ini menjadi dasar dalam mendeteksi proses imunologis yang berperan dalam hemolisis, baik akibat autoimun maupun alloimunisasi pascatransfusi atau kehamilan (Kumar Krishnegowda et al., 2024; Xu et al., 2019).



Gambar 7.1 **Tes antiglobulin.** Tes antiglobulin mendeteksi molekul IgG dan molekul protein komplemen yang telah menempel (tersensitisasi) pada sel darah merah tetapi belum menghasilkan reaksi aglutinasi yang terlihat (Howard, 2017).

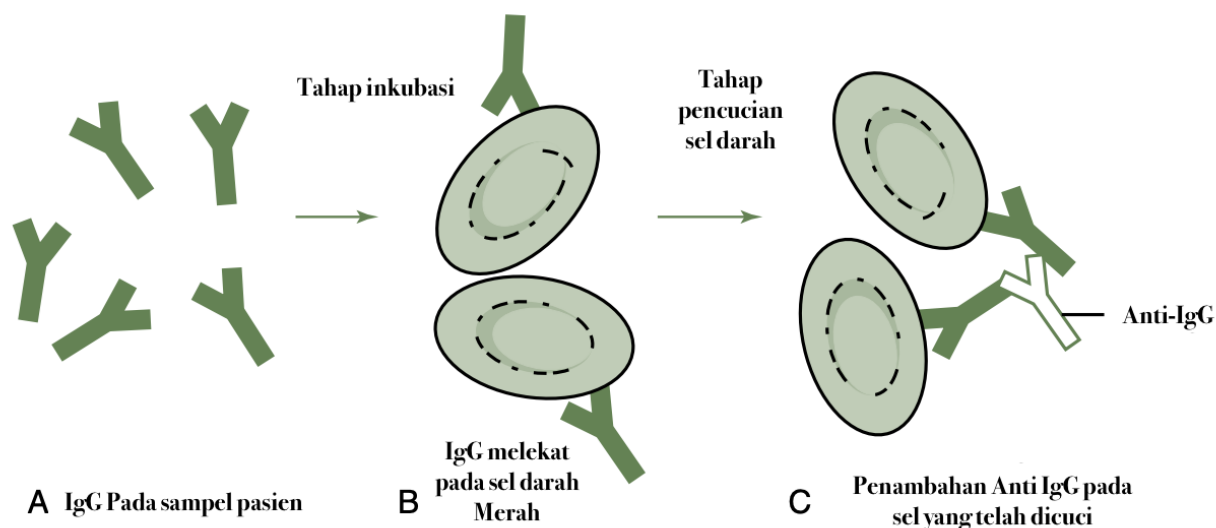
Sistem imun mengenali antigen asing pada permukaan sel darah merah, khususnya antigen dalam sistem ABO dan Rh. Bila terjadi paparan terhadap antigen yang tidak dimiliki individu tersebut (misalnya dalam transfusi atau kehamilan), tubuh dapat menghasilkan antibodi terutama dari kelas IgG. Antibodi ini dapat menempel pada eritrosit kemudian mengaktifkan sistem komplemen dan menyebabkan destruksi sel melalui fagositosis atau lisis sel (Alkhater et al., 2021; Lin, 2018). Imunoglobulin G sebagai antibodi inkomplet tidak dapat menyebabkan aglutinasi langsung tanpa bantuan antiglobulin, sehingga dibutuhkan reagen anti-IgG dalam pemeriksaan DAT maupun IAT. Mekanisme dasar dari kedua uji tersebut adalah reaksi aglutinasi yang diperantarai oleh antiglobulin serum hewan yang diarahkan terhadap IgG manusia. Reagen antiglobulin berfungsi sebagai **jembatan** antara antibodi inkomplet yang telah terikat pada eritrosit, sehingga menyebabkan aglutinasi yang dapat diamati secara visual sebagai reaksi positif (Segel & Lichtman, 2014; Sharma et al., 2023). Ilustrasi uji antiglobulin dapat dilihat pada gambar 7.1

\*RBC = Red Blood Cell



Gambar 7.2 *Direct Antiglobulin Test (DAT)*. **A**, Dalam DAT, sel darah merah pasien dicuci untuk menghilangkan imunoglobulin yang tidak terikat. **B**, Reagen AHG, baik polispesifik maupun monospesifik, ditambahkan. Jika molekul IgG atau C3d terdapat pada sel darah merah pasien, terjadi aglutinasi. Pasien memiliki hasil DAT positif (Howard, 2017).

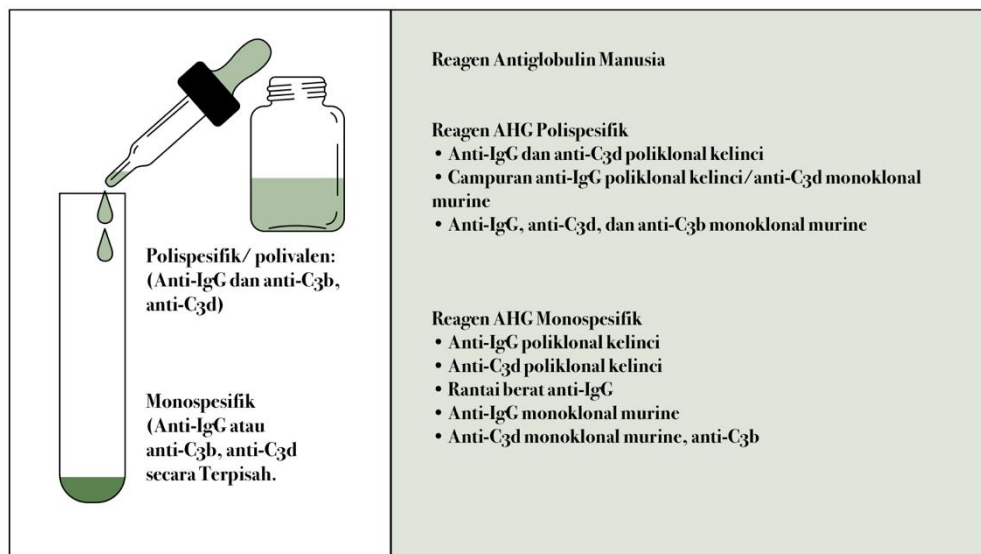
*Direct Antiglobulin Test (DAT)* bertujuan mendeteksi antibodi atau komplemen yang sudah melekat pada eritrosit secara *in vivo*. Pemeriksaan ini umum digunakan dalam diagnosis anemia hemolitik autoimun, penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (HDN), dan reaksi transfusi hemolitik. Sementara itu, *Indirect Antiglobulin Test (IAT)* mendeteksi antibodi bebas dalam serum/plasma yang dapat bereaksi dengan antigen eritrosit. Metode ini digunakan untuk skrining antibodi inkomplit, uji silang kompatibilitas darah, dan skrining prenatal ibu hamil Rh-negatif (Baine & Arinsburg, 2025; Whitlock, 2010). Kedua metode ini bekerja berdasarkan prinsip aglutinasi yang dimediasi oleh reagen antiglobulin (*Coombs reagent*), yang mengikat bagian Fc dari IgG atau komponen komplemen yang teradsorpsi di permukaan eritrosit. Reaksi aglutinasi ini menunjukkan hasil positif dan dapat diamati secara visual. Pemeriksaan DAT dan IAT sangat penting dalam praktik bank darah, medik transfusi, dan diagnostik autoimun hematologis. Pemeriksaan ini wajib dilakukan sebelum transfusi untuk mencegah reaksi hemolitik, serta dalam pemantauan kehamilan pada ibu dengan risiko inkompatibilitas Rh. Uji ini juga digunakan dalam skrining antibodi alloimun pada pasien dengan riwayat transfusi multipel, seperti penderita thalassemia (Ajmani, 2020; Quinley, 2011).



Gambar 7.3 *Indirect Antiglobulin Test (IAT)*. Antibodi dan sel darah merah diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama waktu tertentu untuk memungkinkan terjadinya reaksi Ag-Ab. Pencucian sel darah merah menghilangkan molekul yang tidak terikat. Reagen AHG dan anti-IgG monospesifik ditambahkan. Jika IgG terdapat pada sel darah merah, terjadi aglutinasi. Hasilnya adalah IAT positif (Howard, 2017)

Pemeriksaan antiglobulin harus dilakukan dengan pencucian eritrosit minimal 3 kali, untuk menghindari interferensi dari serum bebas. Reagen yang digunakan umumnya merupakan reagen polivalen (anti-IgG + anti-C3d), namun bisa juga menggunakan reagen monospesifik sesuai kebutuhan. Validitas pemeriksaan sangat dipengaruhi oleh teknik, suhu inkubasi, dan kondisi reagen (Arinsburg, 2019; Friedman et al., 2015; Jaime-Pérez & Almaguer-Gaona, 2016) Reagen AHG polivalen umumnya digunakan dalam uji DAT untuk menentukan apakah molekul IgG atau komplemen telah menempel pada sel darah merah secara *in vivo*. Reagen ini mengandung antibodi anti-IgG dan anti-C3d serta mendeteksi molekul IgG dan C3d pada sel darah merah. Reagen AHG monospesifik anti-IgG mengandung antibodi terhadap rantai gamma manusia (Quinley, 2011).

Sering kali reagen uji diberi label spesifik rantai panjang yang menunjukkan antiserum tersebut mengandung antibodi yang spesifik untuk rantai gamma panjang molekul IgG. Reagen monospesifik anti-C3b dan anti-C3d tidak mengandung reaktivitas terhadap molekul imunoglobulin manusia. Reagen ini secara khusus mendeteksi protein komplemen yang menempel pada permukaan sel darah merah karena aktivasi jalur klasik komplemen. Aktivasi jalur komplemen dapat menyebabkan kerusakan sel darah merah secara *in vivo* melalui hemolisis intravaskular atau hemolisis ekstravaskular. Untuk mendeteksi protein komplemen yang terikat secara *in vivo*, suatu reagen memerlukan spesifisitas untuk fragmen C3d (Howard, 2017).



Gambar 7.4 Ringkasan reagen AHG (Howard, 2017)



## PRAKTIKUM

### 1. Tahap Pra Analitik

#### a) Tujuan Pemeriksaan

Untuk mengetahui adanya antibody yang melekat pada sel darah merah (*coated antibody*), komplemen C3b/C3d dan adanya antibodi inkomplet pada sampel uji.

#### b) Metode pemeriksaan

*Direct Antiglobulin Test* (DAT) dan *Indirect Antiglobulin Test* (IAT)

#### c) Prinsip Pemeriksaan

##### 1) *Direct Antiglobulin Test* (DAT):

Mendeteksi antibodi (IgG) atau komplemen (misalnya C3d) yang sudah melekat secara *in vivo* pada permukaan eritrosit pasien. Setelah pencucian eritrosit, ditambahkan reagen antiglobulin (*Coombs reagen*), yang akan mengikat antibodi/komplemen dan menyebabkan aglutinasi → hasil **positif**.

##### 2) *Indirect Antiglobulin Test* (IAT)

Mendeteksi antibodi bebas dalam serum pasien yang dapat bereaksi dengan antigen pada eritrosit yang ditambahkan secara *in vitro*. Setelah inkubasi dan pencucian, reagen antiglobulin ditambahkan. Aglutinasi menunjukkan bahwa antibodi spesifik telah berikatan dengan eritrosit yang memiliki antigen target → hasil **positif**.

### d) Jenis dan Kriteria Sampel

Pada pemeriksaan DAT sampel yang digunakan darah EDTA. Sampel dengan kriteria ini digunakan untuk mengkhelat kalsium (komponen penting aktivasi C3) sehingga fiksasi C3 in vitro tidak akan terjadi. Pada pemeriksaan IAT diperlukan penambahan sampel serum pasien.

### e) Alat dan Bahan

Alat :	Bahan:
a. <i>Centrifuge</i>	a. Suspensi eritrosit 5%
b. <i>Water bath</i>	b. Saline 0,85%
c. Tabung reaksi/ Tabung serologi	c. <i>Coombs</i> reagen (AHG) Polivalen/ monospesifik
d. Rak tabung	d. CCC
e. Pipet tetes	

## 2. Tahap Analitik

### a) Prosedur Uji

#### *Direct Antiglobulin Test (DAT):*

- 1) Siapkan 2 tabung yang telah diberi label "T" untuk tabung tes dan "C" untuk tabung kontrol
- 2) Teteskan 1 tetes sel darah merah yang telah dicuci 5% dalam masing-masing tabung.
- 3) Tambahkan 2 tetes AHG (reagen *Coombs*) ke dalam tabung T.
- 4) Tambahkan 2 tetes salin ke dalam tabung C.
- 5) Campur dengan baik dan sentrifus pada kecepatan 1500 rpm selama 1 menit.
- 6) Periksa adanya aglutinasi dengan memegangnya pada permukaan putih yang menyala dan ketuk-ketuk bagian bawah tabung hingga suspensi sel atau aglutinasi yang merata terlihat.
- 7) Jika tidak terlihat adanya aglutinasi, biarkan tabung pada suhu ruangan selama 10 menit, lalu sentrifus pada kecepatan 1500 rpm selama 1 menit. Antibodi reaktif yang lebih lemah akan menunjukkan reaksi yang tertunda.
- 8) Uji Validitas jika hasil uji negatif : Tambahkan 1 tetes CCC pada tabung satu dan dua. Jika kedua tabung menunjukkan aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid. Jika salah satu tabung atau kedua tabung tidak aglutinasi maka hasil invalid dan

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

harus melakukan pemeriksaan ulang dengan cara mengganti serum *Coombs* atau mengganti spesimen

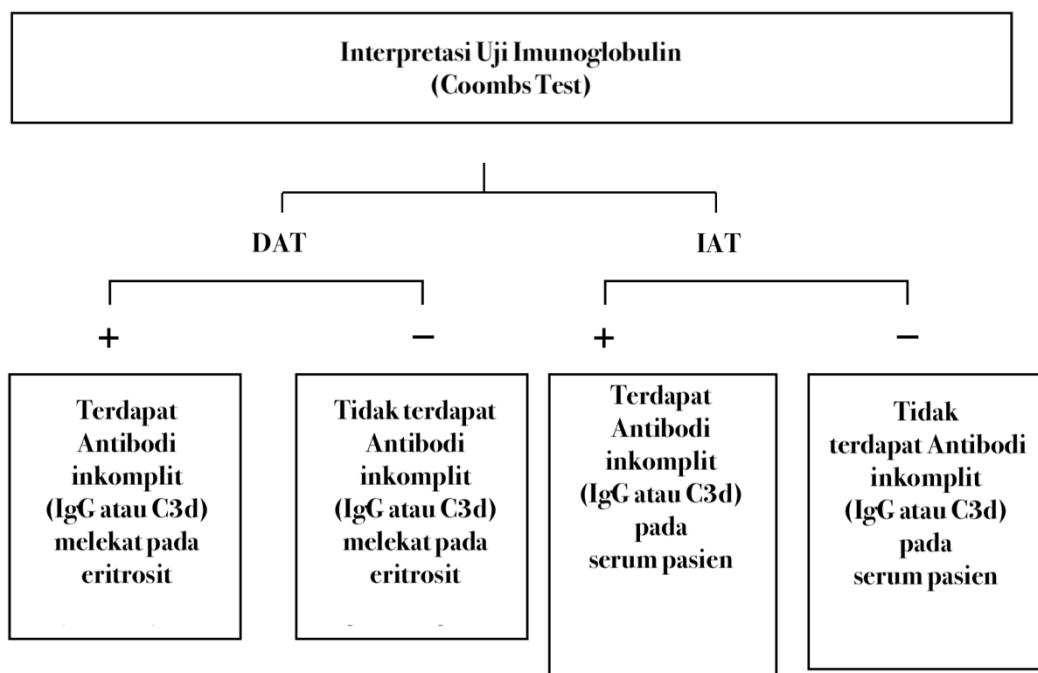
### ***Indirect Antiglobulin Test (IAT):***

- 1) Siapkan 3 tabung reaksi dan beri label “T” untuk tabung tes, “PC” untuk tabung kontrol positif, dan “NC” tabung kontrol negatif.
- 2) Tambahkan satu tetes suspensi sel darah merah 5% ke masing-masing tabung.
- 3) Tambahkan 2 tetes serum uji ke dalam tabung berlabel T. Tambahkan dua tetes anti-D IgG ke dalam tabung berlabel PC. Tambahkan dua tetes salin ke dalam tabung berlabel NC.
- 4) Inkubasi semua tabung dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 30 menit. Keluarkan semua tabung dari penangas air dan cuci 3 – 4 kali dengan 4 mL salin untuk menghilangkan serum berlebih tanpa antibodi bebas. Buang setelah pencucian terakhir.
- 5) Tambahkan dua tetes serum *Coombs* (AHG) ke dalam ketiga tabung dan homogenkan.
- 6) Biarkan pada suhu ruangan selama 5 menit.
- 7) Sentrifuge semua tabung pada kecepatan 1500 rpm selama 1 menit.
- 8) Suspensikan kembali sel dan periksa hemaglutinasi secara makroskopis dan mikroskopis.
- 9) **Uji Validitas** jika hasil uji negatif : Tambahkan 1 tetes CCC pada masing-masing tabung. Jika setiap tabung menunjukkan aglutinasi maka hasil pemeriksaan valid. Jika salah satu tabung atau ketiganya tidak aglutinasi maka hasil invalid dan harus melakukan pemeriksaan ulang dengan cara mengganti serum *Coombs* atau mengganti specimen. Adapun pada tabung positif kontrol, tidak perlu ditambahkan CCC karena tabung ini seharusnya sudah menunjukkan reaksi aglutinasi. Bila pada tabung positif kontrol tidak terjadi aglutinasi, maka pemeriksaan dianggap invalid sejak awal dan seluruh uji harus diulang dengan reagen atau spesimen baru.

### **b) Interpretasi Hasil**

Hasil positif pada pemeriksaan DAT dan IAT ditandai dengan terbentuknya **Agglutinasi** pada hasil uji.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah



### 3. Tahap Pasca Analitik

#### a) Pelaporan Hasil

Metode Uji	Hasil Uji	Nilai Rujukan
<i>Direct Antiglobulin Test</i> (DAT)	(+) Aglutinasi	(-) Negatif
<i>Indirect Antiglobulin Test</i> (IAT)	(+) Aglutinasi	(-) Negatif

#### b) Pebandingan Uji dan Sumber Kesalahan dalam Pemeriksaan

Tabel 7.1 Prosedur DAT dan IAT

Prosedur <i>Direct Antiglobulin Test</i> (DAT) dan <i>Indirect Antiglobulin Test</i> (IAT)	
DAT	IAT
Mendeteksi IgG atau komplemen yang sudah melekat <i>in vivo</i> pada permukaan sel darah merah pasien	Mendeteksi antibodi bebas (IgG) dalam serum/plasma yang dapat melekat <i>in vitro</i> pada sel darah merah uji
Penempelan IgG pada sel darah merah telah terjadi di dalam tubuh pasien	Penempelan IgG ke sel darah merah terjadi selama tahap inkubasi
Satu tahap prosedur	Dua tahap prosedur

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Sel darah merah pasien diuji dengan reagen antiglobulin tanpa langkah inkubasi	Uji ini memerlukan langkah inkubasi sebelum penambahan reagen antiglobulin
Uji untuk kondisi klinis tertentu: penyakit hemolitik pada janin dan bayi baru lahir, reaksi transfusi hemolitik, dan anemia hemolitik autoimun	Digunakan sebagai fase reaksi beberapa tes dalam imunohematologi: skrining antibodi dan panel identifikasi antibodi

Tabel 7.2 Penyebab umum positif palsu (*false-positive*) pada Tes Antiglobulin

Penyebab umum positif palsu ( <i>false-positive</i> ) pada Tes Antiglobulin	
Positif palsu	Rasional
Sel darah merah diaglutinasi sebelum langkah pencucian dan penambahan reagen AHG	Antibodi reaktif dingin poten yang berasal dari pasien
Alat gelas yang tidak bersih	Kontaminasi akibat partikel kotoran dan detergen
Over sentrifugasi	Pemampatan sel darah sangat rapat pada sentrifugasi sehingga terjadi penggumpalan nonspesifik tidak dapat tersebar

Tabel 7.3 Penyebab umum negatif palsu (*false-negative*) pada Tes Antiglobulin

Penyebab umum negatif palsu ( <i>false-negative</i> ) pada Tes Antiglobulin	
Negatif palsu	Rasional
Pencucian sel yang kurang tepat selama prosedur pengujian sebelum penambahan reagen AHG	Globulin bebas pada serum menetralkan AHG
Pengujian terganggu atau tertunda; Reagen AHG tidak ditambahkan segera setelah pencucian	Molekul IgG atau komplemen yang terikat dapat terlepas dari sel darah merah yang dilapisi

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Kegagalan identifikasi reaksi lemah	Teknikal eror
Hilangnya aktivitas reagen	Penyimpanan reagen yang tidak tepat, kontaminasi bakteri, atau kontaminasi dengan serum manusia
Under centrifugation	Kondisi untuk mendorong terjadinya aglutinasi tidak optimal
Konsentrasi sel darah merah yang tidak tepat—suspensi sel darah merah berada di luar kisaran optimal 2%-5%	Konsentrasi sel darah merah mempengaruhi reaksi aglutinasi

### **B. Laporan Sementara**

<b>Judul Praktikum:</b>
<b>Tujuan Praktikum:</b>
<b>Metode Pemeriksaan:</b>
<b>Prinsip:</b>

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

<b>Spesimen:</b>
<b>Alat dan bahan:</b>
<b>Langkah kerja:</b>

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Blank area for observation results.

**Hasil Pengamatan:**

No.	Dokumentasi	Keterangan
No.	Dokumentasi	Keterangan

**Pembahasan:**

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

--

**Kesimpulan:**

--

**Hari:** \_\_\_\_\_, **Tanggal:** \_\_\_\_\_

Nilai	Pembimbing Praktikum,	Praktikan,
	(_____)	(_____)



## EVALUASI

1. Dalam suatu uji pra transfusi, anda sebagai ATLM melakukan uji *Coombs* untuk mendeteksi adanya antibodi inkomplet pada permukaan eritrosit. Ketika melakukan uji anda mencampurkan suspensi eritrosit yang telah dicuci dengan reagen AHG selanjutnya mengamati terjadinya aglutinasi. Apa prinsip dari reaksi yang dilakukan?
  - a. Aglutinasi terjadi karen antibodi kelas IgG langsung mengikat sel darah merah
  - b. Eritrosit membentuk kompleks imun yang larut dalam plasma darah
  - c. Reagen antiglobulin menjembatani antibodi IgG pada permukaan eritrosit**
  - d. Antibodi IgM memediasi aktivasi komplemen yang memicu aglutinasi
  - e. Hemolisis terjadi akibat reaksi tarik menarik reagen dan sel dalam medium salin
2. Seorang pasien berumur 48 tahun dengan sebelumnya memiliki riwayat transfusi datang ke laboratorium untuk melakukan pemeriksaan pra-transfusi. Petugas laboratorium diminta untuk mendeteksi kemungkinan adanya alloantibodi dalam serum pasien. Pemeriksaan dilakukan dengan metode IAT. Mengapa metode IAT lebih tepat jika dibandingkan DAT dalam kasus tersebut?
  - a. Karena IAT mendeteksi antibodi yang sudah melekat pada permukaan eritrosit
  - b. Karena IAT mendeteksi antibodi bebas dalam serum pasien**
  - c. Karena IAT tidak memerlukan inkubasi dalam prosedur pemeriksaannya
  - d. Karena IAT digunakan untuk diagnosa pasien annemia aplastik
  - e. Kerena IAT dilakukan pada sampel tanpa proses pencucian sel
3. Seorang pasien akan menjalankan transfusi pertamanya sehingga memerlukan pemeriksaan pra transfusi. Sebagai bagian dari uji pra transfusi dokter meminta anda melakukan pemeriksaan IAT. Anda selanjutnya melakukan uji sesuai prosedur. Apa langkah penting yang harus dilakukan sebelum menambahkan *Coombs* reagen dalam prosedur tersebut?
  - a. Melarutkan antibodi dalam salin selama prosedur pencucian sel
  - b. Membuat suspensi sel darah dengan pengenceran hingga konsentrasi 5%
  - c. Melakukan inkubasi serum pasien dan suspensi sel darah pada suhu 37°C**
  - d. Menghomogenkan reagen antiglobulin dengan sel eritrosit tanpa inkubasi
  - e. Melakukan pencucian sel eritrosit sebanyak 3 kali setelah inkubasi
4. Seorang bayi baru lahir menunjukkan tanda ikterus dalam 24 jam pertama. Dokter mencurigai adanya hemolisis akibat inkompatibilitas golongan darah ABO antara ibu dan bayi. Sampel darah selanjutnya diambil untuik dilakukan uji DAT. Apa jenis spesimen dan penanganan awal yang sesuai untuk uji tersebut?

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- a. Serum dari tabung tanpa antikoagulan dengan peservasi pada suhu 4 °C
  - b. Plasma sitrat dari darah vena dan dapat langsung digunakan untuk uji
  - c. Whole blood tanpa antikoagulan yang telah diinversi 8-10 kali
  - d. Eritrosit dari darah vena EDTA yang dicuci dengan larutan salin**
  - e. Sel eritrosit dari darah dengan antikoagulan heparin tanpa pemisahan komponen
5. Seorang TLM menerima permintaan pemeriksaan *Coombs* di laboratoriumnya. Ketika melakukan uji TLM tersebut melewatkan prosedur pencucian sel eritrosit tanpa sengaja. Setelah reagen AHG ditambahkan, didapatkan hasil negatif, namun kondisi klinis pasien mendukung diagnosis anemia hemolitik. Setelah dilakukan pengujian ulang ternyata hasil pertama adalah negatif palsu. Apa kemungkinan penyebab utama hasil negatif palsu pada kasus tersebut?
- a. Sel eritrosit uji tidak memiliki globulin terikat pada permukaan selnya
  - b. Reagen AHG tidak bereaksi dengan tepat sehingga tidak dapat mengikat reaksi
  - c. Eritrosit tidak disentrifugasi sebelum prosedur penambahan AHG
  - d. Adanya antibodi bebas dalam plasma yang menetralkan ikatan AHG**
  - e. Eritrosit tidak tercampur dengan baik dengan AHG selama prosedur uji

### Penilaian

Komponen	Aspek yang dinilai	Bobot (%)	Keterangan
1. Sikap	a) Kehadiran&kedisiplinan b) Kerja sama (kolaborasi) c) Tanggung jawab d) Inisiatif & kemandirian e) Sikap positif & etika	20%	Diamati selama kegiatan berlangsung
2. Pengetahuan	a) Pretest b) Ujian tertulis	40%	Mengukur pemahaman teori dan konsep dasar
3. Keterampilan	a) Keterampilan teknis atau praktis b) Kemampuan Interpretasi hasil pemeriksaan c) Penyusunan laporan	40%	Mengukur kemampuan praktik, analisis dan dokumentasi

### **Ringkasan**

Antiglobulin test, atau yang dikenal sebagai uji Coombs, merupakan metode serologis yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi dari kelas IgG atau komponen komplemen seperti C3d yang berikatan dengan membran eritrosit.

Pemeriksaan ini terbagi menjadi dua jenis utama, yaitu Direct Antiglobulin Test (DAT) dan Indirect Antiglobulin Test (IAT), dengan masing-masing tujuan diagnostik yang berbeda

Direct Antiglobulin Test (DAT) digunakan untuk mengidentifikasi antibodi atau komplemen yang telah menempel pada eritrosit secara *in vivo*, seperti pada anemia hemolitik autoimun, penyakit hemolitik pada bayi baru lahir (HDN), atau reaksi transfusi hemolitik tertunda

Indirect Antiglobulin Test (IAT) digunakan untuk mendeteksi antibodi bebas dalam serum yang berpotensi berikatan dengan antigen eritrosit secara *in vitro*, seperti pada skrining antibodi tidak teratur dan uji kecocokan transfusi (crossmatch)

Prinsip dasar DAT adalah bahwa eritrosit pasien yang telah dicuci akan ditambahkan reagen antiglobulin (Coombs reagent); jika terdapat antibodi atau komplemen yang menempel, maka antiglobulin akan menjembatani partikel tersebut dan menyebabkan aglutinasi yang dapat diamati secara visual

Pada IAT, serum pasien diinkubasi bersama sel darah merah yang memiliki antigen target dalam kondisi *in vitro*; setelah pencucian untuk menghilangkan antibodi bebas, reagen antiglobulin ditambahkan untuk mendeteksi adanya antibodi yang telah terikat, dan aglutinasi menandakan hasil positif

Reagen antiglobulin umumnya berasal dari antibodi hewan terhadap imunoglobulin manusia (IgG) atau komponen komplemen seperti C3d, dan dapat berupa polivalen (mengandung anti-IgG dan anti-C3d) atau monospesifik (misalnya hanya anti-IgG)

Fungsi utama reagen antiglobulin adalah menjembatani antibodi inkomplet seperti IgG, yang secara alami tidak mampu menyebabkan aglutinasi, sehingga memungkinkan terbentuknya reaksi aglutinasi saat uji dilakukan

Tahap pra-analitik meliputi:

- Pemilihan jenis sampel yang tepat (EDTA untuk DAT, serum atau plasma untuk IAT)

- Proses pencucian eritrosit minimal tiga kali untuk menghilangkan antibodi bebas

- Pencegahan hemolisis dan kontaminasi untuk menjaga integritas sampel

- Penyimpanan dan transportasi sampel sesuai suhu dan waktu yang direkomendasikan

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Tahap **analitik** melibatkan pelaksanaan prosedur uji sesuai protokol:

- Penambahan reagen sesuai urutan dan volume

- Inkubasi pada suhu yang direkomendasikan (biasanya 37°C untuk IAT)

- Pencucian eritrosit yang ketat untuk menghindari hasil negatif palsu

- Penambahan dan pencampuran reagen antiglobulin dengan benar

- Pembacaan hasil secara visual atau menggunakan sistem deteksi seperti gel card atau mikroskop

Tahap pasca-analitik mencakup:

- Interpretasi hasil berdasarkan ada tidaknya aglutinasi

- Pencatatan hasil secara akurat dan lengkap dalam sistem laboratorium

- Evaluasi kemungkinan hasil palsu positif atau negatif, serta koreksi bila perlu

Uji antiglobulin memiliki peranan penting dalam bidang imunohematologi dan bank darah, khususnya dalam mendeteksi antibodi inkompatibel sebelum transfusi, pemantauan ibu hamil dengan risiko alloimunisasi, serta dalam diagnosis penyakit autoimun yang menyerang eritrosit

### DAFTAR PUSTAKA

- Ajmani, P. S. (2020). *Principles and Practice Immunohematology and Blood banking*. Springer. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-15-8435-0>
- Alkhater, S. A., Albalwi, R. A., Alomar, S. A., Alsultan, A. A., Almuheidib, H. R., Almousa, R. A., Alanezi, S. M., Alghamdi, R. K., & Shash, H. A. (2021). Value of the direct Antiglobulin test in predicting the need for phototherapy in Newborns. *Journal of Blood Medicine*, 12, 53–61. <https://doi.org/10.2147/JBM.S291606>
- Arinsburg, S. A. (2019). Pretransfusion Testing. In *Transfusion Medicine and Hemostasis* (pp. 107–116). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813726-0.00021-0>
- Baine, I., & Arinsburg, S. A. (2025). Chapter 21 - Pretransfusion Testing. In B. H. Shaz, C. D. Hillyer, J. Schwartz, & M. R. Gil (Eds.), *Transfusion Medicine and Hemostasis (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 87–94). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-96014-4.00117-8>
- Friedman, M. T., West, K. A., & Bizargity, P. (2015). Immunohematology and Transfusion Medicine: A Case Study Approach. In *Immunohematology and Transfusion Medicine: A Case Study Approach*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22342-1>
- Howard, P. R. (2017). *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. <http://paularhoward.com/>
- Jaime-Pérez, J. C., & Almaguer-Gaona, C. (2016). Rediscovering the Coombs test. *Medicina Universitaria*, 18(72), 185–186. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2016.07.001>
- Kumar Krishnegowda, V., Ramaswamy, V. V., Abiramalatha, T., Bandyopadhyay, T., S, A. K. P., & Kannan Loganathan, P. (2024). Direct antiglobulin test for the prediction of neonatal hyperbilirubinemia needing an intervention: a systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. In *Frontiers in Pediatrics* (Vol. 12). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fped.2024.1475623>
- Lin, J.-S. (2018). Clinical applications of direct antiglobulin test. *Blood, Heart and Circulation*, 2(4). <https://doi.org/10.15761/bhc.1000143>
- Quinley, E. D. (2011). *Immunohematology Principles & Practice* (J. Goucher, Ed.; 3rd ed.). Wolters Kluwer.
- Segel, G. B., & Lichtman, M. A. (2014). Direct antiglobulin (“Coombs”) test-negative autoimmune hemolytic anemia: A review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 52(4), 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2013.12.003>
- Sharma, A., Gupta, N., & Mishra, J. (2023). *Article in Community practitioner: the journal of the Community Practitioners' & Health Visitors' Association* . [www.commprac.com](http://www.commprac.com)
- Whitlock, S. A. (2010). *Immunohematology for Medical Laboratory Technicians* (S. Dickinson, Ed.). Delmar Cengage Learning.
- Xu, L., Li, H., Yang, S., Zeng, W., Gan, S., Chen, X., Duan, L., & Hu, H. (2019). Interference in the indirect antiglobulin test and direct antiglobulin test from rheumatoid factor. *Journal of International Medical Research*, 48(3). <https://doi.org/10.1177/0300060519892386>

**BAB  
VIII**

**PEMERIKSAAN INFEKSI MENULAR  
LEWAT TRANSFUSI DARAH (IMLTD)**



**TUJUAN PEMBELAJARAN**

1. Mahasiswa mampu memahami jenis pemeriksaan infeksi menular lewat transfusi darah
2. Mahasiswa mampu memahami prinsip pemeriksaan infeksi menular lewat transfusi darah
3. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan infeksi menular lewat transfusi darah
4. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi dan verifikasi hasil pemeriksaan pemeriksaan infeksi menular lewat transfusi darah



**PENDAHULUAN**

Pelayanan darah merupakan komponen penunjang yang sangat penting dari pelayanan kesehatan. Banyak penyakit atau kondisi klinis pasien yang hanya dapat diperbaiki oleh Tindakan transfusi darah. Namun demikian transfusi darah merupakan tindakan medis yang berisiko (Kemenkes, 2023). Salah satu risiko transfusi adalah penularan infeksi melalui transfusi darah, misalnya adalah infeksi HIV, Hepatitis B, Sifilis dan sebagainya. Oleh sebab itu, uji saring Infeksi Menular Lewat Trasfusi Darah (IMLTD) untuk menghindari risiko penularan dari donor kepada pasien merupakan bagian yang kritis dari proses penjaminan bahwa transfusi dilakukan dengan cara seaman mungkin. Uji saring darah terhadap infeksi paling sedikit wajib ditujukan untuk deteksi HIV, Hepatitis B, Hepatitis C dan Sifilis. Untuk jenis infeksi lain seperti Malaria, dan lainnya tergantung prevalensi infeksi tersebut di masing-masing daerah (Maharani & N.Ganjar, 2018). Deteksi IMLTD dapat dilakukan terhadap antibodi dan atau antigen seperti metode *rapid test*, *Enzyme Immuno Assay* (EIA/ELISA), *Chemiluminescence Immuno Assay* (ChLIA), dan terhadap materi genetik virus seperti metoda *Nucleic Acid Amplification Test* (NAT). Jika metode EIA/ELISA tidak efisien secara biaya, maka uji saring IMLTD dapat disentralisasikan ke UTD yang telah mampu melakukannya. Metode rapid test untuk uji saring darah donor hanya dapat

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

digunakan pada kondisi infrastruktur yang belum memadai untuk dilakukannya metode lain, dan tidak dapat disentralisasikan dengan UTD lain karena keadaan geografi yang tidak memungkinkan (Kemenkes, 2015) .

### **1. Hepatitis B surface antigen (HBsAg)**

Antigen permukaan hepatitis B, atau HBsAg, adalah penanda pertama yang muncul, yang dapat dideteksi 2 hingga 10 minggu setelah terpapar HBV. Kadarnya memuncak selama tahap akut infeksi, kemudian secara bertahap menurun saat tubuh sudah mengembangkan antibodi terhadap antigen dan mulai pulih. HBsAg serum biasanya menjadi tidak terdeteksi pada 4 hingga 6 bulan setelah timbulnya gejala pada pasien dengan hepatitis B akut. Pada pasien dengan infeksi HBV kronis, HBsAg tetap meningkat selama 6 bulan atau lebih. Dengan demikian, HBsAg merupakan indikator infeksi aktif dan merupakan penanda penting dalam mendeteksi infeksi awal, memantau perjalanan infeksi dan perkembangan menjadi penyakit kronis, dan skrining darah donor (D.C. Stevens, 2010).

### **2. Antibodi anti-HIV**

Antibodi terhadap HIV-1 muncul sekitar 6 minggu setelah infeksi. Beberapa uji laboratorium untuk menetapkan infeksi HIV adalah melalui deteksi antibodi, antigen virus, RNA-DNA virus dan kultur. Pengujian antibodi dengan EIA memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, dan tetap menjadi metode yang umum digunakan untuk skrining donor darah. (Turgeon L., 2014). Namun, selain faktor-faktor seperti hemolisis, adanya lipemia, antikoagulan, dan alloantigen yang ada dalam serum pasien, terutama selama kehamilan, transfusi, transplantasi, dan penyakit autoimun seperti *systemic lupus erythematosus* (SLE), *rheumatoid arthritis* (RA), anti-lymphocyte antibody, dan anti-collagen antibody terkadang dapat menghasilkan positif palsu dengan reaktivitas silang dalam uji serologis (Güler et al., 2022).

### **3. Anti HCV**

Tes serologis digunakan untuk skrining donor darah dan organ serta untuk diagnosis awal pasien yang mengalami gejala infeksi virus HCV. Infeksi HCV didiagnosis menggunakan RNA HCV dan antibodi HCV (anti-HCV) yang spesifik terhadap antigen, seperti antigen inti struktural dan protein non-struktural lainnya (Jiang et al., 2021). Anti-HCV Tes ini melibatkan deteksi antibodi IgG HCV melalui metode immunoassay enzim generasi ketiga atau immunoassay chemiluminescent menggunakan antigen rekombinan dan sintesis dari protein C, NS3, NS4, dan NS5. Peningkatan dalam tes tersebut membuat deteksi antibodi dapat dilakukan lebih awal, sekitar 4 hingga 6 minggu setelah infeksi. Namun, meskipun spesifisitas metode ini tinggi, hasil positif palsu bisa terjadi karena reaktivitas silang dari

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

infeksi virus lain atau disfungsi autoimun (D. C. Stevens, 2010).

### **4. Tes Sifilis**

Imunoasai untuk sifilis memegang peranan yang penting dalam diagnosis laboratoris dari penyakit sifilis, sebab perjalanan penyakit ini lama dan sampai saat ini *T. pallidum* belum berhasil untuk dibiakkan pada suatu media perbenihan, sedangkan pemeriksaan secara langsung (mikroskopis) hanya dapat dikerjakan pada bahan yang diambil dari lesi (ulcus durum, condylomata lata, dan reseola) yang sering kali hanya muncul dalam waktu yang relatif singkat dan sering memberi hasil yang negatif semu. Uji serologi lebih mudah, ekonomis, dan lebih sering dilakukan. Dari segi imunoasai, pada infeksi dengan *T. pallidum* akan menimbulkan 2 jenis antibodi, antara lain (1) antibodi nontreponemal atau reagin sebagai akibat dari sifilis atau penyakit infeksi yang lain; (2) Antibodi treponemal yang bereaksi dengan *T. pallidum* dan *closely related strains*. Salah satu imunoasai yang menggunakan reagin sebagai antibodi dan lipoid sebagai antigen adalah pemeriksaan *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL). Sedangkan contoh imunoasai yang menggunakan *T. Pallidum* sebagai antigen yaitu *Treponema pallidum Hemagglutination* (TPHA).

#### **a. VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*)**

Tes ini mendeteksi imunoglobulin yang merupakan antibodi terhadap bahan-bahan lipid sel-sel *T. Pallidum* yang hancur. Antibodi ini dapat timbul sebagai reaksi terhadap infeksi sifilis. Namun antibodi ini juga dapat timbul pada berbagai kondisi lain, yaitu pada infeksi akut (misalnya: infeksi virus akut) dan penyakit kronis (misalnya: penyakit autoimun kronis). Oleh karena itu, tes ini bersifat non-spesifik, dan bisa menunjukkan hasil positif palsu. Hasil positif pada tes non spesifik treponema tidak selalu berarti bahwa seseorang pernah atau sedang terinfeksi sifilis. Hasil tes ini harus dikonfirmasi dengan tes spesifik treponema.

#### **b. *Treponema pallidum Hemagglutination* (TPHA)**

Tes ini bertujuan untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap *Treponema Pallidum*. Oleh karena itu, tes ini jarang memberikan hasil positif palsu. Tes ini dapat menunjukkan hasil positif/reaktif seumur hidup walaupun terapi sifilis telah berhasil. Tes jenis ini tidak dapat digunakan untuk membedakan antara infeksi aktif dan infeksi yang telah diterapi secara adekuat. Tes treponemal hanya menunjukkan bahwa seseorang pernah terinfeksi treponema, namun tidak dapat menunjukkan apakah seseorang sedang mengalami infeksi aktif.

#### **c. *Enzyme Immunoassay Test***

Enzyme immunoassay merupakan metode tidak langsung untuk deteksi antibodi *T. pallidum*. Tes ini sering digunakan untuk skrining sifilis di bank darah. Ada 2 jenis antibodi

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

yang dideteksi yaitu antibodi IgG dan IgM. Tes ini menggunakan antigen *T. pallidum* yang disonikasi. Beberapa jenis EIA lainnya dapat menggunakan antigen spesifik rekombinan treponema-15, 17, 44,5, dan 47kD. Sensitivitas pada tahap primer adalah 77-100%, sekunder 85-100%, laten 64-100% dengan spesifisitas 99-100% (Purwoko et al., 2021).



## **PRAKTIKUM**

### **1. Hepatitis B surface antigen (HBsAg)**

Dalam buku praktikum ini akan dijelaskan pemeriksaan HBsAg dengan metode rapid test (imunokromatografi) dan metode ELISA.

#### **a. Metode Rapid Test**

##### **1) Pra analitik**

###### **a) Tujuan Pemeriksaan**

Pemeriksaan ini bertujuan menentukan adanya antigen permukaan virus hepatitis B (*Hepatitis B Surface Antigen*) dalam sampel darah probandus untuk diagnosis infeksi virus Hepatitis B

###### **b) Metode : Imunokromatografi (*Lateral flow chromatographic immunoassay*)**

###### **c) Prinsip :**

Test cepat HBsAg menggunakan prinsip *double antibody sandwich technique*. Adanya HBsAg dalam serum penderita akan bereaksi dengan anti HBs yang berlabel *colloidal gold conjugate* pada bantalan sampel, selanjutnya akan berikatan dan bergerak melalui membrane kapiler yang dilapisi dengan anti HBs. Adanya garis pada area tes menunjukkan hasil positif.

###### **d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel**

Sampel pemeriksaan dapat menggunakan serum atau plasma. Hindari penggunaan sampel lisis

###### **e) Alat dan bahan**

Alat : tabung serologi, *Timer*

Bahan : HBsAg Rapid Test

##### **2) Analitik**

###### **a) Prosedur pemeriksaan**

- i. Pastikan tes strip dan sampel dalam suhu kamar (15-30<sup>0</sup>C) sebelum pemeriksaan.
- ii. Keluarkan tes strip dari kemasan dan segera gunakan. Hasil terbaik akan

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

diperoleh bila assay dilakukan dalam satu jam.

- iii. Celupkan tes strip secara vertikal pada sampel selama 10-15 detik. Jangan melewati garis batas maksimum (MAX) pada tes strip saat mencelupkan tes strip.
- iv. Amati terbentuknya garis merah pada area test. (Hasil harus dibaca dalam 15 menit).

### **3) Post analitik**

#### **a) Interpretasi Hasil :**

- i. **Positif :** Tampak dua garis merah yang berbeda. Satu garis pada daerah kontrol ( C ) dan garis lain pada daerah tes ( T ). Intensitas warna merah pada garis yang terbentuk di daerah tes ( T ) bervariasi tergantung pada konsentrasi HBsAg yang ada dalam sampel. Oleh sebab itu, apapun warna garis merah yang terbentuk pada daerah ( T ) dianggap positif.
- ii. **Negatif :** Tampak Satu garis merah pada daerah kontrol ( C ). Tidak muncul garis merah atau merah muda pada daerah tes ( T ).
- iii. **Invalid :** Tidak muncul garis pada daerah kontrol (C). Volume spesimen yang tidak memenuhi atau teknik prosedur yang salah dapat menyebabkan kesalahan ini. Jika terjadi hal yang demikian, maka harus dilakukan tes ulang dengan tes strip yang baru. Jika masalah tetap berlanjut, hentikan menggunakan test kit tersebut dan hubungi distributor reagen yang digunakan.



Gambar 8.1 Interpretasi pemeriksaan HBsAg rapid test (Fortress Diagnostics)

#### **b) Sumber kesalahan pemeriksaan :**

- Reaksi silang co-infeksi HIV, HCV, tuberkulosis bisa menyebabkan kesalahan hasil
- Mutasi antigen pada daerah determinant dapat membuat HBsAg tidak terdeteksi

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- Kadar antigen yang rendah pada Infeksi awal dapat menyebabkan negatif palsu

c) Jaminan mutu pemeriksaan :

Garis berwarna yang muncul pada daerah kontrol (C) merupakan prosedur kontrol internal yang menunjukkan bahwa volume spesimen cukup dan telah menggunakan teknik prosedur yang benar. Standar kontrol tidak disertakan dalam kit ini; namun, sebaiknya dilakukan pengujian terhadap kontrol positif (mengandung 10 ng/mL HBsAg) dan control negatif (mengandung 0 ng/mL HBsAg) sebagai praktik laboratorium yang baik untuk mengonfirmasi prosedur tes dan memverifikasi kinerja tes yang tepat.

### 4) Jurnal Praktikum/laporan sementara

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

Hasil :

Kesimpulan :



### b. Metode *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

#### 1) Pra analitik

##### a) Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan menentukan adanya antigen permukaan virus hepatitis B (*Hepatitis B Surface Antigen*) dalam sampel darah probandus untuk diagnosis infeksi virus Hepatitis B.

##### b) Metode : Sandwich ELISA

##### c) Prinsip :

Ketika sampel positif HBsAg diinkubasi ke dalam sumur, antibodi monoklonal Anti-HBsAg yang dilapiskan pada fase padat akan mengikat HBsAg dari sampel. Inkubasi lebih lanjut dengan antibodi monoklonal anti-HBsAg yang dilabel enzim peroksidase (anti-HBsAg-HRP) menghasilkan kompleks imun sandwich yang terikat pada sumur: antibodi fase padat: HBsAg : Antibodi-HRP. Aktivitas HRP kemudian dideteksi dengan penambahan substrat, yang merubah warna biru menjadi kuning setelah reaksi dihentikan dengan asam.

##### d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Sampel pemeriksaan dapat menggunakan serum atau plasma. Hindari sampel lisis

##### e) Alat dan bahan

Alat :

- Mikropipet
- Yellow tips
- Inkubator (+37° C)
- *Automatic plate washer*
- *ELISA reader*
- Adsorbent pad or paper.
- *Vortex mixer.*

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Bahan :

- *Coated microplates* (mikroplate dengan 96 sumur yang dilapisi dengan antibodi monoklonal Anti-HBsAg)
- Enzyme Conjugate (Anti-HBsAg-HRP conjugate)
- Kontrol Negatif
- Kontrol Positif
- Substrate Solution A (berisi Urea Hydrogen Peroxide)
- Substrate Solution B (stabilized 3,3'-5,5' Tetramethylbenzidine (TMB))
- Stop Solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Wash Buffer (berisi 30 ml phosphate Buffered Saline)
- Aquadest

### **2) Analitik**

a) Prosedur Pembuatan Larutan Pencuci

- i. Tuangkan seluruh isi *Wash Buffer* (30 ml) ke dalam gelas ukur.
- ii. Bilas botol dengan aquadest dan masukkan ke dalam gelas ukur hingga volume total mencapai 600 ml
- iii. Pindahkan isi gelas ukur ke dalam botol penyimpanan

b) Prosedur Pemeriksaan

- i. Pastikan seluruh reagen dan sampel dalam suhu kamar (15-30<sup>0</sup>C) sebelum pemeriksaan.
- ii. Siapkan satu sumur kosong untuk blanko, masukkan masing-masing 50µl kontrol negatif ke tiga sumur, 50 µl kontrol positif ke dua sumur, dan 50ul spesimen ke sumur masing-masing, lalu pipet 50 µl larutan kerja Anti HbsAg-HRP konjugat ke setiap sumur, kecuali blanko (1A) sesuai skema berikut:

1A : Blanko

2A, 3A, 4A : Serum Kontrol Negatif

5A, 6A : Serum Kontrol Positif

7A : Sampel

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- iii. Inkubasi plate dalam inkubator +37°C selama 30 menit.
- iv. Pada akhir inkubasi, cuci strip 6 kali dengan larutan pencuci, baik secara manual maupun otomatis. Pastikan larutan pencucian tetap di sumur selama 30 detik setiap siklus. Setelah pencucian terakhir, pastikan seluruh larutan benar-benar dihilangkan dari setiap sumur.
- v. Tambahkan 50ul larutan substrat A dan B, termasuk 1A. Aduk secara horizontal dan inkubasi selama 10 menit pada +37°C (hindari paparan sinar matahari langsung).
- vi. Hentikan reaksi dengan menambahkan 50ul Larutan Penghalang ke setiap sumur (termasuk sumur kosong) dalam urutan yang sama seperti saat menambahkan larutan substrat.
- vii. Setelah menambahkan larutan penghenti, baca warna yang terbentuk pada pembaca mikroplate pada 450 nm dalam waktu 30 menit setelah penghentian.

### **3) Post analitik**

#### **a) Interpretasi Hasil**

Ada tidaknya HBsAg pada sampel ditentukan oleh hubungan nilai absorban tiap sampel dengan nilai Cut Off(CO)

- Nilai Cut Off  $CO = NCx \times 2,1$
- $NCx =$  nilai absorbansi rata-rata control negative, jika  $NCx \leq 0,05$  maka hasilnya ditulis 0,05)

**Jika nilai absorbansi sampel < nilai Cut off maka dinyatakan negatif**

**Jika nilai absorbansi sampel  $\geq$  nilai Cut off maka dinyatakan positif**

#### **b) Sumber kesalahan pemeriksaan :**

- Pemipetan sampel dan reagen yang kurang tepat
- Pencucian yang kurang optimal
- Waktu inkubasi tidak tepat
- Penggunaan sampel yang mengalami pembekuan-pencairan berulang

#### **c) Jaminan mutu pemeriksaan :**

Hasil pemeriksaan valid jika :

- Nilai rata-rata absorbansi Kontrol negatif rata-rata  $< 0,10$
- Nilai rata-rata Kontrol positif  $\geq 0,6$

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### d) Jurnal Praktikum

Judul	:	
Tujuan	:	
Prinsip	:	
Spesimen Pemeriksaan	:	
Alat dan Bahan	:	
Langkah Kerja	:	

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil	:
Kesimpulan	:

### **2. Anti HIV**

#### **a. Metode Rapid Test**

##### **1) Pra Analitik**

- a) Tujuan Pemeriksaan : Mendeteksi adanya antibodi terhadap HIV-1/HIV-2 dalam serum atau plasma
- b) Metode : Imunokromatografi

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### c) Prinsip :

Adanya antibodi terhadap HIV-1 atau HIV-2 dalam serum penderita akan bereaksi dengan antigen rekombinan HIV yang dilapisi gold conjugate pada membrane yang selanjutnya akan berikatan membentuk kompleks yang akan bergerak secara kromatografi melalui kapiler dan bereaksi dengan antigen rekombinan HIV yang ada pada area garis test. Terbentuknya garis pada area test menunjukkan hasil positif.

### 4) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel : serum atau plasma

### 5) Alat dan bahan :

#### i. Alat :

- Tabung serologi
- Timer

#### ii. Bahan : Rapid Test Anti-HIV Cassete

## **2) Analitik**

### Prosedur Pemeriksaan:

#### a) Pastikan tes strip dan sampel dalam suhu kamar (15-30°C) sebelum pemeriksaan.



Gambar 8.2 Rapid Test Anti-HIV Cassete

#### b) Keluarkan tes strip dari kemasan dan segera gunakan. Hasil terbaik akan diperoleh bila assay dilakukan dalam satu jam.

#### c) Letakkan cassette pada permukaan yang bersih dan datar

#### d) Masukkan 1 tetes serum/plasma (30µl), segera tambahkan 1 tetes buffer (hindari terbentuknya gelembung)



Gambar 8.3 Prosedur Rapid Test Anti-HIV Cassete

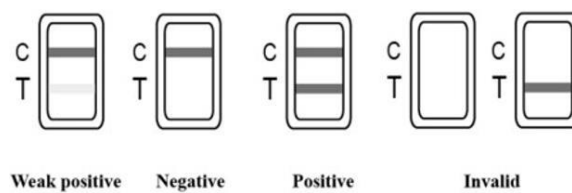
## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

e) Amati terbentuknya garis merah pada area test. (Hasilnya harus dibaca dalam 15 menit).

### 3) Post Analitik

#### 1) Interpretasi Hasil

- Positif : Tampak dua garis merah yang berbeda. Satu garis pada daerah kontrol (C) dan garis lain pada daerah tes (T). Intensitas warna merah pada garis yang terbentuk di daerah tes (T) bervariasi tergantung pada konsentrasi HBsAg yang ada dalam sampel. Oleh sebab itu, apapun warna garis merah yang terbentuk pada daerah (T) dianggap positif.
- Negatif : Tampak Satu garis merah pada daerah kontrol (C). Tidak muncul garis merah atau merah muda pada daerah tes (T).
- Invalid : Tidak muncul garis pada daerah kontrol (C). Volume spesimen yang tidak memenuhi atau teknik prosedur yang salah dapat menyebabkan kesalahan ini. Jika terjadi hal yang demikian, maka harus dilakukan tes ulang dengan tes strip yang baru. Jika masalah tetap berlanjut, hentikan menggunakan test kit tersebut dan hubungi distributor reagen yang digunakan.



Gambar 8.4 Interpretasi hasil anti HIV

#### b) Sumber kesalahan Pemeriksaan :

- Volume darah atau buffer yang tidak tepat
- Kontaminasi
- Pembacaan terlalu awal/terlambat, atau kesulitan membedakan garis lemah
- Reagen yang kadaluwarsa atau disimpan tidak sesuai suhu/lembap dapat merusak aktivitas diagnostik .
- Keberadaan autoantibodi atau heterophilic antibody dari lupus, syphilis, EBV, atau riwayat vaksin bisa memicu hasil reaktif palsu

#### c) Jaminan mutu pemeriksaan :

Garis berwarna merah yang muncul pada daerah kontrol (C) merupakan prosedur kontrol internal yang menunjukkan bahwa volume spesimen cukup dan telah menggunakan teknik prosedur yang benar. Standar kontrol tidak disertakan dalam kit namun, sebaiknya dilakukan pengujian terhadap kontrol positif dan kontrol negatif sebagai bentuk praktik laboratorium yang baik untuk mengonfirmasi prosedur tes dan memverifikasi kinerja tes yang tepat.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 4) Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil	:
Kesimpulan	:

### **1) Metode *Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA)***

#### **1) Pra analitik**

- a) Tujuan Pemeriksaan : untuk mendeteksi antibodi terhadap HIV tipe 1 (HIV-1) dan tipe 2 (HIV-2) dalam serum atau plasma
- b) Metode : Sandwich ELISA
- c) Prinsip : Plat mikrotiter yang telah dilapisi dengan antigen protein rekombinan HIV yang berasal dari protein envelope dan core HIV-1 dan HIV-2 akan berikatan dengan antibodi spesifik terhadap HIV dalam sampel. Selanjutnya ditambahkan antigen protein rekombinan HIV berlabel enzim (horseradish peroxidase (HRP) sehingga mengikat antibodi HIV membentuk sandwich antara antigen recombinan HIV - antibodi HIV - antigen recombinant). Penambahan larutan substrat TMB (3,3',5,5' tetramethyl-benzidine) akan bereaksi dengan Enzim (HRP) sehingga terjadi perubahan warna yang diukur secara spektrofotometrik pada panjang gelombang 450 nm.
- d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Sampel pemeriksaan dapat menggunakan serum atau plasma. Hindari sampel hemolisis, berlemak atau keruh.

### e) Alat dan bahan

Alat :

- Mikropipet
- Yellow tip
- *Automatic plate washer*
- *ELISA reader*
- Adsorbent pad or paper.
- *Timer*

Bahan :

- *Coated microplates* (mikroplate dengan 96 sumur yang dilapisi dengan antibodi monoklonal Anti-HBsAg)
- Enzyme Conjugate (antigen HIV-1/HIV-2 berlabel HRP)
- Kontrol Negatif
- Kontrol Positif
- Larutan Substrate A (berisi Urea Hydrogen Peroxide)
- Larutan Substrate B (stabilized 3,3'-5,5' Tetramethylbenzidine (TMB))
- Stop Solution
- Washing solution (larutan Pencuci)
- Aquadest

## **2) Analitik**

### a) Preparasi reagen

- i. Pastikan semua reagen mencapai suhu ruang (18-25°C) selama minimal 30 menit sebelum digunakan. Campurkan semua reagen sebelum digunakan dengan mengocok perlahan. Jangan sampai terbentuk busa.
- ii. Atur incubator/water bath pada suhu 37 °C.
- iii. Tambahkan 1 bagian volume konsentrat larutan pencuci dengan 19 bagian volume aquadest dan homogenkan secara merata.

### b) Prosedur Pemeriksaan

- i. Pastikan seluruh reagen dan sampel dalam suhu kamar (15-30°C) sebelum pemeriksaan.
- ii. Tuliskan jumlah relatif spesimen dan sumur pada lembar data. Satu sumur untuk blanko,

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

lima sumur tambahan untuk kontrol, dan satu sumur untuk setiap spesimen.

- iii. Sisihkan satu sumur untuk blanko, tambahkan 50ul kontrol negatif ke masing-masing tiga sumur, 50ul Kontrol Positif ke masing-masing dua sumur, dan 50ul spesimen ke satu sumur masing-masing sesuai skema berikut:
  - 1A : Blanko
  - 2A, 3A, 4A : Kontrol Negatif
  - 5A, 6A : Kontrol Positif
  - 7A : Sampel
- iv. Homogenkan dengan mengetuk sisi plate selama 30 detik atau menggunakan *Plate shaker*
- v. Tutup plate dan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.
- vi. Tambahkan 350 µl larutan pencuci, buang dan ulangi sebanyak 6 kali pencucian baik secara manual maupun otomatis. Setelah pencucian terakhir, pastikan seluruh larutan benar-benar dihilangkan dari setiap sumur.
- vii. Tambahkan 50 µl *enzyme conjugate* ke setiap sumur kecuali sumur blanko, homogenkan secara merata.
- viii. Tutup plate dengan penutup plate dan inkubasi pada 37°C selama 30 menit.
- ix. Tambahkan 350 µl larutan pencuci, buang dan ulangi sebanyak 6 kali pencucian baik secara manual maupun otomatis. Setelah pencucian terakhir, pastikan seluruh larutan benar-benar dihilangkan dari setiap sumur.
- x. Tambahkan 50ul larutan substrat A dan B ke setiap sumur termasuk sumur blanko. Aduk perlahan selama 15 detik, lalu tutup plate dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C (hindari paparan cahaya).
- xi. Tambahkan 50 µl stop solution ke setiap sumur, termasuk sumur blanko, dan aduk perlahan.
- xii. Baca absorbansi dalam 20 menit menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

### 3) Post analitik

#### a) Interpretasi Hasil

- Hitung nilai rata-rata absorbansi control negatif dari ketiga sumur. Jika rata-rata absorbansi control negative  $< 0,05$ , maka gunakan 0,05
- Nilai Cut Off = nilai rata-rata absorbansi control negatif + 0,1
- **Hasil Nonreaktif : absorbansi sampel  $<$  nilai Cut off**
- **Hasil Reaktif : Absorbansi sampel  $\geq$  nilai Cut off**

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### b) Sumber kesalahan pemeriksaan

- Siklus beku cair pada sampel menyebabkan hilangnya bioaktivitas dan kontaminasi yang dapat mempengaruhi hasil tes
- Antibodi heterofilik dan faktor reumatoid dalam sampel dapat mengganggu hasil tes.
- Autoimun, alergi, vaksin, atau infeksi parasit dapat menyebabkan reaktivitas non-spesifik dapat memicu hasil positif palsu

### c) Jaminan mutu pemeriksaan

Hasil pemeriksaan dianggap valid jika :

- Rata-rata absorbansi kontrol negatif  $< 0,1$
- Rata-rata absorbansi kontrol positif  $\geq 0,7$

## **4) Jurnal Praktikum**

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil	:
Kesimpulan	:

### **3. Anti HCV**

#### **a. Pra analitik**

##### 1) Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan menentukan adanya antibodi terhadap virus hepatitis C dalam sampel serum/plasma untuk diagnosis infeksi virus Hepatitis C

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

2) Metode : ELISA

3) Prinsip :

Adanya antibodi Anti-HCV dalam sampel akan mengikat antigen rekombinan HCV yang dilapiskan pada mikrowell. Setelah pencucian, ditambahkan konjugat Anti-human IgG berlabel enzim HRP ke campuran reaksi sehingga terbentuk kompleks antara antigen pada fase padat, antibodi Anti-HCV dalam sampel dan Anti-human IgG berlabel enzim. Penambahan substrat A dan substrat B selanjutnya akan menghasilkan reaksi kromogenik yang diukur sebagai absorbansi. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan banyaknya Anti-HCV dalam sampel.

4) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel

Sampel pemeriksaan dapat menggunakan serum atau plasma. Hindari sampel hemolisis lipemia, atau keruh.

5) Alat dan bahan

Alat :

- Mikropipet
- Yellow tips
- Incubator/*waterbath* suhu 37° C
- *Automatic plate washer*
- *ELISA reader*
- *Adsorbent pad or paper.*
- *Vortex mixer*

Bahan :

- *Coated microplates* (mikroplate dengan 96 sumur yang dilapisi dengan protein rekombinan HCV)
- *Enzyme Conjugate* (Anti-human IgG berlabel enzim HRP)
- Kontrol Negatif
- Kontrol Positif
- *Sample Diluent*
- Substrate Solution A (berisi Urea Hydrogen Peroxide)

Substrate Solution B (stabilized 3,3'-5,5' Tetramethylbenzidine (TMB))

- *Stop Solution* (berisi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,0 M)
- *Washing solution concentrate* (berisi phosphate Buffered Saline)
- Aquadest

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### **b. Analitik**

#### 1) Preparasi *Working Washing Solution*

Tambahkan 1 bagian volume larutan pencuci konsentrat pada 19 bagian aquadest, selanjutnya homogenkan.

#### 2) Prosedur Pemeriksaan

- i. Pastikan seluruh reagen dan sampel dalam suhu kamar (15-30°C) sebelum pemeriksaan.
- ii. Tuliskan jumlah relatif spesimen dan sumur pada lembar data. Satu sumur untuk blanko, lima sumur tambahan untuk kontrol, dan satu sumur untuk setiap spesimen.
- iii. Sisihkan satu sumur untuk blanko, tambahkan 100ul kontrol negatif ke masing-masing tiga sumur, 100ul Kontrol Positif ke masing-masing dua sumur, dan 100ul larutan sample diluent ke sumur lainnya, dan tambahkan 10ul sampel sesuai skema berikut:  
1A : Blanko  
2A, 3A, 4A : Serum Kontrol Negatif  
5A, 6A : Serum Kontrol Positif  
7A : Sampel
- iv. Inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.
- v. Tambahkan 350 ul larutan pencuci, kocok. Lakukan pencucian sebanyak 6 kali dengan larutan pencuci. Pada akhir pencucian, balikkan plate dan ketuk sisa larutan pencuci ke atas kertas penyerap.
- vi. Tambahkan 100 ul Konjugat Enzim ke setiap sumur (kecuali sumur blanko). homogenkan dengan memutar plat mikrotiter di atas meja datar dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- vii. Lakukan pencucian Kembali menggunakan larutan pencuci sebanyak 6 kali
- viii. Tambahkan 50ul larutan substrat A dan B, termasuk 1 sumur blanko. Aduk perlahan selama 15 detik dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C (hindari paparan sinar matahari langsung).
- ix. Hentikan reaksi dengan menambahkan 50ul *Stop Solution* ke setiap sumur (termasuk blanko) dalam urutan yang sama seperti saat menambahkan larutan substrat.
- x. Aduk perlahan selama 15 detik. Pastikan bahwa terjadi perubahan warna biru menjadi kuning sepenuhnya.
- xi. Bacalah absorbansi dalam 20 menit pada 450 nm (menggunakan panjang gelombang referensi 620-630 nm untuk meminimalkan ketidaksempurnaan sumur) pada microplate reader.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### c. Post analitik

#### 1) Interpretasi Hasil

Ada Anti HCV sampel ditentukan oleh hubungan nilai absorban tiap sampel dengan nilai Cut Off(CO)

- Nilai Cut Off  $CO = NCx \times 0,1$
- $NCx =$  nilai absorbansi rata-rata kontrol negative, jika  $NCx \leq 0,05$  maka  $NCx$  sama dengan 0,05)

**Jika absorbansi sampel < nilai cut off maka dinyatakan non reaktif**

**Jika absorbansi sampel  $\geq$  nilai cut off maka dinyatakan reaktif**

#### 2) Sumber kesalahan pemeriksaan :

- a) Pencucian yang tidak adekuat
- b) Antibodi heterofilik dan faktor reumatoid dalam sampel dapat mengganggu hasil tes.
- c) Sampel yang mengalami hemolisis parah, lipemia, atau keruh dapat mempengaruhi hasil uji

#### 3) Jaminan mutu pemeriksaan :

Persyaratan kontrol yang direkomendasikan untuk uji ini adalah menggunakan kontrol positif dan negatif untuk memverifikasi kinerja uji. Hasil uji dianggap valid jika kedua kriteria kontrol berikut terpenuhi:

- Kontrol Negatif: Rata-rata absorbansi kontrol negatif lebih rendah dari 0,1.
- Kontrol Positif: Rata-rata absorbansi kontrol positif sama dengan atau lebih tinggi dari 0,6.

### d. Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Spesimen Pemeriksaan :
Alat dan Bahan :
Langkah Kerja :
Hasil :

Kesimpulan :

#### 4. Sifilis

##### a. *Veneral Disease Research Laboratory (VDRL)*

###### 1) Pra Analitik

- a) Tujuan Pemeriksaan
- b) Metode : Flokulasi
- c) Prinsip Pemeriksaan : Reaksi flokulasi antara antigen yang terdiri dari kardiolipin, lesitin, dan kolesterol yang disuspensikan dalam cairan bufer salin dalam reagen dengan antibodi lipoidal (non treponema/reagin) pada sampel serum atau cairan serebrospinal.
- d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel : serum/plasma
- e) Alat dan Bahan :
  - Paraffin atau *ceramic ringed slide*
  - Mikroskop
  - Mikropipet
  - Tip kuning
  - Rotator
  - Timer
  - Batang pengaduk
  - Reagen VDRL

###### 2) Analitik

- 1) Prosedur Pemeriksaan
  - a) Siapkan alat dan bahan, sampel dan reagen VDRL harus dalam suhu ruang
  - b) Pipet serum sebanyak 50  $\mu$ l dengan pipet, kemudian letakkan diatas paraffin atau *ceramic ringed slide*.

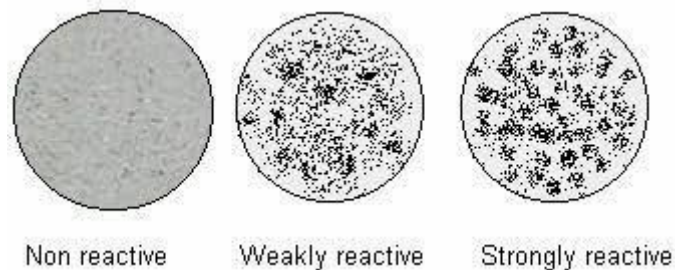
## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- c) Tambahkan reagen VDRL sebanyak 20  $\mu$ l pada serum yang sudah diletakan pada slide.
- d) Homogenkan campuran tersebut.
- e) Putar menggunakan rotator 2 rpm selama 2 menit
- f) Amati adanya flukolasi yang terbentuk

### 3) Post Analitik

#### Interpretasi Hasil

- a) Gumpalan sedang atau besar: reaktif (R)
- b) Gumpalan kecil: reaktif lemah (W)
- c) Tidak ada gumpalan/sedikit butiran: tidak reaktif (N)



Gambar 8.5 Hasil pemeriksaan VDRL ([www.microrao.com](http://www.microrao.com))

#### 4) Sumber kesalahan Pemeriksaan :

Beberapa kondisi dapat menyebabkan terjadinya hasil positif palsu yaitu infeksi malaria, lepra, HIV, paska vaksinasi, gangguan autoimun (Cohen et al., 2024) dan penggunaan narkoba suntik . Sampel yang telah mengalami siklus beku-cair berulang dapat mengakibatkan berkurangnya reaktivitas antibodi karena degradasi dan denaturasi protein (Cohen et al., 2024).

#### 5) Jaminan mutu pemeriksaan :

Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan dalam memantau kinerja prosedur yang dilakukan telah benar, serta sebagai pembanding dalam menentukan interpretasi hasil uji yang lebih baik.

#### 6) Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Spesimen Pemeriksaan :
Alat dan Bahan :
Langkah Kerja :
Hasil :

Kesimpulan :

**b. *Treponema pallidum* Hemagglutination Assay (TPHA)**

**1) Pra Analitik**

- a) Tujuan Pemeriksaan : Untuk mendeteksi antibodi non spesifik (reagin) dalam darah sebagai diagnosis infeksi sifilis.
- b) Metode : Hemagglutinasi
- c) Prinsip TPHA : Reaksi antara eritrosit unggas yang dilapisi dengan antigen *Treponema Pallidum* dengan antibody spesifik terhadap *Treponema Pallidum* dalam serum/plasma penderita. Antibodi sipilis yang mensentisasi sel akan menghasilkan aglutinasi dengan pola khas didalam microplate
- d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel : serum/plasma
- e) Alat dan Bahan :

Alat

- Mikropipet
- Microplate
- Yellow tip/blue tip

Bahan: TPHA Test Kit yang terdiri dari :

- Test sel
- Kontrol sel
- Diluent
- Kontrol positif
- Kontrol negatif

**2) Analitik**

- 1) Prosedur Kerja

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### a) Tes Kualitatif

- i. Siapkan alat, bahan dan reagen yang dibutuhkan (bahan dan reagen yang akan digunakan sdikondisikan dalam suhu ruang). Setiap sampel membutuhkan 3 sumuran
- ii. Pipet Diluents sebanyak 190  $\mu$ l, masukan dalam sumur 1
- iii. Tambahkan sampel sebanyak 10 $\mu$ l pada sumur 1 lalu homogenkan
- iv. Pipet campuran pada sumur 1 sebanyak 25  $\mu$ l dan masukan pada sumur 2 dan 3
- v. Tambahkan kontrol sel sebanyak 75  $\mu$ l pada sumur 2
- vi. Tambahkan test sel sebanyak 75  $\mu$ l pada sumur 3
- vii. Homogenkan dengan cara mengetuk mikroplate
- viii. Tutup microplate dan inkubasi pada selama 45 – 60 menit pada tempat yang terhindar dari cahaya, panas dan getaran.
- ix. Amati aglutinasi yang terjadi. Sampel yang menunjukkan hasil aglutinasi positif dilanjutkan dengan uji semi kuantitatif.

### b) Tes Semikuantitatif

Proses Pengenceran :

- a. Setiap sampel membutuhkan 9 sumuran.
- b. Lakukan proses pengenceran serum 1/20 pada sumuran 1 dengan cara memipet diluents sebanyak 190  $\mu$ l, lalu tambahkan sampel sebanyak 10 $\mu$ l dan homogenkan.
- c. Pipet diluent sebanyak 25  $\mu$ l, masukkan pada sumur 4 sampai 9
- d. Pipet serum yang sudah diencerkan sebanyak 25  $\mu$ l dan masukan pada sumur 2, 3 dan 4.
- e. Homogenkan sumur ke 4 yang pengenceranya 1/40, selanjutnya transfer sebanyak 25 $\mu$ l pada sumur ke 5. Ulangi langkah tersebut berturut-turut sampai pada sumur ke 9 buang sebanyak 25 $\mu$ l.
- f. Tambahkan Kontrol sel sebanyak 75  $\mu$ l pada sumur 2.
- g. Tambahkan Tes sel sebanyak 75  $\mu$ l pada sumur 3-9.
- h. Homogenkan dengan cara mengetuk mikroplate
- i. Tutup microplate dan inkubasi pada selama 45 – 60 menit. Letakkan microplate pada tempat yang jauh dari panas, getaran dan sinar matahari langsung.
- j. Amati adanya aglutinasi dan tentukan titernya

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### 3) Post Analitik

a) Interpretasi Hasil:

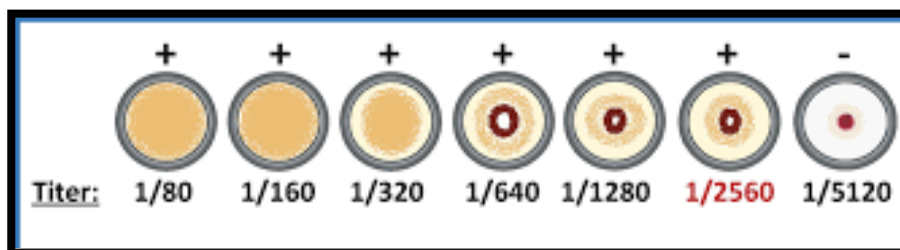
- +4 : bulatan merah merata pada seluruh permukaan sumur
- +3 : bulatan merah terdapat di sebagian besar permukaan sumur
- +2 : bulatan merah yang terbentuk tidak besar dan tampak seperti cincin
- +1 : bulatan merah kecil dan tampak cincin terang
- +/- : tampak cincin dengan warna bulatan merah yang samar
  - : Tampak titik berwarna merah didasar sumur



#### Penentuan titer :

Penentuan titer adalah pada sumur dengan pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan terjadinya aglutinasi

Well	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Titer	Dilution	control cell	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1: 2560	1: 5120



Gambar 8.6 Titer TPHA ([www.elitechgroup.com/product/tpha/](http://www.elitechgroup.com/product/tpha/))

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

c. Sumber kesalahan Pemeriksaan :

Beberapa kondisi dapat menyebabkan terjadinya hasil positif palsu yaitu cross-reactivity, terutama pada kondisi seperti kusta, penyakit autoimun, atau infeksi kronis tertentu, sedangkan false negative biasanya muncul pada tahap awal infeksi saat antibodi belum terbentuk optimal, atau pada kasus sifilis laten dengan titer antibodi sangat rendah.

d. Jaminan mutu pemeriksaan :

Serum kontrol positif dan negatif yang disediakan harus digunakan setiap hari untuk memastikan kinerja yang benar dari tes dan suspensi control sel baik, sebelum tes dilakukan. Serum kontrol positif harus menyebabkan sel dalam suspensi test sel menggumpal untuk membentuk pola khas sel di dasar sumur mikrotiter dalam waktu 60 menit pada suhu ruangan. Penggumpalan tidak boleh terjadi pada pengujian serum kontrol negatif. Kontrol sel tidak boleh menunjukkan aglutinasi dalam uji. Jika sel kontrol menunjukkan aglutinasi, maka berarti terdapat antibodi anti-sel. Uji harus diulang setelah terlebih dahulu melakukan langkah absorpsi pada serum uji.

### 4) Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hasil	:
Kesimpulan	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### **c. Antibodi Sifilis ELISA**

#### **1) Pra analitik**

##### a) Tujuan Pemeriksaan

Pemeriksaan ini bertujuan menentukan adanya antibody IgG IgM terhadap kuman *Triponema pallidum* penyebab sifilis dalam serum atau plasma.

##### b) Metode : Sandwich ELISA

##### c) Prinsip :

Adanya Antibodi IgG IgM terhadap *T. pallidum* dalam specimen akan bereaksi dengan antigen *T. pallidum* rekombinan yang telah dilapiskan pada mikrowell padat. Selanjutnya dilakukan penambahan konjugat antigen *T. pallidum* rekombinan yang berlabel enzim horse reddish peroxidase (HRP) sehingga secara bersamaan membentuk kompleks konjugat sandwich antara antigen Tp-Antibodi Tp-konjugat Antigen Tp belabel HRP yang ditunjukkan oleh warna biru setelah penambahan substrat TMB. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 /620-690 nm.

##### d) Jenis dan kriteria specimen/syarat sampel : serum, hindari sampel hemolisis

##### e) Alat dan bahan

Alat :

- Mikropipet
- Yellow tips
- Inkubator suhu 37° C
- *Automatic plate washer*
- *ELISA reader*
- Adsorbent pad or paper.
- *Vortex mixer.*
- *Timer*

Bahan :

- Microwells yang dilapisi dengan antigen *T.pallidum*
- Kontrol negatif
- Kontrol positif
- Konjugat HRP–antigen *T.pallidum*
- Buffer pencuci (30x konsentrat)
- Substrat TMB A
- Substrat TMB B
- Stop Solution

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- Aquadest

### **2) Analitik**

#### 1) Prosedur Pembuatan Larutan Pencuci

- a) Bawa semua reagen dan kontrol ke suhu ruangan (18°C-28°C).
- b) Encerkan Buffer Pencuci Konsentrat 30 kali dengan mencampurkan 29 bagian volume aquadest dengan 1 bagian volume Buffer Pencuci Konsentrat
- c) Hangatkan Buffer Cuci Konsentrat pada suhu 37°C untuk melarutkan endapan jika muncul.
- d) Aduk setiap reagen sebelum ditambahkan ke sumur uji.

#### 2) Prosedur Pemeriksaan

- a) Pastikan seluruh reagen dan sampel dalam suhu kamar (18-28°C) sebelum pemeriksaan.
- b) Pipet dengan ketentuan sebagai berikut :
  - Sumur blanko : jangan tambahkan reagen apapun
  - Sumur kontrol negatif : tambahkan 50 µL Kontrol Ab Negatif
  - Sumur kontrol positif : tambahkan 50 µL Kontrol Ab positif
  - Sumur uji: Tambahkan 50 µL spesimen uji ke masing-masing sumur uji
- c) Tambahkan 50 µL larutan konjugat HRP-Tp ke masing-masing sumur, kecuali sumur blanko
- d) Homogenkan sumur dengan lembut selama 20 detik, lalu tutup sumur.
- e) Inkubasi sumur pada suhu 37°C selama 60 menit. Buang campuran dengan hati-hati dengan menuangkan larutan ke dalam wadah limbah.
- f) Isi setiap sumur dengan larutan pencuci yang telah diencerkan dan kocok perlahan selama 20-30 detik
- g) Buang larutan pencuci dengan membalik dan mengetuk pelat pada kertas penyerap. Ulangi prosedur pencucian sebanyak empat kali lagi.
- h) Buang larutan pencuci dengan mengetuk pelat dengan kuat pada tisu kertas bersih untuk menghilangkan kelebihan larutan pencucian.
- i) Tambahkan 50 µL (1 tetes) substrat TMB A dan 50 µL (1 tetes) substrat TMB B ke setiap sumur.
- j) Inkubasi pada suhu 37°C dalam gelap/terhindar dari cahaya selama 10 menit.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

- k) Hentikan reaksi dengan menambahkan 50 µl (atau 1 tetes) stop buffer ke setiap well. Aduk perlahan selama 30 detik. Pastikan semua warna biru berubah menjadi kuning sepenuhnya.
- l) Atur panjang gelombang pembaca mikroplat pada 450 nm dan ukur absorbansi setiap well terhadap well blanko dalam waktu 15 menit setelah menambahkan Stop Solution. Filter 620-690 nm dapat digunakan sebagai panjang gelombang referensi untuk mengoptimalkan hasil pengujian.

### 3) Post analitik

#### a) Interpretasi Hasil

- Hitung nilai Cut off
  - Nilai Cut Off =  $0,15 + N$
  - N=nilai rata-rata absorbansi control negative, jika  $N \leq 0,05$  maka N menggunakan 0,05)
- Hitung Rasio Absorbansi specimen

$$\text{Rasio Absorbansi specimen} = \frac{\text{Absorbansi specimen}}{\text{Nilai cut off}}$$

- Jika rasio absorbansi specimen  $< 1,00$  maka hasil negatif
- Jika rasio absorbansi specimen  $\geq 1,00$  maka hasil positif

#### b) Sumber kesalahan pemeriksaan :

- Pencucian mikrowell yang tidak memadai
- Kontaminasi spesimen negatif oleh serum atau plasma dengan titer antibodi yang tinggi
- Kontaminasi larutan substrat oleh zat pengoksidasi (pemutih, ion logam, dll.)
- Kontaminasi larutan penghenti reaksi (*stop solution*)

#### c) Jaminan mutu pemeriksaan :

##### Validasi pengujian

- Nilai OD rata-rata kontrol positif Ab Sifilis harus  $> 0,80$ .
- Nilai OD rata-rata kontrol negatif Ab Sifilis harus  $< 0,10$ .

Periksa prosedur dan ulangi pengujian jika hasil kontrol di atas tidak terpenuhi.

### 4) Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Prinsip :
Spesimen Pemeriksaan :
Alat dan Bahan :
Langkah Kerja :
Hasil :

Kesimpulan :



### EVALUASI

Pilihlah salah satu jawaban yang paling tepat

1. Seorang ATLM sedang melakukan suatu uji serologi untuk mendeteksi infeksi *T. pallidum*. Uji tersebut bertujuan menentukan antibodi spesifik terhadap kuman *T. pallidum*. Hasil uji kualitatif didapatkan kontrol negatif tidak terjadi penggumpalan, kontrol positif terjadi penggumpalan, sampel dengan larutan test sel terjadi penggumpalan dan sampel yang direaksikan dengan kontrol sel menunjukkan adanya penggumpalan. apa yang harus dilakukan oleh ATLM tersebut?
  - a. Melanjutkan uji TPHA semi kuantitatif untuk memastikan titernya
  - b. Mengulang test karena hasil pada kontrol positif tidak sesuai
  - c. Mengulang tes karena hasil pada kontrol negatif tidak tepat
  - d. Mengulang test karena hasil reaksi dengan kontrol sel menggumpal**
  - e. Menyimpulkan bahwa hasil TPHA positif karena hasil reaksi test sel menggumpal
2. Diterima sampel darah di laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan anti HIV dengan metode ELISA kompetitif. Pada pemeriksaan tersebut dilakukan penambahan serum ke plate microtiter yang telah dilapisi dengan antigen dan dilakukan inkubasi. Selanjutnya ATLM menambahkan Phosphate Buffer Saline ke dalam sumuran plate. Apakah fungsi reagen yang ditambahkan oleh ATLM tersebut?
  - a. Sebagai konjugat
  - b. Sebagai substrat

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- c. Sebagai enzim
  - d. Sebagai blocking reagen
  - e. Untuk proses pencucian**
3. Seorang ATLM melakukan suatu pemeriksaan HBsAg dengan metode Sandwich ELISA. Setelah seluruh prosedur dilakukan, ATLM segera melakukan pembacaan hasil menggunakan alat ELISA reader. Jika hasil pembacaan absorbansi control negative berturut-turut didapatkan hasil 0,059; 0,061; 0,054. Berapakah nilai Cut Off hasil pemeriksaan tersebut?
- a. 0,058
  - b. 0,061
  - c. 0,105**
  - d. 0,126
  - e. 0,153
4. Seorang ATLM melakukan suatu pemeriksaan anti HIV dengan metode ELISA. Jika hasil pembacaan pada ELISA reader didapatkan nilai rata-rata absorbansi kontrol negatif 0,04, nilai rata-rata absorbansi control positif 0,84 dan nilai absorbansi sampel 0,21. Bagaimana kesimpulan hasil tersebut?
- a. Reaktif**
  - b. Non reaktif
  - c. Invalid karena nilai rerata absorbansi kontrol negatif  $> 0,1$
  - d. Invalid karena nilai rerata absorbansi kontrol positif  $\geq 0,7$
  - e. invalid karena nilai absorbansi kontrol negative  $< 0,05$
5. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan serologi untuk skrining penyakit sifilis pada darah donor. Pemeriksaan tersebut menggunakan antigen non treponema yaitu cardiolipin, lesitin dan kolesterol dengan metode flokulasi. Pemeriksaan apakah yang dilakukan oleh ATLM tersebut?
- a. RPR
  - b. VDRL**
  - c. TPHA
  - d. FTA-ABS
  - e. IgG IgM Sifilis

### Penilaian

1. Aspek Penilaian Sikap (20%)
  - a) Kehadiran dan kedisiplinan
  - b) Kerja sama (kolaborasi)
  - c) Tanggung jawab
  - d) Inisiatif dan kemandirian
  - e) Sikap positif dan etika
2. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
  - a) Pretest
  - b) Ujian Tertulis
3. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
  - a) Keterampilan teknis/praktis
  - b) Mampu menginterpretasikan hasil pemeriksaan
  - c) Laporan

### Ringkasan

Uji saring Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) sangat penting dilakukan dalam seleksi darah pendonor untuk menjamin keamanan darah yang ditransfusikan. Uji laboratorium minimal IMLTD yang harus dilakukan antara lain deteksi infeksi hepatitis B, HIV, hepatitis C dan sifilis. Pemeriksaan Untuk jenis infeksi lain seperti Malaria, dan lainnya tergantung prevalensi infeksi tersebut di masing-masing daerah. Deteksi IMLTD dapat dilakukan terhadap antibodi dan atau antigen seperti metode *rapid test*, *Enzyme Immuno Assay* (EIA/ELISA), *Chemiluminescence Immuno Assay* (ChLIA), atau terhadap materi genetik virus seperti metoda *Nucleic Acid Amplification Test* (NAT). Metode rapid test hanya dapat digunakan pada kondisi infrastruktur yang belum memadai untuk dilakukannya metode lain, dan tidak dapat disentralisasikan dengan UTD lain karena keadaan geografi yang tidak memungkinkan.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Cohen, M. K., Muntner, P., Kent, C. K., King, P. H., Gottardy, A. J., Leahy, M. A., Spriggs, S. R., Velarde, A., Yang, T., Starr, T. M., Yang, M., Jones, T. F., Boulton, M. L., Brooks, C., Caine, V. A., Fielding, J. E., Fleming, D. W., Halperin, W. E., Mullen, J., ... Johnson, L. (2024). CDC Laboratory Recommendations for Syphilis Testing, United States. *Recommendations and Reports*, 73.
- Steven, C. D. (2010). *Clinical Immunology & Serology a Laboratory Perspective Third Edition* (3Th ed.). Davis Company.
- Güler, E., Arikan, A., Abobakr, M., Sayan, M., Süer, K., & Şanlıdağ, T. (2022). Positive Anti-HIV ELISA Results in Pregnancy: Is It Reliable? *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/1157793>
- Jiang, X., Chang, L., Yan, Y., Ji, H., Sun, H., Guo, F., & Wang, L. (2021). A study based on four immunoassays: Hepatitis C virus antibody against different antigens may have unequal contributions to detection. *Virology Journal*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01608-x>
- Kemenkes. (2015). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah*.
- Kemenkes. (2023). *Petunjuk Teknis Pencegahan Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD)*. Kementerian Kesehatan RI.
- Maharani, E. A., & N.Ganjar. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik : Imunohematologi dan Bank Darah*.
- Purwoko, M. I. H., Mutia Devi, Suroso Adi Nugroho, Fitriani Fitriani, Raden Pamudji, & Nofilia Citra Candra. (2021). Laboratory Examination of Syphilis. *Bioscientia Medicina : Journal of Biomedicine and Translational Research*, 5(8), 726–745. <https://doi.org/10.32539/bsm.v5i8.339>
- Turgeon L., M. (2014). *Immunology & Serology in Laboratory Medicine 5th ed* (5th ed.). Elsevier. <http://evolve.elsevier.com/Turgeon/immunology/>
- Atlas Medical, 2019, Kit Insert HCV Elisa Methode, Atlas Medical Reagent, Germany.
- Atlas Medical, 2019, Kit Insert Human Immunodeficiency Virus (1&2) Elisa Methode, Atlas Medical Reagent, Germany.
- Atlas Medical, 2023, Kit Insert HIV 1/2 Human Immunodeficiency Virus A rapid test device for the qualitative detection of antibodies to human Immunodeficiency Virus-1 and/or 2in Whole blood, serum or plasma, Atlas Medical Reagent, Germany.
- Fortress Diagnostics, 2024, Kit Insert HbsAg Strips, Fortress Diagnostics, United Kingdom
- Fortress Diagnostics, 2024, Kit Insert TPHA Haemagglutination, Fortress Diagnostics, United Kingdom
- Fortress Diagnostics, 2024, Kit Insert VDRL Test, Fortress Diagnostics, United Kingdom

# BAB IX

## SKRINING DAN IDENTIFIKASI ANTIBODI

### TUJUAN PEMBELAJARAN

1. Mahasiswa mampu memahami pentingnya identifikasi antibodi.
2. Mahasiswa mampu melakukan prosedur pemeriksaan skrining dan identifikasi antibodi.
3. Mahasiswa mampu melakukan interpretasi hasil skrining dan identifikasi antibodi.

### PENDAHULUAN

Skринing antibodi dilakukan untuk mendeteksi adanya antibodi yang tidak biasa (*unexpected antibodies*) di dalam serum pasien, terutama Alloantibodi dan Autoantibodi. Dalam tubuh manusia normal, hanya ada antibodi anti-A dan anti-B secara alami. Alloantibodi biasanya menyerang antigen dari sistem golongan darah non-ABO, seperti Duffy, Kell, Kidd, MNS, P, dan beberapa jenis Rhesus (Rh) lainnya yang penting secara klinis. Jika seseorang membentuk alloantibodi, hal ini bisa menyebabkan masalah saat transfusi, seperti sulit mencari darah donor yang cocok dan reaksi silang (*crossmatch*) yang tidak sesuai (Ajmani, 2020).

Tabel 9.1 Sistem Golongan Darah Non-ABO

Sistem Golongan Darah	Antigen	Antibodi
Rh	D, C, c, E, e	Anti-D, anti-C, dll
Kell	K, k	Anti-K, anti-k
Kidd	Jka, Jkb	Anti-Jka, anti-Jkb
Duffy	Fya, Fyb	Anti-Fya, anti-Fyb
MNS	M, N, S, s	Anti-M, anti-N, dll

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Dalam dunia transfusi darah, antibodi lain dianggap "tidak biasa" (*unexpected*) memiliki peran penting karena dapat menyebabkan reaksi yang membahayakan. Antibodi ini diklasifikasikan menjadi dua jenis utama:

- **Alloantibodi:** antibodi terhadap antigen yang tidak dimiliki oleh orang tersebut. Terbentuk sebagai respons terhadap antigen yang berasal dari individu lain seperti transfusi darah, kehamilan, atau transplantasi organ. Alloantibodi dapat menyebabkan reaksi transfusi hemolitik atau penyakit hemolitik pada janin dan bayi baru lahir (HDFN).
- **Autoantibodi:** antibodi terhadap antigen yang ada di tubuhnya sendiri. Terbentuk ketika sistem kekebalan tubuh menyerang sel-sel tubuh sendiri. Biasanya ditemukan pada penyakit autoimun seperti *Autoimmune Hemolytic Anemia* (Ajmani, 2020).

AABB's *Standards for Blood Banks and Transfusion Services* merekomendasikan uji skrining antibodi pada kondisi seperti: sebelum transfusi darah, pendonor darah yang darahnya digunakan untuk keperluan khusus seperti membuat reagen khusus, prosedur transplantasi sel induk darah (*Hematopoietic Progenitor Cell / HPC*) dan sumsum tulang, pemeriksaan prenatal untuk mengetahui risiko penyakit hemolitik pada janin dan bayi baru lahir atau untuk menilai apakah ibu perlu diberikan Rh-immunoglobulin (RHIG) — suntikan pencegahan jika ibu Rh-negatif dan janin Rh-positif (Denise M. Harmening, 2017).

Dalam bahasan uji screening dan identifikasi antibodi, pemahaman tentang antigen dan antibodi menjadi penting. Antigen adalah molekul (biasanya protein atau glikoprotein) yang terdapat di permukaan sel darah merah (eritrosit). Contoh: antigen D, C, c, E, e, K, Jka, Fya, dan lainnya (Denise M. Harmening, 2017). Antibodi adalah protein imun (biasanya kelas IgG atau IgM) yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh sebagai respons terhadap masuknya antigen asing (misalnya setelah transfusi atau selama kehamilan). Antigen dan antibodi tidak terikat secara permanen, tetapi berikatan menggunakan ikatan non-kovalen (lemah, bisa lepas-pasang), yang tetap kuat bila terjadi secara banyak sekaligus (Turgeon, 2014). Jika terdapat antibodi dalam serum yang mengenali antigen pada sel panel, maka akan terjadi ikatan antigen-antibodi yang bisa diamati sebagai aglutinasi (penggumpalan) atau hemolisis (Ajmani, 2020).



## PRAKTIKUM

### A. Uji Skrining Antibodi

#### Pra Analitik

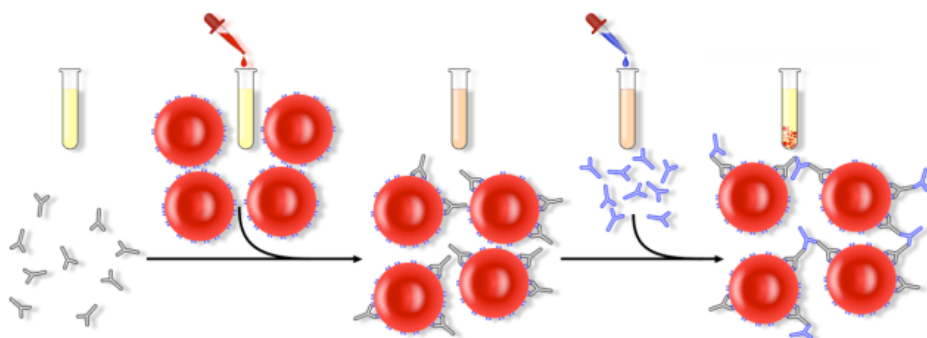
#### 1. Tujuan Pemeriksaan

Uji skrining antibodi digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi non-ABO dalam serum pasien.

#### 2. Metode

Uji ini dilakukan menggunakan metode *Indirect Antiglobulin Test (IAT)* tabung.

#### 3. Prinsip



Gambar 9.1 Prinsip *Indirect Antiglobulin Test (IAT)* tabung

Antibodi dalam serum pasien diuji terhadap antigen pada sel darah merah donor (sel O Rhesus Positif). Jika terdapat antibodi dalam serum pasien, maka akan terjadi **aglutinasi** atau **hemolisis**. Pemilihan golongan darah O ditunjukkan untuk menghindari interfensi anti-A dan anti-B dalam deteksi antibodi. Penambahan albumin berguna untuk meningkatkan kemampuan antibodi menempel pada antigen.

#### 4. Jenis dan kriteria spesimen : Serum

#### 5. Alat dan Bahan

##### Alat

- Tabung reaksi
- Pipet
- Sentrifuge
- Label
- Inkubator 37 °C

##### Bahan

- Sel panel donor O Rh-positif
- NaCl fisiologis 0.9% (saline)
- Serum pasien
- Reagen Albumin 22%  
Reagen AHG

### **Analitik**

#### 1. Prosedur Kerja

##### a. Persiapan Sampel dan Reagen

- 1) Ambil 5 mL darah pasien tanpa antikoagulan ke dalam tabung.
- 2) Biarkan 30 menit di suhu kamar agar terbentuk serum.
- 3) Sentrifugasi lalu pisahkan serum ke dalam tabung lain dan simpan.

##### b. Persiapan Suspensi Sel

- 1) Siapkan sel panel donor O Rh-positif (dari dua donor berbeda) sebagai sel I dan II.
- 2) Siapkan juga suspensi sel pasien sebagai autokontrol (sel C).
- 3) Buat suspensi sel 5% dalam NaCl fisiologis (saline).

##### c. Penandaan Tabung

- 1) Siapkan tiga tabung reaksi  $12 \times 75$  mm dan beri label: 1 (sel I), 2 (sel II), dan 3 (C/autokontrol).

##### d. Proses Uji

- 1) Tambahkan 2 tetes serum pasien ke masing-masing tabung.
- 2) Tambahkan 1 tetes suspensi sel 5% sesuai label;
  - a) Tabung 1: sel donor I
  - b) Tabung 2: sel donor II
  - c) Tabung 3: sel pasien (autokontrol)
- 3) Tambahkan 2 tetes albumin 22% ke setiap tabung (albumin menurunkan zeta potential).
- 4) Homogenkan perlahan, inkubasi 30 menit pada  $37^{\circ}\text{C}$  (antibodi IgG aktif di suhu tersebut).

##### e. Sentrifugasi dan Pembacaan

- 1) Sentrifugasi 1 menit pada 1500 rpm.
- 2) Periksa adanya aglutinasi atau hemolisis.

##### f. Cuci Sel (jika hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya aglutinasi atau hemolisis)

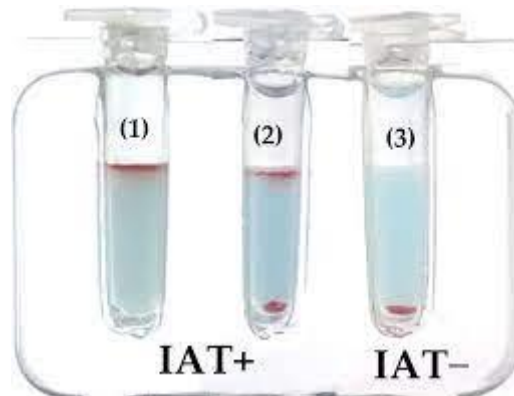
- 1) Cuci sel 3 kali dengan NaCl fisiologis untuk membuang globulin bebas.
- 2) Hati-hati agar antibodi yang terikat tidak hilang (jangan terlalu keras saat mencuci).

##### g. Penambahan AHG (*Coombs* Reagen)

- 1) Tambahkan Antihuman globulin reagen (AHG), kemudian sentrifugasi dan baca kembali aglutinasi.

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

2. Jika masih negatif, tambahkan sel kontrol *Coombs* positif untuk validasi tes.
3. Interpretasi Hasil



Gambar 9.2 Interpretasi Hasil *Indirect Antiglobulin Test* (IAT) tabung

- a. Aglutinasi pada tabung 1 atau 2, tapi tidak pada autokontrol (tabung 3): mengindikasikan adanya alloantibodi.
- b. Aglutinasi pada semua tabung, termasuk autokontrol: kemungkinan terdapat autoantibodi.
- c. Tidak ada aglutinasi sama sekali: hasil negatif, serum pasien kemungkinan tidak memiliki antibodi signifikan, namun tidak menutup kemungkinan antibodi terhadap antigen yang tidak ada pada sel panel.

### Post Analitik

#### 1. Pelaporan Hasil

Skoring aglutinasi

- a. 0: Tidak ada aglutinasi.
- b. w+ (*weak positive*): Hampir tidak terlihat.
- c. 1+ sampai 3+: Semakin kuat aglutinasi, semakin tinggi nilainya.
- d. 4+: Satu gumpalan besar, sangat jelas

#### 2. Keterbatasan Uji Skrining

- a. Hasil negatif tidak selalu berarti tidak ada antibodi.
- b. Jika ada aglutinasi, maka uji identifikasi antibodi harus dilakukan dengan panel sel yang lebih lengkap.

#### 3. Jaminan Mutu Pemeriksaan

Kontrol negatif dan positif: Penambahan *Coomb's Control Cells*. Jika tidak ada aglutinasi, sel kontrol ditambahkan untuk memastikan bahwa: AHG masih bekerja dengan baik. Tidak ada kesalahan teknis (misalnya pencucian terlalu banyak atau reagen rusak).

### **B. Uji Identifikasi Antibodi**

#### **Pra Analitik**

##### **1. Tujuan Pemeriksaan**

Tujuannya adalah untuk menentukan secara spesifik jenis antibodi yang ada dalam serum pasien. Pemeriksaan ini dilakukan jika uji skrining antibodi menunjukkan reaksi positif ditandai dengan adanya aglutinasi.

##### **2. Metode : Reaksi antigen dan antibodi sehingga terbentuk aglutinasi menggunakan tabung.**

##### **3. Prinsip**

Dilakukan menggunakan panel sel identifikasi, yaitu 8–11 sel dengan kombinasi antigen yang berbeda-beda (Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS, dll). Serum pasien diuji satu per satu terhadap masing-masing sel panel. Hasil reaktivitas (aglutinasi atau tidak) dicatat, dan dicocokkan dengan profil antigen tiap sel.

##### **4. Jenis dan kriteria spesimen : Serum**

##### **5. Alat dan Bahan**

Alat	Bahan
a. Tabung reaksi	a. Sel panel donor O Rh-positif
b. Pipet	b. NaCl fisiologis 0.9% (saline)
c. Sentrifuge	c. Serum pasien
d. Label	d. Reagen Albumin 22%
e. Inkubator	e. Reagen AHG

#### **Analitik**

##### **1. Prosedur Kerja**

- a. Siapkan set sel panel.
- b. Tambahkan serum ke masing-masing tabung yang berisi sel panel.
- c. Inkubasi pada suhu 37°C
- d. Tambahkan antihuman globulin (AHG) dan baca hasil aglutinasi.

##### **2. Interpretasi Hasil**

Hasil dari reaksi aglutinasi tiap tabung dibandingkan dengan profil antigen pada masing-masing sel panel. Dengan mencocokkan pola positif (aglutinasi) dan negatif, dapat ditentukan jenis antibodi spesifik yang ada (misalnya anti-E, anti-K, anti-Jka, dll).

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

### Post Analitik

#### 1. Pelaporan Hasil

Mencatat hasil positif aglutinasi (+) dan negatif (0) pada tiap kolom.

Tabel 9.2 Tabel Identifikasi Sel Panel (Maharani, E.A & Noviar, G, 2018)

No Sel	Nomor Donor	Rh						Kell		Duffy		Kidd		MN		S		Lewis		Lutheran		P	Kell			
		Rh	C	c	D	E	e	K	k	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	J <sub>k<sup>a</sup></sub>	J <sub>k<sup>b</sup></sub>	M	N	S	s	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	L <sub>u<sup>a</sup></sub>	Lu <sup>b</sup>	P <sup>i</sup>	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>		
1																										
2																										
Auto																										

#### 2. Faktor yang mempengaruhi Sensitivitas Uji

- Rasio serum terhadap sel: Jika terlalu sedikit serum, antibodi bisa tidak cukup untuk bereaksi.
- Suhu: Beberapa antibodi hanya bereaksi optimal pada suhu tertentu (misal: IgG di 37°C).
- Lama Inkubasi: Waktu inkubasi terlalu singkat menyebabkan antibodi belum terikat dengan sempurna
- pH: pH yang tidak sesuai dapat mengganggu reaksi antigen-antibodi.

#### C. Jurnal Praktikum

Judul	:
Tujuan	:
Prinsip	:
Spesimen Pemeriksaan	:
Alat dan Bahan	:
Langkah Kerja	:

**Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

Hasil :

Kesimpulan :

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Hari:		Tanggal:
Nilai	Pembimbing	Praktikan



## EVALUASI

1. Seorang pasien wanita usia 25 tahun datang ke laboratorium untuk pemeriksaan pra-transfusi. Hasil uji skrining antibodi menunjukkan aglutinasi pada sel I dan II, tetapi tidak ada reaksi pada autokontrol. Apa interpretasi yang paling tepat?
  - A. Pasien memiliki autoantibodi
  - B. Pasien mengalami hemolisis intravaskular
  - C. Hasil negatif, tidak ada antibodi terdeteksi
  - D. Pasien memiliki alloantibodi**
  - E. Uji perlu diulang karena kemungkinan kesalahan Teknik
2. Pasien laki-laki berusia 35 tahun akan menjalani operasi dan direncanakan mendapatkan transfusi darah. Sebelum transfusi dilakukan, petugas laboratorium melakukan uji skrining antibodi. Apa langkah pertama yang harus dilakukan dalam mempersiapkan spesimen untuk uji skrining antibodi?
  - A. Menambahkan albumin 22% ke serum pasien
  - B. Mengambil darah pasien tanpa antikoagulan dan memisahkan serum**
  - C. Menginkubasi suspensi sel selama 30 menit
  - D. Mencuci sel panel donor sebanyak 3 kali
  - E. Menambahkan AHG ke dalam tabung
3. ATLM di RS Bunda Kasih melakukan Uji Skrining antibodi dengan metode IAT Tabung. Petugas laboratorium mengikuti prosedur standar. Seluruh prosedur dilakukan sesuai standar operasional, termasuk proses inkubasi. Mengapa tabung inkubasi diletakkan pada suhu 37°C selama 30 menit dalam uji skrining antibodi?
  - A. Antibodi aktif di suhu rendah
  - B. Untuk mendeteksi hemolisis akibat panas**

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

### **C. Antibodi bereaksi optimal pada suhu tubuh**

D. Agar sel darah merah tidak membeku

E. Untuk mempercepat kerja albumin

4. Alfa sebagai Mahasiswa ATLM melakukan praktikum Uji Skrining Antibodi. Ari mencampurkan serum dengan suspensi sel panel donor, kemudian menambahkan 22% albumin ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit sebelum dilakukan pencucian dan penambahan reagen AHG. Apa fungsi dari penambahan 22% albumin ke dalam tabung reaksi saat pemeriksaan tersebut dilakukan?

### **A. Meningkatkan kekuatan ikatan antigen-antibodi dengan menurunkan zeta potential**

B. Menghilangkan antibodi bebas

C. Memecah sel darah merah

D. Meningkatkan viskositas larutan

E. Mengikat hemoglobin bebas

5. Beta sebagai ketua kelompok praktikum, mempersiapkan alat dan bahan untuk Uji Skrining Antibodi. Mengapa sel donor yang digunakan dalam uji skrining antibodi harus berasal dari golongan darah O Rh-positif?

A. Sel O tidak menyebabkan hemolisis

B. Sel O memiliki antibodi universal

C. Sel Rh-positif menghasilkan lebih banyak aglutinasi

### **D. Golongan darah O paling mudah diperoleh**

E. Untuk menghindari interferensi antibodi anti-A dan anti-B

## **Penilaian**

1. Aspek Penilaian Sikap (20%)
  - a) Kehadiran dan kedisiplinan
  - b) Kerja sama (kolaborasi)
  - c) Tanggung jawab
  - d) Inisiatif dan kemandirian
  - e) Sikap positif dan etika
2. Aspek Penilaian Pengetahuan 40%
  - a) Pretest
  - b) Ujian Tertulis
3. Aspek Penilaian Keterampilan 40%
  - a) Keterampilan teknis/praktis
  - b) Mampu mengiterprestasikan hasil pemeriksaan
  - c) Laporan

### **Ringkasan**

Deteksi antibodi yang tidak biasa (*unexpected antibodies*) dalam serum pasien merupakan langkah penting untuk mencegah terjadinya reaksi transfusi yang merugikan serta penyakit hemolitik lainnya, seperti *Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn* (HDFN). Oleh karena itu, proses skrining dan identifikasi antibodi menjadi bagian krusial dalam pengujian pra-transfusi yang harus dipahami secara menyeluruh oleh mahasiswa, khususnya dalam bidang imunohematologi dan bank darah.

### **Penutup**

Melalui modul praktikum ini, diharapkan mahasiswa mampu memahami prinsip dasar, prosedur, serta interpretasi hasil dari uji skrining dan identifikasi antibodi. Pemahaman ini penting dalam menjamin keselamatan transfusi darah, mencegah reaksi transfusi yang merugikan, dan mendukung pelayanan laboratorium yang berkualitas.

### **Glosarium**

- Aglutinasi : Penggumpalan sel akibat interaksi antigen-antibodi.
- AHG (Anti Human Globulin): Reagen untuk mendeteksi antibodi IgG atau komplemen yang terikat pada eritrosit.
- Albumin 22%: Reagen yang membantu deteksi aglutinasi IgG dengan menurunkan zeta potential.
- Alloantibodi : Antibodi terhadap antigen eritrosit yang tidak dimiliki tubuh sendiri.
- Antiglobulin Test (*Coombs Test*) : Tes untuk mendeteksi antibodi yang terikat pada sel darah merah.
- Autoantibodi : Antibodi terhadap antigen eritrosit tubuh sendiri.
- Autokontrol: Uji kontrol dengan serum dan sel dari pasien sendiri untuk membedakan antara alloantibodi dan autoantibodi.
- HDFN : *Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn*, penyakit akibat antibodi ibu menyerang sel darah janin.
- Hemolisis: Penghancuran sel darah merah yang dapat terlihat sebagai cairan merah jernih setelah sentrifugasi.
- IgG dan IgM : Jenis imunoglobulin (antibodi) yang diproduksi oleh sistem imun

## **Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah**

- Panel sel : Sel darah merah donor dengan profil antigen diketahui, digunakan untuk deteksi dan identifikasi antibodi.
- Panel sel skrining: Sel darah merah donor dengan antigen diketahui, digunakan untuk mendeteksi antibodi dalam serum pasien.
- Reaksi transfusi : Efek samping negatif akibat ketidakcocokan darah donor dan resipien
- Zeta potential: Gaya tolak-menolak antar sel darah merah; jika dikurangi, sel lebih mudah saling menempel (aglutinasi).

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ajmani, S. (2020). *Immunohematology and Blood Banking*. CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd, 97-99.
- Harmening, D.M., (2012). *Modern blood banking and transfusion practices*. 6th ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 217-220.
- Maharani, Eva Ayu & Noviar, Ganjar. (2018). *Imunohematologi dan Bank Darah*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Kementerian Kesehatan RI.
- Turgeon, M. L. (2020). *Immunology and serology in laboratory medicine*. 6th ed.. Elsevier, 20-21, 217-220.

### BIODATA PENULIS



**Rachmad Bayu Kuncara, SST., M.Imun** lahir di Gunungkidul, 7 April 1991. Menempuh Pendidikan Diploma III Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta lulus pada tahun 2011, melanjutkan Pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta lulus pada tahun 2013 dan menyelesaikan Pendidikan S2 Imunologi di Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya lulus pada tahun 2020. Pengalaman pekerjaan menjadi instruktur praktikum di Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Semarang sejak tahun 2015. Penulis saat ini menjadi dosen tetap di program studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Semarang. Penulis juga mengajar di program studi D III Teknologi Laboratorium Medis dan D III Teknologi Bank Darah Poltekkes Kemenkes Semarang

Email :

[rachmad.bayu.kuncara@gmail.com](mailto:rachmad.bayu.kuncara@gmail.com)



**Nelma, S.Si, M.Kes** lahir di Medan, 04 Nopember 1962. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Biologi, pada Fakultas Biologi di Universitas Medan Area, Medan tahun 1995 dan melanjutkan Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Biomedik di Universitas Sumatera Utara, Medan tahun 2008.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekes Poltekes Medan.

Email : [nelmahasibuan10@gmail.com](mailto:nelmahasibuan10@gmail.com)

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah



Ragil Saptaningtyas, S. Tr. A. K., M.Biomed lahir di Semarang, 3 Juni 1992. Jenjang pendidikan penulis meliputi DIV Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang dan Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Saat ini penulis merupakan pengajar di program studi Sarjana terapan Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Semarang.

Email : [ragilsapta@unimus.ac.id](mailto:ragilsapta@unimus.ac.id)



Fajar Bakti Kurniawan, S.ST, M.Si lahir di Jayapura, 12 Oktober 1988. Jenjang pendidikan penulis meliputi D-IV analisis Kesehatan Institut Bhaktiwiyata Kediri, dan S2 Mikrobiologi Universitas Cenderawasih. Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Jayapura.

Email: [fajar\\_kurniawan10@yahoo.co.id](mailto:fajar_kurniawan10@yahoo.co.id)



Larantika Hidayati, SST., M.Imun, merupakan seorang dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun, Kalimantan Tengah. Saat ini mengajar matakuliah diantaranya imunologi, bakteriologi, hematologi, kimia klinik, flebotomi dan penanganan sampel serta imunohematologi. Penulis memiliki latar belakang pendidikan D4 Analis Kesehatan atau Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) yang ditempuh selama empat tahun sejak tahun 2013 – 2017 di Poltekkes Kemenkes

## Modul Praktikum Imunohematologi dan Bank Darah

Mataram. Selanjutnya mengambil pendidikan S2 Imunologi di Universitas Airlangga yang diselesaikan pada Tahun 2020. Pengalaman menulis sebelumnya telah menyelesaikan buku “Imunologi dasar”, “Kimia Klinik Dasar” dan “Gut Microbiome”

Email : [larantikahidayati@gmail.com](mailto:larantikahidayati@gmail.com)



Evi Puspita Sari, S.ST., M.Imun lahir di Kediri, 1 Januari 1988. Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan dan D4 Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Surabaya, S2 Imunologi di Universitas Airlangga.

Saat ini penulis merupakan pengajar di Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medik Institut Teknologi Sains dan Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.

Email : [eps.imun17@gmail.com](mailto:eps.imun17@gmail.com)



Arfa Izzati, S.Tr.Kes.,M.S.Farm menempuh pendidikan Diploma – IV Teknologi Laboratorium Medik di Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung. Penulis melanjutkan pendidikan Pascasarjana di Institut Teknologi Bandung. Saat ini, penulis aktif sebagai dosen dan berkontribusi dalam kegiatan tridharma perguruan tinggi, meliputi pengajaran, penelitian, serta pengabdian kepada masyarakat. Bidang keilmuan yang menjadi fokus penulis meliputi diagnostik laboratorium klinik, dengan minat khusus pada Imunohematologi dan Bank Darah.

Email : [izzatiarfa@gmail.com](mailto:izzatiarfa@gmail.com)